



# Efeito vascular da MDMA e seus metabolitos em hipertermia

## DISSERTAÇÃO

<b>No âmbito de</b>	<b>Mestrado em Farmacologia Aplicada</b>
<b>Instituição</b>	<b>Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra</b>
<b>Local</b>	<b>Laboratório de Farmacologia</b>
<b>Orientador</b>	<b>Dr.<sup>a</sup> Maria Dulce Cotrim</b>

---

Professora Doutora Maria Dulce Cotrim

**Ana Filipa Guerra**

**Setembro de 2012**

## **AGRADECIMENTOS**

Ao longo dos últimos meses, tive a oportunidade de enriquecer a minha formação académica, pessoal e profissional, ao vivenciar o dia-a-dia de um laboratório de investigação e ao poder colocar em prática os conhecimentos que adquiri durante a minha formação.

O meu primeiro agradecimento é para a Professora Doutora Dulce Cotrim, por me ter acolhido e proporcionado todas as condições para a realização deste trabalho experimental. Não só pela disponibilidade e sábia orientação que prestou como orientadora, mas também pela transmissão de conhecimentos, encorajamento, sinceridade e confiança transmitida ao longo do meu percurso por Farmacologia Aplicada.

Um especial agradecimento aos meus colegas de laboratório, Diogo Fonseca e Maria Inês Pimentel, que comigo partilharam esta experiência.

Aos meus pais e à minha irmã, um grande obrigado por sempre acreditarem em mim, pelo carinho, encorajamento e apoio incondicional.

Ao Hélio, pelo suporte emocional, pela paciência e força transmitidos diariamente.

A todos os meus amigos, que tornaram esta vivência académica única e inesquecível.

A Coimbra, que mesmo podendo estar longe, vai estar sempre presente em mim.

E, por fim, um especial agradecimento aos meus avós, pelo apoio total e pelo carinho. Em especial a ti, Avó! Pelo enorme orgulho que sentirias, e pela eterna saudade que deixas...

**Ana Filipa Guerra**

# Efeito vascular da MDMA e seus metabolitos

## em hipertermia

### RESUMO

A 3,4-metilenodioximetanfetamina (MDMA), também conhecida por ecstasy, é uma droga com elevado potencial de abuso, associada a ambientes nocturnos e recreativos, cujo consumo é mais frequente entre a população jovem. O consumo de MDMA tem vindo a ser associado a eventos cardiovasculares, desde taquicardia, hipertensão, vasoconstricção e arritmias, até enfarte agudo do miocárdio e morte súbita. Um dos maiores efeitos adversos provocados pelo ecstasy é a hipertermia, que pode desencadear arritmias, falha renal, rabdomiólise e coagulação vascular disseminada. Para além disto, a hipertermia está também associada à peroxidação lipídica e formação de radicais livres.

O metabolismo da MDMA envolve *N*-demetilação a MDA. MDMA e MDA são *O*-demetilados a *N*-metil- $\alpha$ -metildopamina (*N*-Me- $\alpha$ -MeDA) e  $\alpha$ -metildopamina ( $\alpha$ -MeDA), respectivamente. Na presença de glutationa (GSH), formam-se conjugados glutationil, 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA e 5-(GSH)-*N*-Me- $\alpha$ -MeDA. Estes metabolitos provaram ser mais tóxicos que o próprio MDMA. Neste trabalho, pretende-se avaliar os efeitos contráteis da MDMA e dos seus metabolitos,  $\alpha$ -MeDA, 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA e 5-(GSH)-*N*-Me- $\alpha$ -MeDA, na artéria mamária interna humana, a 37°C e a 40°C. A MDMA apresenta afinidade para o subtipo de receptores 5-HT<sub>2A</sub>, podendo ser estes os responsáveis pela vasoconstricção induzida pela droga.

Os resultados mostram que a MDMA e  $\alpha$ -MeDA induzem contracções dose-dependentes na artéria mamária interna humana, a 37°C e a 40°C. Em hipertermia (40°C), a  $\alpha$ -MeDA provou ter maior actividade intrínseca e maior potência que a MDMA. Tanto a MDMA como a  $\alpha$ -MeDA provocaram um desvio da curva da 5-HT para a direita, sugerindo um agonismo parcial. Os metabolitos 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA e 5-(GSH)-*N*-Me- $\alpha$ -MeDA não induziram efeito contráctil na artéria, mas provocaram um desvio da curva da 5-HT para a direita, o que parece indicar um antagonismo do tipo não competitivo.

### PALAVRAS-CHAVE

MDMA; metabolitos do MDMA; hipertermia, serotonina; artéria mamária interna humana.

# Vascular effects of MDMA and its metabolites in hyperthermia

## ABSTRACT

3,4-metilenodioximetanfetamina (MDMA), also known as ecstasy, is a drug with high potential of abuse associated with recreational environments, whose consumption is most common among young people. The consumption of MDMA has been associated with cardiovascular events, tachycardia, hypertension, vasoconstriction, arrhythmias and acute myocardial infarction even sudden death. An adverse effect caused by ecstasy is hyperthermia, which can trigger arrhythmias, renal failure, rhabdomyolysis and disseminated intravascular coagulation. In addition, the hyperthermia is also associated with lipid peroxidation and free radical formation.

The metabolism of MDMA involves N-demethylation to MDA. MDMA and MDA are O-demethylated to N-methyl- $\alpha$ -methyldopamine (N-Me- $\alpha$ -MeDA) and  $\alpha$ -methyldopamine ( $\alpha$ -MeDA), respectively. In the presence of glutathione (GSH), glutathionyl adducts are formed: 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA and 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA. These metabolites have proved to be more toxic than MDMA. In this research, we evaluated the contractile effects of MDMA and its metabolites,  $\alpha$ -MeDA, 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA and 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA, in the human internal mammary artery at 37 °C and 40 °C. MDMA shows affinity for 5-HT<sub>2A</sub> subtype of receptors, they may be responsible for drug-induced vasoconstriction.

The results show that  $\alpha$ -MeDA and MDMA induced dose-dependent contractions in human internal mammary artery at 37 °C and 40 °C. In hyperthermia (40 °C),  $\alpha$ -MeDA proved to have higher intrinsic activity and potency than MDMA. MDMA and  $\alpha$ -MeDA shift the 5-HT concentration-response curve to the right, suggesting a partial agonism. 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA and 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA showed no contractile effect on artery, but causes a shift of the 5-HT curve to the right, which may indicate non-competitive antagonism.

## KEYWORDS

MDMA; MDMA metabolites; hyperthermia; serotonin; human internal mammary artery.

## Índice

<b>RESUMO</b> .....	<b>II</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>III</b>
<b>ÍNDICE</b> .....	<b>IV</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	<b>VI</b>
<b>ÍNDICE DE TABELAS</b> .....	<b>VII</b>
<b>ÍNDICE DE GRÁFICOS</b> .....	<b>VIII</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS</b> .....	<b>IX</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
1.1- Estrutura da Dissertação.....	2
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>3</b>
<b>2.1- 3,4-metilenodioximetanfetamina (MDMA)</b> .....	<b>3</b>
2.1.2 - Contexto Histórico.....	4
2.1.3 - Química e estrutura de 3,4-metilenodioximetanfetamina (MDMA).....	5
2.1.4 - Efeitos comportamentais produzidos pelo Ecstasy.....	6
2.1.5 - Farmacocinética.....	7
2.1.6 - Farmacologia da MDMA: efeitos nos transportadores e neurotransmissão.....	9
2.1.7 - Efeitos da MDMA no sistema cardiovascular.....	10
2.1.8 - Metabolismo da MDMA.....	10
2.1.10 - MDMA e interação com outras drogas.....	15
<b>2.2- Hipertermia</b> .....	<b>16</b>
2.2.1- Farmacologia da resposta hipertérmica.....	17
2.2.2- Estudos laboratoriais em ratos vs estudos em humanos.....	18
2.2.3- Casos relatados.....	19
2.2.4-- Hipertermia e formação de radicais livres.....	19
<b>2.3- Hidroxitriptamina (5-HT)</b> .....	<b>20</b>
2.3.1- Efeitos patogénicos da Serotonina.....	20
2.3.2- Recetores da Serotonina.....	21
2.3.3- Recetores da 5-HT no sistema cardiovascular humano.....	22

2.3.4- Recetores da 5-HT em artérias humanas.....	25
2.3.5- Recetores da 5-HT na artéria mamária interna humana.....	26
2.3.6- 5-HT e MDMA.....	27
<b>3- OBJETIVOS.....</b>	<b>29</b>
<b>4- MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>31</b>
4.1- Colheita das artérias mamárias internas humanas .....	31
4.2- Protocolo experimental.....	32
4.3- Análise dos resultados .....	33
4.4- Fármacos utilizados.....	34
<b>5- RESULTADOS.....</b>	<b>35</b>
5.1- Respostas contrácteis da artéria mamária interna humana ao MDMA (10 $\mu$ M -800 $\mu$ M) a 37°C e a 40°C .....	35
5.2- Respostas contrácteis da artéria mamária interna humana à $\alpha$ -MeDA (1 $\mu$ M-600 $\mu$ M) a 37°C e a 40°C .....	36
5.3- Respostas contrácteis da artéria mamária interna humana à 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA (0.1 $\mu$ M-60 $\mu$ M) .....	37
5.4- Respostas contrácteis da artéria mamária interna humana à 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA (0.1 $\mu$ M-60 $\mu$ M).....	39
5.5- Ação da MDMA (400 $\mu$ M, 800 $\mu$ M e 1600 $\mu$ M) na curva concentração-resposta da 5-HT na artéria mamária interna humana .....	40
5.6- Ação da $\alpha$ -MeDA (20 $\mu$ M, 40 $\mu$ M e 80 $\mu$ M) na curva concentração-resposta da 5-HT na artéria mamária humana.....	42
5.7- Ação da 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA (20 $\mu$ M, 40 $\mu$ M e 80 $\mu$ M) na curva concentração-resposta da 5-HT na artéria mamária humana .....	44
5.8- Ação da 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA (20 $\mu$ M, 40 $\mu$ M e 80 $\mu$ M) na curva concentração-resposta da 5-HT na artéria mamária humana .....	46
5.9- Comparação dos resultados das curvas concentração-resposta da serotonina.....	48
<b>6- DISCUSSÃO .....</b>	<b>50</b>
<b>7- CONCLUSÕES.....</b>	<b>58</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>60</b>

## Índice de Figuras

<b>Figura 1-</b> Pastilhas de ecstasy.....	<b>4</b>
<b>Figura 2-</b> Estrutura química de anfetamina e alguns derivados, incluindo MDMA.....	<b>6</b>
<b>Figura 3-</b> Possível via para o metabolismo do MDMA.....	<b>11</b>
<b>Figura 4-</b> Localização da artéria mamária interna no aparelho circulatório humano. ....	<b>26</b>
<b>Figura 5-</b> Artéria mamária interna humana cortada em anéis de 2-3mm.....	<b>31</b>
<b>Figura 6-</b> Anéis de 2-3mm de artéria mamária interna humana suspensos entre duas ansas de platina num banho de órgãos .....	<b>32</b>
<b>Figura 7-</b> Resposta contráctil da artéria mamária interna humana à 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA (0.1 $\mu$ M-60 $\mu$ M) a 37°C.....	<b>38</b>
<b>Figura 8-</b> Resposta contráctil da artéria mamária interna humana à 5-(GSH)-N-Me $\alpha$ -MeDA (0.1 $\mu$ M-60 $\mu$ M) a 37°C.....	<b>38</b>
<b>Figura 9-</b> Resposta contráctil da artéria mamária interna humana à 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA (0.1 $\mu$ M-60 $\mu$ M) a 40°C.....	<b>39</b>
<b>Figura 10-</b> Resposta contráctil da artéria mamária interna humana à 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA (0.1 $\mu$ M-60 $\mu$ M) a 37°C.....	<b>39</b>
<b>Figura 11-</b> Resposta contráctil da artéria mamária interna humana à 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA (0.1 $\mu$ M-60 $\mu$ M) a 37°C.....	<b>40</b>

## Índice de tabelas

<b>Tabela 1-</b> Efeitos da serotonina no sistema cardiovascular mediados pelos seus diferentes subtipos de recetores. Adaptado de Kaumann & Levy (2006).....	<b>24</b>
<b>Tabela 2-</b> Comparação do $E_{m\acute{a}x}$ e $pEC_{50}$ para MDMA (10 $\mu$ M-800 $\mu$ M) e $\alpha$ -MeDA (1 $\mu$ M-600 $\mu$ M) a 37°C e a 40°C.....	<b>37</b>
<b>Tabela 3-</b> Comparação da % de redução do $E_{m\acute{a}x}$ relativamente ao controlo e $pEC_{50}$ para MDMA, $\alpha$ -MeDA, 5-(GSH)-N-M-e $\alpha$ -MeDA e 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA a 37°C e a 40°C. ....	<b>49</b>



## Índice de Gráficos

<b>Gráfico 1-</b> Respostas contrácteis da artéria mamária interna humana ao MDMA (10-800 $\mu$ M) a 37°C e a 40°C. ....	<b>35</b>
<b>Gráfico 2-</b> Respostas contrácteis da artéria mamária interna humana à $\alpha$ -MeDA (1 $\mu$ M-600 $\mu$ M) a 37°C e a 40°C.....	<b>36</b>
<b>Gráfico 3-</b> Ação do MDMA (400 $\mu$ M, 800 $\mu$ M e 1600 $\mu$ M) na curva concentração-resposta da 5-HT na artéria mamária humana a 37°C. ....	<b>41</b>
<b>Gráfico 4-</b> Ação do MDMA (400 $\mu$ M, 800 $\mu$ M e 1600 $\mu$ M) na curva concentração-resposta da 5-HT na artéria mamária humana a 40°C. ....	<b>42</b>
<b>Gráfico 5-</b> Ação da $\alpha$ -MeDA (20 $\mu$ M, 40 $\mu$ M e 80 $\mu$ M) na curva concentração-resposta da 5-HT na artéria mamária humana a 37°C. ....	<b>43</b>
<b>Gráfico 6-</b> Ação da $\alpha$ -MeDA (20 $\mu$ M, 40 $\mu$ M e 80 $\mu$ M) na curva concentração-resposta da 5-HT na artéria mamária humana a 40°C. ....	<b>44</b>
<b>Gráfico 7-</b> Ação da 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA (20 $\mu$ M, 40 $\mu$ M e 80 $\mu$ M) na curva concentração-resposta da 5-HT na artéria mamária humana a 37°C.....	<b>45</b>
<b>Gráfico 8-</b> Ação da 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA (20 $\mu$ M, 40 $\mu$ M e 80 $\mu$ M) na curva concentração-resposta da 5-HT na artéria mamária humana a 37°C.....	<b>46</b>
<b>Gráfico 9-</b> Ação da 5- (GSH)- $\alpha$ -MeDA (20 $\mu$ M, 40 $\mu$ M e 80 $\mu$ M) na curva concentração-resposta da 5-HT na artéria mamária humana a 37°C.....	<b>47</b>
<b>Gráfico 10-</b> Ação da 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA (20 $\mu$ M, 40 $\mu$ M e 80 $\mu$ M) na curva concentração-resposta da 5-HT na artéria mamária humana a 37°C.....	<b>48</b>

## Lista de Abreviaturas e Siglas

<b>MDMA</b>	<i>3,4-metilenodioximetanfetamina</i>
<b>DEA</b>	<i>Drug Enforcement Administration</i>
<b>FDA</b>	<i>Food and Drug Administration</i>
<b>MDA</b>	<i>3,4-metilenodioxianfetamina</i>
<b>MDEA</b>	<i>3,4-metilenodioxi-N-etilamfetamina</i>
<b>CYP450</b>	<i>citocromo P450</i>
<b>SERT</b>	<i>transportador da serotonina</i>
<b>5-HT</b>	<i>5-hidroxitriptamina=serotonina</i>
<b>MAO<sub>A</sub></b>	<i>monoamina oxidase tipo A</i>
<b>MAO<sub>B</sub></b>	<i>monoamina oxidase tipo B</i>
<b>N-Me-<math>\alpha</math>-MeDA</b>	<i>N-metil-<math>\alpha</math>-metildopamina</i>
<b><math>\alpha</math>-MeDA</b>	<i><math>\alpha</math>-metildopamina</i>
<b>ROS</b>	<i>espécies reativas de oxigénio</i>
<b>RNS</b>	<i>espécies reativas de nitrogénio</i>
<b>DNA</b>	<i>ácido desoxirribonucleico</i>
<b>GSH</b>	<i>glutathione</i>
<b>5-(GSH)-<math>\alpha</math>-MeDA</b>	<i>5-glutathionil-<math>\alpha</math>-metildopamina</i>
<b>5-(GSH)-N-Me-<math>\alpha</math>-MeDA</b>	<i>5-glutathionil-N-metil-<math>\alpha</math>-metildopamina</i>
<b>CYP2D6</b>	<i>debrisoquina 4-hidroxilase</i>
<b>NADPH</b>	<i>nicotinamida adenina dinucleótido fosfato oxidase</i>
<b>5-HT<sub>1</sub></b>	<i>recetor da serotonina do subtipo 1</i>
<b>5-HT<sub>1A</sub></b>	<i>recetor da serotonina do subtipo 1A</i>
<b>5-HT<sub>1B</sub></b>	<i>recetor da serotonina do subtipo 1B</i>
<b>5-HT<sub>1D</sub></b>	<i>recetor da serotonina do subtipo 1D</i>
<b>5-HT<sub>1E</sub></b>	<i>recetor da serotonina do subtipo 1E</i>
<b>5-HT<sub>1F</sub></b>	<i>recetor da serotonina do subtipo 1F</i>
<b>5-HT<sub>2</sub></b>	<i>recetor da serotonina do subtipo 2</i>
<b>5-HT<sub>2A</sub></b>	<i>recetor da serotonina do subtipo 2A</i>

<b>5-TH<sub>2B</sub></b>	<i>recetor da serotonina do subtipo 2B</i>
<b>5-HT<sub>2C</sub></b>	<i>recetor da serotonina do subtipo 2C</i>
<b>5-HT<sub>3</sub></b>	<i>recetor da serotonina do subtipo 3</i>
<b>5-HT<sub>3A</sub></b>	<i>recetor da serotonina do subtipo 3A</i>
<b>5-HT<sub>3B</sub></b>	<i>recetor da serotonina do subtipo 3B</i>
<b>5-HT<sub>3C</sub></b>	<i>recetor da serotonina do subtipo 3C</i>
<b>5-HT<sub>4</sub></b>	<i>recetor da serotonina do subtipo 4</i>
<b>5-HT<sub>5</sub></b>	<i>recetor da serotonina do subtipo 5</i>
<b>5-HT<sub>6</sub></b>	<i>recetor da serotonina do subtipo 6</i>
<b>5-HT<sub>7</sub></b>	<i>recetor da serotonina do subtipo 7</i>
<b>RNA<sub>m</sub></b>	<i>ácido ribonucleico mensageiro</i>
<b>DA</b>	<i>dopamina</i>
<b>DI</b>	<i>recetores da dopamina do subtipo 1</i>
<b>T<sub>a</sub></b>	<i>temperatura ambiente</i>
<b>SNC</b>	<i>sistema nervoso central</i>
<b>NaCl</b>	<i>cloreto de sódio</i>
<b>KCl</b>	<i>cloreto de potássio</i>
<b>CaCl<sub>2</sub></b>	<i>cloreto de cálcio</i>
<b>KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub></b>	<i>diidrogenofosfato de potássio</i>
<b>MgSO<sub>4</sub></b>	<i>sulfato de magnésio</i>
<b>NaHCO<sub>3</sub></b>	<i>hidrogenocarbonato de sodio</i>
<b>mN</b>	<i>miliNewton</i>
<b>mM</b>	<i>miliMolar</i>
<b>μM</b>	<i>microMolar</i>
<b>°C</b>	<i>graus centígrados</i>
<b>E<sub>máx</sub></b>	<i>efeito máximo</i>
<b>pEC<sub>50</sub></b>	<i>logaritmo negativo da concentração molar de agonista capaz de induzir metade da resposta máxima</i>
<b>ANOVA</b>	<i>análise de variância</i>
<b>SEM</b>	<i>Standard Error of the Mean</i>
<b>n</b>	<i>número de experiências</i>
<b>p</b>	<i>valor de p indicador do intervalo de confiança</i>

## I. INTRODUÇÃO

Ecstasy (MDMA) tornou-se um símbolo entre a população jovem desde o final do século XX e estabeleceu-se como a droga mais popular em ambientes recreativos. Se a exposição ao ecstasy provoca efeitos adversos não só a curto, mas também a longo prazo será expectável o aumento do número de casos que necessitam de tratamento. Isto pode representar um enorme problema de Saúde Pública para qualquer país cuja população jovem seja consumidora. É importante avaliar os seus efeitos para informar melhor a população, mas também para permitir intervenções médicas mais rápidas e eficazes, quando se verifica toxicidade.

As reacções adversas graves são raras e a taxa de morte por ecstasy não é mais elevada que a de outras drogas de abuso. No entanto, a possibilidade dos seus efeitos tóxicos a nível cardiovascular e neuronal, constitui um grave problema de Saúde Pública. Relativamente à neurotoxicidade, estão descritos vários estudos que o comprovam.

A nível cardiovascular, é importante avaliar o exacto mecanismo pelo qual a MDMA induz toxicidade, a fim de elucidar quais os neurotransmissores e receptores envolvidos no processo para permitir uma mais rápida e efectiva actuação. Este trabalho pretende dar uma contribuição nesse sentido, com intuito de avaliar os efeitos da MDMA e dos seus metabolitos a nível vascular, na artéria mamária interna humana, em normotermia e a 40°C, uma vez que um dos efeitos mais notáveis do ecstasy é a hipertermia que produz.

## **I.1- Estrutura da Dissertação**

A presente dissertação está estruturada da seguinte forma:

- **Capítulo 1:** No primeiro capítulo é feita uma breve introdução ao tema.
- **Capítulo 2:** O segundo capítulo faz um enquadramento teórico sobre a MDMA, a hipertermia que produz e sobre a serotonina.
- **Capítulo 3:** No terceiro capítulo são apresentados os objectivos do trabalho.
- **Capítulo 4:** Neste capítulo está descrito o protocolo experimental, os materiais e os métodos utilizados.
- **Capítulo 5:** Neste capítulo são apresentados os resultados obtidos no decorrer do trabalho laboratorial.
- **Capítulo 6:** No sexto capítulo é efectuada a análise e discussão dos resultados obtidos.
- **Capítulo 7:** No último capítulo estão descritas as conclusões retiradas das experiências realizadas.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Ao longo deste capítulo será feito um breve enquadramento teórico, incidindo na estrutura, farmacologia e toxicologia da MDMA. Um dos efeitos adversos mais comuns e perigosos do ecstasy, a hipertermia, que será descrita em pormenor. A MDMA provoca libertação de serotonina, à qual serão dedicadas umas páginas descrevendo os seus subtipos de receptores e o seu envolvimento no sistema cardiovascular.

### 2.1 3,4-metilenodioximetanfetamina (MDMA)

MDMA (Ecstasy) é uma droga com elevado potencial de abuso, cujo crescente consumo tem alta repercussão na saúde pública e na sociedade. O seu consumo está associado a ambientes recreativos, com uma via de administração cómoda e aceitável, com um potencial de abuso e dependência menor que a de outras substâncias, o que leva a ser utilizada por diferentes grupos sociais. Segundo o observatório europeu da droga e toxicodependência, a droga mais consumida nos países da União Europeia é a *cannabis*, seguida do Ecstasy e de anfetaminas. No entanto, o consumo destas últimas atinge valores mais elevados entre os jovens adultos, isto é, entre os 15 e os 34 anos.

Socialmente, o MDMA é conhecido por diversos nomes como Ecstasy, Speed, X, entre outros. Apresenta-se na forma de comprimidos/pastilhas de várias cores e formas (Figura 1), cápsulas ou pó e pode ser ingerido oralmente, fumado ou injectado por via intravenosa ou subcutânea (Ropero-Miller & Goldberger, 1998) sendo a forma oral a mais usada (Cole & Sumnall, 2003). A quantidade e pureza de MDMA existente nos comprimidos são muito variáveis (Bell, Burns, Dennis, Matchett, & Speers, 2000; Cole, Bailey, Sumnall, Wagstaff, & King, 2002), podendo conter outras substâncias como metanfetaminas, cafeína, quetamina e efedrina (Baggott, Heifets, Jones, & Mendelson, 2000; A. Parrott, 2004). O conteúdo de 3,4-metilenodioximetanfetamina existente nos comprimidos é fundamental para determinar se os efeitos clínicos do ecstasy se devem à presença de MDMA. É preciso também ter em conta que muitos dos utilizadores de ecstasy abusam também de outras

drogas, desde álcool, alucinógenos, anfetaminas e cannabis (Scholey, et al., 2004). Os efeitos letais podem ser causados por outras drogas existentes nos comprimidos ou por consumo de várias substâncias. Existe uma grande tendência para os consumidores de ecstasy serem simultaneamente consumidores de álcool, cannabis, outros estimulantes e alucinógenos.

Desde 1980 que têm aumentado o número de reações adversas reportadas, algumas delas fatais (Milroy, Clark, & Forrest, 1996). Enquanto a hipertermia é considerada a maior causa de morte por ecstasy (Henry, Jeffreys, & Dawling, 1992) alguns estudos pós-morte sugerem hiponatremia e fibrose do miocárdio como outras possíveis causas de morte (Milroy, et al., 1996).

O uso de ecstasy tem vindo, também, a ser associado a colapso cardiovascular, morte súbita (Dowling, McDonough, & Bost, 1987; Milroy, et al., 1996), taquicardia ventricular e hipertensão (Lester, Baggott, & Welm, 2000; Mas, et al., 1999).



**Figura 1** - Pastilhas de ecstasy: 10x10 tipos de pastilhas com diferentes formas e cores, contendo numa das faces desenhos alusivos ao nome pelo qual são conhecidos e na outra face uma linha de quebra para meias doses.

## 2.1.2 Contexto histórico

Historicamente, 3,4-metilenodioximetanfetamina (MDMA, Ecstasy) foi sintetizada em 1912 (Milroy, et al., 1996; Rochester & Kirchner, 1999) e patenteada em 1914 pela Merck

Pharmaceuticals na Alemanha, como um supressor do apetite (Rochester & Kirchner, 1999). No entanto, não se tornou popular até às décadas de 70 e 80, quando foi utilizado como auxiliar da psicoterapia, pois, alegadamente, promovia a autoestima, a empatia, as relações interpessoais e a confiança no terapeuta, convidando à autoanálise e favorecendo a introspeção (Grinspoon & Bakalar, 1986). Quando administrada oralmente (75-175mg) produzia efeitos simpaticomiméticos, como o aumento da pressão sanguínea, do batimento cardíaco e ansiedade transitória (Greer & Strassman, 1985; Grinspoon & Bakalar, 1986).

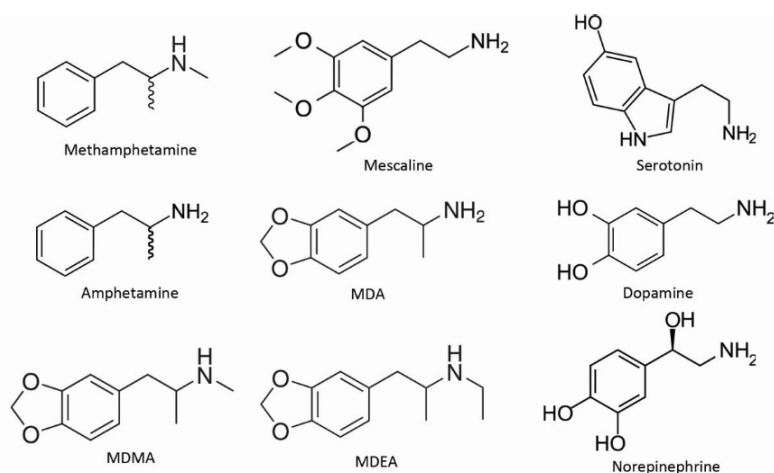
Como as suas aplicações terapêuticas não foram bem estabelecidas e devido ao seu elevado potencial de abuso, em 1985 a DEA (Drug Enforcement Administration) e a FDA (Food and Drug Administration) enquadraram-na na categoria I de substâncias controladas, que inclui substâncias com alto potencial de abuso, sem benefício terapêutico e cujo uso é inseguro mesmo sob supervisão médica (McClain & Sapienza, 1989).

Contudo, esta classificação não teve qualquer influência no seu uso recreativo (Valentine, 2002). Atualmente, e desde a década de 80, o ecstasy tornou-se uma das mais populares drogas recreativas em “raves”, festas de “techno” e outros clubes noturnos de elevado consumo (Diller, et al., 2007; Green, Mehan, Elliott, O’Shea, & Colado, 2003; Schwartz & Miller, 1997).

### **2.1.3 Química e estrutura de 3,4-metilenodioximetanfetamina (MDMA)**

O MDMA é derivado anfetamínico substituído no anel (Figura 2) (Kay, Harper, & Hunt, 2010). Difere da metanfetamina por ter um grupo metilenodioxi (O-CH<sub>2</sub>-O) na posição 3 e 4 do anel aromático, fazendo lembrar a estrutura da mescalina, um alucinógeno. A sua estrutura química assemelha-se com a das anfetaminas e da mescalina, sendo os seus efeitos tanto estimulantes como alucinogéneos (Green, et al., 2003; Gudelsky & Yamamoto, 2008; Kay, et al., 2010; Schwartz & Miller, 1997; Xavier, et al., 2008).





**Figura 2** - Estrutura química de anfetamina e alguns derivados, incluindo MDMA. MDMA, 3,4-metilenodioximetanfetamina; MDA, 3,4-metilenodioxianfetamina; MDEA, 3,4-metilenodioxi-N-etilanfetamina; Mescalina, 3,4,5-trimetoxifenilamina. Adaptado de (Green, et al., 2003; Xavier, et al., 2008).

#### 2.1.4 Efeitos comportamentais produzidos pelo Ecstasy

Após a ingestão de MDMA podem ocorrer vários efeitos fisiológicos como aumento da pressão sanguínea e do ritmo cardíaco, náuseas, tremores, suor, bruxismo, aumento dos reflexos, urgência urinária, tensão muscular, sensação de frio/calor, boca seca e insônia (McCann, Slate, & Ricaurte, 1996).

Após administração oral de uma dose (125mg) de MDMA (Mas, et al., 1999) há marcado aumento da pressão arterial sistólica e diastólica e do ritmo cardíaco, assim como o aumento das concentrações plasmáticas de prolactina e cortisol. Os sintomas cardiovasculares são atenuados por pré-tratamento com citalopram (M. Liechti, Baumann, Gamma, & Vollenweider, 2000).

Os efeitos psicológicos relatados são euforia e redução de pensamentos negativos, mas também depressão, irritabilidade, ataques de pânico, alucinações visuais e ilusões paranoicas (C. Brown & Osterloh, 1987; Creighton, Black, & Hyde, 1991; Davison & Parrot, 1997; McCann, et al., 1996).

Um estudo que envolveu 20 voluntários (Davison & Parrot, 1997) relata aumento da energia, sensação de felicidade e amizade, calma, relaxamento, confusão e um aumento na

percepção do som, calor e toque. Quando o efeito da droga passava reportavam letargia, irritabilidade, insónia, depressão e paranoia.

O pré-tratamento com citalopram inibe a maioria dos efeitos psicológicos e comportamentais causados pela MDMA. No entanto, a sensação de excitabilidade emocional e o aumento da sensibilidade induzida pelo ecstasy não mostraram ser alteradas pelo citalopram, o que parece indicar que a indução destes efeitos não envolve o local de captação da 5-HT (M. Liechti, et al., 2000). O tratamento crónico com citalopram e paroxetina previne a sensação de euforia provocada pela MDMA. O pré-tratamento com cetanserina, um antagonista do subtipo de recetores 5-HT<sub>2A</sub>, reduz significativamente as mudanças perceptivas e a excitabilidade emocional, embora produza pouco efeito na sensação de bem-estar e humor positivo (M. Liechti, et al., 2000). O pré-tratamento com haloperidol, um antagonista do subtipo de recetores D<sub>2</sub> da dopamina reduz a sensação de euforia e de bom humor, o que sugere um envolvimento da dopamina nos efeitos psicológicos induzidos pelo ecstasy.

A longo prazo, existem efeitos adversos relatados como erosão dentária, dor miofacial secundária ao bruxismo (McCann, et al., 1996) e hepatotoxicidade (Henry, et al., 1992; McCann, et al., 1996; Milroy, et al., 1996), o que pode dever-se também a contaminantes existentes nas pastilhas. As alucinações visuais e ilusões paranoicas podem persistir dias ou semanas após o consumo, juntamente com depressão, pânico e alterações no comportamento (Creighton, et al., 1991; McCann, et al., 1996; McGuire, Cope, & Fahy, 1994; Morgan, 2000; A. C. Parrott, Sisk, & Turner, 2000).

O uso regular pode conduzir a psicose crónica (Creighton, et al., 1991; McGuire & Fahy, 1991).

### **2.1.5 Farmacocinética**

Nos humanos, os níveis sanguíneos de MDMA atingem o pico duas horas após a ingestão, embora sejam detetáveis 15 minutos depois (C. Brown & Osterloh, 1987; Brunnenberg, Lindenblatt, Gouzoulis-Mayfrank, & Kovara, 1998; De La Torre, et al., 2000; Helmlin, Bracher, Bourquin, Vonlanthen, & Brenneisen, 1996; Mas, et al., 1999). O tempo de meia-vida é de 8 horas e grande parte da MDMA é excretado na urina. A análise urinária da MDMA e dos seus principais metabolitos demonstrou que aproximadamente 50% da MDMA é recuperada dentro de 24 horas, independentemente da dose. Aumentando de 50 mg para

150 mg a dose de MDMA ingerida, a AUC (área sob a curva) da concentração plasmática versus tempo aumenta 10 vezes. Isto sugere que a MDMA apresenta uma cinética não linear, em que pequenos aumentos na dose levam a elevadas concentrações plasmáticas e risco aumentado de overdose (De La Torre, et al., 2000; Mas, et al., 1999). Os autores sugerem que a clearance não renal da MDMA é dose dependente, isto é, N-Me- $\alpha$ -MeDA, um dos seus metabolitos (Figura 3) é o produto major no plasma para baixas doses, enquanto para elevadas doses administradas, MDMA é o produto predominante.

De La Torre, et al., (2000) investigaram a farmacocinética de uma única dose de MDMA (50, 75, 100, 125 e 150 mg). Da análise feita ao plasma, verificou-se que a N-Me- $\alpha$ -MeDA é o produto major plasmático após ingestão das doses de 50, 75 e 100 mg; enquanto para doses de 125 e 150 mg a MDMA é o produto principal. Ou seja, aumentando a dose de MDMA ingerida, o aumento plasmático não segue a mesma proporção, o que indica não linearidade. Uma das explicações pode ser a saturação do metabolismo da MDMA para altas doses ou podem haver interações dos metabolitos com a via metabólica (algum dos seus metabolitos pode inibir o citocromo P450 (CYP) 2D6, que é responsável pela clearance do MDMA). Esta cinética saturável significa que para elevadas doses, o metabolismo é relativamente mais lento. Alternativamente, pode aumentar a fração de droga biodisponível, à medida que se aumenta a dose ingerida (De La Torre, et al., 2000).

Existem relatos de que as pastilhas de ecstasy contenham entre 75 mg a 150 mg de MDMA (Henry, et al., 1992; Schifano, 1991). Contudo algumas análises revelaram doses acima de 250 mg por pastilha. Na realidade, muitos indivíduos reportam tomar cerca de 10 a 25 pastilhas/doses por ocasião (A. Parrott, 2004), o que pode facilmente levar a toxicidade. A média varia entre 1 e 2,8 pastilhas por sessão, no entanto, mais de 44% dos consumidores afirmam tomar mais que uma pastilha e 25% tomam 4 ou mais pastilhas por ocasião (Winstock, Griffiths, & Stewart, 2001). Alguns indivíduos confessam tomar 10 a 25 pastilhas por sessão (A. Parrott, 2004). Muitos consumidores tomam uma pastilha inicialmente e depois repetem a administração em intervalos diferentes para alcançarem os efeitos desejados, mas outros tomam várias pastilhas ao mesmo tempo (Hammersley, Ditton, Smith, & Short, 1999).

## 2.1.6 Farmacologia da MDMA: efeitos nos transportadores e neurotransmissão

Diferentes estudos realizados sugerem que a MDMA atua sobre os sistemas serotoninérgico, dopaminérgico e noradrenérgico (Green, et al., 2003; Gudelsky & Yamamoto, 2008; Xavier, et al., 2008).

A administração de MDMA promove preferencialmente a libertação de serotonina, tanto *in vivo* como *in vitro* (Green, et al., 2003). A MDMA tem alta afinidade para o transportador da serotonina (SERT), comportando-se como um substrato e promovendo a libertação do neurotransmissor (Huether, Zhou, & Rüther, 1997; Levi & Raiteri, 1993). Está reportado que o pré-tratamento com um inibidor da recaptação da serotonina (Green, et al., 2003) atenua marcadamente a libertação de 5-HT, o que indica a atuação do MDMA na libertação de serotonina, via SERT (M. Liechti, et al., 2000). Portanto, é possível que o SERT esteja envolvido na libertação de 5-HT causada pela MDMA (Green, et al., 2003; Gudelsky & Yamamoto, 2008).

Por outro lado, a MDMA inibe a ação da triptofano hidroxilase, enzima necessária à síntese da serotonina (Che, Johnson, Hanson, & Gibb, 1995). Alguns estudos sugerem que a inibição da recaptação da 5-HT é mais importante que a sua libertação direta no aumento da concentração de 5-HT (Iravani, Asari, Patel, Wieczorek, & Kruk, 2000). A droga é também responsável pela inibição da MAO<sub>A</sub> e MAO<sub>B</sub>, enzima responsável pela metabolização da serotonina e dopamina no terminal nervoso, contribuindo para um aumento destes neurotransmissores (Leonardi & Azmitia, 1994).

A afinidade do MDMA para o local de captação serotoninérgica é muito superior à afinidade dopaminérgica (Schmidt, Sullivan, & Fadayel, 1994) e provoca a libertação de noradrenalina com potência semelhante à da serotonina (Rothman, et al., 2001). Tem também sido referida a atuação da MDMA na libertação de acetilcolina (Fischer, Zernig, Schatz, Humpel, & Saria, 2000). MDMA induz, ainda, a libertação de cortisol e prolactina (Mas, et al., 1999), corticotropina (Grob, Poland, Chang, & Ernst, 1996) e vasopressina (Henry, et al., 1998). Provoca alterações do foro imunológico, provavelmente relacionadas com a libertação de corticosteroides e do seu efeito simpaticomimético. É de salientar, que o ecstasy induz tolerância farmacológica, o que leva a muitos consumidores ingerirem doses cada vez maiores para obter os efeitos pretendidos (Mangado, 2002).

### **2.1.7 Efeitos da MDMA no sistema cardiovascular**

MDMA causa estimulação simpática e aumenta as necessidades de oxigênio no miocárdio, levando a taquicardia, vasoconstrição, variações na pressão sanguínea e arritmias. Em casos severos, o vasoespasmo pode levar a enfarte agudo do miocárdio e irreversíveis cardiomiopatias podem ocorrer (Ghuran & Nolan, 2000). Em autópsias de consumidores de ecstasy observou-se necrose dos cardiomiócitos quer localizada, quer geral (Milroy, et al., 1996) e hipertrofia do miocárdio (Patel, et al., 2005). O consumo continuado de MDMA pode desencadear alterações significativas a nível cardiovascular, por aumento de arritmias e problemas inflamatórios nos cardiomiócitos (Badon, et al., 2002).

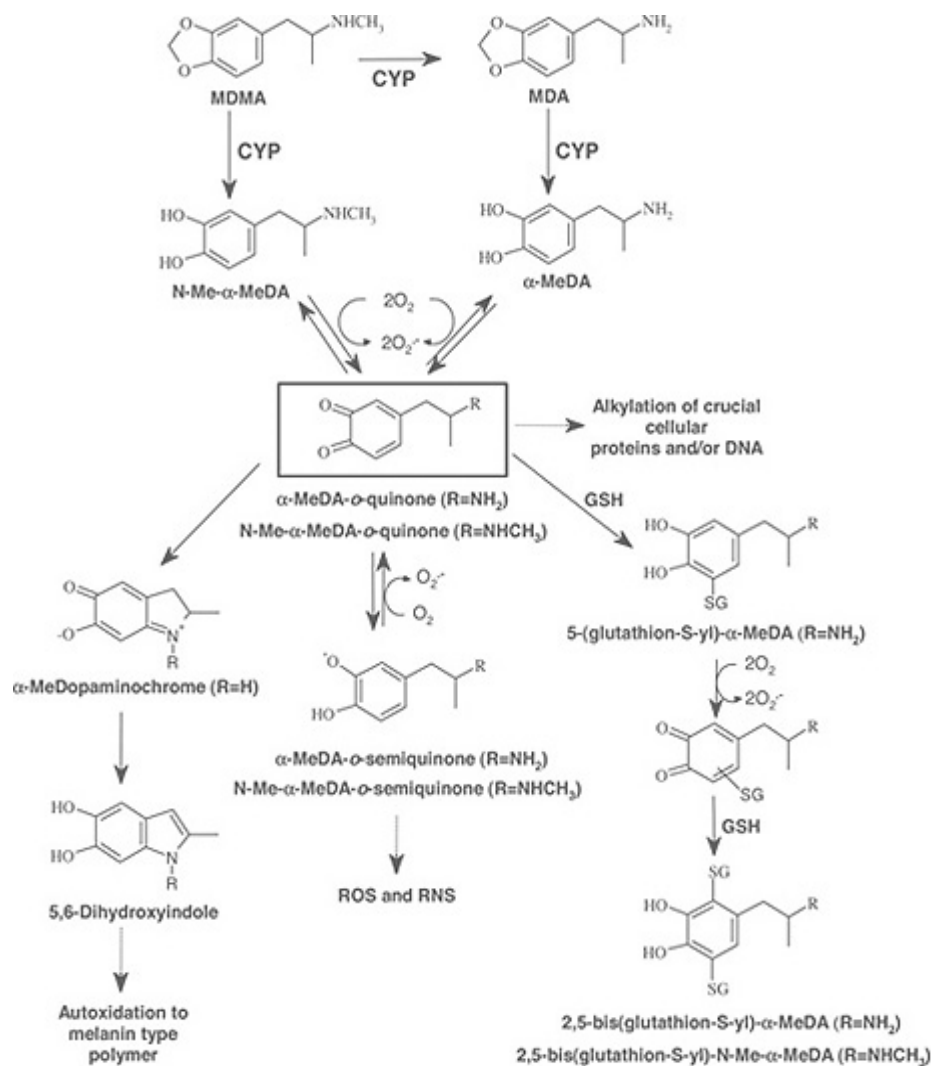
Sabe-se que uma única dose de MDMA, 75-125 mg, produz aumento na pressão sistólica e no ritmo cardíaco, em humanos (Mas et al., 1999) e taquicardia e arritmias em corações isolados de ratos (Fitzgerald & Reid, 1994), o que levou os autores a concluir o efeito simpaticomimético da MDMA nos tecidos cardiovasculares. Facilita a vasoconstrição em ratos e coelhos (Fitzgerald & Reid, 1994) e provoca estimulação cardíaca (Gordon, Watkinson, O'Callaghana, & Millera, 1991).

O súbito efeito hipertensivo do MDMA pode causar hemorragia cerebral ou enfarte em alguns casos (Henry, et al., 1992; Manchanda & Connolly, 1993). Um mecanismo similar foi sugerido para a hemorragia da retina, que pode ocorrer logo após a ingestão de ecstasy (Jacks & Hykin, 1998), embora se pense que as hemorragias possam ser uma reação idiossincrática à intoxicação (Cole & Sumnall, 2003). Sabe-se que a MDMA provoca vasoconstrição (Fitzgerald & Reid, 1994; Pedersen & Blessing, 2001), reversível quando é administrada clozapina ou olanzapina, provavelmente pela interação com os recetores da serotonina. As complicações cerebrovasculares e cardiovasculares parecem ser um efeito direto do ecstasy (Cole & Sumnall, 2003).

### **2.1.8 Metabolismo da MDMA**

Administrações sistêmicas de MDMA em ratos resultam em toxicidade para os terminais serotoninérgicos; no entanto, injeções intracerebrais de MDMA não produzem qualquer dano. Vários estudos falharam ao tentar provar neurotoxicidade quando MDMA foi injetada diretamente no cérebro (Paris & Cunningham, 1992). Isto pode indicar que é necessário metabolismo sistémico prévio para que ocorram os eventos neurotóxicos (T.J.

Monks, Jones, Fengju, & Lau, 2004), ou seja, um metabolito tóxico formado parece ser o responsável. Esta hipótese é também sustentada pelo facto da depleção dos terminais serotoninérgicos induzida pelo MDMA ser atenuada por pré-tratamento com inibidores do CYP450 e potenciada pelo pré-tratamento com fenobarbital, que induz as isoenzimas do CYP450 e aumenta a N-demetilação *in vitro* (Gollamudi, et al., 1989).



**Figura 3** - Possível via para o metabolismo do MDMA. Retirado de (Capela, et al., 2006).

O metabolismo do MDMA envolve N-demetilação a MDA. MDMA e MDA são O-demetilados a N-metil-α-metildopamina (N-Me-α-MeDA) e α-metildopamina (α-MeDA), respetivamente (Kumagai, Lin, Schmitz, & Cho, 1991; Lim & Foltz, 1988) pelos citocromos P450 2D, 2B e 3a (Kreth, Kovar, Schwab, & Zanger, 2000; Kumagai, et al., 1994). Estes metabolitos reativos são rapidamente oxidados às respetivas o-quinonas. Estas são moléculas altamente reativas e podem entrar em ciclo redox e originar radicais semiquinona, levando à formação de espécies reativas de oxigénio (ROS), incluindo anião superóxido e peróxido de

hidrogénio (Bolton, Trush, T.M., Dryhurst, & Monks, 2000) e espécies reativas de nitrogénio (RNS) (T.J. Monks & Lau, 1997). Alternativamente, os intermediários reativos *o*-quinona podem causar dano celular por alquilação com proteínas celulares e/ou com DNA. Na presença de glutatona (GSH), a oxidação de  $\alpha$ -MeDA e N-Me- $\alpha$ -MeDA à correspondente *o*-quinona é seguida pela conjugação com GSH formando 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA e 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA, respetivamente (Hiramatsu, Kumagai, Unger, & Cho, 1990). Este conjugado permanece reativo e pode ser oxidado a quinona-GSH, seguido de adição de uma segunda molécula de GSH formando conjugados 2,5-bis-glutationil (Miller, Lau, & Monks, 1997).

A conjugação da glutatona com compostos electrofílicos, normalmente, resulta em desintoxicação e subsequente eliminação via ácido mercaptúrico. No entanto, foram reportados vários exemplos em que a conjugação de quinonas com GSH não elimina a sua atividade biológica ou reatividade toxicológica (Dekant, 2001; T.J. Monks & Lau, 1997; Van Bladeren, 2000), mas pode resultar numa preservação ou aumento da sua atividade biológica.

MDA, N-Me- $\alpha$ -MeDA,  $\alpha$ -MeDA são os produtos major resultantes do metabolismo hepático do MDMA (T.J. Monks, et al., 2004). *In vitro*, as concentrações de N-Me- $\alpha$ -MeDA e  $\alpha$ -MeDA vão decrescendo ao longo do tempo (Carvalho, et al., 2004) devido à sua oxidação aos correspondentes aminocromos e conjugação com GSH. N-Me- $\alpha$ -MeDA é o principal metabolito plasmático em humanos, enquanto em ratos é  $\alpha$ -MeDA (De La Torre & Farré, 2004; Easton & Marsden, 2006). Vários estudos conduzidos em humanos identificaram e quantificaram N-Me- $\alpha$ -MeDA e  $\alpha$ -MeDA no plasma (Pizarro, et al., 2004; Segura, et al., 2005; Segura, et al., 2001). As reações metabólicas em ratos e humanos são semelhantes, apenas variam nas taxas metabólicas cinéticas (De La Torre & Farré, 2004). A maior via metabólica do MDMA é a oxidação do grupo metilendioxifenil, catalisada no fígado pela debrisoquina 4-hidroxilase (CYP2D6), pertencente à família das enzimas do citocromo P450 (Tucker, et al., 1994). A fração de N-Me- $\alpha$ -MeDA convertido ao GSH-conjugado varia muito de indivíduo para indivíduo, mesmo expostos às mesmas doses de MDMA, devido ao elevado polimorfismo humano na participação das isoenzimas do CYP2D6 (Carmo, et al., 2006; De la Torre, et al., 2005).

Sabe-se que o metabolismo hepático é um pré-requisito para a toxicidade renal do MDMA e MDA, em ratos (Carvalho, et al., 2002b). Encontra-se relatado que  $\alpha$ -MeDA e a N-Me- $\alpha$ -MeDA (catecóis) são mais tóxicas para os neurónios corticais que o próprio MDMA (Capela, et al., 2006) e que os conjugados com a glutatona são mais neurotóxicos que os correspondentes catecóis (Capela, et al., 2007). O efeito da hipertermia como potenciador

da neurotoxicidade dos metabolitos encontra-se também evidenciado na literatura (Capela, et al., 2007; Capela, et al., 2006).

5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA e 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA levam à formação de espécies reativas, incluindo ROS e RNS. Aliás, os conjugados com a GSH continuam ativos e podem originar quinonas altamente reativas, que podem entrar em ciclo redox e originar radicais semiquinona, com capacidade de originar espécies reativas de oxigénio (ROS) e nitrogénio (RNS) (Capela, et al., 2006) e de formarem ligações covalentes com o DNA (Miyazaki, et al., 2006).

Sabe-se que a adição de GSH *in vitro* ao MDMA resulta na formação de um produto electroquimicamente ativo, dependendo da presença de GSH, microssomas intactos e de um sistema que produza NADPH. Resultados semelhantes foram obtidos quando se adicionou GSH a N-Me- $\alpha$ -MeDA. O que sugere que o metabolismo do MDMA pode resultar na produção de compostos capazes de reagir com a glutatona (Hiramatsu, et al., 1990).

### **2.1.9 Estudos realizados com MDMA e seus metabolitos**

Na literatura estão descritos vários estudos envolvendo metabolitos da MDMA. A maioria referem-se à neurotoxicidade, mas alguns descrevem também toxicidade cardiovascular e renal.

No que respeita à neurotoxicidade, sabe-se que a MDMA é neurotóxica, provocando morte celular em várias regiões cerebrais, como no córtex, no estriato e no tálamo. A morte celular induzida pelo MDMA provou-se seguir uma via apoptótica (Capela, et al., 2006). Esta neurotoxicidade produzida pelo ecstasy parece dever-se à estimulação do subtipo de recetores 5-HT<sub>2A</sub> (Battaglia, Yeh, & De Sousa, 1988; Capela, et al., 2006), uma vez que o pré-tratamento com cetanserina, um antagonista 5-HT<sub>2A</sub>, reduz a toxicidade neuronal da droga, enquanto o tratamento com um agonista 5-HT<sub>2A</sub> provoca morte celular (Capela, et al., 2006).

A neurotoxicidade do MDMA *in vivo* é devida à libertação de dopamina e serotonina que causa excitose de glutamato e aumento dos níveis de cálcio intracelulares, o que conduz a apoptose e morte neuronal (Green, et al., 2003; McCann, et al., 1996).



MDA, N-Me- $\alpha$ -MeDA e  $\alpha$ -MeDA são os maiores metabolitos hepáticos da MDMA (T.J. Monks, et al., 2004). N-Me- $\alpha$ -MeDA e  $\alpha$ -MeDA, *in vitro*, vão diminuindo as suas concentrações ao longo do tempo, devido à sua oxidação aos correspondentes aminocromos e à sua conjugação com a glutathiona (Carvalho, et al., 2004). Tanto os catecóis, N-Me- $\alpha$ -MeDA e  $\alpha$ -MeDA, como os seus conjugados, 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA e 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA, induzem neurotoxicidade cortical, provocando morte neuronal por uma via apoptótica (Capela, et al., 2006). Capela, et al., (2007) mostrou que  $\alpha$ -MeDA e N-Me- $\alpha$ -MeDA não provocam neurotoxicidade, ao fim de 6 horas; já os correspondentes conjugados, 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA e 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA, provaram ser tóxicos no mesmo período de tempo. Verificaram que 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA é uma potente toxina, mostrando o maior grau de neurotoxicidade. Ao aumentarem o tempo de incubação, N-Me- $\alpha$ -MeDA e  $\alpha$ -MeDA revelaram alguma toxicidade neuronal, enquanto os respetivos conjugados com a glutathiona aumentaram dramaticamente a sua toxicidade. A toxicidade de 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA e 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA mostrou ser potenciada a 40°C (Capela, et al., 2007). Concluíram, assim, que estes metabolitos são neurotóxicos numa forma dependente do tempo, concentração e temperatura. 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA e 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA comportam-se como potentes neurotoxinas quando comparadas com os correspondentes catecóis e com o próprio MDMA.

Sabe-se que um dos efeitos graves causados pela administração de MDMA é a falha renal aguda ou crónica (Henry, et al., 1992). Um estudo que testou a toxicidade dos metabolitos da MDMA para as células proximais tubulares renais humanas e de ratos (Carvalho, et al., 2002a) verificou que nem a MDMA, nem a MDA produziam efeitos tóxicos nas células tubulares. Em contraste,  $\alpha$ -MeDA e 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA diminuíram significativamente a viabilidade das células renais estudadas. Portanto, os autores concluíram que o metabolismo é um pré-requisito para a toxicidade renal do ecstasy, sendo a 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA uma potente nefrotoxina.

MDMA mostrou produzir tanto neuro como cardiotoxicidade em humanos e animais. Administração de ecstasy provoca aumento do batimento cardíaco, da pressão arterial e aumento do consumo de oxigénio pelo miocárdio em humanos (Lester, et al., 2000) e em animais, o que resulta em hipertensão, arritmias, isquémia e falha cardíaca. Mesmo uma única administração de ecstasy pode produzir cardiotoxicidade *in vitro* (Cerretani, et al., 2008).

Recentemente, demonstrou-se que uso de MDMA reduz marcadamente as células estaminais e culturas de células embrionárias corticais, acompanhadas por mudanças na expressão de RNA<sub>m</sub> dos recetores específicos e neurotransmissores glutaminérgicos e monoaminérgicos (Kindlundh-Hogberg, et al., 2009). Isto também pode ajudar a explicar a cardiotoxicidade e neurotoxicidade induzida pela MDMA, nomeadamente o stress oxidativo, a apoptose, agonismo do subtipo de recetores 5-HT<sub>2A</sub> e, ainda, a formação de metabolitos tóxicos (Capela, et al., 2007; Cerretani, et al., 2008). MDMA provou também ser teratogénico (Meamar, et al., 2010).

Relativamente à toxicidade cardiovascular, Carvalho, et al., (2006) avaliaram a ação da MDMA, MDA,  $\alpha$ -MeDA e N-Me- $\alpha$ -MeDA em cardiomiócitos de rato isolados e verificaram que ao fim de 4 horas, não se verificaram efeitos tóxicos nas preparações que continham MDMA e MDA. No entanto, as incubações com  $\alpha$ -MeDA e N-Me- $\alpha$ -MeDA induziram toxicidade significativa para os cardiomiócitos, nas mesmas 4 horas. Os autores concluíram que é necessário o prévio metabolismo da MDMA a  $\alpha$ -MeDA e N-Me- $\alpha$ -MeDA para induzir a cardiotoxicidade *in vitro*, tendo-se verificado a N-Me- $\alpha$ -MeDA como o metabolito mais tóxico.

### **2.1.10 MDMA e interação com outras drogas**

3,4-metilenodioximetanfetamina (MDMA), é uma das drogas mais usadas entre a população jovem. Tal como a maioria das outras drogas recreativas, a MDMA é consumida em combinação com outras substâncias, incluindo tabaco, álcool, cannabis, anfetaminas, cocaína e cafeína. Torna-se, por isso, importante, analisar os efeitos de cada droga sozinha, assim como os efeitos do seu consumo em simultâneo.

Relativamente à farmacocinética da MDMA, sabemos que o seu metabolismo envolve o citocromo P450 2D6 (CYP2D6) (Tucker, et al., 1994). Como descrito, a MDMA apresenta uma cinética não-linear, isto é, pequenos aumentos na dose levam a aumentos maiores que os previsto na circulação sanguínea (De La Torre, et al., 2000). A inibição competitiva do CYP2D6 por outras substâncias, como fluoxetina, paroxetina, cocaína (Ramamoorthy, et al., 2002), derivados anfetamínicos (Wu, Otton, Inaba, Kalow, & Sellers, 1997) e metabolitos do haloperidol (Shin, Kane, & Flockhart, 2001), aumenta as concentrações plasmáticas de MDMA. Existem elevada variabilidade individual relativamente ao CYP2D6, em que alguns indivíduos exibem rápido metabolismo, enquanto noutros o metabolismo é mais lento,

levando a grande variabilidade nas concentrações plasmáticas de MDMA e seus metabolitos (Ramamoorthy, et al., 2002; Tucker, et al., 1994).

O conhecimento de farmacogenética da MDMA é crucial para a compreensão dos diferentes efeitos individuais, incluindo toxicidade (Davison & Parrot, 1997) e interação com outras substâncias.

Em termos de interação farmacodinâmica, sabemos que a MDMA inibe a recaptação de serotonina, facilita a sua libertação e causa aumento dos níveis de dopamina e noradrenalina (Lyles & Cadet, 2003). Portanto, a coadministração de outras substâncias pró-serotoninérgicas, como anfetaminas, cocaína, dextrometorfano, entre outras, pode levar ao aumento da gravidade dos efeitos causados pelo ecstasy, com aumento do risco de desenvolver síndrome serotoninérgico (Sternbach, 1991).

## **2.2 Hipertermia**

Embora o ecstasy proporcione efeitos desejáveis, como euforia, sensação de bem-estar, mudanças na percepção e relaxamento, existem também vários e graves efeitos adversos. Apesar de a sua incidência ser baixa, estes eventos são imprevisíveis e podem levar à morte ou morbidade (Gowing, Henry-Edwards, Irvine, & Ali, 2002; Williamson, et al., 1997). Um dos maiores efeitos adversos da ingestão de MDMA é a hipertermia (Freedman, Johanson, & Tancer, 2005), que pode desencadear arritmias cardíacas, falha renal aguda, rabdomiólise e coagulação vascular disseminada (Lyles & Cadet, 2003; Screatton, et al., 1992). Estão descritos, ainda, outros efeitos como problemas motores, musculares e taquicardia (Lyles & Cadet, 2003).

A maior causa de fatalidade relatada de toxicidade da MDMA é a hipertermia, com temperaturas corporais relatadas acima de 43°C (Henry, et al., 1992). O uso de ecstasy em condições de elevada temperatura ambiente, intensa atividade física e desidratação, ou seja, nas condições das festas e “raves”, podem também contribuir para o aumento da temperatura corporal provocado pelo consumo de ecstasy (Green, et al., 2003).

A hipertermia causada pela ingestão de ecstasy pode causar dano hepático, por impacto do stress termal e induzir peroxidação lipídica (Jones & Simpson, 1999). Pode ainda levar à

depleção de glutatona, aumentando a exposição a pró-oxidantes (Carvalho, Carvalho, & Bastos, 2001).

Existe evidência que a hipertermia continuada aumenta a capacidade neurotóxica da MDMA (M. Colado, Granados, O`Shea, Esteban, & Green, 1998), embora a neurotoxicidade possa ocorrer sem hipertermia. Alguns fármacos que protegem contra a neurotoxicidade induzida pela MDMA, em animais, também previnem a hipertermia causada, enquanto outros, por exemplo fenobarbital e cetanserina, perdem a sua capacidade neuroprotectora quando a temperatura é aumentada (Malberg, Sabol, & Seiden, 1966). Por outro lado, a adição de fluoxetina, um inibidor seletivo da recaptção da serotonina, não provoca qualquer efeito na hipertermia causada pela MDMA, no entanto, protege contra a neurotoxicidade induzida pela MDMA (Malberg, et al., 1966). A relação existente entre hipertermia e neurotoxicidade continua por esclarecer.

### **2.2.1 Farmacologia da resposta hipertérmica**

Os neurotransmissores envolvidos no controlo da temperatura corporal incluem a serotonina (5-HT) e a dopamina (DA). Ora, a MDMA atua aumentando o nível destes neurotransmissores no sistema nervoso central, o que leva aos seus efeitos na temperatura corporal. Foi demonstrado que o uso de inibidores da recaptção de 5-HT e de DA ou antagonistas destes recetores previnem a hipertermia induzida pelo MDMA. Contudo, estes resultados são variáveis (Malberg, et al., 1966; A. Mechan, et al., 2002), sugerindo que o exato mecanismo é muito complexo.

A hipertermia pode ser produzida por aumento da função serotoninérgica, quer por administração de L-triptofano com um inibidor da MAO (Grahame-Smith, 1971) quer por agonistas 5-HT (M. I. Colado, Murray, & Green, 1993; Grahame-Smith, 1971). Durante algum tempo, pensou-se que a hipertermia provocada pelo MDMA era devida à libertação de 5-HT e a ativação pós-sináptica do subtipo de recetores 5-HT<sub>2A/2C</sub> (Green, Cross, & Goodwin, 1995; O`Loinsigh, Boland, Kelly, & O`Boyle, 2001; Schmidt, Abbate, Black, & Taylor, 1990). A hipertermia pode ser mediada pela 5-HT (Shankaran & Gudelsky, 1999), mas também pela libertação de DA (Bronstein & Hong, 1995). Um estudo (A. Mechan, et al., 2002) que usou antagonistas do subtipo de recetores 5-HT<sub>2A</sub> e 5-HT<sub>2C</sub> falhou no bloqueio da indução da hipertermia pelo MDMA, suportando o envolvimento da dopamina. A administração de fluoxetina, um inibidor seletivo da recaptção de 5-HT, demonstrou bloquear

significativamente o aumento extracelular de serotonina, mas não teve qualquer efeito na hipertermia. Este distanciamento entre a liberação de 5-HT e a hipertermia pode indicar o envolvimento de outros neurotransmissores no processo hipertérmico (Green, et al., 2003). Observou-se, ainda, (A. Mehan, et al., 2002) que ao administrar um antagonista do subtipo de recetores D1 da dopamina, ocorria uma inibição dose-dependente da hipertermia causada pelo ecstasy, em que os autores concluíram que esta hipertermia podia ser provocada pelo aumento da liberação de dopamina ao nível do subtipo de recetores D1.

### **2.2.2 Estudos laboratoriais em ratos vs estudos em humanos**

Um estudo (Gordon, et al., 1991) relata que MDMA exerce profundos efeitos no sistema termo regulador do rato, em que o aumento da temperatura corporal está altamente relacionado com a temperatura ambiente ( $T_a$ ). Os ratos ficam hipertérmicos quando MDMA é administrado em ambientes quentes e a combinação da droga com o calor pode ser fatal (P. L. Brown & E.A., 2004).

Esta investigação animal está descrita em vários artigos (Green, et al., 2003; Green, et al., 2004; Mills, Rusyniak, & Sprague, 2004; Sprague, Mallett, Rusyniak, & Mills, 2003; Sprague, Yang, Sommers, Gilman, & Mills, 2007). As descobertas em animais tiveram grandes implicações para os humanos, pois muitos dos processos metabólicos e celulares envolvidos no aumento da temperatura são similares.

No entanto, nos humanos os mecanismos que envolvem a dissipação de calor, como pilo ereção e o suor, são distintos dos ratos (Rusyniak & Sprague, 2005). As descobertas que afirmam que os efeitos do MDMA na temperatura corporal do rato variam com a  $T_a$  não são facilmente extrapoladas para os humanos (Gordon, 2007).

Nos humanos, ao contrário dos ratos, MDMA produz hipertermia, tanto em condições ambientais frias (18°C), como quentes (30°C), por aumento da taxa metabólica (Tancer, Johanson, & Freedman, 2003).

### **2.2.3 Casos relatados**

MDMA foi usado como droga recreativa pela primeira vez no início dos anos 80 (A. Parrott, 2004; Shulgin, 1986) e foi-se tornando mais popular, surgindo os primeiros casos reportados de hipertermia. As primeiras fatalidades estão descritas com temperaturas corporais a rondarem os 40°C (Chadwick, Curry, Linsley, Freemont, & Doran, 1991; Henry, et al., 1992), apesar destas reações térmicas serem raras.

Os efeitos da MDMA na temperatura corporal em humanos foram investigados em vários estudos laboratoriais e, enquanto baixas dosagens geram alterações não significativas, altas doses de MDMA provocam aumentos significativos (Freedman, et al., 2005; M. Liechti, et al., 2000; M. E. Liechti, Gamma, & Vollenweider, 2001; Mas, et al., 1999).

A regulação da temperatura envolve um balanço entre a produção de calor e a sua dissipação. A MDMA atua em ambos os lados desta equação (Parrot, 2012) por aumento da atividade metabólica e produção de calor, enquanto os mecanismos de dissipação podem estar saturados, com atraso da sudorese (Freedman, et al., 2005; Gordon, 2007). Continua por clarificar o porquê de alguns utilizadores referirem sensações de muito calor, outros sentirem-se ligeiramente quentes e uma minoria não relatar qualquer sensação de calor (Parrot, 2006). Muitas destas variações podem dever-se a fatores genéticos ou variações endógenas dos mecanismos de regulação termal.

Casos de hipertermia aguda necessitam de intervenção médica urgente, caso contrário podem ser fatais.

### **2.2.4 Hipertermia e formação de radicais livres**

Hipertermia leva ao aumento da formação de radicais livres (Cadet, Ladenheim, Baum, Carlson, & Epstein, 1994; Gudelsky & Nash, 1996; Halliwell, 1992), que pode levar a toxicidade. A hipertermia pode assumir um papel importante na morte neuronal induzida pelo MDMA.

Tendo em conta que os metabolitos da MDMA são compostos que podem produzir ROS/RNS e diminuir os níveis de GSH, a hipertermia ao induzir stress oxidativo pode potenciar a sua toxicidade. Está demonstrado que a MDMA causa hipertermia dose-

dependente em animais de laboratório e, em humanos, esta hipertermia induzida pelo MDMA pode ser fatal (Green, et al., 2003; Henry, et al., 1992).

A administração de MDMA aumenta a formação de radicais livres no cérebro (M. Colado, O`Shea, Granados, Murray, & Green, 1997; Sprague & Nichols, 1995) por aumento da peroxidação lipídica cerebral. Estudos que envolveram a administração de antioxidantes (Aguirre, Barrionuevo, Ramírez, Río, & Lasheras, 1999; Shankaran & Gudelsky, 1999) antes de MDMA provaram a proteção contra neurotoxicidade causada pelo ecstasy. A formação de radicais livres é marcadamente atenuada quando a hipertermia causada pelo MDMA é prevenida. Portanto, a hipertermia representa um grande papel na morte neuronal induzida pela MDMA.

A hipertermia pode potencializar a depleção de glutathione, aumentando o risco de exposição dos hepatócitos a agentes pró-oxidativos (Carvalho, et al., 2001). A própria metabolização da MDMA leva à depleção de glutathione, formando metabolitos pró-oxidantes capazes de induzir stress oxidativo, efeito potenciado pela hipertermia, ela também responsável por induzir stress e potencializar a toxicidade (Capela, et al., 2006).

## **2.3 Hidroxitriptamina (5-HT)**

A serotonina é sintetizada a partir do aminoácido triptofano pela triptofano hidroxilase. A principal via metabólica envolve a monoamina oxidase (MAO), com formação de ácido 5-hidroxitriptamínico. A serotonina é sintetizada no SNC e nas células enterocromafins do intestino e é libertada na circulação. É depois metabolizada no fígado ou nos pulmões ou captada pelas plaquetas de onde é libertada durante a sua agregação. As principais funções da 5-HT são: regulação da motilidade intestinal; atuação como neurotransmissor; ações no sistema cardiovascular, gastrointestinal e SNC, entre outras.

### **2.3.1 Efeitos patogénicos da Serotonina**

Os efeitos prejudiciais da serotonina devem-se à sua libertação das plaquetas, o que pode produzir trombos, espasmo vascular, mitogénese e proliferação das células do músculo vascular liso. O endocárdio protege o miocárdio por prevenção da agregação plaquetar, mas

quando o endocárdio é lesado, a secreção de serotonina é facilitada (Shah, Andries, Meulemans, & Brutsaert, 1989) e pode exercer efeitos perigosos nas células do miocárdio (Kaumann & Sanders, 1994). Os níveis plasmáticos de serotonina libertados das células enterocromafins também parecem estar mais elevados em doentes com insuficiência cardíaca congestiva (Chandra, et al., 1994).

Alterações no polimorfismo do transportador da 5-HT (SERT) estão associadas a elevado risco de enfarte do miocárdio (Fumeron, et al., 2002). Uma baixa expressão do transportador da 5-HT nas plaquetas, reduz a captação de serotonina e conseqüentemente, menos 5-HT está disponível para ser libertada, reduzindo o risco de agregação plaquetar, trombos e espasmo vascular. Antidepressivos como os inibidores da recaptção da serotonina diminuem a quantidade de 5-HT armazenada (Hergovich, et al., 2000), reduzindo a incidência de enfarte do miocárdio. Os inibidores seletivos da recaptção da serotonina, como a sua afinidade para o transportador (SERT) é maior, também inibem a função plaquetar em doentes com insuficiência cardíaca congestiva que também tomam aspirina (Serebruany, et al., 2003).

### **2.3.2 Recetores da Serotonina**

A serotonina é encontrada tanto no SNC como na periferia e é importante para uma variedade de funções fisiológicas que incluem a agregação plaquetar, contração do músculo liso, apetite, funções cognitivas, percepção, humor e outras funções no SNC (Hoyer, Clarke, & Fozard, 1994). Esta multiplicidade de efeitos fisiológicos é mediada pela sua variedade de subtipos de recetores (Hoyer, et al., 1994; Hoyer, Hannon, & Martin, 2002).

Estão descritos 15 subtipos de recetores 5-HT, subdivididos em 7 classes. Estas subfamílias foram caracterizadas por propriedades farmacológicas, sequências de aminoácidos e organização dos genes (Hoyer, et al., 1994).

Os subtipos de recetores 5-HT<sub>1</sub>, 5-HT<sub>2</sub>, 5-HT<sub>4</sub>, 5-HT<sub>5</sub>, 5-HT<sub>6</sub> e 5-HT<sub>7</sub> estão acoplados a proteínas G, enquanto os recetores 5-HT<sub>3</sub> pertencem à família de recetores ligados a canais iónicos (Hoyer, 2010).

O subtipo de recetores 5-HT<sub>1</sub> subdivide-se em cinco diferentes subtipos: 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub>, 5-HT<sub>1D</sub>, 5-HT<sub>1E</sub> e 5-HT<sub>1F</sub>. O subtipo 5-HT<sub>1A</sub> encontra-se amplamente distribuído no cérebro. O subtipo 5-HT<sub>1B</sub> encontra-se no SNC, em artérias cerebrais e tecidos vasculares



periféricos, mediando vasoconstrição. Agonistas deste subtipo de recetores (sumatriptano, zolmitriptano) são usados no tratamento de enxaquecas. O nível de expressão do subtipo 5-HT<sub>1D</sub> é muito inferior ao subtipo 5-HT<sub>1B</sub>. O subtipo 5-HT<sub>1D</sub> encontra-se no coração humano e parece modular a libertação de serotonina. O subtipo 5-HT<sub>1E</sub> está presente no cérebro, mas desconhece-se a sua função. O subtipo 5-HT<sub>1F</sub> foi identificado no cérebro e útero (Hoyer, 2010).

O subtipo de recetores 5-HT<sub>2</sub> subdivide-se em três subtipos: 5-HT<sub>2A</sub>, 5-HT<sub>2B</sub>, 5-HT<sub>2C</sub>. O subtipo 5-HT<sub>2A</sub> encontra-se largamente distribuído nos tecidos periféricos e no SNC. O subtipo de recetores 5-HT<sub>2B</sub> é expresso nos tecidos cardiovasculares embrionários (D. Choi, Ward, Messaddeq, Launay, & Maroteaux, 1997) e adultos (D. S. Choi & Maroteaux, 1966), no intestino e no cérebro, em ratos e humanos. O subtipo 5-HT<sub>2C</sub> distribui-se exclusivamente pelo SNC e plexo coroide (Hoyer, 2010).

O subtipo 5-HT<sub>3</sub> está presente em alta densidade em certas regiões do cérebro e na periferia encontra-se nos neurónios autónomos pré e pós ganglionares e nos neurónios do sistema nervoso sensorial. A ativação do subtipo 5-HT<sub>3</sub> exerce efeitos no trato gastrointestinal por regulação da motilidade e secreção intestinal. Conhecem-se três subtipos: 5-HT<sub>3A</sub>, 5-HT<sub>3B</sub> e 5-HT<sub>3C</sub> (Hoyer, 2010).

O subtipo 5-HT<sub>4</sub> modula a motilidade gastrointestinal e está envolvido na resposta secretora da mucosa intestinal. Encontra-se expresso no SNC, em células endoteliais, no átrio cardíaco e nos ventrículos, podendo desencadear arritmias (Hoyer, 2010).

Do subtipo 5-HT<sub>5</sub> pouco se conhece. Não existe, para já, evidências da sua expressão.

O subtipo 5-HT<sub>6</sub> encontra-se no SNC. Não existe qualquer evidência da sua participação na regulação do sistema cardiovascular.

O subtipo 5-HT<sub>7</sub> no músculo liso vascular e não vascular e no SNC.

### **2.3.3 Recetores da 5-HT no sistema cardiovascular humano**

A ação da serotonina no sistema cardiovascular humano é complexa. Envolve tanto mecanismos a nível central como a nível periférico por ação nos seus diferentes subtipos de

recetores situados em diversas partes do sistema cardiovascular (Kaumann & Levy, 2006). Estes efeitos estão resumidos na tabela I. Os seus efeitos cardiovasculares vão desde bradicardia a taquicardia, hipotensão e hipertensão, vasodilatação e vasoconstrição, variando conforme o recetor ativado. A serotonina, assume-se, portanto, como um regulador cardiovascular (Nagatomoa, Rashidb, Muntasira, & Komiyamac, 2004).

Dentro dos subtipos de recetores da serotonina, os 5-HT<sub>1</sub> e 5-HT<sub>2A</sub> parecem ser os de maior relevo na regulação do sistema cardiovascular (McCall & Clement, 1994). A estimulação do subtipo de recetores 5-HT<sub>1A</sub> produz um efeito vasopressor e bradicárdico, enquanto o subtipo 5-HT<sub>2A</sub> resulta em vasoconstrição.

O subtipo de recetores 5-HT<sub>2B</sub> é expresso nos tecidos cardiovasculares embrionários (D. Choi, et al., 1997) e adultos (D. S. Choi & Maroteaux, 1966), no intestino e no cérebro, em ratos e humanos. Parecem ser estes os subtipos de recetores responsáveis pela regulação das funções cardiovasculares durante a embriogénese e pela diferenciação e proliferação do desenvolvimento do coração e dos cardiomiócitos neonatais (Nebigil, et al., 2000), assume, portanto, um papel crucial durante o desenvolvimento, especialmente do coração. Existe evidência do seu papel na hipertensão pulmonar (MacLean & Dempsie, 2009). Está também envolvido no relaxamento dependente do endotélio em ratos e na contração do músculo longitudinal no intestino delgado humano (Hoyer, 2010).

<b>Recetor 5-HT</b>	<b>Função no sistema cardiovascular</b>	<b>Referências</b>
<b>5-HT<sub>1A</sub></b>	Hipotensão	(Dreteler, Wouters, & Saxena, 1990)
<b>5-HT<sub>1B</sub></b>	Vasoconstrição	(Kaumann & Sanders, 1993)
<b>5-HT<sub>1E</sub></b>	Desconhecido	
<b>5-HT<sub>1F</sub></b>	Desconhecido	
<b>5-HT<sub>2A</sub></b>	Vasoconstrição	(Kaumann & Sanders, 1993)
	Agregação plaquetar	(De Clerck, Xhonneux, Leysen, & Janssen, 1984)
	Vasodilatação	(Glusa & Pertz, 2000; Nebigil, et al., 2000)
	Embriologia	(Nebigil, et al., 2000)
	Hipertensão pulmonar	(MacLean & Dempsie, 2009)

<b>5-HT<sub>2C</sub></b>	Desconhecido	
<b>5-HT<sub>3A/5-HT<sub>3B</sub></sub></b>	Bradycardia reflexa?	(Mohr, Bom, Kaumann, & Thamer, 1987)
	Dor?	(Fu & Longhurst, 2002)
<b>5-HT<sub>4</sub></b>	Estimulação cardíaca	(Kaumann & Sanders, 1998)
<b>5-HT<sub>5A</sub></b>	Desconhecido	
<b>5-HT<sub>6</sub></b>	Desconhecido	
<b>5-HT<sub>7</sub></b>	Relaxamento vascular	(Schoeffter, Ullmer, Bobirnac, & Lübbert, 1996)

**Tabela 1** - Efeitos da serotonina no sistema cardiovascular mediados pelos seus diferentes subtipos de recetores. Adaptado de Kaumann & Levy (2006).

O sistema cardiovascular humano está continuamente exposto à serotonina circulante que é libertada das plaquetas. Quando a 5-HT é libertada em elevadas quantidades pode provocar efeitos cardíacos agudos como taquicardia, aumento da contractilidade e arritmias. A cardioestimulação é mediada pelo subtipo de recetores 5-HT<sub>4</sub> (Kaumann & Brown, 1990; Qvigstad, et al., 2005), que pode desencadear arritmias (Brattelid, et al., 2004; Kaumann & Sanders, 1994; Pau, Workman, Kane, & Rankin, 2003).

A administração intravenosa de 5-HT tanto pode diminuir (Harris, Fritts, & Cournand, 1960) como aumentar (Hollander, Michelson, & Wilkins, 1957; Le Mesurier, Schwartz, & Whelan, 1959; Parks, Sandison, Skinner, & Whelan, 1960) o ritmo cardíaco. A bradicardia com hipotensão pode dever-se à ativação do subtipo de recetores 5-HT<sub>3</sub> (Harris, et al., 1960); enquanto a taquicardia parece ser dose-dependente e mediada pelo subtipo 5-HT<sub>4</sub> (Kaumann & Sanders, 1998).

O subtipo de recetores 5-HT<sub>6</sub> não parece estar envolvido na regulação do sistema cardiovascular.

No sistema cardiovascular humano, o subtipo de recetores 5-HT<sub>7</sub> foi detetado em artérias coronárias (Bard, et al., 1993) e no músculo vascular liso onde parece mediar relaxamento (Ullmer, Schmuck, Kalkman, & Lübbert, 1995).

### **2.3.3.1 O subtipo de recetores 5-HT<sub>2A</sub>**

O subtipo de recetores 5-HT<sub>2A</sub> encontra-se tanto no SNC como na periferia. No SNC foi detetado no córtex cerebral, hipocampo, tálamo, cerebelo e hipotálamo. Na periferia, estes subtipos de recetores estão localizados nas plaquetas (De Chaffoy de Courcelles, Leysen, De Clerck, Van Belle, & Janssen, 1985), no músculo liso vascular, músculo liso uterino, no músculo liso urinário e nos brônquios (Hoyer, 2010). O subtipo 5-HT<sub>2A</sub> está envolvido numa variedade de processos, desde contração do músculo vascular liso (De Chaffoy de Courcelles, et al., 1985), contração do músculo liso extravascular, incluindo a contração uterina, agregação plaquetar, ansiedade e depressão. Está também envolvido na formação de trombos, espasmo coronário arterial, aumento da permeabilidade vascular e proliferação vascular. Além disso, fatores como a idade, aterosclerose e hipertensão podem aumentar a contração vascular.

O subtipo de recetores 5-HT<sub>2A</sub> tem enorme interesse clínico devido ao seu potencial envolvimento em diversas doenças cardiovasculares. Daí alguns antagonistas do subtipo de recetores 5-HT<sub>2A</sub>, como a cetanserina, serem usados para tratar doenças cardiovasculares. A cetanserina tem elevado potencial terapêutico no tratamento da hipertensão, mas também da doença vascular periférica (Vanhoutte, et al., 1988) e como cardioprotetora na isquémia do miocárdio. O tratamento a longo prazo com cetanserina diminui significativamente a pressão arterial.

### **2.3.4 Recetores da 5-HT em artérias humanas**

A contração arterial aguda mediada pela serotonina é usualmente partilhada pelo subtipo de recetores 5-HT<sub>2A</sub> e 5-HT<sub>1B</sub> (Connor, Feniuk, & Humphrey, 1989; Godfraind, Dessy, & Salomone, 1992), exceto nas artérias intracranianas, que contraem apenas através do subtipo 5-HT<sub>1B</sub>. Ambos os subtipos de recetores podem mediar espasmo arterial coronário, mas apenas o subtipo 5-HT<sub>1B</sub> parece estar envolvido no espasmo dos doentes tratados com triptanos. O subtipo de recetores 5-HT<sub>2A</sub> é responsável pela contração do sistema venoso portal.

Detetou-se RNAm do subtipo de recetores 5-HT<sub>1B</sub> e 5-HT<sub>2A</sub> em células musculares lisas na aorta humana e em artérias pulmonares (Ullmer, et al., 1995). Assim, pensa-se que sejam estes os recetores que medeiam a vasoconstrição nas artérias coronárias (Kaumann &

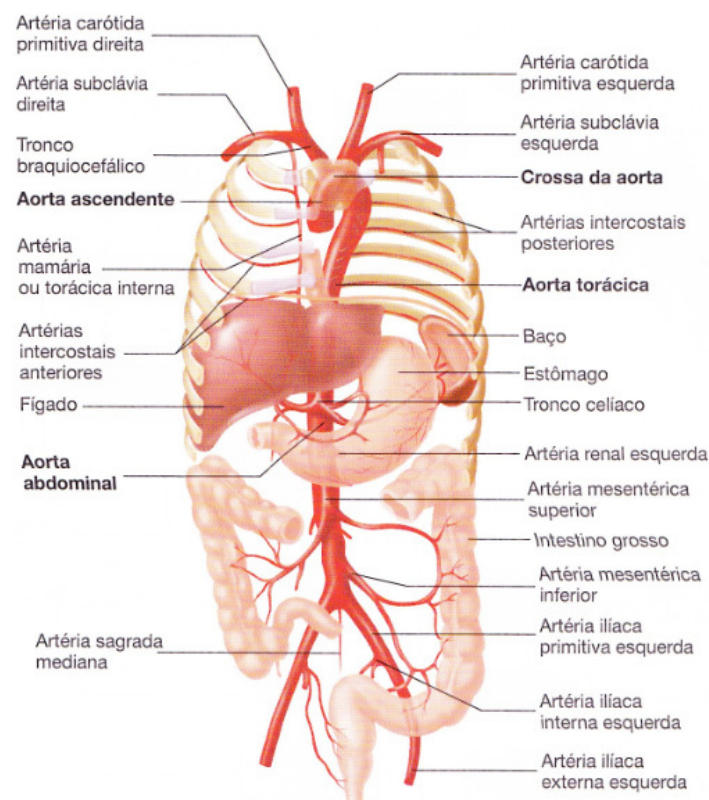
Sanders, 1993, 1994), pulmonares (Morecroft, Heeley, Prentice, Kirk, & MacLean, 1999), nas artérias temporal e occipital (Verheggen, Hundeshagen, Brown, Schindler, & Kaumann, 1998; Verheggen, et al., 2004). É possível que a serotonina exerça contrações dose-dependente na artéria mesentérica humana (Kaumann & Sanders, 1993), na artéria mamária (Yildiz, Cicek, Ay, Tatar, & Tuncer, 1996), na artéria uterina (Karlsson, Bodelsson, Bodelsson, & Stjernquist, 1997) e na artéria umbilical (Lovren, Li, Lytton, & Triggle, 1999) através do subtipo de recetores 5-HT<sub>1B</sub> e 5-HT<sub>2A</sub>.

A ativação do subtipo de recetores 5-HT<sub>2A</sub> e também do subtipo 5-HT<sub>1B</sub> nas artérias coronárias leva a contração vascular e espasmo, com produção de arritmias que podem ameaçar a vida (Kaumann & Sanders, 1993).

Existem evidências de que o subtipo de recetores 5-HT<sub>7</sub> na célula muscular lisa arterial cause relaxamento vascular, embora o mecanismo exato não esteja bem compreendido (Schoeffter, et al., 1996).

### 2.3.5 Recetores da 5-HT na artéria mamária interna humana

A artéria mamária interna ou artéria torácica interna deriva da artéria subclávia e localiza-se na face interna da parede anterior do tórax (ver Figura 4). A artéria mamária



irriga o peito e a parede torácica anterior e os seus ramos mais finos vascularizam o diafragma e a parede abdominal. À medida que a artéria torácica desce ao longo do externo, dá origem às artérias intercostais anteriores que irrigam os músculos intercostais.

**Figura 4-** Localização da artéria mamária interna no aparelho circulatório humano. Retirado de Seeley, Stephens, & Tate (2003).

A artéria mamária tornou-se o excerto de escolha na cirurgia de bypass coronário, quer por aumento do tempo de vida dos pacientes, que por ter melhores resultados clínicos quando comparada com a veia safena (Olearchyk, 1988). A incidência de aterosclerose na artéria mamária é mais baixa (Loop, et al., 1986).

A artéria mamária é muito ativa farmacologicamente (He, Rosenfeldt, Buxton, & Angus, 1989) e contrai em resposta a vários vasoconstritores como tromboxano A<sub>2</sub>, agonistas dos recetores adrenérgicos  $\alpha$ , 5-HT e ião potássio (He, et al., 1989).

Estão descritos alguns estudos com serotonina na artéria mamária interna humana, que demonstram que a 5-HT é um potente agonista desta artéria, causando vasoconstrição (Conti, et al., 1990; Godfraind, et al., 1992; Yildiz, et al., 1996). Essa contração parece ser mediada pelo subtipo de recetores 5-HT<sub>2A</sub> (Conti, et al., 1990; Silva, et al., 2008) e 5-HT<sub>1B</sub> (Yildiz, et al., 1996).

Num estudo recente (Tanaka, et al., 2008) foram detetados os subtipos de recetores 5-HT<sub>2A</sub> e 5-HT<sub>1B</sub> nas células musculares lisas da artéria mamária interna humana. Demonstrou-se que a vasoconstrição provocada pela serotonina é mediada pela ativação de ambos os subtipos de recetores (5-HT<sub>2A</sub> e 5-HT<sub>1B</sub>). Esta conclusão vai de encontro a outros estudos realizados. Yildiz, et al., (1996) utilizou cetanserina, um antagonista do subtipo de recetores 5-HT<sub>2A</sub> e verificou uma significativa diminuição da resposta à serotonina, mas não uma diminuição total, o que parece dever-se a um possível envolvimento dos recetores 5-HT<sub>1B</sub> no processo contráctil.

Portanto, existe evidência de que na artéria mamária interna humana, a contração vascular parece dever-se à ativação do subtipo de recetores 5-HT<sub>2A</sub> e 5-HT<sub>1B</sub>.

### **2.3.6- 5-HT e MDMA**

MDMA é um potente agonista monoaminérgico indireto, uma vez que promove o aumento da libertação de serotonina, a inibição da sua recaptação, e em menor escala, da dopamina (Morgan, 2000). Em consequência, a MDMA pode ter um efeito agonista direto nos recetores da serotonina e da dopamina (Battaglia, et al., 1988).

Os sintomas cardiovasculares causados pela administração de MDMA são atenuados por pré-tratamento com citalopram (M. Liechti, et al., 2000), o que parece indicar o envolvimento da serotonina.

A administração de MDMA, em animais, tem como efeito a rápida liberação de serotonina das vesículas pré-sinápticas, assim como a inibição da recaptção da 5-HT. MDMA é considerada uma neurotoxina serotoninérgica (Cole & Sumnall, 2003).

A droga tem afinidade para uma vasta gama de locais de reconhecimento dos neurotransmissores (Battaglia & De Sousa, 1989; Battaglia, et al., 1988) e pode atuar em ambos os subtipos de recetores da serotonina, 5-HT<sub>2A</sub> e 5-HT<sub>2C</sub> (Nash, Roth, Brodtkin, Nichols, & Gudelsky, 1994). Experiências que utilizaram inibidores seletivos da recaptção da serotonina, como a fluoxetina e citalopram, mostraram bloquear a liberação de 5-HT induzida pela MDMA, tanto *in vitro* (Gu & Azmitia, 1993; Hekmatpanah & Sj., 1990) como *in vivo* (Gudelsky & Nash, 1996; Koch & Galloway, 1997). Mostraram, também, bloquear os efeitos subjetivos provocados pela MDMA em humanos (M. Liechti, et al., 2000). Portanto, a liberação de serotonina induzida pelo MDMA parece ser dependente do transportador da 5-HT (SERT).

Este agonismo para os recetores 5-HT<sub>2</sub> parece estar associado com os seus efeitos alucinógenos (Egan, Herrick-Davis, & Teitler, 1998). A afinidade para os recetores 5-HT<sub>2</sub> é menor nos humanos que nos ratos (Sadzot, et al., 1989), o que pode explicar os efeitos alucinógenos serem mais incidentes nos ratos que nos humanos.

Em artérias mesentéricas de rato (Al-Sahli, Ahmad, Kheradmand, Connolly, & Docherty, 2001) e em artérias isoladas da orelha de coelhos (Fitzgerald & Reid, 1994) a administração de MDMA potenciou a vasoconstrição mediada pela noradrenalina. Estudos recentes demonstraram a ação vasoconstritora direta do MDMA em artérias coronárias isoladas de porco (Baker, Herbert, & Broadley, 2007).

Portanto, o uso de MDMA está associado a toxicidade cardiovascular e a vasoconstrição (Fitzgerald & Reid, 1994), provavelmente devido à sua ação no subtipo de recetores 5-HT<sub>2A</sub> (Silva, et al., 2008).

### 3. OBJETIVOS

O ecstasy tornou-se uma das drogas mais consumidas pela comunidade jovem, estabelecendo-se como uma das mais populares drogas recreativas. Ora, se produz efeitos adversos, não só a curto, mas também a longo prazo, pode vir a representar um grave problema de Saúde Pública em qualquer país cujos jovens sejam consumidores (Cole & Sumnall, 2003). É, portanto, essencial conhecer e estudar esses efeitos, de forma a garantir que toda a informação chega aos jovens, mas também permitindo investigar e descobrir novas formas de tratamento/prevenção desses efeitos. Portanto, o conhecimento do mecanismo pelo qual MDMA causa os seus efeitos cardiovasculares é essencial.

Embora a maioria dos consumidores pense que o ecstasy é praticamente inofensivo e inócuo, efeitos agudos como a hipertermia, complicações cardiovasculares, renais, hepáticas e neurológicas ocasionalmente podem conduzir a morte (Henry, et al., 1992). Alguns destes efeitos adversos podem ser exacerbados pelos seus metabolitos (Carvalho, et al., 2004), em que a variabilidade individual ao metabolismo hepático pode assumir a diferença.

Em humanos, os estudos existentes sobre a atividade vascular do MDMA são muito poucos. Sabe-se que um dos efeitos do MDMA na vasculatura é vasoconstrição, levando ao aumento da pressão arterial. MDMA apresenta afinidade para o subtipo de recetores 5-HT<sub>2A</sub> (Battaglia, et al., 1988), podendo ser estes os responsáveis pela vasoconstrição induzida pela droga.

O metabolismo da MDMA resulta na formação de metabolitos farmacologicamente ativos (Capela, et al., 2006; Carvalho, et al., 2002b). O metabolismo sistémico parece ser um requisito para os eventos neurotóxicos (T.J. Monks, et al., 2004), mas pouco se sabe sobre a toxicidade vascular.

Um dos maiores efeitos adversos da ingestão de MDMA é a hipertermia (Freedman, et al., 2005). O aumento da temperatura corporal leva ao aumento da formação de radicais



livres (Bronstein & Hong, 1995; Cadet, et al., 1994; Gudelsky & Nash, 1996), tal como os metabolitos da MDMA, podendo potenciar a sua toxicidade a nível vascular.

Posto isto, definiram-se como objetivos do estudo:

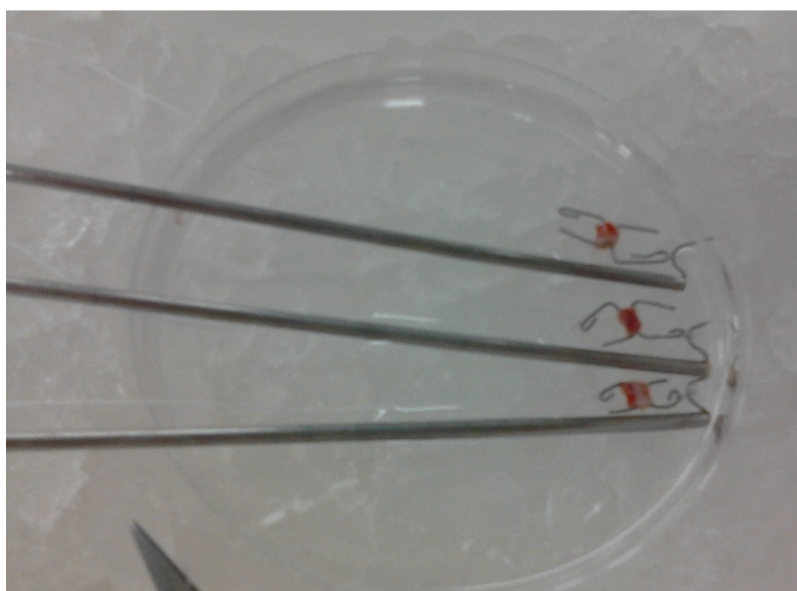
- 1- Investigar os efeitos contrácteis do MDMA na artéria mamária humana;
- 2- Avaliar o comportamento contráctil da artéria mamária interna humana após adição de diferentes concentrações de MDMA (400 $\mu$ M, 800 $\mu$ M e 1600 $\mu$ M);
- 3- Investigar os possíveis efeitos contrácteis dos metabolitos  $\alpha$ -MeDA, 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA e 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA na artéria mamária interna humana;
- 4- Avaliar o comportamento contráctil da artéria mamária interna humana após adição de diferentes concentrações (20 $\mu$ M, 40 $\mu$ M e 80 $\mu$ M) de  $\alpha$ -MeDA, 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA e 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA;
- 5- Avaliar o efeito da temperatura na contractilidade vascular, comparando o efeito do MDMA e dos seus metabolitos a 37°C e 40°C.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1- Colheita das artérias mamárias internas humanas

A comissão de ética local aprovou o uso das artérias mamárias internas humanas com o n° PC-388/08.

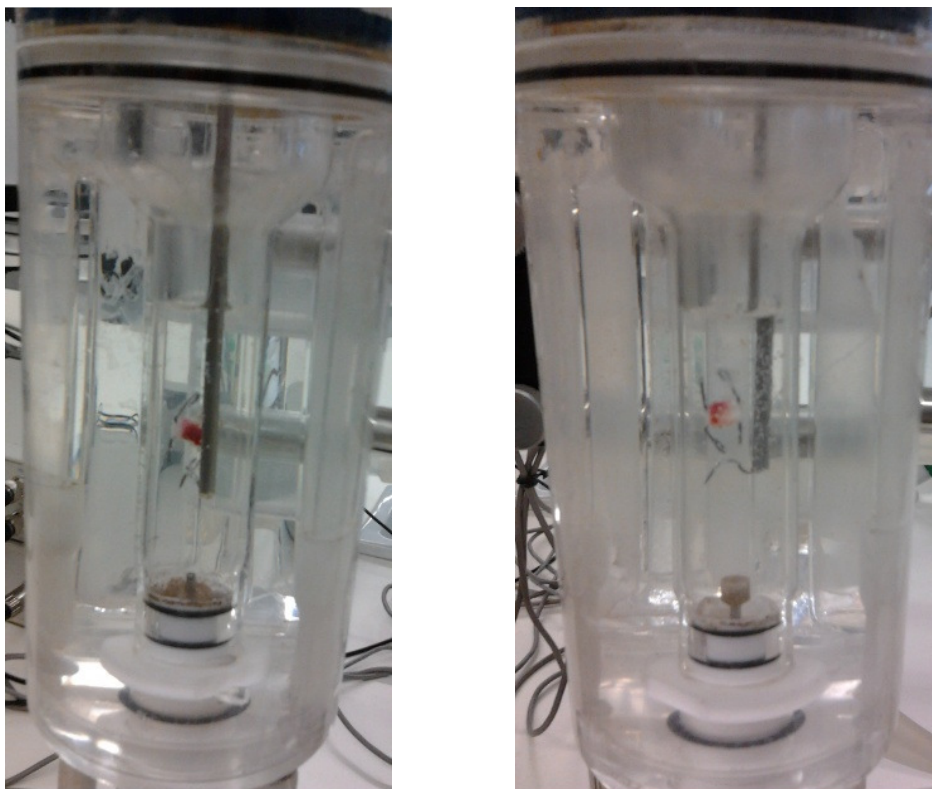
As artérias mamárias internas humanas foram colhidas a partir de pacientes sujeitos a cirurgias de bypass coronário. As suas idades variaram de 42 a 80 anos. As pequenas peças operatórias restantes foram colocadas em solução fisiologia de Krebs-Henseleit (NaCl, 118; KCl, 4.7; CaCl<sub>2</sub>, 2.5; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1.2; MgSO<sub>4</sub>, 1.2; glucose, 10; NaHCO<sub>3</sub>, 25mM) fria e transportadas para o laboratório num recipiente isotérmico com gelo moído para serem utilizadas neste estudo. Uma vez no laboratório, procedeu-se à remoção do tecido adiposo e conjuntivo adjacente, de forma a permitir cortar a artéria em anéis com cerca de 2-3mm (ver Figura 5).



**Figura 5-** Artéria mamária interna humana cortada em anéis de 2-3mm e montada entre duas ansas de platina numa caixa de petri antes da sua montagem no banho de órgãos.

## 4.2 Protocolo experimental

Os anéis vasculares isolados foram suspensos entre duas ansas de platina em banho de órgãos de 10ml com solução de Krebs-Henseleit (ver Figura 6), arejada com carbogênio (mistura de 5% de anidrido carbônico e 95% de oxigênio).



**Figura 6-** Anéis de 2-3mm de artéria mamária interna humana suspensos entre duas ansas de platina num banho de órgãos de 10ml com solução de Krebs-Henseleit.

As experiências foram realizadas a 37°C e a 40°C, controladas pelo termóstato. Após um período de estabilização de 2 horas de equilíbrio das preparações a uma tensão basal ótima de 19,6mN e de lavagens periódicas, de forma a neutralizar o efeito de alguns fármacos, variações na tensão isométrica foram medidas usando PowerLab® acoplado a um computador para leitura de dados.

Para testar a reatividade das artérias e a sua capacidade contráctil, adicionou-se cloreto de potássio de concentração 60mM no banho de órgãos, após o período de estabilização e no final de cada experiência.

Curvas de concentração-resposta para o MDMA (10 $\mu$ M-800 $\mu$ M),  $\alpha$ -MeDA (1 $\mu$ M-600 $\mu$ M), 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA (0.1 $\mu$ M-60 $\mu$ M) e 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA (0.1 $\mu$ M-60 $\mu$ M), tanto a 37°C como a 40°C, foram obtidas por adições cumulativas, sendo que cada concentração adicionada após a anterior ter atingido o seu plateau.

Para testar os efeitos do MDMA e dos seus metabolitos, a 37°C e a 40°C, foram registadas curvas cumulativas à 5-HT (0.1 $\mu$ M-60 $\mu$ M). Após lavagens e estabilização da tensão, incubaram-se os banhos, durante 30 minutos, com as concentrações estudadas de MDMA (400 $\mu$ M, 800 $\mu$ M e 1600 $\mu$ M) e  $\alpha$ -MeDA (20 $\mu$ M, 40 $\mu$ M e 80 $\mu$ M), 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA (20 $\mu$ M, 40 $\mu$ M e 80 $\mu$ M) e 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA (20 $\mu$ M, 40 $\mu$ M e 80 $\mu$ M). De seguida, procederam-se a novas curvas cumulativas à 5-HT. Em todas as experiências foram usados anéis vasculares de controlo, aos quais se adicionou apenas serotonina.

### 4.3 Análise dos resultados

As respostas contrácteis à última curva concentração-resposta do MDMA e seus metabolitos, bem como nos anéis controlo, foram expressas em percentagem de contração máxima obtida na curva de concentração-resposta anterior, do respetivo anel. Os resultados finais foram expressos relativamente à percentagem de resposta obtida para os anéis controlo.

Os resultados foram igualmente analisados em termos de mN de tensão, de forma a traduzir para valores absolutos a capacidade contráctil dos compostos utilizados. A contração máxima registada ( $E_{m\acute{a}x}$ ) e  $pEC_{50}$  (logaritmo negativo da concentração molar de agonista capaz de induzir metade da resposta máxima) representam, respetivamente, a atividade intrínseca e a potência de cada composto em induzir uma resposta, ou seja, induzir contração vascular. Estes valores de  $pEC_{50}$  foram obtidos por interpolação de cada curva cumulativa concentração-resposta em escala semilogarítmica (% da contração máxima versus logaritmo da concentração em  $\mu$ M), usando um programa de computador (GraphPad Prisma 5.03).

Avaliaram-se as diferenças estatisticamente significativas entre os valores de  $pEC_{50}$  calculados para cada fármaco, bem como as diferenças entre as respostas contrácteis induzidas por cada dose da curva concentração-resposta do fármaco e relativamente ao controlo pelo teste de Tukey e de comparações múltiplas, uma vez verificada pela análise de

variância (ANOVA) que a amostra não provinha da mesma população. A significância estatística das diferenças entre os dois grupos de valores foi calculada pelo teste t de Student. Os valores de p inferiores a 0,05 ( $p < 0,05$ ) foram considerados indicadores de diferenças estatisticamente significativas. Todos os resultados estão apresentados como médias +/- erro padrão da média (Standard Error of the Mean, SEM) do número de experiências (n) indicado.

#### **4.4 Fármacos utilizados**

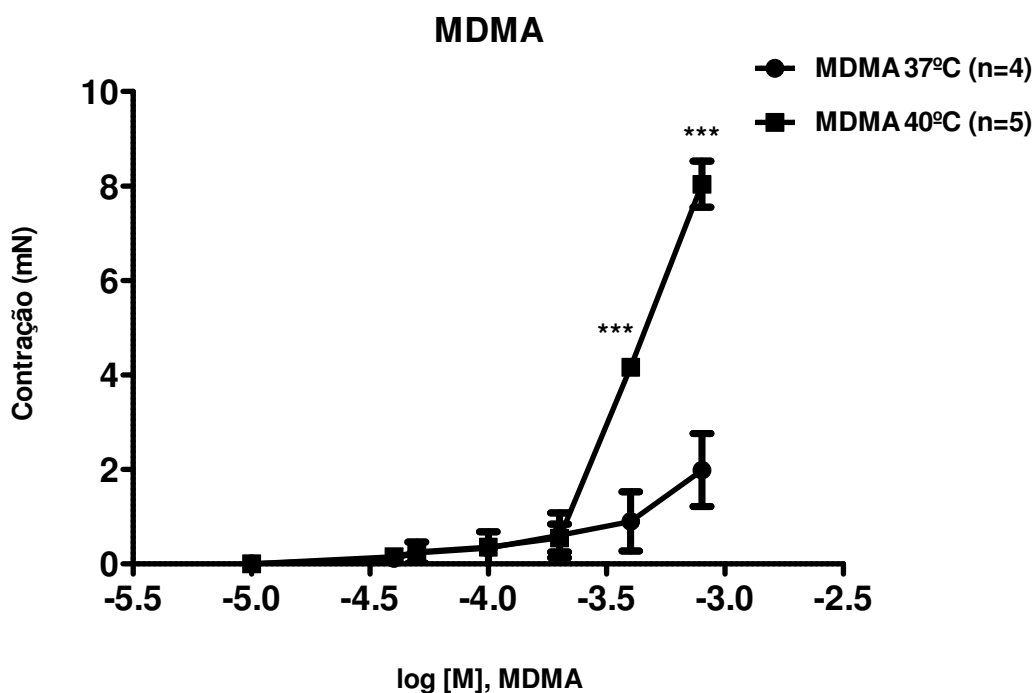
Os fármacos utilizados neste estudo foram MDMA,  $\alpha$ -MeDA, 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA e 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA. MDMA foi sintetizado por REQUINTE/Departamento de Química da Faculdade de Farmácia do Porto. Os metabolitos  $\alpha$ -MeDA, 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA e 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA foram sintetizados por REQUINTE/CQFB, Departamento de Química da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Faculdade Nova de Lisboa. Os outros químicos foram adquiridos a Reagente 5 (Sigma-Aldrich).

## 5. RESULTADOS

Ao longo deste capítulo serão apresentados os resultados obtidos nas experiências realizadas. As respostas contrácteis da artéria mamária interna humana foram registadas em PowerLab® acoplado a um computador para leitura de dados.

### 5.1 Respostas contrácteis da artéria mamária interna humana ao MDMA (10 $\mu$ M -800 $\mu$ M) a 37°C e a 40°C

Os resultados das curvas concentração-resposta obtidas à MDMA para ambas as temperaturas estão expressos em valores médios  $\pm$  S.E.M de 4 experiências (n) para MDMA a 37°C e de 5 experiências para MDMA a 40°C. As barras verticais representam o S.E.M.

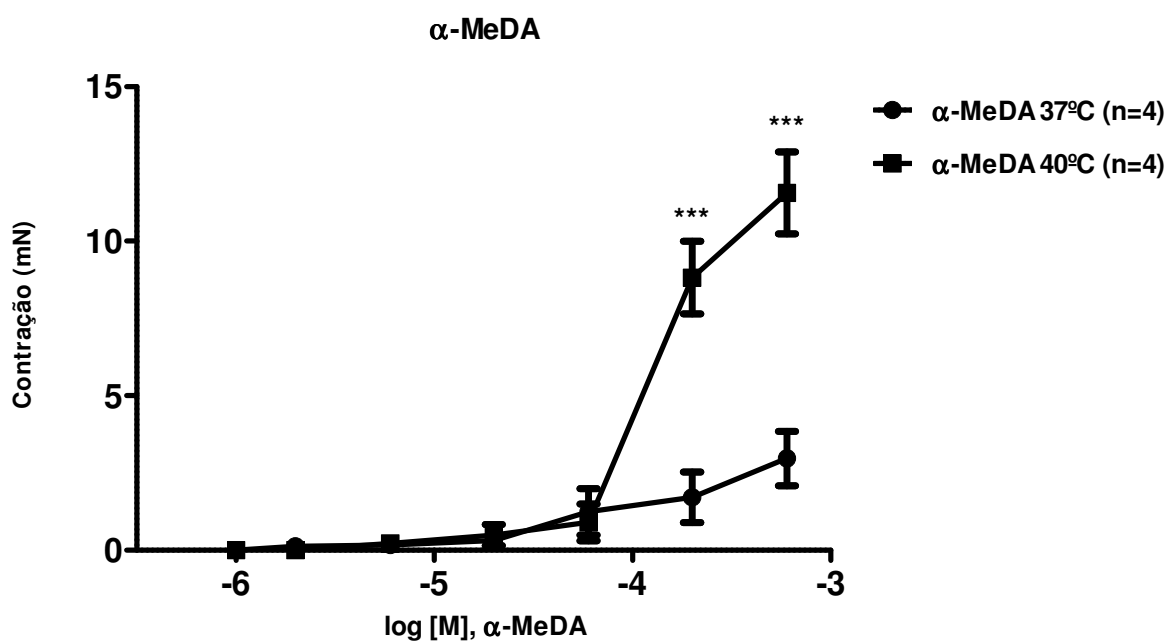


**Gráfico I** - Respostas contrácteis da artéria mamária interna humana ao MDMA (10-800 $\mu$ M) a 37°C e a 40°C.

\*\*\*p <0,001 37°C vs. 40°C

## 5.2 Respostas contrácteis da artéria mamária interna humana à $\alpha$ -MeDA (1 $\mu$ M-600 $\mu$ M) a 37°C e a 40°C

Os resultados das curvas concentração-resposta à  $\alpha$ -MeDA estão expressos em valores médios  $\pm$  S.E.M de 4 experiências (n) para  $\alpha$ -MeDA a 37°C e de 4 experiências para  $\alpha$ -MeDA a 40°C. As barras verticais representam o S.E.M.



**Gráfico 2-** Respostas contrácteis da artéria mamária interna humana à  $\alpha$ -MeDA (1  $\mu$ M-600  $\mu$ M) a 37°C e a 40°C.

\*\*\*p <0,001 37°C vs. 40°C

A seguinte tabela compara os valores de  $E_{m\acute{a}x}$  e  $pEC_{50}$  para a MDMA e  $\alpha$ -MeDA a diferentes temperaturas.  $E_{m\acute{a}x}$  representa a contração máxima em mN de tensão e  $pEC_{50}$  representa o logaritmo negativo da concentração molar do agonista capaz de induzir metade da contração máxima. Os resultados estão expressos em valores médios  $\pm$  S.E.M.

	Temp. (°C)	$E_{m\acute{a}x}$ (mN)	$pEC_{50}$	n
MDMA	37°C	1.98±0.77 <sup>***</sup>	3.40±0.028	4
	40°C	8.03±0.49 <sup>*** ###</sup>	3.39±0.011 <sup>+++</sup>	5
$\alpha$ -MeDA	37°C	2.97±0.87 <sup>***</sup>	3.72±0.43	4
	40°C	11.56±1.32 <sup>*** ###</sup>	3.56±0.17 <sup>+++</sup>	4

**Tabela 2** - Comparação do  $E_{m\acute{a}x}$  e  $pEC_{50}$  para MDMA (10 $\mu$ M-800 $\mu$ M) e  $\alpha$ -MeDA (1 $\mu$ M-600 $\mu$ M) a 37°C e a 40°C.

\*\*\*p <0,001 37°C versus 40°C

+++p <0,001  $pEC_{50}$  MDMA 40°C versus  $pEC_{50}$   $\alpha$ -MeDA 40°C

###p <0,001  $E_{m\acute{a}x}$  MDMA 40°C versus  $E_{m\acute{a}x}$   $\alpha$ -MeDA 40°C

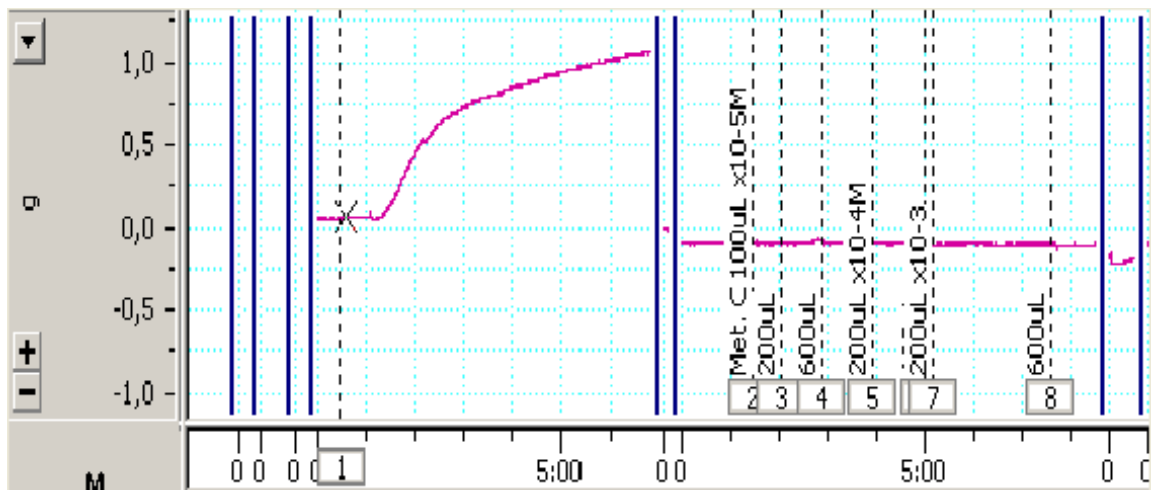
### 5.3 Respostas contrácteis da artéria mamária interna humana à 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA (0.1 $\mu$ M-60 $\mu$ M)

As seguintes figuras representam as respostas da artéria mamária interna à adição de 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA para ambas as temperaturas estudadas. As variações na tensão isométrica foram medidas usando PowerLab® acoplado a um computador para leitura de dados.

- **Resposta da artéria a 37°C**

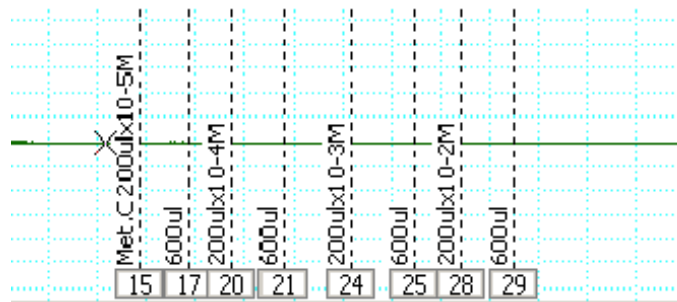
A primeira curva representa a resposta da artéria ao KCl (60mM). A adição de 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA não provoca qualquer resposta contráctil na artéria mamária interna humana a 37°C.





**Figura 7-** Resposta contráctil da artéria mamária interna humana à 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA (0.1 $\mu$ M-60 $\mu$ M) a 37°C.

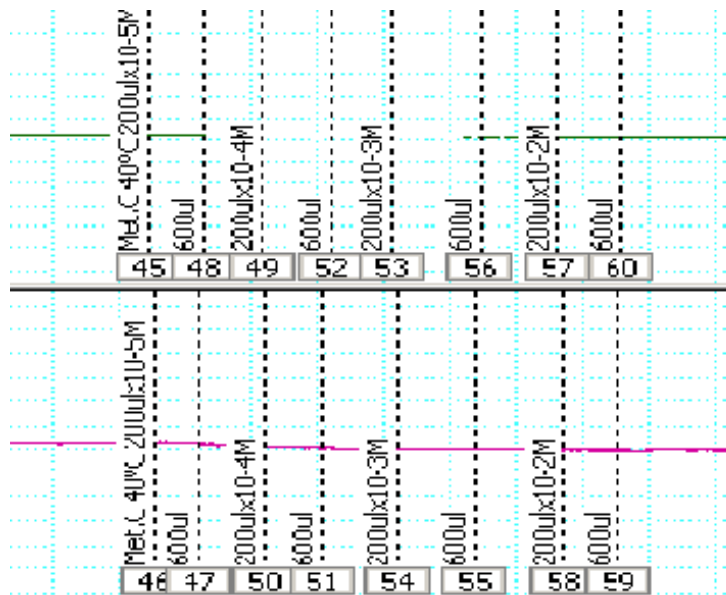
A adição de 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA não provoca qualquer resposta contráctil na artéria mamária interna humana a 37°C.



**Figura 8-** Resposta contráctil da artéria mamária interna humana à 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA (0.1 $\mu$ M-60 $\mu$ M) a 37°C.

- **Resposta da artéria a 40°C**

A adição de 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA não provoca qualquer resposta contráctil na artéria mamária interna humana a 40°C.



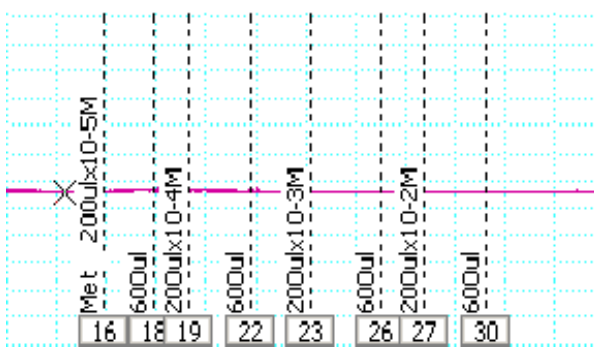
**Figura 9-** Resposta contráctil da artéria mamária interna humana à 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA (0.1  $\mu$ M-60  $\mu$ M) a 40°C.

#### 5.4 Respostas contrácteis da artéria mamária interna humana à 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA (0.1 $\mu$ M-60 $\mu$ M)

As seguintes figuras representam as respostas da artéria mamária interna à adição de 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA para ambas as temperaturas estudadas. As variações na tensão isométrica foram medidas usando PowerLab® acoplado a um computador para leitura de dados.

- **Resposta da artéria a 37°C**

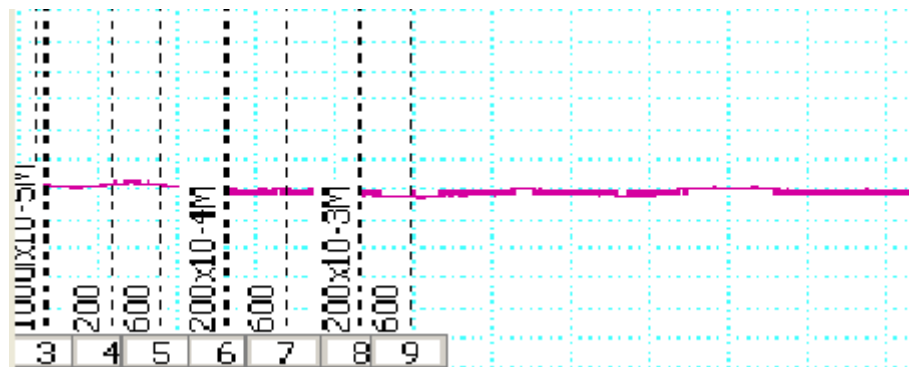
A adição de 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA não provoca qualquer resposta contráctil na artéria mamária interna humana a 37°C.



**Figura 10-** Resposta contráctil da artéria mamária interna humana à 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA (0.1  $\mu$ M-60  $\mu$ M) a 37°C.

- **Resposta da artéria a 40°C**

A adição de 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA não provoca qualquer resposta contráctil na artéria mamária interna humana a 40°C.



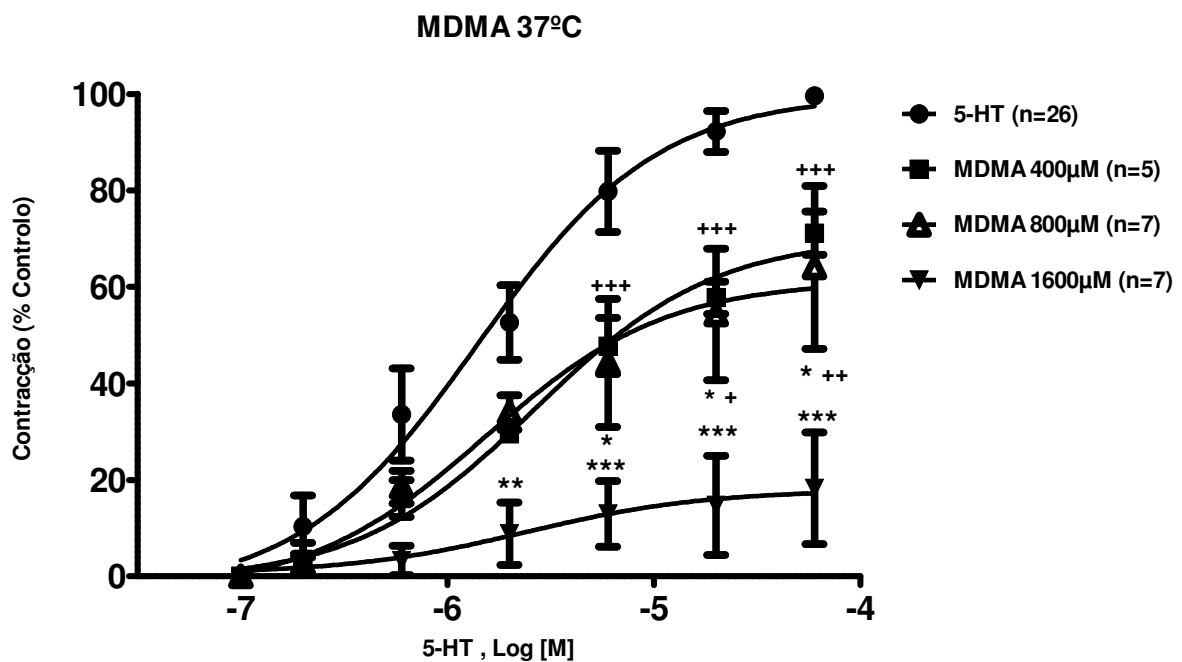
**Figura II**- Resposta contráctil da artéria mamária interna humana à 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA (0.1  $\mu$ M-60  $\mu$ M) a 37°C.

### 5.5 Ação da MDMA (400 $\mu$ M, 800 $\mu$ M e 1600 $\mu$ M) na curva concentração-resposta da 5-HT na artéria mamária interna humana

Os seguintes gráficos representam o impacto da adição de diferentes concentrações de MDMA, a diferentes temperaturas, nas curvas concentração-resposta de serotonina (controlo).

- **Resposta da artéria a 37°C**

Os resultados são expressos em valores médios  $\pm$  S.E.M. de 26 experiências (n) para a 5-HT, de 5 para MDMA 400  $\mu$ M, de 7 para MDMA 800  $\mu$ M e 7 experiências para MDMA 1600  $\mu$ M. As barras verticais representam o S.E.M.



**Gráfico 3-** Ação do MDMA (400µM, 800µM e 1600µM) na curva concentração-resposta da 5-HT na artéria mamária humana a 37°C.

\*p <0,05 MDMA 800µM versus controle

\*\*p <0,01 MDMA 1600µM versus controle

\*\*\*p <0,001 MDMA 1600µM versus controle

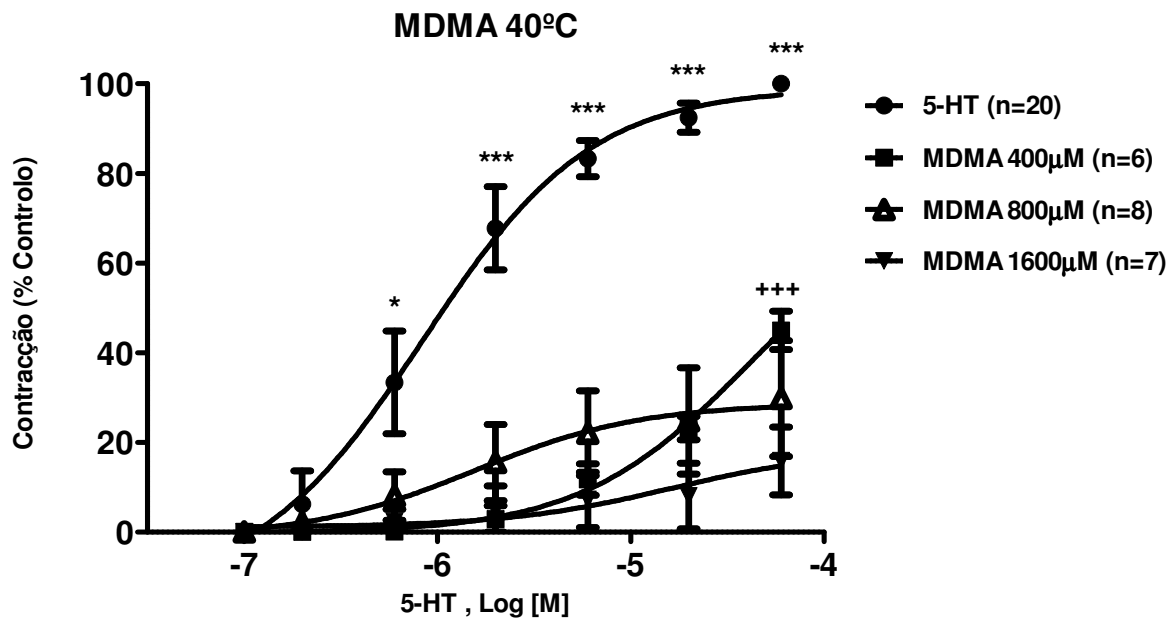
+ p <0.05 MDMA 800µM versus MDMA 1600µM

++ p <0.01 MDMA 800µM versus MDMA 1600µM

+++ p <0.001 MDMA 400µM versus MDMA 1600µM

- **Resposta da artéria a 40°C**

Os resultados são expressos em valores médios  $\pm$  S.E.M. de 20 experiências (n) para a 5-HT, de 6 para MDMA 400µM, de 8 para MDMA 800µM e 7 experiências para MDMA 1600µM. As barras verticais representam o S.E.M.



**Gráfico 4-** Ação do MDMA (400µM, 800µM e 1600µM) na curva concentração-resposta da 5-HT na artéria mamária humana a 40°C.

\*\*\*p <0,001 MDMA 400µM, 800µM e 1600µM versus controlo

\*p <0,05 MDMA 400µM e 1600µM versus controlo

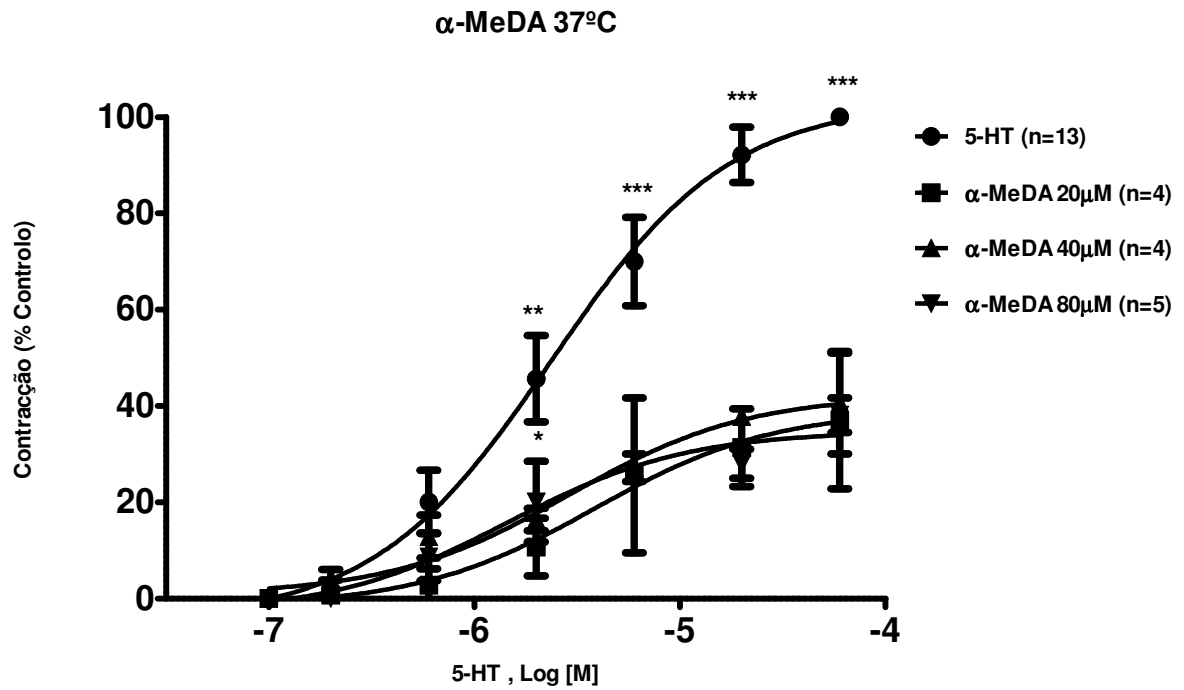
+++p <0.001 MDMA 400µM versus MDMA 1600µM

### 5.6 Ação da $\alpha$ -MeDA (20µM, 40µM e 80µM) na curva concentração-resposta da 5-HT na artéria mamária humana

Os seguintes gráficos representam o impacto da adição de diferentes concentrações de  $\alpha$ -MeDA, a diferentes temperaturas, nas curvas concentração-resposta de serotonina (controlo).

- **Resposta da artéria a 37°C**

Os resultados são expressos em valores médios  $\pm$  S.E.M. de 13 experiências (n) para a 5-HT, de 4 para  $\alpha$ -MeDA 20µM, de 4 para  $\alpha$ -MeDA 40µM e 5 experiências para  $\alpha$ -MeDA 80µM. As barras verticais representam o S.E.M.



**Gráfico 5-** Ação da  $\alpha$ -MeDA (20 $\mu$ M, 40 $\mu$ M e 80 $\mu$ M) na curva concentração-resposta da 5-HT na artéria mamária humana a 37°C.

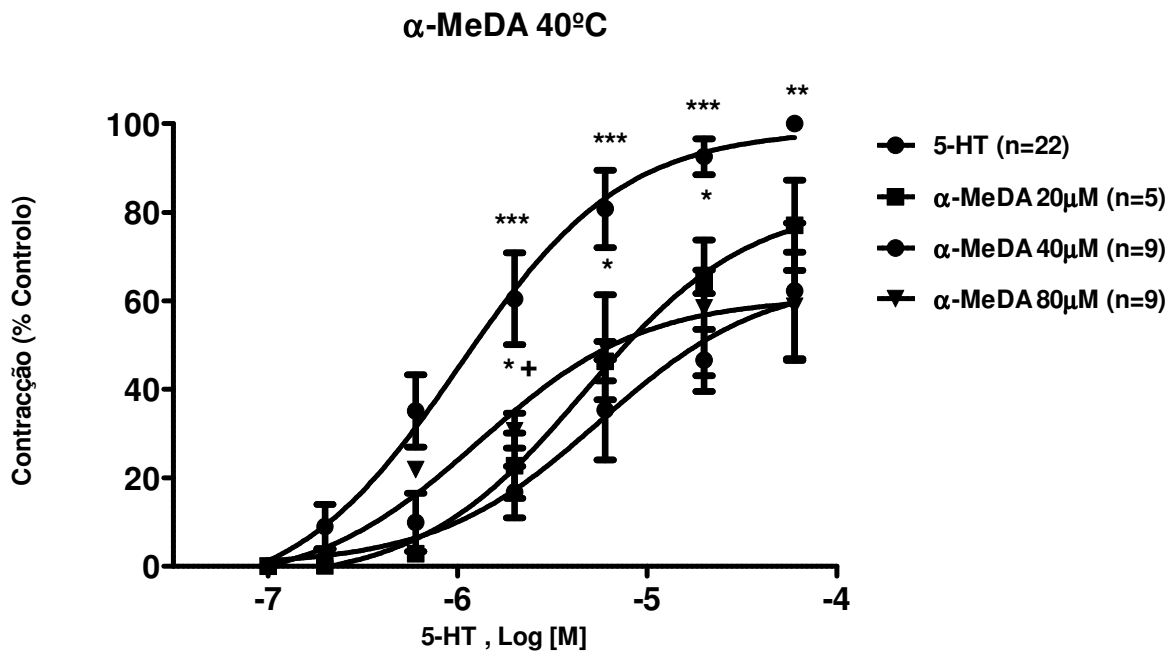
\*\*\* $p < 0,001$   $\alpha$ -MeDA 20 $\mu$ M, 40 $\mu$ M e 80 $\mu$ M versus controle

\*\* $p < 0,01$   $\alpha$ -MeDA 20 $\mu$ M versus controle

\* $p < 0,05$   $\alpha$ -MeDA 40 $\mu$ M versus controle

- **Resposta da artéria a 40°C**

Os resultados são expressos em valores médios  $\pm$  S.E.M. de 22 experiências (n) para a 5-HT, de 5 para  $\alpha$ -MeDA 20 $\mu$ M, de 9 para  $\alpha$ -MeDA 40 $\mu$ M e 9 experiências para  $\alpha$ -MeDA 80 $\mu$ M. As barras verticais representam o S.E.M.



**Gráfico 6-** Ação da  $\alpha$ -MeDA (20 $\mu$ M, 40 $\mu$ M e 80 $\mu$ M) na curva concentração-resposta da 5-HT na artéria mamária humana a 40°C.

\*\*\*p <0,001  $\alpha$ -MeDA 40 $\mu$ M versus controle

\*\*p <0,01  $\alpha$ -MeDA 40 $\mu$ M e 80 $\mu$ M versus controle

\*p <0,05  $\alpha$ -MeDA 80 $\mu$ M versus controle

<sup>+</sup>p <0,05  $\alpha$ -MeDA 20 $\mu$ M versus controle

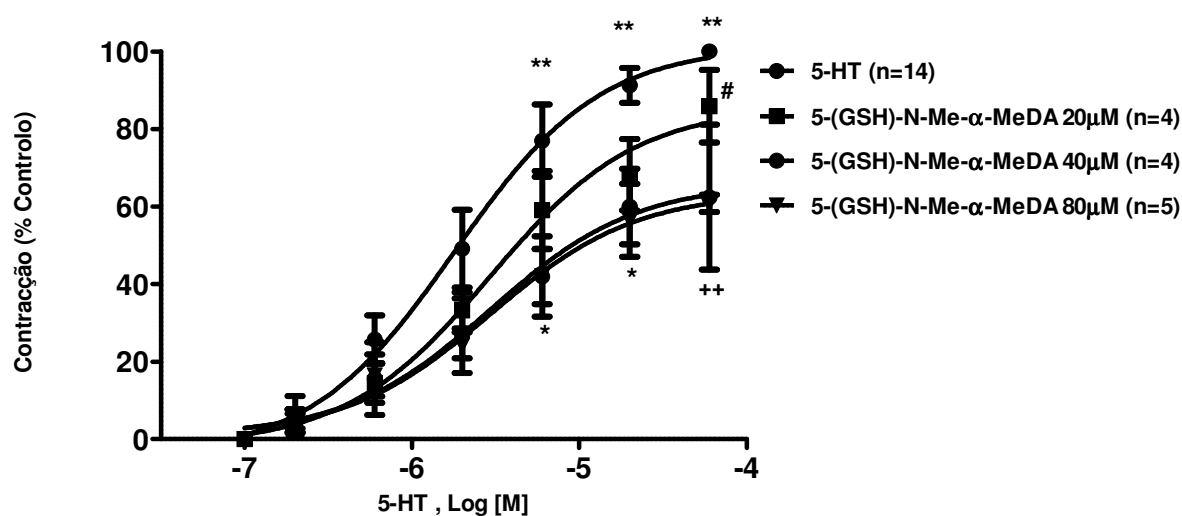
### 5.7 Ação da 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA (20 $\mu$ M, 40 $\mu$ M e 80 $\mu$ M) na curva concentração-resposta da 5-HT na artéria mamária humana

Os seguintes gráficos representam o impacto da adição de diferentes concentrações de 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA, a diferentes temperaturas, nas curvas concentração-resposta de serotonina (controle).

- **Resposta da artéria a 37°C**

Os resultados são expressos em valores médios  $\pm$  S.E.M. de 14 experiências (n) para a 5-HT, de 4 para 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA 20 $\mu$ M, de 4 para 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA 40 $\mu$ M e 5 experiências para 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA 80 $\mu$ M. As barras verticais representam o S.E.M.

### 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA 37°C



**Gráfico 7-** Ação da 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA (20 $\mu$ M, 40 $\mu$ M e 80 $\mu$ M) na curva concentração-resposta da 5-HT na artéria mamária humana a 37°C.

\*\*p <0,01 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA 80 $\mu$ M versus controle

\*p <0,05 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA 40 $\mu$ M versus controle

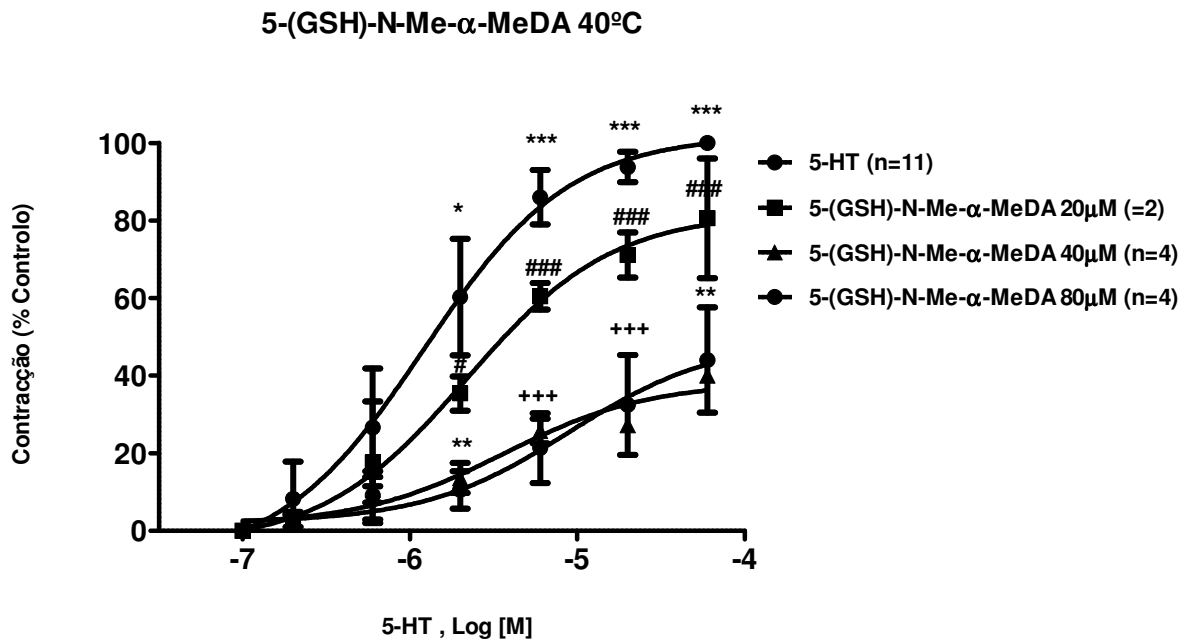
++p <0,01 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA versus controle

#p <0,05 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA 20 $\mu$ M versus  $\alpha$ -MeDA 80 $\mu$ M

#### • Resposta da artéria a 40°C

Os resultados são expressos em valores médios  $\pm$  S.E.M. de 11 experiências para a 5-HT, de 2 experiências para 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA 20 $\mu$ M, de 4 experiências para 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA 40 $\mu$ M e 4 experiências para 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA 80 $\mu$ M. As barras verticais representam o S.E.M.





**Gráfico 8-** Ação da 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA (20 $\mu$ M, 40 $\mu$ M e 80 $\mu$ M) na curva concentração-resposta da 5-HT na artéria mamária humana a 37°C.

\*\*\* $p < 0,001$  5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA 40 $\mu$ M versus controle

\*\* $p < 0,01$  5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA versus controle

\* $p < 0,05$  5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA versus controle

+++  $p < 0,001$  5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA 80 $\mu$ M versus controle

# $p < 0,05$  5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA 20 $\mu$ M versus  $\alpha$ -MeDA 40 $\mu$ M

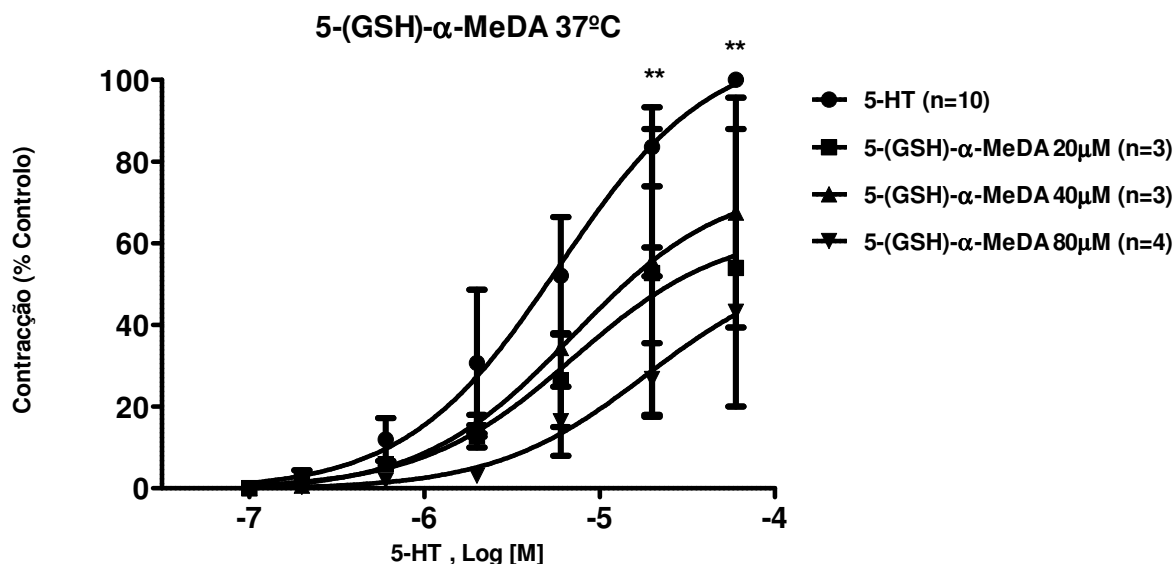
####  $p < 0,001$  5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA 20 $\mu$ M versus  $\alpha$ -MeDA 40 $\mu$ M

### 5.8 Ação da 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA (20 $\mu$ M, 40 $\mu$ M e 80 $\mu$ M) na curva concentração-resposta da 5-HT na artéria mamária humana

Os seguintes gráficos representam o impacto da adição de diferentes concentrações de 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA, a diferentes temperaturas, nas curvas concentração-resposta de serotonina (controle).

- **Resposta da artéria a 37°C**

Os resultados são expressos em valores médios  $\pm$  S.E.M. de 10 experiências (n) para a 5-HT, de 3 para 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA 20 $\mu$ M, de 3 para 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA 40 $\mu$ M e 4 experiências para 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA 80 $\mu$ M. As barras verticais representam o S.E.M.

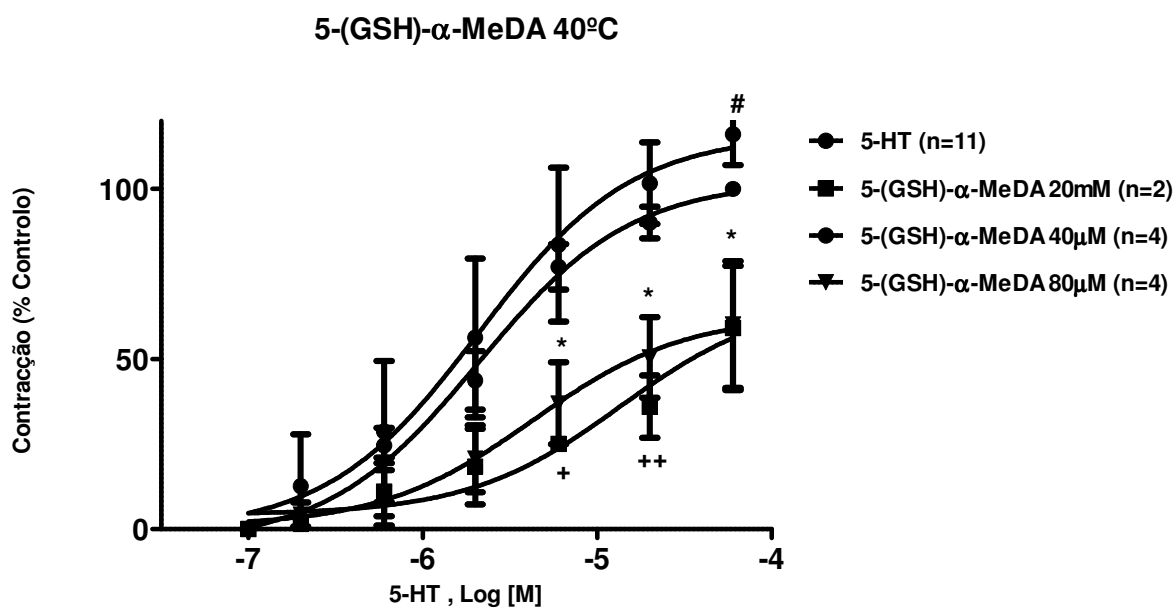


**Gráfico 9-** Ação da 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA (20 $\mu$ M, 40 $\mu$ M e 80 $\mu$ M) na curva concentração-resposta da 5-HT na artéria mamária humana a 37°C.

\*\*p < 0,01 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA 80 $\mu$ M versus controle

- **Resposta da artéria a 40°C**

Os resultados são expressos em valores médios  $\pm$  S.E.M. de 11 experiências (n) para a 5-HT, de 2 para 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA 20 $\mu$ M, de 4 para 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA 40 $\mu$ M e 4 experiências para 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA 80 $\mu$ M. As barras verticais representam o S.E.M.



**Gráfico 10-** Ação da 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA (20 $\mu$ M, 40 $\mu$ M e 80 $\mu$ M) na curva concentração-resposta da 5-HT na artéria mamária humana a 37°C.

\*p <0,05 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA 80 $\mu$ M versus controle

++p <0,001 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA 20 $\mu$ M versus controle

+p <0,001 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA 20 $\mu$ M versus controle

#p <0,05 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA 40 $\mu$ M versus  $\alpha$ -MeDA 80 $\mu$ M

### 5.9- Comparação dos resultados das curvas concentração-resposta da serotonina

A tabela seguinte compara a percentagem de redução do efeito máximo obtido para a curva controle (curva de serotonina) e pEC50 (logaritmo negativo da concentração molar do agonista capaz de induzir metade da contração máxima) para os compostos estudados, MDMA,  $\alpha$ -MeDA, 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA e 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA, nas diferentes concentrações usadas e a diferentes temperaturas.

Os resultados estão expressos em valores médios  $\pm$  SEM. A significância das diferenças estatísticas foi analisada pelo teste ANOVA seguido do teste de comparações múltiplas de Tukey.

	% de redução do E <sub>máx</sub> relativamente ao Controlo		pEC <sub>50</sub>	
	37°C	40°C	37°C	40°C
<b>MDMA</b>				
400µM	28,46% <sup>***</sup>	55,03% <sup>***</sup>	5,57±0,10 <sup>***</sup>	4,38±0,09 <sup>***</sup>
800µM	35,57% <sup>*</sup>	70,91% <sup>*</sup>	5,81±0,12	5,81±0,10
1600µM	81,35%	84,14%	5,61±0,17	4,78±0,36
<b>α-MeDA</b>				
20µM	63,10% <sup>**</sup>	22,93% <sup>**</sup>	5,41±0,08	5,33±0,05
40µM	59,32%	37,76%	5,54±0,15	5,25±0,11
80µM	61,93%	41,24%	5,83±0,18	5,89±0,13
<b>5-(GSH)-α-MeDA</b>				
20µM	46,03%	40,86%	5,15±0,13	4,86±0,25
40µM	32,46%	+16,15% <sup>+++</sup>	5,15±0,02	5,67±0,07
80µM	56,78%	39,84%	4,73±0,12	5,37±0,06
<b>5-(GSH)-N-Me-α-MeDA</b>				
20µM	14,10%	19,42%	5,53±0,09	5,64±0,10
40µM	37,60%	59,95% <sup>+++</sup>	5,53±0,09	5,44±0,24
80µM	39,20%	55,95%	5,53±0,10	4,97±0,21

**Tabela 3-** Comparação da % de redução do E<sub>máx</sub> relativamente ao controlo e pEC<sub>50</sub> para MDMA, α-MeDA, 5-(GSH)-N-Me-α-MeDA e 5-(GSH)-α-MeDA a 37°C e a 40°C.

\* p <0,05 37°C vs. 40°C

\*\* p <0,01 37°C vs. 40°C

\*\*\* p <0,001 37°C vs. 40°C

+++ p <0,001 de 5-(GSH)-N-Me-α-MeDA 40µM versus 5-(GSH)-α-MeDA 40µM a 40°C

## 6. DISCUSSÃO

No presente estudo, foi avaliada a influência da MDMA e dos seus metabolitos  $\alpha$ -MeDA, 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA e 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA no sistema serotoninérgico vascular, usando a artéria mamária interna humana.

Dos resultados obtidos verifica-se que a MDMA, de 10 $\mu$ M a 800 $\mu$ M (ver Gráfico 1), induziu contrações dependentes da concentração, tanto a 37°C como a 40°C. A atividade intrínseca ( $E_{m\acute{a}x}$ ) é significativamente maior a 40°C (8.03 $\pm$ 0.49) que a 37°C (1.98 $\pm$ 0.77). Relativamente à potência ( $pEC_{50}$ ), não se verificaram diferenças significativas entre as temperaturas estudadas. De realçar que a excecional diferença entre 37°C e 40°C se verifica nas concentrações mais altas de MDMA.

A  $\alpha$ -MeDA, de 1 $\mu$ M a 60 $\mu$ M (ver Gráfico 2), provocou contrações concentração-dependentes na artéria mamária interna humana, tanto a 37°C como a 40°C. A atividade intrínseca ( $E_{m\acute{a}x}$ ) é significativamente maior a 40°C (2.97 $\pm$ 0.87) que a 37°C (2.97 $\pm$ 0.87). Relativamente à potência ( $pEC_{50}$ ), não se verificaram diferenças significativas entre as temperaturas estudadas. De realçar que a excecional diferença entre 37°C e 40°C se verifica nas concentrações mais altas de  $\alpha$ -MeDA, tal como aconteceu com MDMA.

Da análise da tabela 2 podemos verificar que a atividade intrínseca ( $E_{m\acute{a}x}$ ) da  $\alpha$ -MeDA é significativamente maior que a da MDMA, a 40°C. À temperatura de 37°C não se verificaram diferenças significativas entre os dois compostos. O mesmo se passa para a potência: a 40°C a  $\alpha$ -MeDA é mais potente que a MDMA; também a 37°C não se registaram diferenças significativas. De salientar que as doses utilizadas de MDMA e de  $\alpha$ -MeDA não são as mesmas. Para a curva concentração-resposta da  $\alpha$ -MeDA foram utilizadas doses inferiores (1 $\mu$ M-60 $\mu$ M) que para a curva à MDMA (10 $\mu$ M-800 $\mu$ M), e, apesar disso, a  $\alpha$ -MeDA mostrou ter maior atividade intrínseca e maior potência que a MDMA, a 40°C. Como não houve diferenças estatisticamente significativas a 37°C não podemos afirmar acerca destes parâmetros ( $E_{m\acute{a}x}$  e  $pEC_{50}$ ), experiências posteriores serão necessárias, possivelmente utilizando as mesmas concentrações para ambos os compostos.

Relativamente à adição de 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA (0.1 $\mu$ M-60 $\mu$ M) e 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA (0.1 $\mu$ M-60 $\mu$ M), não se verificou qualquer resposta contráctil da artéria mamária interna humana (ver Figura 7-11), quer a 37°C, quer a 40°C. Estes resultados demonstram

que estes metabolitos não possuem atividade intrínseca na artéria mamária interna humana, ou apenas causam contração em elevadas concentrações. Estudos posteriores são necessários para averiguar esta possibilidade.

Das incubações realizadas com MDMA (400 $\mu$ M, 800 $\mu$ M e 1600 $\mu$ M) na artéria mamária interna humana verifica-se um desvio da curva da serotonina (controlo) para a direita, tanto a 37°C como a 40°C. Em normotermia (Gráfico 3), para doses baixas, 400 $\mu$ M, a diminuição do efeito máximo não mostrou diferenças significativas; já para concentrações mais elevadas, 800 $\mu$ M e 1600 $\mu$ M, o efeito máximo diminui com diferenças significativas, 35,7% e 81,35%, respetivamente. A 40°C (Gráfico 4) o desvio da curva controlo para a direita é mais notável, com diminuição do efeito máximo em ambas as concentrações estudadas (55,03% para 400 $\mu$ M, 70,91% para 800 $\mu$ M e 84,14% para 1600 $\mu$ M).

Da análise da tabela 3 verificamos que para concentrações de 400 $\mu$ M de MDMA, a % de redução do efeito máximo é bastante mais significativa a 40°C que a 37°C (55,03% versus 28,46%, respetivamente). A 800 $\mu$ M de MDMA essa diferença ainda é significativa (70,91% a 40°C versus 35,57% a 37°C). Para concentrações mais elevadas de MDMA (1600  $\mu$ M) a % de redução do efeito máximo é semelhante para ambas as temperaturas. Ou seja, enquanto a 37°C apenas se verifica diminuição do efeito máximo para concentrações elevadas de MDMA, a 40°C a diminuição do  $E_{m\acute{a}x}$  acontece mesmo em concentrações mais baixas. Portanto, o efeito hipertérmico da MDMA parece agravar a toxicidade vascular, mesmo para concentrações inferiores, potenciando a diminuição do efeito contráctil da 5-HT. Para elevadas concentrações de MDMA, os valores de redução do  $E_{m\acute{a}x}$  a 37°C e a 40°C aproximam-se. Isto parece indicar que quando são administradas grandes quantidades de MDMA, a temperatura parece não representar um fator significativo, já para pequenas quantidades de ecstasy, a hipertermia assume-se como um potenciador da toxicidade vascular.

Como o MDMA mostrou causar contrações dependentes da concentração nesta artéria (Gráfico 1), podemos concluir que na presença de um agonista total (5-HT), a MDMA antagoniza a resposta contráctil da serotonina, comportando-se como um agonista parcial, possivelmente pela ativação do subtipo de recetores 5-HT<sub>2A</sub> (Silva, et al., 2008).

Existe evidência de que na artéria mamária interna humana, a contração vascular parece dever-se à ativação do subtipo de recetores 5-HT<sub>2A</sub> e 5-HT<sub>1B</sub> (Conti, et al., 1990;

Yildiz, et al., 1996). A ativação do subtipo de recetores 5-HT<sub>2A</sub> e também do subtipo 5-HT<sub>1B</sub> leva a contração vascular e espasmo (Kaumann & Sanders, 1993). A MDMA tem afinidade para uma vasta gama de locais de reconhecimento dos neurotransmissores (Battaglia & De Sousa, 1989; Battaglia, et al., 1988) e pode atuar em ambos os subtipos de recetores da serotonina, 5-HT<sub>2A</sub> e 5-HT<sub>2C</sub> (Koch & Galloway, 1997; Nash, et al., 1994). Portanto, a MDMA na artéria mamária interna humana parece atuar no subtipo de recetores 5-HT<sub>2A</sub> (Silva, et al., 2008), estando o seu uso associado a toxicidade cardiovascular e a vasoconstrição (Fitzgerald & Reid, 1994).

Os efeitos prejudiciais da serotonina devem-se à sua libertação das plaquetas, o que pode produzir trombos, espasmo vascular, mitogénese e proliferação das células do músculo vascular liso. O subtipo 5-HT<sub>2A</sub> está envolvido na contração do músculo vascular liso (De Chaffoy de Courcelles, et al., 1985), contração do músculo liso extravascular, agregação plaquetar, ansiedade e depressão. Está também envolvido na formação de trombos, espasmo coronário arterial, aumento da permeabilidade vascular e proliferação vascular. Como a MDMA parece atuar neste subtipo de recetores, atuando como agonista parcial da 5-HT, a droga causa toxicidade cardíaca e vascular por reprodução dos efeitos patogénicos da serotonina.

O uso de MDMA tem vindo a ser associado a colapso cardiovascular, morte súbita (Bedford Russell, Schwartz, & Dawling, 1992; Dowling, et al., 1987; Milroy, et al., 1996), taquicardia ventricular e hipertensão (Lester, et al., 2000; Mas, et al., 1999). As complicações cardiovasculares podem ir desde enfarte agudo do miocárdio a irreversíveis cardiomiopatias (Ghuran & Nolan, 2000), necrose dos cardiomiócitos (Milroy, et al., 1996), hipertrofia do miocárdio (Patel, et al., 2005) e súbito efeito hipertensivo (Henry, et al., 1992). O consumo continuado de MDMA pode desencadear alterações significativas a nível cardiovascular, por aumento de arritmias e problemas inflamatórios nos cardiomiócitos (Badon, et al., 2002).

A nível neuronal, sabe-se que a MDMA causa neurotoxicidade por estimulação do subtipo de recetores 5-HT<sub>2A</sub> (Battaglia, et al., 1988; Capela, et al., 2006). A adição de antagonistas do subtipo 5-HT<sub>2A</sub> reduz a neurotoxicidade da droga, enquanto um agonista do subtipo 5-HT<sub>2A</sub> induz morte celular (Capela, et al., 2006). Neste estudo conclui-se, ainda, o efeito potenciador da hipertermia na neurotoxicidade induzida pelo MDMA. Em humanos, a administração de antagonistas do subtipo de recetores 5-HT<sub>2A</sub>, como a cetanserina, juntamente com MDMA parece não provocar aumento da temperatura corporal tão

acentuado como a MDMA sozinha, tornando possível a utilização de antagonistas do subtipo de recetores 5-HT<sub>2A</sub> como arma terapêutica contra os efeitos tóxicos da droga (Capela, et al., 2006).

A hipertermia aumenta a produção de radicais livres, que provocam toxicidade, tanto a nível neuronal como vascular (Cadet, et al., 1994; Gudelsky & Nash, 1996; Halliwell, 1992). Aliás, a hipotermia previne a formação de radicais livres que estão aumentados no cérebro de ratos hipertérmicos (Globus, Lin, Schnippering, & Ginsberg, 1995; Kil, Zhang, & Piantadosi, 1996).

Sabe-se que a MDMA é neurotóxica (Capela, et al., 2006) e que provoca stress oxidativo, potenciado em condições hipertérmicas (Capela, et al., 2006). São vários os estudos que suportam o facto de a hipertermia potenciar o efeito neurotóxico da MDMA. Relativamente à toxicidade cardíaca e vascular os estudos são mais escassos.

Das incubações realizadas com  $\alpha$ -MeDA (20 $\mu$ M, 40 $\mu$ M e 80 $\mu$ M) na artéria mamária interna humana verifica-se um desvio da curva da serotonina (controlo) para a direita, tanto a 37°C como a 40°C. Em normotermia (Gráfico 5), verifica-se uma significativa diminuição do efeito máximo para ambas as concentrações estudadas (63.10% para 20  $\mu$ M, 59.31% para 40  $\mu$ M e 61.93% para 80  $\mu$ M), embora não se verifiquem diferenças significativas entre elas. A 40°C (ver Gráfico 6), para baixas concentrações de  $\alpha$ -MeDA (20  $\mu$ M) não se verifica diminuição do efeito máximo. Para concentrações maiores (40  $\mu$ M e 80  $\mu$ M) verifica-se uma diminuição significativa do efeito máximo da 5-HT, 37.76% e 41.24%, respetivamente, mas sem diferenças entre eles.

Podemos observar que  $\alpha$ -MeDA a 20 $\mu$ M leva a uma diminuição do efeito máximo maior a 37°C que a 40°C, 63.10% versus 22.93%, respetivamente. Para as restantes concentrações estudadas não se verificam diferenças significativas entre as diferentes temperaturas. Ou seja, para concentrações mais baixas, a  $\alpha$ -MeDA tem maior redução do efeito máximo a 37°C. Quando se aumenta a concentração deste metabolito, não se verificam diferenças entre as temperaturas.

Na presença de um agonista total (5-HT) a  $\alpha$ -MeDA antagoniza a resposta contráctil da serotonina, comportando-se como um agonista parcial, em que a hipertermia não desempenha um papel fundamental, nas concentrações estudadas.



O agonismo parcial da  $\alpha$ -MeDA relativamente à 5-HT pode dever-se à ativação do subtipo de recetores 5-HT<sub>2A</sub>, tal como ocorre com a MDMA (Silva, et al., 2008), no entanto, estudos para avaliar esta possibilidade são necessários.

Da análise dos gráficos dos Gráficos 1 e 2 e da Tabela 2 conclui-se que a  $\alpha$ -MeDA tem maior atividade intrínseca e maior potência que a MDMA a 40°C na atividade contráctil na artéria mamária interna humana. Para as ações de ambas nas curvas concentração-resposta à 5-HT, observa-se que a hipertermia potencia a antagonização da resposta contráctil da serotonina para a MDMA (400 $\mu$ M e 800 $\mu$ M), não se verificando esse efeito para a  $\alpha$ -MeDA. Ora, as concentrações usadas de MDMA (400 $\mu$ M, 800 $\mu$ M e 1600 $\mu$ M) são bastante diferentes das concentrações usadas de  $\alpha$ -MeDA (20 $\mu$ M, 40 $\mu$ M e 80 $\mu$ M). Futuras experiências serão necessárias para averiguar o comportamento da  $\alpha$ -MeDA em concentrações mais elevadas nas curvas concentração-resposta à serotonina a 37°C e a 40°C.

A  $\alpha$ -MeDA deriva do metabolismo da MDMA que é *N*-demetilado a MDA, que é posteriormente *O*-demetilado a  $\alpha$ -metildopamina ( $\alpha$ -MeDA) (Kumagai, et al., 1991; Lim & Foltz, 1988) pelos citocromos P450 2D, 2B e 3a (Kreth, et al., 2000; Kumagai, et al., 1994). A  $\alpha$ -MeDA é um catecol que pode sofrer oxidação e originar a *o*-quinona correspondente, altamente reativa que pode originar radicais semiquinona e produzir ROS e RNS (Bolton, et al., 2000; Remião, Carvalho, Carmo, Carvalho, & Bastos, 2002). Além disso, pode ainda formar ligações com o DNA e com proteínas ou conjugar com a glutatona. Portanto, o metabolismo do MDMA leva à formação de intermediários reativos, ROS, RNS e outros produtos tóxicos que contribuem para a toxicidade desta anfetamina (Carvalho, et al., 2004).

MDA, *N*-Me- $\alpha$ -MeDA e  $\alpha$ -MeDA são os maiores metabolitos hepáticos da MDMA (T.J. Monks, et al., 2004). Da análise da literatura, verifica-se que a  $\alpha$ -MeDA é mais neurotóxica que a MDMA, tanto a 37°C como a 40°C, embora esta neurotoxicidade se potenciada pela hipertermia (Capela, et al., 2007; Capela, et al., 2006). No nosso estudo verificou-se que a  $\alpha$ -MeDA tem maior atividade intrínseca e maior potência que a MDMA, a 40°C na artéria mamária interna humana, o que parece indicar que a  $\alpha$ -MeDA é mais tóxica a nível vascular que a MDMA, em hipertermia. Já a 37°C não se verificaram diferenças neste estudo.

A  $\alpha$ -MeDA parece comportar-se como uma agonista parcial da serotonina, tal como a MDMA. A MDMA, ao atuar no subtipo de recetores 5-HT<sub>2A</sub>, causa toxicidade cardíaca e

vascular por reprodução dos efeitos patogénicos da serotonina. Como se verificou que a  $\alpha$ -MeDA tem maior atividade intrínseca e maior potência que a MDMA, a 40°C, a  $\alpha$ -MeDA pode causar maior toxicidade cardíaca e vascular que a MDMA a 40°C, por atuação também no subtipo de recetores 5-HT<sub>2A</sub>.

O efeito da MDMA a nível cardiovascular pode ser indireto, devido à sua ação na libertação de serotonina, dopamina e noradrenalina, ou também uma ação direta nas células cardíacas e vasculares. Este efeito direto pode dever-se ao próprio ecstasy ou a alguns dos metabolitos formados. A ação da MDMA, MDA,  $\alpha$ -MeDA e N-Me- $\alpha$ -MeDA em cardiomiócitos de rato isolados necessita de prévio metabolismo da MDMA a  $\alpha$ -MeDA e N-Me- $\alpha$ -MeDA para induzir cardiotoxicidade *in vitro*, tendo-se verificado a N-Me- $\alpha$ -MeDA como o metabolito mais tóxico (Carvalho, et al., 2004).

No nosso estudo, observou-se que a  $\alpha$ -MeDA parece causar maior toxicidade vascular que a MDMA a 40°C, o que vai de encontro com o descrito na literatura. Verificou-se que o próprio MDMA é tóxico a nível vascular, tanto a 37°C como a 40°C. A  $\alpha$ -MeDA é também tóxica a nível vascular em ambas as temperaturas, mas apenas em hipertermia se destaca a sua maior toxicidade, relativamente à MDMA.

Estudos posteriores serão necessários para avaliar o efeito vascular da N-Me- $\alpha$ -MeDA e a sua possível maior toxicidade que a  $\alpha$ -MeDA.

Após incubações realizadas com 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA (20 $\mu$ M, 40 $\mu$ M e 80 $\mu$ M) na artéria mamária interna humana verifica-se um desvio da curva da serotonina (controlo) para a direita, tanto a 37°C como a 40°C. Para concentrações de 20 $\mu$ M não se verificam diferenças relativamente ao controlo, para ambas as temperaturas. Para concentrações de 40  $\mu$ M e 80  $\mu$ M existe uma significativa diminuição do efeito máximo de 37.6% e 39.2%, respetivamente a 37°C. A 40°C a diminuição do efeito máximo é 59.95% para 40  $\mu$ M e 55.95% para 80 $\mu$ M. Não se verificaram diferenças significativas entre as temperaturas. Portanto, para a 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA, nas concentrações estudadas, não se verificou a influência da temperatura no antagonismo da resposta contráctil da serotonina.

Da análise dos Figuras 7-9, conclui-se que a 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA, nas concentrações estudadas, não possui atividade intrínseca na artéria mamária interna humana. No entanto, causa um desvio para a direita da curva da serotonina com diminuição do efeito

máximo a 40 $\mu$ M e a 80 $\mu$ M, em ambas as temperaturas. Este facto parece indicar que a 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA tem afinidade para o recetor da serotonina, embora não tenha atividade intrínseca, na artéria mamária interna humana, atuando, possivelmente, como um antagonista não competitivo.

Após incubações realizadas com 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA (20 $\mu$ M, 40 $\mu$ M e 80 $\mu$ M) na artéria mamária interna humana verifica-se um desvio da curva da serotonina (controlo) para a direita, tanto a 37°C como a 40°C. Em normotermia, não existem diferenças significativas de 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA 20 $\mu$ M e 40 $\mu$ M relativamente ao controlo. Para concentrações maiores (80 $\mu$ M) existe uma diminuição significativa de 56.78% relativamente à curva à serotonina. A 40°C, para 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA 20 $\mu$ M existe um desvio significativo da curva para a direita, sem diminuição significativa do efeito máximo. Para concentrações de 40 $\mu$ M não se verificam diferenças relativamente ao controlo. Para concentrações maiores (80 $\mu$ M) existe uma diminuição significativa do efeito máximo de 39.84%. Não se observaram diferenças entre as temperaturas estudadas. Portanto, para a 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA, nas concentrações estudadas, não se verificou a influência da temperatura no antagonismo da resposta contráctil da serotonina.

Da análise das Figuras 9 e 10, conclui-se que a 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA, nas concentrações estudadas, não possui atividade intrínseca na artéria mamária interna humana. No entanto, causa um desvio para a direita da curva da serotonina com diminuição do efeito máximo a 80 $\mu$ M, em ambas as temperaturas. Este facto parece indicar que a 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA tem afinidade para o recetor da serotonina, embora não tenha atividade intrínseca, na artéria mamária interna humana, parecendo atuar como um antagonista não competitivo.

Comparando os resultados obtidos de 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA e 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA (Tabela 3), verifica-se que não existem diferenças significativas entre estes dois metabolitos, em ambas as concentrações estudadas, a 37°C. Em hipertermia, verifica-se que na concentração de 40 $\mu$ M existem diferenças entre os dois metabolitos, 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA antagonizou ao efeito contráctil da serotonina em 59,95%, enquanto que 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA não mostrou diferenças relativamente à 5-HT.

O metabolismo do MDMA envolve *N*-demetilação a MDA. MDMA e MDA são *O*-demetilados a *N*-metil- $\alpha$ -metildopamina (*N*-Me- $\alpha$ -MeDA) e  $\alpha$ -metildopamina ( $\alpha$ -MeDA), respetivamente (Lim & Foltz, 1988) pelos citocromos P450 2D, 2B e 3a (Kreth, et al., 2000; Kumagai, et al., 1994). Estes metabolitos reativos são rapidamente oxidados às respetivas *o*-quinonas que podem causar dano celular por alquilação com proteínas celulares e/ou com DNA. Na presença de glutationa (GSH), a oxidação de  $\alpha$ -MeDA e *N*-Me- $\alpha$ -MeDA à correspondente *o*-quinona é seguida pela conjugação com GSH formando 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA e 5-(GSH)-*N*-Me- $\alpha$ -MeDA, respetivamente (Hiramatsu, et al., 1990).

Existem evidências que é necessário o posterior metabolismo de *N*-Me- $\alpha$ -MeDA e  $\alpha$ -MeDA para produzir neurotoxicidade. Aliás, sabe-se que a injeção direta de  $\alpha$ -MeDA no cérebro não causa toxicidade (T.J. Monks, et al., 2004). A  $\alpha$ -MeDA e *N*-Me- $\alpha$ -MeDA não provocam neurotoxicidade em pouco tempo, já 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA e 5-(GSH)-*N*-Me- $\alpha$ -MeDA, provaram ser tóxicos no mesmo período de tempo, sendo a 5-(GSH)-*N*-Me- $\alpha$ -MeDA que mostrou o maior grau de neurotoxicidade (Capela, et al., 2007). A toxicidade de 5-(GSH)-*N*-Me- $\alpha$ -MeDA e 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA provou ser potenciada a 40°C (Capela, et al., 2007). Estes metabolitos são neurotóxicos numa forma dependente do tempo, concentração e temperatura. 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA e 5-(GSH)-*N*-Me- $\alpha$ -MeDA são potentes neurotoxinas quando comparadas com os correspondentes catecóis e com o próprio MDMA.

No nosso estudo, verificou-se que 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA e 5-(GSH)-*N*-Me- $\alpha$ -MeDA não produzem efeito contráctil direto na artéria mamária interna humana. No entanto, as concentrações destes metabolitos utilizadas no estudo de neurotoxicidade (Capela, et al., 2007) foram de 100 $\mu$ M, 200  $\mu$ M e 400  $\mu$ M, valores superiores aos utilizados no nosso estudo (20  $\mu$ M, 40  $\mu$ M e 80  $\mu$ M).

Sabe-se que a depleção de glutationa é um dos primeiros eventos tóxicos observados nos cardiomiócitos de rato expostos a *N*-Me- $\alpha$ -MeDA e  $\alpha$ -MeDA (Carvalho, et al., 2004). O que parece indicar que os conjugados formados, 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA e 5-(GSH)-*N*-Me- $\alpha$ -MeDA, possam apresentar toxicidade cardíaca.

Estudos posteriores que envolvam 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA e 5-(GSH)-*N*-Me- $\alpha$ -MeDA em concentrações superiores são necessários.

## 7. CONCLUSÕES

Tendo em conta os objetivos deste estudo, verificou-se:

- A MDMA (10 $\mu$ M a 800 $\mu$ M) induz contração dose-dependente na artéria mamária interna humana, tanto a 37°C como a 40°C.
- A  $\alpha$ -MeDA (1 $\mu$ M a 60 $\mu$ M) provoca contração dose-dependente na artéria mamária interna humana, tanto a 37°C como a 40°C. A atividade intrínseca ( $E_{m\acute{a}x}$ ) é significativamente maior a 40°C que a 37°C.
- A atividade intrínseca ( $E_{m\acute{a}x}$ ) e a potência ( $pEC_{50}$ ) da  $\alpha$ -MeDA é significativamente maior que a da MDMA, a 40°C. A 37°C não se registaram diferenças significativas.
- A 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA (0.1 $\mu$ M-60 $\mu$ M) não provocou qualquer resposta contráctil da artéria mamária interna humana, quer a 37°C, quer a 40°C.
- A 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA (0.1 $\mu$ M-60 $\mu$ M) não provocou qualquer resposta contráctil da artéria mamária interna humana, quer a 37°C, quer a 40°C.
- A 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA e 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA, nas concentrações de 0.1 $\mu$ M-60 $\mu$ M, demonstram não possuir atividade intrínseca na artéria mamária interna humana.
- Incubações com MDMA (400 $\mu$ M, 800 $\mu$ M e 1600 $\mu$ M) provocam um desvio da curva controlo da 5-HT para a direita, tanto a 37°C como a 40°C.
- A MDMA antagoniza a resposta contráctil da serotonina, comportando-se como um agonista parcial.
- Para elevadas concentrações de MDMA, a temperatura parece não representar um fator significativo, já para baixas concentrações, a hipertermia mostrou diminuir significativamente o  $E_{m\acute{a}x}$ .
- As incubações realizadas com  $\alpha$ -MeDA (20 $\mu$ M, 40 $\mu$ M e 80 $\mu$ M) na artéria mamária interna humana revelaram um desvio da curva da serotonina (controlo) para a direita, tanto a 37°C como a 40°C.
- A  $\alpha$ -MeDA antagoniza a resposta contráctil da serotonina, comportando-se como um agonista parcial, em que a temperatura não mostrou ter influência significativa nesse agonismo.

- A 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA (20 $\mu$ M, 40 $\mu$ M e 80 $\mu$ M) na artéria mamária interna humana provoca um desvio da curva da serotonina para a direita, tanto a 37°C como a 40°C, mas sem diferenças significativas entre as temperaturas.
- A 5-(GSH)-N-Me- $\alpha$ -MeDA, nas concentrações estudadas, provou ter afinidade para o recetor da serotonina, embora sem atividade intrínseca, na artéria mamária interna humana, atuando, possivelmente, como um antagonista não competitivo.
- A 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA (20 $\mu$ M, 40 $\mu$ M e 80 $\mu$ M) na artéria mamária interna humana provoca um desvio da curva da serotonina para a direita, tanto a 37°C como a 40°C, mas sem influência da temperatura.
- A 5-(GSH)- $\alpha$ -MeDA, nas concentrações estudadas, provou ter afinidade para o recetor da serotonina, mas sem atividade intrínseca, na artéria mamária interna humana, atuando, possivelmente, como um antagonista não competitivo.

## Referências Bibliográficas

- Aguirre, N., Barrionuevo, M., Ramírez, M., Río, J., & Lasheras, B. (1999). [alpha]-Lipoic acid prevents 3,4-methylenedioxy-methamphetamine (MDMA)-induced neurotoxicity. *Neuropharmacology and Neurotoxicology*, *10*(17), 3675-3680.
- Al-Sahli, W., Ahmad, H., Kheradmand, F., Connolly, C., & Docherty, J. R. (2001). Effects of methylenedioxymethamphetamine on noradrenaline-evoked contractions of rat right ventricle and small mesenteric artery. *Eur J Pharmacol*, *422*, 169-174.
- Badon, L. A., Hiks, A., Lord, K., Ogden, B. A., Meleg-Smith, S., & Varner, K. J. (2002). Changes in Cardiovascular Responsiveness and Cardiotoxicity Elicited during Binge Administration of Ecstasy. *JPET*, *302*, 898-907.
- Baggott, M., Heifets, B., Jones, R., & Mendelson, J. (2000). Chemical Analysis of Ecstasy Pills. *JAMA*, *284*(17).
- Baker, K., Herbert, A., & Broadley, K. (2007). Vasoconstriction of porcine left anterior descending coronary artery by ecstasy and cathinone is not an indirect sympathomimetic effect. *Vascular Pharmacology*, *47*(1), 10-17.
- Bard, J. A., Zgombick, J., Adham, N., Vaysse, P., Branchek, T., & Weinshank, R. L. (1993). Cloning of a novel human serotonin receptor (5-HT<sub>7</sub>) positively linked to adenylate cyclase. *J Biol Chem*, *268*, 23422-23426.
- Battaglia, G., & De Sousa, E. (1989). Pharmacologic profile of amphetamine derivatives at various brain recognition sites: selective effects of serotonergic systems. *NIDA Res Monogr*, *94*, 240-258.
- Battaglia, G., Yeh, S., & De Sousa, E. (1988). MDMA-induced neurotoxicity: parameters of degeneration and recovery of brain serotonin neurons. *Pharmac Biochem Behav*, *29*, 269-274.
- Bedford Russell, A. R., Schwartz, R. H., & Dawling, S. (1992). Accidental ingestion of 'Ecstasy' (3,4-methylenedioxymethylamphetamine). *Archives of Diseases of Childhood* *67*, 1114-1115.
- Bell, S., Burns, D., Dennis, A., Matchett, L., & Speers, J. (2000). Composition profiling of seized ecstasy tablets by Raman spectroscopy. *Analyst*, *125*(10), 1811-1815.
- Bolton, J. L., Trush, M. A., T.M., P., Dryhurst, G., & Monks, T. (2000). Role of quinones in toxicology. *Chem Res Toxicol*, *13*, 135-160.

- Brattelid, T., Qvigstad, E., Lynham, J. A., Molenaar, P., Aass, H., & Geiran, O. (2004). Functional serotonin 5-HT<sub>4</sub> receptors in porcine and human ventricular myocardium with increased 5-HT<sub>4</sub> mRNA in heart failure. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 370, 157-166.
- Bronstein, D. M., & Hong, J. (1995). Effects of sulpiride and SCH 23390 on methamphetamine-induced changes in body temperature and lethality. *J Pharmacol Exp Ther*, 274(943-950).
- Brown, C., & Osterloh, J. (1987). Multiple Severe Complications From Recreational Ingestion of MDMA ('Ecstasy'). *JAMA*, 258(6), 780-781.
- Brown, P. L., & E.A., K. (2004). Brain hyperthermia induced by MDMA ("ecstasy"): modulation by environmental conditions. *Eur J Neurosci*, 20, 51-58.
- Brunnenberg, M., Lindenblatt, H., Gouzoulis-Mayfrank, E., & Kovara, K. (1998). Quantitation of N-ethyl3,4-methylenedioxyamphetamine and its major metabolites in human plasma by high-performance liquid chromatography and fluorescence detection. *Journal of Chromatography B*, 719, 79-85.
- Cadet, J. L., Ladenheim, B., Baum, I., Carlson, E., & Epstein, C. (1994). CuZn-superoxide dismutase (CuZnSOD) transgenic mice show resistance to the lethal effects of methylenedioxyamphetamine (MDA) and of methylenedioxymethamphetamine (MDMA). *Brain Res*, 655, 259-262.
- Capela, J., Macedo, C., Branco, P., Ferreira, L., Lobo, A., Fernandes, E., et al. (2007). Neurotoxicity Mechanism of Thioether Ecstasy Metabolites. *Neuroscience*, 146, 1743-1757.
- Capela, J., Meisel, A., Abreu, A., Branco, P., Ferreira, L., Lobo, A., et al. (2006). Neurotoxicity of ecstasy metabolites in rat cortical neurons, and influence of hyperthermia. *J Pharmacol Exp Ther*, 316, 53-61.
- Carmo, H., Brulport, M., Hermes, M., Oesch, F., Silva, R., Ferreira, L., M., et al. (2006). Influence of CYP2D6 polymorphism on 3,4-methylenedioxymethamphetamine ("ecstasy") cytotoxicity. *Pharmacogenet Genomics*, 16, 789-799.
- Carvalho, M., Carvalho, F., & Bastos, M. (2001). Is hyperthermia the triggering factor for hepatotoxicity induced by 3,4-methylenedioxymethamphetamine (ecstasy)? An in vitro study using freshly isolated mouse hepatocytes. *Arch Toxicol*, 74, 789-793.
- Carvalho, M., Hawksworth, G., Milhazes, N., Borges, F., Monks, T., Fernandes, E., et al. (2002a). Role of metabolites in MDMA (ecstasy)-induced nephrotoxicity: an in vitro study using rat and human renal proximal tubular cells. *Arch Toxicol*, 79, 581-588.



- Carvalho, M., Hawksworth, G., Milhazes, N., Borges, F., Monks, T., Fernandes, E., et al. (2002b). Role of metabolites in MDMA (ecstasy)-induced nephrotoxicity: an in vitro study using rat and human renal proximal tubular cells *Archives of Toxicology* 76, 581-588.
- Carvalho, M., Remião, F., Milhazes, N., Borges, F., Fernandes, E., Monteiro, M. C., et al. (2004). Metabolism is required for the expression of ecstasy-induced cardiotoxicity in vitro. *Chem Res Toxicol*, 17, 623–632.
- Cerretani, D., Riezzo, I., Fiaschi, A., Centini, F., Giorgi, G., D'errico, S., et al. (2008). Cardiac oxidative stress determination and myocardial morphology after a single ecstasy (MDMA) administration in a rat model. *Int. J. Legal Med*, 122, 461–469.
- Chadwick, I. S., Curry, P. D., Linsley, A., Freemont, A. J., & Doran, B. (1991). Ecstasy, 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA), a fatality associated with coagulopathy and hyperthermia *J Royal Soc Med* 84, 371.
- Chandra, M., Grupta, V., Johri, A., Misra, R., Kumar, A., & Gujrati, V. (1994). Serotonergic mechanisms in heart failure. *Indian Heart J*, 46, 153-156.
- Che, S., Johnson, M., Hanson, G., & Gibb, J. (1995). Body temperature effect on methylenedioxymethamphetamine-induced acute decrease in tryptophan hydroxylase activity. *Eur J Pharmacol*, 293(4), 447–453.
- Choi, D., Ward, S., Messaddeq, N., Launay, J., & Maroteaux, L. (1997). 5-HT<sub>2B</sub> receptor-mediated serotonin morphogenetic functions in mouse cranial neural crest and myocardial cells. *Development*, 124, 1745-1755.
- Choi, D. S., & Maroteaux, L. (1966). Immunohistochemical localisation of the serotonin 5-HT<sub>2B</sub> receptor in mouse gut, cardiovascular system, and brain. *FEBS Lett*, 391, 45–51.
- Colado, M., Granados, R., O'Shea, E., Esteban, B., & Green, A. (1998). Role of hyperthermia in the protective action of chlormethiazole against MDMA ("ecstasy")-induced neurodegeneration, comparison with the novel NMDA channel blocker AR-15896. *Br J Pharmacol*, 124, 479-484.
- Colado, M., O'Shea, E., Granados, R., Murray, T. K., & Green, A. (1997). In vivo evidence for free radical involvement in 5-HT following administration of MDMA ("ecstasy") and p-chloroamphetamine but not the degeneration following fenfluramine. *Br J Pharmacol*, 121, 889-900.
- Colado, M. I., Murray, T. K., & Green, A. R. (1993). 5-HT loss in rat brain following 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA), p-chloroamphetamine and fenfluramine administration and effects of chlormethiazole and dizocilpine. *Br J Pharmacol*, 108(3), 583–589.

- Cole, J. C., Bailey, M., Sumnall, H., Wagstaff, G., & King, L. (2002). The content of ecstasy tablets: implications for the study of their long-term effects. *Addiction*, 97(12), 1531–1536.
- Cole, J. C., & Sumnall, H. R. (2003). Altered states: the clinical effects of Ecstasy. [doi: 10.1016/S0163-7258(03)00003-2]. *Pharmacology & Therapeutics*, 98(1), 35-58.
- Connor, H. E., Feniuk, W., & Humphrey, P. P. A. (1989). 5-hydroxytryptamine contracts human coronary arteries predominantly via 5-HT<sub>2</sub> receptor activation. *Eur J Pharmacol*, 161, 91-94.
- Conti, A., Monopoli, A., Forlani, A., Ongini, E., Antona, C., & Biglioli, R. (1990). Role of 5-HT<sub>2A</sub> receptors in serotonin-induced contractions in the human mammary artery. *Eur J Pharmacol*, 176, 207-212.
- Creighton, J., Black, D., & Hyde, C. (1991). 'Ecstasy' psychosis and flashbacks. *The British Journal of Psychiatry* 159, 713-715
- Davison, D., & Parrot, A. (1997). Ecstasy (MDMA) in recreational users: self-reported psychological and physiological effects. *Human Psychopharmacology*, 12, 221-226.
- De Chaffoy de Courcelles, D., Leysen, J., De Clerck, F., Van Belle, H., & Janssen, P. A. (1985). Evidence that phospholipid turnover is the signal transducing system coupled to serotonin-S<sub>2</sub> receptor sites. *J Biol Chem*, 260, 7603-7608.
- De Clerck, F., Xhonneux, B., Leysen, J., & Janssen, P. A. (1984). Evidence for functional 5-HT<sub>2</sub> receptor sites on human blood platelets. *Biochem Pharmacol*, 33, 2807-2811.
- De La Torre, R., & Farré, M. (2004). Neurotoxicity of MDMA (ecstasy): the limitations of scaling from animals to humans. [doi: 10.1016/j.tips.2004.08.001]. *Trends in Pharmacological Sciences*, 25(10), 505-508.
- De la Torre, R., Farre, M., Mathuna, B. O., Roset, P. N., Pizarro, N., Segura, M., et al. (2005). MDMA (ecstasy) pharmacokinetics in a CYP2D6 poor metaboliser and in nine CYP2D6 extensive metabolisers. *Eur J Clin Pharmacol*, 61, 551–554.
- De La Torre, R., Farré, M., Ortuño, J., Mas, M., Brenneisen, R., Roset, P., et al. (2000). Non-linear pharmacokinetics of MDMA ('ecstasy') in humans. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 49(2), 104–109.
- Dekant, W. (2001). Chemical-induced nephrotoxicity mediated by glutathione S-conjugate formation. *Toxicol Lett*, 124, 21-36.
- Diller, A. J., Rocha, A., Cardon, A. L., Valles, R., Wellman, P. J., & Nation, J. R. (2007). The effects of concurrent administration of (±)3,4-Methylenedioxymethamphetamine and cocaine on conditioned place preference in the adult male rat. [doi: 10.1016/j.pbb.2007.07.017]. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 88(2), 165-170.

- Dowling, G., McDonough, E., & Bost, R. (1987). 'Eve' and 'Ecstasy'  
A Report of Five Deaths Associated With the Use of MDEA and MDMA. *JAMA*, 257(12), 1615-1617.
- Dreteler, G. H., Wouters, W., & Saxena, P. R. (1990). Comparison of the cardiovascular effects of the 5-HT<sub>1A</sub> recetor agonist flesinoxan with that of 8-OH-DPAT in the rat. *Eur J Pharmacol*, 180, 339-349.
- Easton, N., & Marsden, C. A. (2006). Ecstasy: are animal data consistent between species and can they translate to humans? *J Psychopharmacol*, 20, 194–210.
- Egan, C. T., Herrick-Davis, K., & Teitler, M. (1998). Creation of a constitutively activated state of the 5-hydroxytryptamine<sub>2A</sub> recetor by site-directed mutagenesis: Inverse agonist activity of antipsychotic drugs. *J Pharmacol Exp Ther*, 286, 85-90.
- Fischer, H. S., Zernig, G., Schatz, D. S., Humpel, C., & Saria, A. (2000). MDMA ('ecstasy') enhances basal acetylcholine release in brain slices of the rat striatum. *European Journal of Neuroscience*, 12(4), 1385-1390.
- Fitzgerald, J. L., & Reid, J. J. (1994). Sympathomimetic Actions of Methylenedioxymethamphetamine in Rat and Rabbit Isolated Cardiovascular Tissues. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 46(10), 826-832.
- Freedman, R. R., Johanson, C. E., & Tancer, M. E. (2005). Thermoregulatory effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) in humans. *Physiopharmacology (Berl)*, 183, 248-256.
- Fu, L. W., & Longhurst, J. C. (2002). Activated platelets contribute to stimulation of cardiac afferents during ischaemia in cats: role of 5-HT<sub>3</sub> recetores. *J Physiol*, 544, 897-912.
- Fumeron, F., Detoulle, D., Nicaud, V., Evands, A., Kee, F., & Ruidavets, J. (2002). Serotonin transport gene polymorfism and myocardial infarction. *Circulation*, 105, 2943-2945.
- Ghuran, A., & Nolan, J. (2000). Recreational drug misuse: issues for the cardiologist. *Heart*, 83, 627-633.
- Globus, M., Lin, B., Schnippering, H., & Ginsberg, M. (1995). Detection of free radical formation during transient global ischemia and recirculation: effects of intrainischemic brain temperature modulation. *J. Neurochem*, 65, 1250–1256.
- Glusa, E., & Pertz, H. (2000). Further evidence that 5-HT-induced relaxation of pig pulmonary artery is mediated by endothelial 5-HT<sub>2B</sub> recptores. *Br J Pharmacol*, 130, 692-698.
- Godfraind, T., Dessy, C., & Salomone, S. (1992). A comparison of the potency of selective L-calcium channel blockers in human coronary and internal mammary arteries exposed to serotonin. *The Journal of Pharmacology*, 263, 112-122

- Gollamudi, R., Ali, S. F., Lipe, G., Newport, G., Webb, P., Lopez, M., et al. (1989). Influence of inducers and inhibitors on the metabolism in vitro and neurochemical effects in vivo of MDMA. *Neurotoxicology* 10, 455–466.
- Gordon, J. C. (2007). Thermophysiological response to hyperthermic drugs: extrapolation from rodent to humans. *Prog Brain Res*, 162, 63-79.
- Gordon, J. C., Watkinson, P. W., O'Callaghana, P. J., & Millera, B. D. (1991). Effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine on autonomic thermoregulatory responses of the rat. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 38(2), 339–344.
- Gowing, L., Henry-Edwards, S., Irvine, R., & Ali, R. (2002). The health effects of ecstasy: a literature review. *Drug and Alcohol Review*, 21(1), 53-63.
- Grahame-Smith, D. G. (1971). Studies in vivo on the relationship between brain tryptophan, brain 5-HT synthesis and hyperactivity in rats treated with a monoamine oxidase inhibitor and L-tryptophan. *J. Neurochem*, 18, 1053–1066.
- Green, A., Cross, A. J., & Goodwin, G. M. (1995). Review of the pharmacology and clinical pharmacology of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA or "ecstasy"). *Psychopharmacology*, 119, 247-260.
- Green, A., Mehan, A., Elliott, J., O'Shea, E., & Colado, M. (2003). The Pharmacology and Clinical Pharmacology of 3,4-Methylenedioxymethamphetamine (MDMA, "Ecstasy"). *Pharmacological Reviews* 55(3), 463-508.
- Green, A., Sanchez, V., O'Shea, E., Saadat, K. S., Elliott, J., & Colado, M. (2004). Effect of ambient temperature and a prior neurotoxic dose of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) on the hyperthermic response of rats to a single or repeated ("binge" ingestion) low dose of MDMA. *Psychopharmacology*, 173, 264-269.
- Greer, G., & Strassman, R. (1985). Information on "Ecstasy". *The American Journal of Psychiatry*, 142(11), 1391.
- Grinspoon, L., & Bakalar, J. (1986). Can drugs be used to enhance the psychotherapeutic process? *American Journal of Psychotherapy*, 40(3), 393-404.
- Grob, C. S., Poland, R. E., Chang, L., & Ernst, T. (1996). Psychobiologic effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine in humans: methodological considerations and preliminary observations. *Behav Brain Res*, 73, 103-107.
- Gu, X., & Azmitia, E. (1993). Integrative transporter-mediated release from cytoplasmic and vesicular 5-hydroxytryptamine stores in cultured neurons. *European Journal of Pharmacology*, 235, 51-57.

- Gudelsky, G., & Nash, J. (1996). Carrier-mediated release of serotonin by 3,4-methylenedioxymethamphetamine: implications for serotonin-dopamine interactions. *Journal Neurochem*, *66*, 243-249.
- Gudelsky, G., & Yamamoto, B. (2008). Actions of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) on cerebral dopaminergic, serotonergic and cholinergic neurons. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, *90*(2), 198-207.
- Halliwell, B. (1992). Reactive oxygen species and the central nervous system. *J Neurochem*, *59*, 1609–1623.
- Hammersley, R., Ditton, J., Smith, I., & Short, E. (1999). Patterns of ecstasy use by drug users. *Br J Crimin*, *39*(4), 625-647.
- Harris, P., Fritts, H. W., & Courmand, A. (1960). Some circulatory effects of 5-hydroxytryptamine in man. *Circulation*, *21*, 1134-1139.
- He, G. W., Rosenfeldt, F. L., Buxton, B. F., & Angus, J. A. (1989). Reactivity of human isolated internal mammary artery to constrictor and dilator agents. Implications for treatment of internal mammary artery spasm. *Circulation*, *80*, 141-150.
- Hekmatpanah, C., & SJ, P. (1990). 5-hydroxytryptamine uptake blockers attenuate de 5-hydroxytryptamine-releasing effect of 3,4-methylenedioxymethamphetamine and related agents. *European Journal of Pharmacology*, *177*, 95-98.
- Helmlin, H., Bracher, K., Bourquin, D., Vonlanthen, D., & Brenneisen, R. (1996). "Analysis of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) and its metabolites in plasma and urine by HPLC-DAD and GC-MS". *Anal Toxicol.* , *20*(6), 432-440.
- Henry, J. A., Fallon, J. K., Kicman, A. T., Hutt, A. J., Cowan, D. A., & Forsling, M. (1998). Low-dose MDMA ("ecstasy") induces vasopressin secretion. *Lancet*, *351*, 103-107.
- Henry, J. A., Jeffreys, K. J., & Dawling, S. (1992). Toxicity and deaths from 3,4-methylenedioxymethamphetamine ("ecstasy"). [doi: 10.1016/0140-6736(92)91469-O]. *The Lancet*, *340*(8816), 384-387.
- Hergovich, N., Aigner, M., Eichler, H. G., Entlicher, J., Drucker, C., & Jilma, B. (2000). Paroxetine decreases platelet serotonin storage and platelet function in human beings. *Clin Pharmacol Ther*, *68*, 435-442.
- Hiramatsu, M., Kumagai, Y., Unger, S. E., & Cho, A. K. (1990). Metabolism of methylenedioxymethamphetamine: formation of dihydroxymethamphetamine and a quinone identified as its glutathione adduct. *J Pharmacol Exp Ther*, *254*, 521–527.
- Hollander, W., Michelson, A. L., & Wilkins, R. W. (1957). Serotonin and antiserotonins: I. Their circulatory, respiratory and renal effects in man. *Circulation*, *16*, 246-255.
- Hoyer, D. (Ed.) (2010) Encyclopedia of Life Science

- Hoyer, D., Clarke, D. E., & Fozard, J. R. (1994). International Union of Pharmacology classification of receptors for 5-hydroxytryptamine (serotonin). *Pharmacological Reviews* 46, 157-204.
- Hoyer, D., Hannon, J. P., & Martin, G. R. (2002). Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 71, 533-554.
- Huether, G., Zhou, D., & Rüther, E. (1997). Causes and consequences of the loss of serotonergic presynapses elicited by the consumption of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, "ecstasy") and its congeners *Journal of Neural Transmission* 104, 771-794.
- Iravani, M., Asari, D., Patel, J., Wiczorek, J., & Kruk, L. (2000). Direct effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) on serotonin or dopamine release and uptake in the caudate putamen, nucleus accumbens, substantia nigra pars reticulata, and the dorsal raphe nucleus slices. *Synapse*, 36, 275-285.
- Jacks, S. A., & Hykin, P. (1998). Retinal haemorrhage caused by "ecstasy". *British Journal of Ophthalmology*, 82, 841.
- Jones, A. L., & Simpson, K. J. (1999). Review article: mechanisms and management of hepatotoxicity in ecstasy (MDMA) and amphetamine intoxications. *Ailment Pharmacol Ther*, 13, 129– 133.
- Karlsson, C., Bodelsson, G., Bodelsson, M., & Stjernquist, M. (1997). 5-hydroxytryptamine contracts human uterine artery smooth muscle predominantly via 5-HT<sub>2</sub> receptors. *Human Reproduction*, 12, 361-367.
- Kaumann, A. J., & Brown, A. M. (1990). Allosteric modulation of arterial 5-HT<sub>2</sub> receptors. In P.R. Saxena, D. I. Wallis, & P. Bevan (Eds.). *Cardiovascular Pharmacology of 5-hydroxytryptamine*, 127-142.
- Kaumann, A. J., & Levy, F. O. (2006). Fading of 5-HT<sub>4</sub> receptor-mediated inotropic responses to 5-hydroxytryptamine is caused by phosphodiesterase activity in porcine atrium. *Br J Pharmacol*, 147, 128-130.
- Kaumann, A. J., & Sanders, L. (1993). Both  $\beta_1$ - and  $\beta_2$ -adrenoceptors mediate catecholamine-evoked arrhythmias in isolated human atrium. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 349, 331-337.
- Kaumann, A. J., & Sanders, L. (1994). 5-hydroxytryptamine causes rate-dependent arrhythmias through 5-HT<sub>4</sub> receptors in human atrium: facilitation by chronic  $\beta$ -adrenoceptor blockade. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 349, 331-337.

- Kaumann, A. J., & Sanders, L. (1998). 5-hydroxytryptamine and human heart function: the role of 5-HT<sub>4</sub> receptors. In R.M. Eglen (Ed), *5-HT<sub>4</sub> receptors in the Brain and Periphery*. Heidelberg: Springer.
- Kay, C., Harper, D. N., & Hunt, M. (2010). Differential effects of MDMA and scopolamine on working versus reference memory in the radial arm maze task. [doi: 10.1016/j.nlm.2009.09.005]. *Neurobiology of Learning and Memory*, 93(2), 151-156.
- Kil, H., Zhang, J., & Piantadosi, L. A. (1996). Brain temperature alters hydroxyl radical production during cerebral ischemia/reperfusion in rats. *J Cereb Blood Flow Metab*, 16, 100-106.
- Kindlundh-Hogberg, A., Pickering, C., Wicher, G., Hóber, D., Schioth, H., & Svenningsen, A. (2009). MDMA (Ecstasy) Decreases the Number of Neurons and Stem Cells in Embryonic Cortical Cultures. *Cell Mol Neurobiolog*
- Koch, S., & Galloway, M. (1997). MDMA-induced dopamine release in vivo: role of endogenous serotonin. *J Neural Transm* 104, 135-143.
- Kreth, K. P., Kovar, K. A., Schwab, M., & Zanger, U. M. (2000). Identification of the human cytochromes P450 involved in the oxidative metabolism of "ecstasy"-related designer drugs. *Biochem Pharmacol*, 59, 1563-1571.
- Kumagai, Y., Lin, L. Y., Hiratsuka, A., Narimatsu, S., Suzuki, T., Yamada, H., et al. (1994). Participation of cytochrome P450-2B and -2D isozymes in the demethylenation of methylenedioxyamphetamine enantiomers by rats. *Mol Pharmacol*, 45(2), 359–365.
- Kumagai, Y., Lin, L. Y., Schmitz, D. A., & Cho, A. K. (1991). Hydroxyl radical mediated demethylenation of (methylenedioxy)-phenyl compounds. *Chem Res Toxicol*, 4, 330-334.
- Le Mesurier, D. H., Schwartz, C. J., & Whelan, R. F. (1959). Cardiovascular effects of intravenous infusions of 5-hydroxytryptamine in man. *Br J Pharmacol*, 14, 246-255.
- Leonardi, E., & Azmitia, E. (1994). MDMA (Ecstasy) Inhibition of MAO Type A and Type B: Comparisons with Fenfluramine and Fluoxetine(prozac). *Neurophychopharmacology*, 10, 231-238.
- Lester, S. J., Baggott, M., & Welm, S. (2000). Cardiovascular effects of 3,4-methylenedioxyamphetamine: a double-blind, placebo-controlled trial. [doi: 10.1016/S1062-1458(01)00227-6]. *ACC Current Journal Review*, 10(3), 15.
- Levi, G., & Raiteri, M. T. (1993). Carrier mediated release of neurotransmitters. *Trends Neurosci* 16, 415–419.

- Liechti, M., Baumann, C., Gamma, A., & Vollenweider, F. (2000). Acute psychological effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, "Ecstasy") are attenuated by the serotonin uptake inhibitor citalopram. *Neuropsychopharmacology*, 22, 513-521.
- Liechti, M. E., Gamma, A., & Vollenweider, F. X. (2001). Gender differences in the subjective effects of MDMA *Psychopharmacology*, 154, 161-168.
- Lim, H. K., & Foltz, R. L. (1988). In vivo and in vitro metabolism of 3,4-(methylenedioxy)methamphetamine in the rat: identification of metabolites using an ion trap detector. *Chem Res Toxicol*, 1, 370-378.
- Loop, F., Lytle, B., Cosgrove, M., Stewart, R., Goormastic, M., Williams, G., et al. (1986). Influence of the Internal-Mammary-Artery Graft on 10-Year Survival and Other Cardiac Events. *N Engl J Med*, 314, 1-6.
- Lovren, F., Li, X. F., Lytton, J., & Triggle, C. (1999). Functional characterization and mRNA expression of 5-HT receptors mediating contractions in human umbilical artery. *Br J Pharmacol*, 127, 1247-1255.
- Lyles, J., & Cadet, J. L. (2003). Methylenedioxymethamphetamine (MDMA, Ecstasy) neurotoxicity: cellular and molecular mechanisms. *Brain Res Rev*, 42, 155-168.
- MacLean, M. R., & Dempsie, Y. (2009). Serotonin and pulmonary hypertension--from bench to bedside? *Curr Opin Pharmacol.* , 9(3), 281-286.
- Malberg, J. E., Sabol, K. E., & Seiden, L. S. (1966). Coadministration of MDMA with drugs that protect against MDMA neurotoxicity produces different effects on body temperature in the rat. *J Pharmacol Exp Ther*, 278, 258-267.
- Manchanda, S., & Connolly, M. J. (1993). Cerebral infarction in association with Ecstasy abuse. *Postgrad Med J*, 69, 874-875.
- Mangado, E. O. (2002). Drogas de diseño. *Med Clin (Barc)*, 119, 375-376.
- Mas, M., Farré, M., De La Torre, R., Roset, P., Ortuño, J., Segura, J., et al. (1999). Cardiovascular and Neuroendocrine Effects and Pharmacokinetics of 3,4-Methylenedioxymethamphetamine in Humans. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 290, 136-145.
- McCall, R. B., & Clement, M. E. (1994). Role of serotonin1A and serotonin2 receptors in the central regulation of the cardiovascular system. *Pharmacol. Rev*, 46, 231-243.
- McCann, U., Slate, S., & Ricaurte, G. (1996). Adverse reactions with 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA; 'ecstasy'). *Drug safety: an international journal of medical toxicology and drug experience*, 15(2), 107-115.



- McClain, H. J., & Sapienza, F. (1989). The role of abuse liability testing in drug control procedures. In: Fischman MW, Mello NK, eds. Testing for abuse liability of drugs in humans. *Research Monograph Series*, 92, 21–42.
- McGuire, P., Cope, H., & Fahy, T. (1994). Diversity of psychopathology associated with use of 3,4-methylenedioxymethamphetamine ('Ecstasy'). *The British Journal of Psychiatry*, 165, 391-395
- McGuire, P., & Fahy, T. (1991). Chronic paranoid psychosis after misuse of MDMA ("ecstasy"). *BMJ*, 302.
- Meamar, R., Karamalia, F., Sadeghib, H., Etebarib, M., Nasr-Esfahania, M., & Baharvand, H. (2010). Toxicity of ecstasy (MDMA) towards embryonic stem cell-derived cardiac and neural cells. *Toxicology in Vitro*, 24(4), 1133–1138.
- Mechan, A., Esteban, B., O'Shea, E., Elliott, J., Colado, M., & Green, A. (2002). The pharmacology of the acute hyperthermic response that follows administration of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, 'ecstasy') to rats. *Br J Pharmacol*, 135(1), 170-180.
- Mechan, A., Esteban, B., O`Shea, E., Elliott, J., Colado, M., & Green, A. (2002). The pharmacology of the acute hyperthermic responses that follows administration of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, "ecstasy") in rats. *Br J Pharmacol*, 135, 170-180.
- Miller, R. T., Lau, S. S., & Monks, T. J. (1997). 2,5-bis(Glutathion-S-yl)-a-methyldopamine, a putative metabolite of (+/-)-3,4-methylenedioxyamphetamine, decreases brain serotonin concentrations. *Eur J Pharmacol Exp Ther*, 323, 173–180.
- Mills, E. M., Rusyniak, D. E., & Sprague, J. E. (2004). The role of the sympathetic nervous system and uncoupling proteins in the thermogenesis induced by 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA). *J Mol Med*, 82, 787-799.
- Milroy, C., Clark, J., & Forrest, A. (1996). Pathology of deaths associated with "ecstasy" and "eve" misuse. *Journal of Clinical Pathology*, 49, 149-153
- Miyazaki, I., Asanuma, M., Diaz-Corrales, F. J., Fukuda, M., Kitaichi, K., Miyoshi, K., et al. (2006). Methamphetamine-induced dopaminergic neurotoxicity is regulated by quinone formation-related molecules. *FASEB J*, 20, 571–573.
- Mohr, B., Bom, A. H., Kaumann, A. J., & Thamer, V. (1987). Reflex inhibition of efferent renal sympathetic nerve activity by 5-hydroxytryptamine and nicotine is elicited by different epicardial recetores. *Pflügers Arch*, 409, 145-151.
- Monks, T. J., Jones, D. C., Fengju, B., & Lau, S. S. (2004). The role of metabolism in 3,4-methylenodioxyamphetamine 3,4-methylenodioxyamphetamine

- (ecstasy) toxicity. *Ther Drug Monit*, 26, 132–136.
- Monks, T. J., & Lau, S. S. (1997). Biological reactivity of polyphenolic-glutathione conjugates. *Chem Res Toxicol*, 10, 1296–1313.
- Morecroft, I., Heeley, R. P., Prentice, H. M., Kirk, A., & MacLean, M. R. (1999). 5-hydroxytryptamine receptors mediating contractions in human small muscular pulmonary arteries: importance of 5-HT<sub>1B</sub> receptor. *Br J Pharmacol*, 128, 730-734.
- Morgan, M. (2000). Ecstasy (MDMA): a review of its possible persistent psychological effects. *Psychopharmacology*, 152, 230–248.
- Nagatomo, T., Rashid, M., Muntasira, H., & Komiyama, T. (2004). Functions of 5-HT<sub>2A</sub> receptor and its antagonists in the cardiovascular system. *Pharmacology & Therapeutics*, 104(1), 59–81.
- Nash, J., Roth, B., Brodtkin, J., Nichols, D., & Gudelsky, G. (1994). Effects of the R(-) and S(+) isomers of MDA and MDMA on phosphatidyl inositol turnover in cultured cells expressing 5-HT<sub>2A</sub> or 5-HT<sub>2C</sub> receptors. *Neurosci Lett*, 177, 111-115.
- Nebigil, C. G., Choi, D. S., Dierich, A., Hickel, P., Le Meur, M., & Messaddeq, N. (2000). Serotonin 2B receptor is required for heart development. *Proc Natl Acad Sci USA*, 97, 9508-9513.
- O'Loinsigh, E. D., Boland, G., Kelly, J. P., & O'Boyle, K. M. (2001). Behavioural, hyperthermic and neurotoxic effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine analogues in the Wistar rat. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 25, 621-638.
- Olearchyk, A. S. (1988). Coronary revascularization: past, present and future. *J Ukr Med Assoc N Am* 36, 3-34.
- Paris, J. M., & Cunningham, K. A. (1992). Lack of serotonin neurotoxicity after intraperitoneal microinjection of (+)-3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA). [doi: 10.1016/0361-9230(92)90237-R]. *Brain Research Bulletin*, 28(1), 115-119.
- Parks, V. J., Sandison, A. G., Skinner, S. L., & Whelan, R. F. (1960). The stimulation of respiration by 5-hydroxytryptamine in man. *J Physiol*, 151, 342-351.
- Parrot, A. (2006). MDMA in humans: factors which affect the neuropsychobiological profiles of recreational Ecstasy users, the integrative role of bio-energetic stress. *J Psychopharmacol*, 20, 147-163.
- Parrot, A. (2012). MDMA and temperature: A review of the thermal effects of "Ecstasy" in humans. *Drug and Alcohol Dependence*, 121, 1-9.
- Parrott, A. (2004). Is ecstasy MDMA? A review of the proportion of ecstasy tablets containing MDMA, their dosage levels, and the changing perceptions of purity. *Psychopharmacology*, 173, 234-241.

- Parrott, A. C., Sisk, E., & Turner, J. J. D. (2000). Psychobiological problems in heavy 'ecstasy' (MDMA) polydrug users. [doi: 10.1016/S0376-8716(00)80013-7]. *Drug and Alcohol Dependence*, 60(1), 105-110.
- Patel, M. M., Belson, M. G., Wright, D., Lu, H., Heninger, M., & Miller, M. A. (2005). Methylenedioxyamphetamine (ecstasy)-related myocardial hypertrophy: An autopsy study. *Resuscitation* 66(2), 197-202.
- Pau, D., Workman, A. J., Kane, A. K., & Rankin, A. C. (2003). Electrophysiological effects of 5-hydroxytryptamine on isolated human atrial myocytes, and the influence of chronic  $\beta$ -adrenoceptor blockade. *Br J Pharmacol*, 140, 1434-1441.
- Pedersen, N. P., & Blessing, W. W. (2001). Cutaneous vasoconstriction contributes to hyperthermia induced by 3,4-methylenedioxyamphetamine (Ecstasy) in conscious rabbits. *Journal of Neuroscience*, 27, 8648-8654.
- Pizarro, N., Farre, M., Pujadas, M., Peiro, A. M., Roset, P. N., Joglar, J., et al. (2004). Stereochemical analysis of 3,4-methylenedioxyamphetamine and its main metabolites in human samples including the catechol-type metabolite (3,4-dihydroxymethamphetamine). *Drug Metab Dispos*, 32, 1001-1007.
- Qvigstad, E., Brattelid, T., Sjaastad, I., Andressen, K. W., Krobert, K. A., & Birkeland, J. A. (2005). Appearance of a ventricular 5-HT<sub>4</sub> receptor-mediated inotropic response to serotonin in heart failure. *Cardiovasc Res*, 65, 869-878.
- Ramamoorthy, Y., Yu, A. M., Suh, N., Haining, R. L., Tyndale, R. F., & Sellers, E. M. (2002). Reduced MDMA metabolism with cytochrome P450 2D6 inhibitors and pharmacogenetic variants in vitro. *Biochem Pharmacol*, 30, 2111-2119.
- Remião, F., Carvalho, M., Carmo, H., Carvalho, F., & Bastos, M. (2002). Cu<sup>2+</sup>-induced isoproterenol oxidation into isoprenochrome in adult rat calcium-tolerant cardiomyocytes. *Chem Res Toxicol*, 15, 861-869.
- Rochester, J., & Kirchner, J. (1999). "Ecstasy (3,4-methylenedioxyamphetamine): history, neurochemistry, and toxicology". *J Am Board Fam Pract*, 12(2), 137-142.
- Ropero-Miller, J., & Goldberger, B. (1998). Recreational drugs: Current trends in the 90s. *Clinics in Laboratory Medicine*, 18(4), 727-746.
- Rothman, R. B., Baumann, M. H., Dersch, C. M., Romero, D. V., Rice, K. C., Carroll, F. I., et al. (2001). Amphetamine-type central nervous system stimulants release norepinephrine more potently than they release dopamine and serotonin. *Synapse*, 39, 32-41.
- Rusyniak, D. E., & Sprague, J. E. (2005). Toxin-induced hyperthermic syndromes. *Med Clin North Am*, 89, 1277-1296.

- Sadzot, B., Baraban, J. M., Glennon, R. A., Lyon, R., A., Leonhardt, S., & Jan, C. R. (1989). Hallucinogenic drug interactions at human brain 5-HT<sub>2</sub> receptors: implications for treating LSD-induced hallucinogenesis. *Psychopharmacology*, *98*, 495–499.
- Schifano, F. (1991). Chronic atypical psychosis associated with MDMA ("ecstasy") abuse. [doi: 10.1016/0140-6736(91)92633-D]. *The Lancet*, *338*(8778), 1335.
- Schmidt, C. J., Abbate, G. M., Black, C. K., & Taylor, V. L. (1990). Selective 5-hydroxytryptamine<sub>2</sub> receptor antagonists protect against the neurotoxicity of methylenedioxymethamphetamine in rats. *J Pharmacol Exp Ther*, *255*, 478-483.
- Schmidt, C. J., Sullivan, C. K., & Fadayel, G. M. (1994). Blockade of striatal 5-hydroxytryptamine<sub>2</sub> receptors reduces the increase in extracellular concentrations of dopamine produced by the amphetamine analogue 3,4-methylenedioxymethamphetamine. *J Neurochem*, *62*, 1382-1389.
- Schoeffter, P., Ullmer, C., Bobirnac, I., & Lübbert, H. (1996). Functional, endogenously expressed 5-hydroxytryptamine 5-HT<sub>7</sub> receptors in human vascular smooth muscle cells. *Br J Pharmacol*, *117*, 993-994.
- Scholey, A., Parrott, A., Buchanan, T., Heffernan, T., Ling, J., & Rodgers, J. (2004). Increased intensity of Ecstasy and polydrug usage in the more experienced recreational Ecstasy/MDMA users: a WWW study. *Addict Behaviors*, *29*(4), 743-752.
- Schwartz, R., & Miller, N. (1997). MDMA (Ecstasy) and the Rave: A Review. *Pediatrics*, *100*(4), 705 -708
- Screaton, G. R., Cairns, H. S., Sarnier, M., Singer, M., Thrasher, A., & Cohen, S. L. (1992). Hyperpyrexia and rhabdomyolysis after MDMA ("ecstasy") abuse. *Lancet*, *339*, 677-678.
- Seeley, R., Stephens, T., & Tate, P. (2003). *Anatomia & Fisiologia* (6<sup>o</sup> ed.): Lusociência.
- Segura, M., Farre, M., Pichini, S., Peiro, A. M., Roset, P. N., Ramirez, A., et al. (2005). Contribution of cytochrome P450 2D6 to 3,4-methylenedioxymethamphetamine disposition in humans: use of paroxetine as a metabolic inhibitor probe. *Clin Pharmacokinet*, *44*, 649–660.
- Segura, M., Ortuño, J., Farré, M., McLure, J. A., Pujadas, M., Pizarro N, et al. (2001). 3,4-Dihydroxymethamphetamine (HHMA). A major in vivo 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) metabolite in humans. *Chem Res Toxicol*, *14*, 1203–1208.
- Serebruany, V. L., Glassman, A. H., Malinin, A. I., Sane, D. C., Oshrine, B. R., & Ferguson, J. J. (2003). Selective serotonin reuptake inhibitors yield additional antiplatelet protection

- in patients with congestive heart failure treated with antecedent aspirin. *Eur J Heart Failure*, 5, 517-521.
- Shah, A. M., Andries, L. J., Meulemans, A. L., & Brutsaert, D. L. (1989). Endocardium modulates myocardial inotropic responses to 5-hydroxytryptamine *Am J Physiol*, 257, 790-797.
- Shankaran, M., & Gudelsky, G. A. (1999). A neurotoxic regimen of MDMA suppresses behavioral, thermal and neurochemical responses to subsequent MDMA administration. *Psychopharmacology*, 147, 66-72.
- Shin, J. G., Kane, A. K., & Flockhart, D. A. (2001). Potent inhibition of CYP2D6 by haloperidol metabolites: stereoselective inhibition by reduced haloperidol. *Br J Pharmacol*, 51, 45-52.
- Shulgin, A. T. (1986). The background and chemistry of MDMA. *J Psychoactive Drugs*, 18, 291-304.
- Silva, S., Carvalho, F., Fernandes, E., Teixeira, A. M., Antunes, M., & Cotrim, M. D. (2008). MDMA has a partial agonistic effect on the human internal mammary artery through 5-HT<sub>2</sub> receptors *Livro de resumos da XXXIX Reuniao Anual da Sociedade Portuguesa de Farmacologia: XXVI Reunião de Farmacologia Clínica, VIII Reunião de Toxicologia*.
- Sprague, J. E., Mallett, N. M., Rusyniak, D. E., & Mills, E. (2003). Hypothalamic-pituitary-thyroid axis and sympathetic nervous involvement in hyperthermia induced by 3,4-methylenedioxymethamphetamine (Ecstasy). *J Pharmacol Exp Ther*, 305, 159-166.
- Sprague, J. E., & Nichols, D. (1995). The monoamine oxidase-B inhibitor L-deprenyl protects against 3,4-methylenedioxymethamphetamine in rats. *J Pharmacol Exp Ther*, 255, 478-483.
- Sprague, J. E., Yang, X., Sommers, J., Gilman, T. L., & Mills, E. (2007). Roles of norepinephrine, free fatty acids, thyroid status, and skeletal muscle uncoupling protein 3 expression in sympathomimetic-induced thermogenesis. *J Pharmacol Exp Ther*, 320, 274-280.
- Sternbach, H. (1991). The serotonin syndrome. *Am J Psychiatry*, 148, 705-713.
- Tanaka, N., Nakamura, E., Ohkura, M., Kuwabara, M., Yamashita, A., Onitsuka, T., et al. (2008). Both 5-hydroxytryptamine 5-HT<sub>2A</sub> and 5-HT<sub>1B</sub> receptors are involved in the vasoconstrictor response to 5-HT in the human isolated internal thoracic artery. *CEEP*, 35(7), 836-840.
- Tancer, M. E., Johanson, C. E., & Freedman, R. R. (2003). MDMA elevates core temperature in warm and cold conditions in man. Paper presented at the College on Problems of Drug Dependence Annual Conference.

- Tucker, G. T., Lennard, M. S., Ellis, S. W., Woods, H. F., Cho, A. K., Lin, L. Y., et al. (1994). The demethylenation of methylenedioxyamphetamine (“ecstasy”) by debrisoquine hydroxylase (CYP2D6). *Biochem Pharmacol*, 47, 1151–1156.
- Ullmer, C., Schmuck, K., Kalkman, H. O., & Lübbert, H. (1995). Expression of serotonin receptor mRNAs in blood vessels. *FEBS Letters*, 370, 215-221.
- Valentine, G. (2002). MDMA and Ecstasy. *Psychiatric Times*, 19(2).
- Van Bladeren, P. J. (2000). Glutathione conjugation as a bioactivation reaction. *Chem Biol Interact*, 129, 61-76.
- Vanhoutte, P., Amery, A., Birkenhager, W., Breckenridge, A., Bühker, F., & Distler, A. (1988). Serotonergic mechanisms in hypertension. Focus on effects of ketanserin. *Hypertension*, 11, 111-133.
- Verheggen, R., Hundeshagen, A. G., Brown, A. M., Schindler, M., & Kaumann, A. J. (1998). 5-HT<sub>1B</sub> receptor-mediated contractions in human temporal artery: evidence from selective antagonists and 5-HT receptor mRNA expression. *Br J Pharmacol*, 124, 1345-1354.
- Verheggen, R., Meier, A., Werner, I., Wienekamp, A., Kruschat, T., & Brattelid, T. (2004). Functional 5-HT receptors in human occipital artery. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 369, 391-401.
- Williamson, S., Gossop, M., Powis, B., Griffiths, P., Fountain, J., & Strang, J. (1997). Adverse effects of stimulant drugs in a community sample of drug users. *Drug and Alcohol Dependence*, 44, 87–94.
- Winstock, A., Griffiths, P., & Stewart, D. (2001). Drugs and the dance music scene: a survey of current drug use patterns among a sample of dance music enthusiasts in the UK. *Drug and Alcohol Dependence*, 64, 9-17.
- Wu, D., Otton, S. V., Inaba, T., Kalow, W., & Sellers, E. M. (1997). Interactions of amphetamine analogs with human liver CYP2D6. *Biochem Pharmacol*, 53, 1605-1612.
- Xavier, C., Lobo, P., Fonteles, M., Vasconcelos, S., Viana, G., & Sousa, F. (2008). Ecstasy (MDMA): pharmacological and toxic effects , mechanism of action and clinical management. *Revista de Psiquiatria Clínica*, 35(3), 96-103.
- Yildiz, O., Cicek, S., Ay, I., Tatar, H., & Tuncer, M. (1996). 5-HT<sub>1-like</sub> receptor-mediated contraction in human internal mammary artery. *J Cardiovasc Pharmacol*, 28, 6-10.

