



Ana Cristina Afonso Costa Teixeira

# EFEITOS DA MDMA (ECSTASY) SOBRE OS RECETORES 5-HT<sub>1</sub> NA ARTÉRIA MAMÁRIA INTERNA HUMANA

Dissertação apresentada para provas de Mestrado em Química  
Medicinal

Orientadora: Professora Doutora Maria Dulce Cotrim

Setembro 2015



UNIVERSIDADE DE COIMBRA



## **AGRADECIMENTOS**

O meu primeiro agradecimento vai para a Professora Doutora Maria Dulce Cotrim, orientadora deste trabalho, por toda a disponibilidade e atenção sempre demonstradas e por todos os ensinamentos transmitidos

Um agradecimento especial ao Diogo Fonseca por todos os conhecimentos transmitidos e pelo apoio, disponibilidade e paciência demonstrados e à minha colega de laboratório e grande amiga Mónica por estar sempre presente ao longo de todo o meu percurso académico.

A todos os meus amigos, por estarem sempre a meu lado nos bons e nos maus momentos e porque sem eles teria sido tudo mais difícil.

À minha família de Coimbra por me proporcionarem uma vida académica única e inesquecível e por estarem sempre presentes em todos os momentos, sei que posso contar com eles para o resto da vida.

Aos meus pais e à minha irmã, por todo o apoio incondicional, pela motivação, incentivo e carinho, por tudo o que fizeram por mim desde sempre. Obrigada por estarem sempre a meu lado!

Por fim, mas não menos importante, a toda a minha restante família, pelos sábios conselhos e por sempre acreditarem em mim, um obrigada muito especial ao meu avô e à minha tia Náná, que apesar de já não estarem presentes, não teria conseguido chegar até aqui sem eles!



# ÍNDICE

ÍNDICE.....	I
Índice de figuras.....	III
Índice de tabelas.....	V
Índice de gráficos .....	VII
Índice de abreviaturas .....	IX
RESUMO.....	XI
ABSTRACT .....	XIII
<b>1. Introdução</b> .....	17
<b>2. Revisão Bibliográfica</b> .....	21
2.1. MDMA (3,4-metilenodioximetanfetamina) .....	21
2.1.2 Estrutura, química e propriedades .....	22
2.1.3. História da MDMA.....	23
2.1.4. Efeitos fisiológicos e comportamentais produzidos pela MDMA.....	24
2.1.5. Farmacologia da MDMA (farmacocinética e farmacodinâmica).....	25
2.1.5.1. Farmacocinética.....	25
2.1.5.2 Farmacodinâmica.....	27
2.1.6. Tolerância e dependência da MDMA .....	29
2.1.7. Efeitos da MDMA no sistema cardiovascular.....	29
2.1.8. Metabolismo da MDMA.....	30
2.2. 5-Hidroxitriptamina .....	32
2.2.1. Recetores 5-HT .....	34
2.2.2. Tipos e subtipos de recetores 5-HT .....	34
2.2.2.1. Recetores 5-HT <sub>1</sub> .....	34
2.2.2.2. Recetores 5-HT <sub>2</sub> .....	36
2.2.2.3. Recetores 5-HT <sub>3</sub> .....	36
2.2.2.4. Recetores 5-HT <sub>4</sub> .....	37
2.2.2.5. Recetores 5-HT <sub>5</sub> .....	38
2.2.2.6. Recetores 5-HT <sub>6</sub> .....	38

2.2.2.7. Recetores 5-HT <sub>7</sub> .....	38
2.3. Endotélio .....	40
2.4. Músculo liso e mecanismo contráctil .....	40
2.5. Recetores e subtipo de recetores da 5-HT no sistema cardiovascular humano .....	42
2.6. Recetores da 5-HT na artéria mamária interna humana .....	43
2.7. Agonistas, agonistas parciais e antagonistas .....	44
2.8. 5-Carboxamidatriptamina (5-CT) .....	45
2.9. Sumatriptano .....	45
2.10. MDMA e 5-HT .....	45
<b>3. OBJETIVOS .....</b>	<b>49</b>
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>53</b>
4.1. Colheita das artérias mamárias internas humanas .....	53
4.2. Protocolo Experimental .....	54
4.3. Análise dos resultados .....	57
4.4. Fármacos utilizados .....	58
<b>5. RESULTADOS .....</b>	<b>61</b>
5.1. Resposta contráctil da artéria mamária interna humana à 5-carboxamidatriptamina (5-CT) na ausência e na presença de MDMA (400µM, 800µM e 1600µM) .....	61
5.2. Resposta contráctil da artéria mamária interna humana ao sumatriptano na ausência e na presença de MDMA (400µM, 800µM e 1600µM) .....	65
<b>6. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS .....</b>	<b>71</b>
<b>7. CONCLUSÕES .....</b>	<b>79</b>
<b>8. BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>83</b>

## Índice de figuras

<b>Figura 1-</b> Estrutura química da MDMA e outras anfetaminas.....	12
<b>Figura 2-</b> Mecanismo de ação da MDMA e sinapse.....	18
<b>Figura 3-</b> Via metabólica da MDMA.....	21
<b>Figura 4-</b> Sinapse serotoninérgica.....	23
<b>Figura 5-</b> Regulação da contração do músculo liso.....	32
<b>Figura 6-</b> Anéis de artéria mamária interna humana montados entre duas ansas de platina antes da suspensão no banho de órgãos.....	41
<b>Figura 7-</b> Esquema representativo do banho de órgãos.....	42
<b>Figura 8-</b> Anéis de artéria mamária interna humana suspensos no banho de órgãos com 10mL de solução de Krebs-Henseleit.....	42
<b>Figura 9-</b> Resposta contráctil da artéria mamária interna humana à 5-CT na ausência (controlo) e na presença de 1600µM de MDMA.....	48
<b>Figura 10-</b> Resposta contráctil da artéria mamária interna humana ao sumatriptano na ausência (controlo) e na presença de 1600µM de MDMA.....	51



## Índice de tabelas

<b>Tabela 1</b> - Efeitos e funções dos subtipos de recetores da serotonina (5-HT).....	31
<b>Tabela 2</b> - Comparação dos valores de $E_{m\acute{a}x}$ e de $pEC_{50}$ para a 5-carboxamidatriptamina na ausência de MDMA e na presença de diferentes concentrações de MDMA (400 $\mu$ M-1600 $\mu$ M).....	48
<b>Tabela 3</b> - Comparação dos valores de $E_{m\acute{a}x}$ e de $pEC_{50}$ para o sumatriptano na ausência de MDMA e na presença de diferentes concentrações de MDMA (400 $\mu$ M-1600 $\mu$ M).....	51



## Índice de gráficos

<b>Gráfico 1-</b> Resposta contráctil da artéria mamária interna humana à 5-carboxamidatriptamina (5-CT) na ausência e na presença de MDMA (400 $\mu$ M, 800 $\mu$ M e 1600 $\mu$ M).....	46
<b>Gráfico 2-</b> Gráfico de barras da contração máxima da artéria mamária interna humana à 5-carboxamidatriptamina (5-CT) na ausência e na presença de MDMA (400 $\mu$ M, 800 $\mu$ M e 1600 $\mu$ M).....	47
<b>Gráfico 3-</b> Resposta contráctil da artéria mamária interna humana ao sumatriptano na ausência e na presença de MDMA (400 $\mu$ M, 800 $\mu$ M e 1600 $\mu$ M).....	49
<b>Gráfico 4-</b> Gráfico de barras da contração máxima da artéria mamária interna humana ao sumatriptano na ausência e na presença de MDMA (400 $\mu$ M, 800 $\mu$ M e 1600 $\mu$ M).....	50



## Índice de abreviaturas

ACTH	hormona adrenocorticotrófica
AUC	área debaixo da curva
AMPc	monofosfato cíclico de adenosina
ANOVA	análise de variância
CaCl <sub>2</sub>	cloreto de cálcio
COMT	catecol-O-metiltransferase
CYP1A2	citocromo P450 1A2
CYP2B6	citocromo P450 2B6
CYP2D6	citocromo P450 2D6
DAG	diacilglicerol
DEA	Drug Enforcement Administration
E <sub>máx</sub>	efeito máximo
GABA	ácido gama-aminobutírico
G <sub>i</sub>	proteína G inibitória
GSH	Glutathione
G <sub>s</sub>	proteína G estimulatória
HHA	α-metildopamina/ 3,4-dihidroxi-3-metoxianfetamina
HHMA	N-metil-α-metildopamina/ 3,4-dihidroxi-3-metoxianfetamina
HMA	3-O-metil-α-metildopamina/ 4-hidroxi-3-metoxianfetamina
HMM	3-O-metil-N-metil-α-metildopamina/4-hidroxi-3-metoxianfetamina
IP3	inositol 1,4,5-trifosfato
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	diidrogenofosfato de potássio
KCl	cloreto de potássio
MAO	monoaminaoxidase
MDA	3,4-metilenodioxianfetamina
MDMA	3,4-metilenodioximetanfetamina
MgSO <sub>4</sub>	sulfato de magnésio

MLC	cadeia leve de miosina
mM	milimolar
mN	miliNewton
n	número de experiências
NAC	N-acetilcisteína
NaCl	cloreto de sódio
NaHCO <sub>3</sub>	hidrogenocarbonato de sódio
p	indicador do intervalo de confiança
pEC <sub>50</sub>	logaritmo negativo da concentração molar de agonista capaz de induzir metade da resposta máxima
PIP2	fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato
PKC	proteína cinase C
PLC	fosfolipase C
SERT	transportador de serotonina
SEM	erro padrão da média
SNC	sistema nervoso central
TPH	triptofano hidroxilase
VMAT	transportadores vesiculares de monoaminas
5-CT	5-carboxamidatriptamina
5-HT	5-hidroxitriptamina/serotonina
5-HTT	transportador de serotonina
γ-GT	γ-glutamil transpeptidase
μM	micromolar
°C	graus celsius

## RESUMO

A 3,4-metilenodioximetanfetamina (MDMA), também conhecida como ecstasy, é uma droga de abuso cujo consumo tem vindo a aumentar dentro da população jovem. Esta substância é associada a ambientes recreativos e pode dar origem a vários efeitos adversos a curto e a longo prazo podendo provocar elevada toxicidade e danos irreversíveis no organismo humano. O seu consumo tem vindo a ser associado a graves efeitos cardiovasculares, taquicardia, vasoconstrição, hipertensão arterial, toxicidade neuronal e até mesmo a morte súbita.

A MDMA possui afinidade para diversos tipos de recetores como é o caso dos recetores da serotonina (5-HT). Estes estão presentes em vários locais do organismo humano sendo que o local em que se encontram e o seu subtipo determinam o efeito que exercem.

A artéria mamária interna humana é uma artéria muito ativa farmacologicamente na qual se encontram presentes alguns subtipos de recetores da serotonina.

Estudos feitos anteriormente nesta artéria mostraram que na presença de MDMA há uma contração dependente da concentração através do subtipo de recetores 5-HT<sub>2</sub>, no entanto pensa-se que existam outros subtipos de recetores envolvidos nesta contração vascular, como é o caso do subtipo de recetores 5-HT<sub>1</sub>.

Assim sendo este trabalho tem como principal objetivo avaliar os efeitos da MDMA no subtipo de recetores 5-HT<sub>1</sub>. Para isso foi utilizada 5-carboxamidatriptamina, um agonista do subtipo de recetores 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub> e 5-HT<sub>1D</sub> e sumatriptano, um agonista do subtipo de recetores 5-HT<sub>1B</sub> e 5-HT<sub>1D</sub>.

Os resultados obtidos mostraram que na presença de MDMA há uma diminuição da resposta contráctil em relação ao controlo na artéria mamária interna humana o que mostra que a MDMA parece atuar como agonista parcial nos subtipos de recetores 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub> e/ou 5-HT<sub>1D</sub>.



## **ABSTRACT**

3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA), also known as ecstasy, is a drug of abuse whose consumption has been growing among young people. This substance is associated with recreational environments and may lead to increase the risk of several adverse effects of short and long-term which can cause high toxicity and irreversible damages in the human body. The use of MDMA has been associated with serious cardiovascular effects, tachycardia, vasoconstriction, hypertension, neuronal toxicity and even sudden death.

The MDMA has affinity for several receptor types as the serotonin receptors (5-HT). These receptors are present in different parts of the human body and the effect that they have is determined by their localization and subtype.

The human internal mammary artery is a very pharmacologically active artery where we can find some different serotonin receptors subtypes.

A concentration-dependent contraction induced by MDMA, through 5-HT<sub>2</sub> receptor subtypes, has been associated with this artery in previous studies. However it is believed that there are other receptors subtypes involved in this vascular contraction such as the 5-HT<sub>1</sub> receptor subtype.

Therefore, this paper aims to evaluate the effects of MDMA on the 5-HT<sub>1</sub> receptor subtype. For this purpose it was used 5-carboxamidtryptamine, an agonist of the 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub> and 5-HT<sub>1D</sub> receptor subtypes and sumatriptan, an agonist of the 5-HT<sub>1B</sub> and 5-HT<sub>1D</sub> receptor subtypes.

In the end, the results showed that in the presence of MDMA there is a decrease of the contractile response relatively to the experimental control in the human internal mammary artery, which shows that the MDMA appears to act as a partial agonist of the 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub> and / or 5-HT<sub>1D</sub> subtypes.



# Capítulo I - Introdução



## **I. Introdução**

Desde o final do século XX que a MDMA se tornou uma das drogas mais populares em ambientes recreativos sendo consumida por vários e diferentes grupos sociais. O seu consumo tem aumentado cada vez mais ao longo dos anos devido aos efeitos de euforia e bem-estar geral que provoca. No entanto, para além destes, a MDMA produz efeitos graves a curto e a longo prazo, provocando elevada toxicidade e danos irreversíveis no organismo humano.

Uma vez que o consumo de MDMA tem vindo a aumentar, é de grande importância perceber o seu mecanismo de ação, quais os recetores em que esta droga atua e quais os principais efeitos que provoca para poder desenvolver tratamentos eficazes ou pelo menos atenuar os efeitos adversos causados. A morte somente pelo consumo de ecstasy não é muito frequente, no entanto, o seu consumo é, geralmente, feito juntamente com outro tipo de drogas de abuso que em conjunto podem agravar muito os efeitos adversos nestes consumidores. Alguns dos seus efeitos mais graves são a toxicidade a nível cardiovascular e neuronal.

A MDMA é considerada um agonista monoaminérgico indireto atuando como um substrato do transportador de monoaminas. Atua também ao nível dos recetores de serotonina (5-HT), sendo que, consoante o subtipo de recetor e o local em que estes se encontram os efeitos produzidos vão ser diferentes.

Este trabalho incide, principalmente, a nível cardiovascular e pretende avaliar o efeito vascular da MDMA no subtipo de recetores 5-HT<sub>1</sub>, em particular, na artéria mamária interna humana.



# Capítulo 2- Revisão

## Bibliográfica



## **2. Revisão Bibliográfica**

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

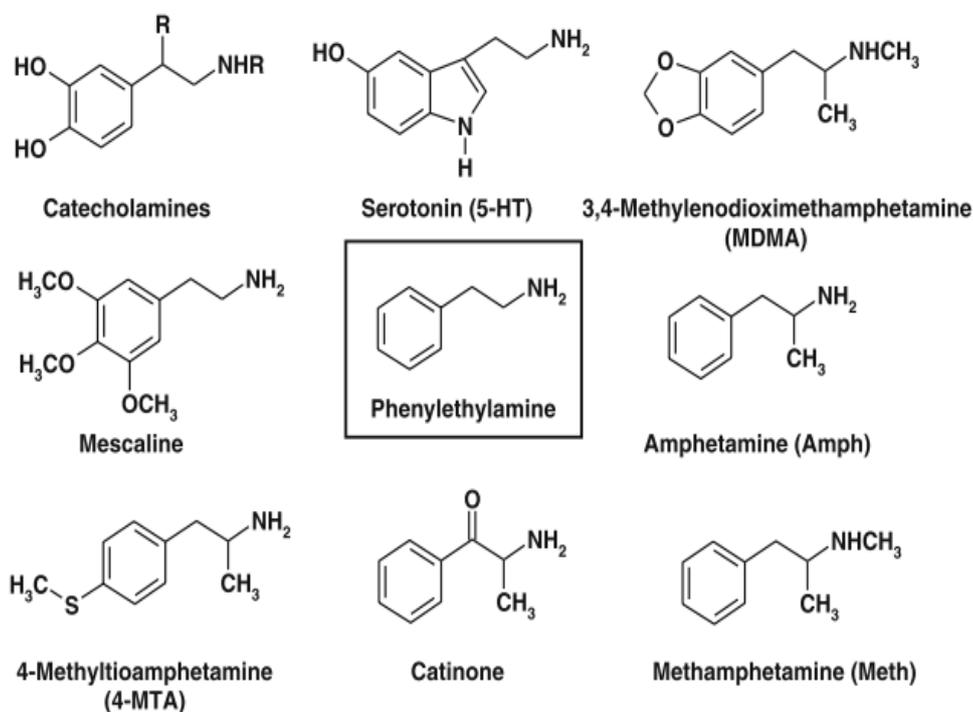
A MDMA é uma substância psicoativa de abuso, ilegal em vários países e socialmente conhecida por diversos nomes como ecstasy, “Molly”, “Mandy”, “X”, “E” entre outros. Provoca vários danos no organismo, possui efeitos adversos a curto e a longo prazo e causa elevado risco de toxicidade especialmente quando administrada em grandes quantidades. Esta droga é quase exclusivamente consumida e vendida sob a forma de comprimidos ou pastilhas de várias cores e formas normalmente com diferentes símbolos desenhados e é administrada por via oral, sendo esta a forma mais usual de ingerir a droga. Para além disso pode, também, apresentar-se na forma de cápsulas ou pó cristalino, e pode ser injetado por via intravenosa ou por via subcutânea (Roper-Miller & Goldberger, 1998).

O consumo de ecstasy tem aumentado ao longo dos anos devido aos seus efeitos de euforia e bem-estar geral serem atingidos pouco tempo após a administração. É uma droga consumida por diferentes grupos sociais em ambientes recreativos, como discotecas, festivais, entre outros, possuindo uma dependência menor que outras substâncias e uma via de administração fácil e cómoda. Muitas vezes os comprimidos de MDMA podem conter outro tipo de substâncias como metanfetamina, efedrina, quetamina, benzilpiperazina, cafeína entre outras. Tal como todas as drogas ilegais não há controlo da pureza, quantidade e tipo de ingredientes presentes em cada comprimido/pastilha, sendo o seu grau de pureza e a quantidade de cada ingrediente muito variável. Frequentemente os efeitos letais do ecstasy podem ser devidos à existência deste ou de outro tipo de substâncias nos comprimidos e ao facto de a maioria dos consumidores abusarem, também, de outras drogas como álcool, cannabis, alucinogénicos ou outros estimulantes, o que faz com que seja difícil de compreender os efeitos do MDMA por si só. O consumo de MDMA em simultâneo com outros tipos de droga torna-se ainda mais perigoso podendo mesmo levar à morte (Scholey et al., 2004)

Globalmente a droga ilícita mais consumida é a *cannabis*, seguida da MDMA, sendo esta, também, a segunda droga mais consumida em Portugal. Os consumidores mais ativos de MDMA são jovens adultos, entre 15 e 30 anos.

## 2.1.2 Estrutura, química e propriedades

MDMA é uma abreviatura para 3,4-metilenodioximetanfetamina, trata-se de um derivado anfetamínico, mais especificamente uma feniletilamina substituída no anel aromático. Tem como fórmula molecular  $C_{11}H_{15}NO_2$ , tem um peso molecular de 193,24 g/mol e possui duas formas enantioméricas S e R. A sua estrutura química assemelha-se com a das anfetaminas e da mescalina, possuindo, devido a isso, tanto efeitos alucinogéneos como estimulantes (Green & Richard, 2003; Yamamoto, 2010). A MDMA possui diversos metabolitos sendo que alguns deles apresentam ainda maior toxicidade que a própria MDMA (Yamamoto et al., 2010; Capela, 2006).



**Figura I.** Estrutura química da MDMA e outras anfetaminas. (Retirado de Capela et al., 2009)

### 2.1.3. História da MDMA

A 3,4-metilenodioximetanfetamina foi inicialmente sintetizada e patenteada em 1912 pela companhia farmacêutica alemã Merck com o nome de “metilsafrilamina”. Nessa altura a MDMA não foi sintetizada para fins terapêuticos mas sim como um agente precursor de compostos ativos terapêuticos. Segundo Freudemann, muitas vezes foi escrito, sem fundamento, que a MDMA foi sintetizada inicialmente para ser utilizada como um supressor de apetite. Os primeiros testes farmacológicos com MDMA foram realizados em 1927 nos laboratórios Merck. Posteriormente, em 1952, foram feitos alguns testes toxicológicos básicos, também nos laboratórios Merck, sendo que por volta de 1953 foram feitos os primeiros estudos formais em cinco espécies de animais diferentes utilizando MDMA e outras substâncias psicotrópicas semelhantes.

Em 1959 a MDMA foi re-sintetizada por *Fruhstorfer* nos laboratórios Merck e em 1960 foi elaborado o primeiro artigo científico descrevendo a síntese deste composto. Por volta de 1978 foram feitos os primeiros estudos por *Shulgin* utilizando MDMA em humanos, sendo, nesta altura, descrita como uma substância psicoativa e utilizada em psicoterapia uma vez que melhorava a comunicação com os doentes, promovia um aumento de confiança, autoestima, empatia e relações interpessoais nos mesmos. Quando administrada oralmente (75-175mg) produzia efeitos simpaticomiméticos, como o aumento da pressão sanguínea, do batimento cardíaco e ansiedade. (Greer & Strassman, 1985). No início dos anos 80 a MDMA começou a ser conhecida popularmente pelo nome de “ecstasy” e como uma droga recreativa principalmente utilizada em grandes festas e discotecas com o objetivo de conseguir executar exercício físico por longos períodos de tempo.

Em 1985 a DEA (Drug Enforcement Administration) enquadrou a MDMA na classe A, categoria I de substâncias controladas o que significa que é ilegal possuir, vender ou distribuir este composto uma vez que as suas aplicações terapêuticas não foram bem definidas, devido ao seu elevado potencial de abuso, falta de aplicação clínica e benefício terapêutico, uso inseguro, mesmo sob supervisão médica, e evidências de poder ser neurotóxico. Esta classificação foi severamente criticada por

vários psicoterapeutas que não puderam continuar a realizar as pesquisas e utilizações médicas de MDMA. Ainda hoje em dia existe alguma discussão sobre a utilização médica da MDMA sendo estudada para utilização no tratamento de ansiedade e stress pós-traumático. Apesar desta classificação, e de a MDMA ser uma droga ilegal, continua a ser consumida por todo o mundo, sendo principalmente manufaturada de forma ilegal em laboratórios clandestinos na União Europeia, especialmente na Holanda e Bélgica (Capela et al., 2009; Freudenmann et al., 2006 Greer & Strassman, 1985 ).

#### **2.1.4. Efeitos fisiológicos e comportamentais produzidos pela MDMA**

A MDMA é, sem dúvida, uma substância capaz de provocar danos irreversíveis e elevada toxicidade no organismo humano, especialmente quando ingerida em elevadas doses. É uma das drogas ilegais mais consumida em ambientes recreativos como discotecas, festivais ou “raves”, uma vez que, para além de outros efeitos esta substância permite aumentar os efeitos sensoriais das luzes e da música (Cole & Sumnall, 2003; Parrott, 2006; Xavier et al., 2008).

Para além de a MDMA ser uma substância apelativa devido a esses fatores, no geral, os consumidores de ecstasy começam a sentir efeitos 30 a 60 minutos após a administração, atingindo o pico do efeito cerca de 75 a 120 minutos depois e atingindo o *plateau* durante cerca de 4 horas. A rapidez com que são perceptíveis os efeitos do composto e a duração que estes possuem são outras das razões para que seja uma das substâncias mais consumida em ambientes recreativos (Cole & Sumnall, 2003; Xavier et al., 2008).

Em relação aos efeitos comportamentais, aquando da administração de MDMA, o que os consumidores, geralmente, esperam são euforia, sensação geral de bem-estar, felicidade e paz interior, um aumento da capacidade social sendo mais fácil a comunicação e empatia com os outros, calma, relaxamento e aumento da energia (Capela et al., 2009; de la Torre et al., 2004; Kalant, 2001; Rogers et al., 2009; Verheyden et al., 2003).

Logo após administração de MDMA são vários os efeitos fisiológicos que ocorrem, sendo os mais perigosos a desidratação e a hipertermia. A hipertermia representa um aspecto clínico relevante nos consumidores de MDMA, uma vez que a temperatura corporal pode atingir 43°C, o que pode ser fatal. (la Torre R, de, 2000; O'Shea, 2006). O consumo de MDMA é feito, frequentemente, em ambientes com elevada temperatura, juntamente com atividade física e desidratação, condições existentes em festas e ambientes recreativos que contribuem para o aumento da resposta hipertérmica (Capela et al., 2009; de la Torre et al., 2004; de la Torre R et al., 2000; a Richard Green et al., 2003; Kalant, 2001; O'Shea et al., 2006). Para além destes é também usual ocorrerem outros efeitos como o aumento da pressão sanguínea e do ritmo cardíaco, palpitações, náuseas, vômitos, tremores, insónias, boca seca, tensão muscular, suor, perda de apetite, dilatação das pupilas, entre outros (Mccann et al., 1996).

Em relação a efeitos a longo prazo a MDMA pode causar depressão, ansiedade, perda de memória, ataques de pânico, alucinações, rabdomiólise, síndrome de serotonina, hepatotoxicidade, neurotoxicidade entre outros (Capela et al., 2009; Gerra et al., 2000; Richard Green et al., 2003; Verheyden et al., 2003).

## **2.1.5. Farmacologia da MDMA (farmacocinética e farmacodinâmica)**

### **2.1.5.1. Farmacocinética**

A MDMA e restantes compostos anfetamínicos são bases fracas, possuem baixo peso molecular, baixa afinidade de ligação a proteínas e elevado volume de distribuição. Estas propriedades conferem uma fácil difusão através das membranas celulares e camadas de lípidos até aos tecidos celulares (Mas et al., 1999).

A MDMA é maioritariamente absorvida ao longo do trato intestinal e atinge o seu pico de concentração no plasma cerca de duas horas depois de administração oral. (Mas et al., 1999).

A droga é metabolizada principalmente no fígado, sendo a enzima CYP2D6 a maior responsável por esse processo (Wu et al., 1997).

Em relação à sua degradação são várias e diferentes as enzimas envolvidas, sendo que algumas delas parecem ficar saturadas com relativamente baixas concentrações de droga. Consequentemente, à medida que a dose de MDMA vai aumentando e as enzimas com maior afinidade para a mesma vão ficando saturadas vai ocorrer um aumento desproporcional da concentração de droga no sangue e no cérebro.

Assim sendo, pequenos aumentos na dose de MDMA levam a um elevado risco de aumento da toxicidade. Após a administração de cinco doses diferentes de MDMA (50, 75, 100, 125 e 150mg) foi observado que a  $C_{máx}$  e a área debaixo da curva (AUC) aumentou durante 24h consoante a dose administrada. No entanto, para a dose de 150mg o aumento dos parâmetros cinéticos de MDMA não foram proporcionais à dose administrada, o que mostra a existência de uma farmacocinética não-linear. Isto indica que ao aumentar a dose de MDMA ingerida, o aumento plasmático não segue a mesma proporção, o que mostra não linearidade. Uma das explicações pode ser a saturação do metabolismo de MDMA para altas doses, como explicado anteriormente, ou pode haver interações dos metabolitos com a via metabólica. (De La Torre, 2000). Esta cinética saturável mostra que para doses elevadas o metabolismo é relativamente mais lento.

A eliminação da droga do organismo é moderadamente lenta, possuindo um tempo de meia-vida de cerca de 8 horas em que a maior parte da MDMA é excretada através da urina (Mas et al., 1999; Karch, 1986). O facto de serem necessárias 5 meias-vidas (cerca de 40 horas) para mais de 95% da droga ser eliminada do organismo mostra a existência de alguns efeitos adversos um ou dois dias após a ingestão da droga. Alguns dos metabolitos da MDMA são, também, farmacologicamente ativos, especialmente o MDA (3,4-metilenodioxianfetamina), e por isso, a duração da ação pode ser mais elevada do que a duração da MDMA no organismo (Kalant, 2001).

## 2.1.5.2 Farmacodinâmica

Sabe-se hoje em dia que a MDMA e outros derivados anfetamínicos atuam através da libertação de neurotransmissores monoamínicos (serotonina, noreadrenalina e em menor quantidade dopamina) (Green et al., 1995; Huether, 1997; Shulgin, 2012).

No caso particular da MDMA esta atua preferencialmente na libertação de serotonina, no entanto, não atua apenas diretamente. A MDMA atua como um agonista monoaminérgico indireto, ou seja, faz com que haja um aumento da libertação de serotonina dos neurónios pré-sinápticos e um aumento da sua permanência na fenda sináptica através de vários processos.

Existem dois mecanismos principais para que isto aconteça, um deles consiste na ligação da MDMA ao transportador de serotonina (SERT), para o qual possui elevada afinidade, fazendo com que este fique bloqueado, não haja recaptação de serotonina para o interior do neurónio pré-sináptico e, para além disso, que este funcione de maneira reversa ao normal levando à libertação de mais serotonina. Outro dos mecanismos consiste no aumento das concentrações de serotonina no citoplasma devido à desregulação do armazenamento vesicular levando, também, ao aumento da libertação de serotonina (Baker & Taylor, 1997; Glennon & Young, 2000; Liechti et al., 2000; Maurer, Bickeboeller-Friedrich, Kraemer, & Peters, 2000; Iravani et al 2000). O rápido aumento da libertação de serotonina das vesículas de armazenamento pela MDMA ocorre através de um mecanismo de troca mediado por transportadores. A MDMA é um substrato dos transportadores vesiculares de monoaminas (VMAT) e possivelmente entra nas vesículas através deste mesmo transportador esgotando o armazenamento de neurotransmissores vesiculares através da alteração da atividade do transportador.

O aumento dos níveis extracelulares de monoaminas pode, também, ocorrer através da inibição da enzima monoaminaoxidase (MAO) pela MDMA, uma vez que esta enzima é responsável pela degradação de serotonina (Capela et al., 2009).

Na figura 2 está representado detalhadamente o mecanismo de ação farmacológico da MDMA no terminal de um neurónio serotoninérgico.

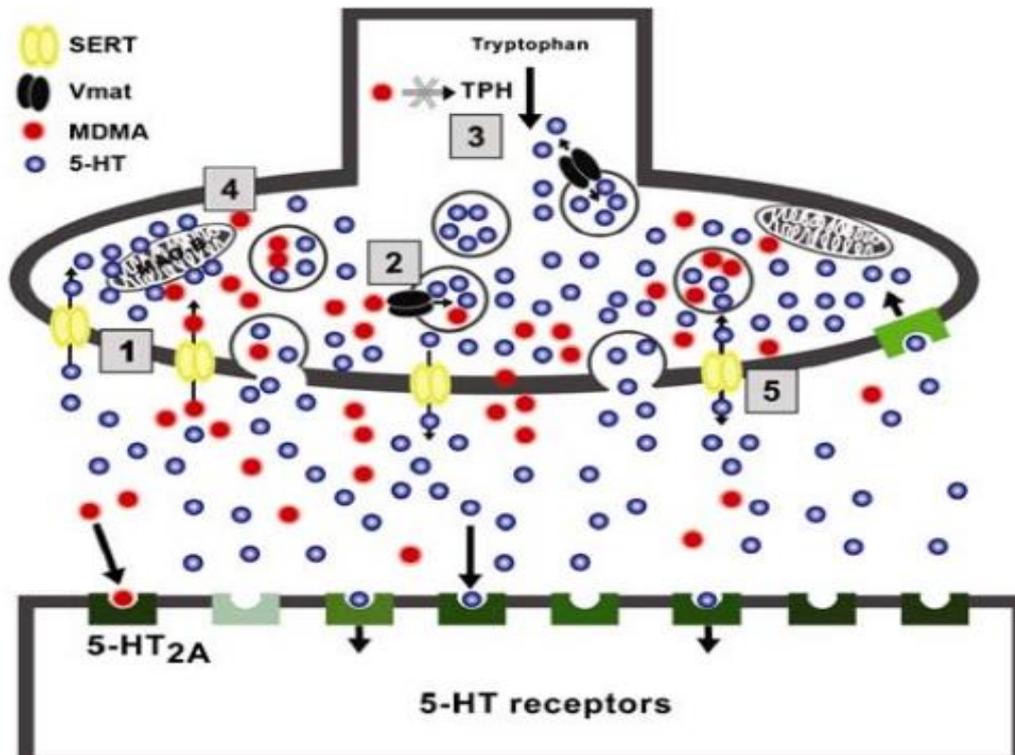


Figura 2. Mecanismo de ação da MDMA e sinapse. 1 A MDMA, tal como a serotonina, é um substrato do transportador de serotonina (5-HTT) e utiliza o transportador para entrar no terminal do neurónio, no entanto, a concentrações elevadas, pode também entrar por difusão. 2 Uma vez dentro do neurónio, a MDMA produz um rápido aumento da libertação de serotonina das vesículas de armazenamento, possivelmente entrando nas vesículas através do transportador vesicular de monoaminas (VMAT) e esgotando o armazenamento de neurotransmissores vesiculares através de um mecanismo de troca mediado pelo transportador. 3 A MDMA também inibe a triptofano hidroxilase (TPH), enzima que determina o passo limitante na síntese de 5-HT, uma vez que se encontra envolvida na sua formação. 4 A monoamina oxidase B (MAO-B), localizada na membrana externa da mitocôndria dos neurónios serotoninérgicos, é a enzima responsável pela degradação de serotonina, sendo que a sua atividade é parcialmente inibida pela MDMA. 5 Devido ao aumento de serotonina no citoplasma, a MDMA promove uma rápida libertação de serotonina intracelular para a fenda sináptica através da atividade reversa do transportador de 5-HT (Retirado de Capela et al., 2009).

### **2.1.6. Tolerância e dependência da MDMA**

A tolerância de uma substância é definida como a necessidade de administrar maiores quantidades de droga para atingir o efeito desejado ou o efeito diminuído da mesma quantidade de droga ao longo do tempo. Em relação aos consumidores assíduos de ecstasy, estes referem que aumentam a quantidade de comprimidos que ingerem para compensar a diminuição do efeito desejado, ou seja, inicialmente consomem pequenas quantidades, tipicamente metade de um comprimido e à medida que se vão tornando mais experientes e em que essa quantidade já não é suficiente para atingir o efeito desejado ingerem maior quantidade de comprimidos durante o mesmo período de tempo. Isto sugere que os indivíduos que consomem repetidamente elevadas doses de MDMA têm tendência a desenvolver tolerância (Cole, 2014).

A MDMA é administrada voluntariamente por animais, sugerindo que esta pode ser uma droga que causa dependência, no entanto, esta administração não é muito robusta e a quantidade de esforço que os animais exercem para conseguir obter a droga é pequena (Fantegrossi, 2004). Foi mostrado que a MDMA produz recompensa numa grande variedade de espécies de animais e por isso é, claramente, uma droga de abuso (Cole & Sumnall, 2003). Porém, as evidências pré-clínicas disponíveis na literatura indicam que é pouco provável que a MDMA seja uma droga que cause dependência como o álcool, a cocaína ou a heroína (Cole, 2003).

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

A MDMA pode ter efeitos severos no sistema cardiovascular, podendo alterar as funções cardiovasculares e levando a toxicidade cardíaca. Esta droga causa estimulação simpática e aumenta as necessidades de oxigénio no miocárdio o que leva ao aumento da frequência cardíaca e da pressão sanguínea, provoca vasoconstrição, arritmias e hipertensão (Perrine, 2009; Schindler, 2014). Em consumidores ativos de ecstasy observou-se necrose dos cardiomiócitos (Milroy et al., 1996), hipertrofia do miocárdio (Patel, 2005) e vasoespasmo, que pode levar ao enfarte agudo do miocárdio

e à ocorrência de cardiomiopatias irreversíveis (Ghuran, 2000). O consumo continuado de MDMA pode, também, desencadear alterações significativas a nível cardiovascular por aumento de arritmias e problemas inflamatórios nos cardiomiócitos (Badon, 2002). O consumo de MDMA em determinadas condições como ambientes com grande quantidade de pessoas, temperaturas elevadas e atividade física intensa, ambientes normalmente associados a festas e “raves”, pode ser associado a um elevado potencial de risco devido à toxicidade cardiovascular da droga (la Torre R, de, 2000).

### **2.1.8. Metabolismo da MDMA**

A MDMA é maioritariamente metabolizada no fígado. Nos humanos a maior via metabólica consiste na O-demetilação da MDMA a 3,4-dihidroxi metanfetamina (HHMA ou N-Me- $\alpha$ -MeDA) cuja reação é principalmente regulada pela CYP2D6 e em menor extensão pelas enzimas CYP1A2 e CYP2B6. O passo seguinte consiste na O-metilação de HHMA a 4-hidroxi-3-metoximetanfetamina (HMMA ou 3-O-Me-N-Me- $\alpha$ -MeDA), uma reação regulada pela catecol-O-metiltransferase (COMT) (Kreth, 2000).

A uma menor taxa a MDMA é N-demetilada a MDA (uma reação maioritariamente regulada pela CYP2B6), que conseqüentemente é metabolizada dando origem ao seu intermediário catecol a 3,4-dihidroxi anfetamina (HHA ou  $\alpha$ -MeDA). Finalmente esta é O-metilada a 4-hidroxi-3-metoxianfetamina (HMA ou 3-O-Me- $\alpha$ -MeDA) (de la Torre R et al., 2000; Maurer et al., 2000; Meyer et al., 2008; Segura et al., 2001).

A N-Me- $\alpha$ -MeDA e a  $\alpha$ -MeDA podem, posteriormente, sofrer oxidação e dar origem às correspondentes orto-quinonas que podem formar aductos com a glutatona (GSH) e outros compostos que contenham tióis (Carvalho, 2002, 2004). A estes conjugados GSH pode ser adicionada uma segunda molécula de GSH levando à formação de um conjugado 2,5-bis-glutationil (Capela et al., 2006; Hiramatsu et al., 1990). Esta formação sistemática de conjugados de glutatona a partir de N-Me- $\alpha$ -MeDA e  $\alpha$ -MeDA no fígado é seguida pela sua distribuição para outros órgãos. Os

conjugados de GSH podem, ainda, sofrer metabolismo através da via do ácido mercaptúrico pela  $\gamma$ -glutamil transpeptidase ( $\gamma$ -GT) e pela dipeptidase dando origem ao respectivo conjugado de cisteína e finalmente pela N-acetiltransferase dando origem ao correspondente conjugado de N-acetilcisteína (NAC) (Capela et al., 2007).

A via detalhada do metabolismo da MDMA encontra-se representada na Figura 3.

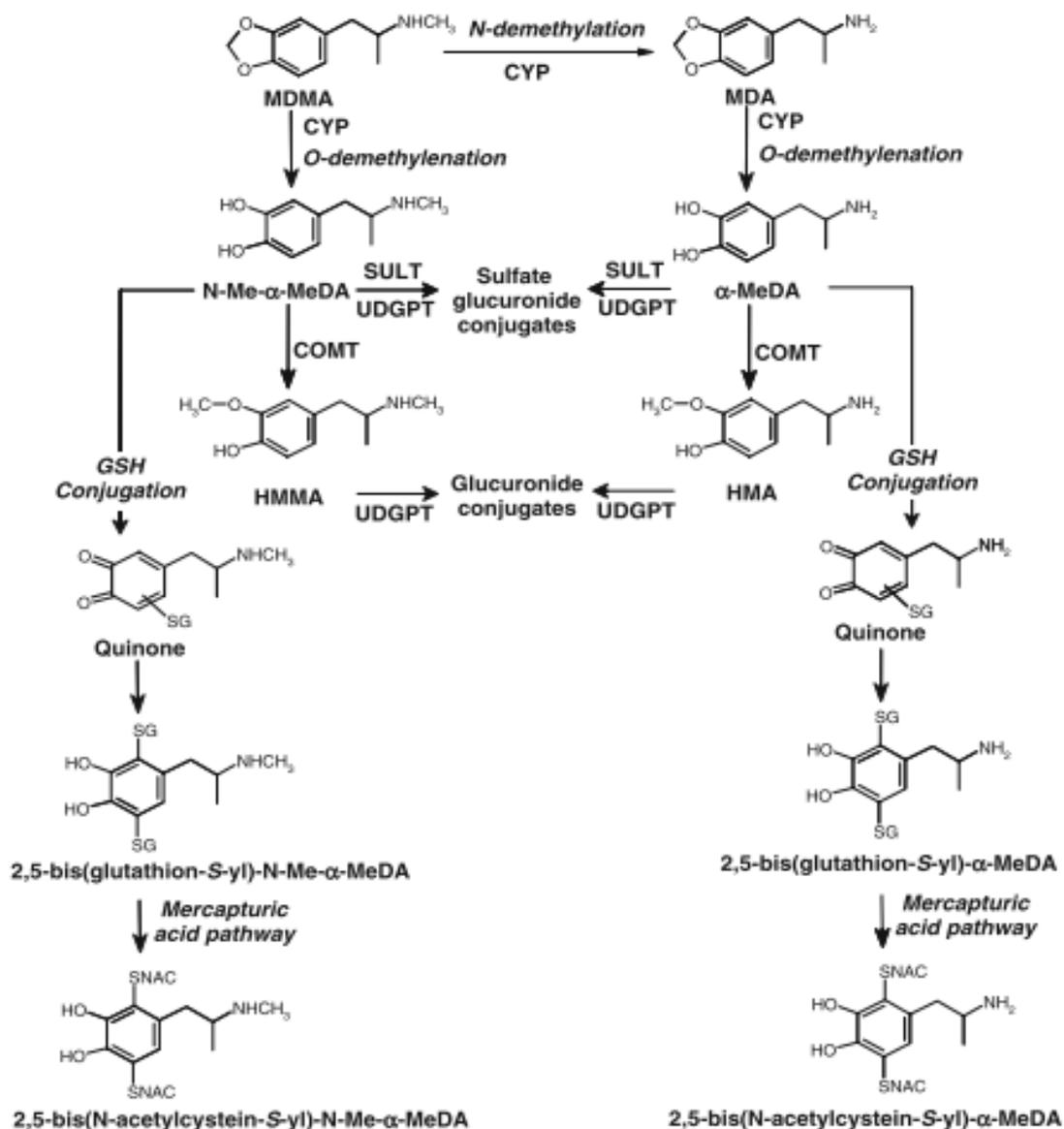


Figura 3. Via metabólica da MDMA (Retirado de Capela et al., 2009)

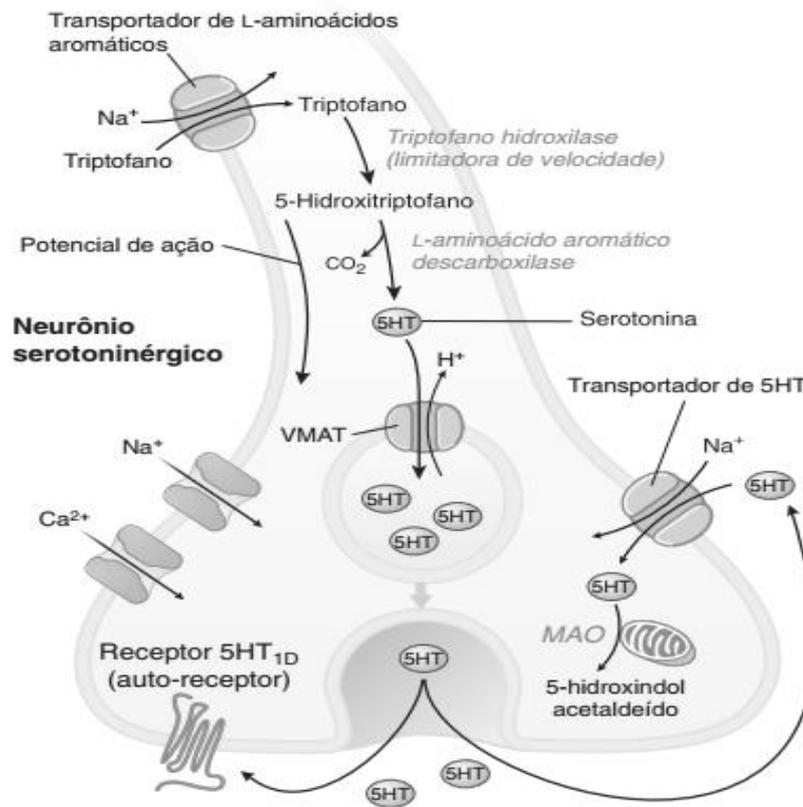
## 2.2. 5-Hidroxitriptamina

A 5-hidroxitriptamina ou serotonina é um neurotransmissor que modula a atividade neuronal e uma grande variedade de processos neurofisiológicos. Esta monoamina está envolvida em diversos processos biológicos tais como a regulação de funções cardiovasculares, a motilidade gastrointestinal, controlo da bexiga, vasoconstrição, agregação plaquetar, memória e aprendizagem, regulação do apetite, sono, humor e temperatura. Para além disso está envolvida em patologias como a depressão, ansiedade, esquizofrenia, enxaquecas, hipertensão arterial, distúrbios alimentares entre outras.

A serotonina é maioritariamente produzida nas células enterocromafins do intestino mas encontra-se, também, presente noutros locais como plaquetas, sistema nervoso central e sistema cardiovascular (Hoyer et al., 2002).

Este neurotransmissor não consegue atravessar a barreira hemato-encefálica e por isso as células cerebrais têm que sintetizar a sua própria serotonina através do substrato triptofano adquirido pela dieta.

Em relação à via metabólica da serotonina a sua síntese inicia-se a partir do aminoácido triptofano que através da enzima triptofano hidroxilase vai dar origem ao 5-hidroxitriptofano, este, por sua vez, sofre descarboxilação e é convertido na 5-hidroxitriptamina ou serotonina. A degradação da serotonina inicia-se pela desaminação oxidativa através da enzima monoaminaoxidase (MAO) dando origem ao 5-hidroxiindol acetaldeído, conseqüentemente este vai ser oxidado pela enzima aldeído desidrogenase dando origem ao seu metabolito principal o ácido 5-hidroxiindolacético ou através da aldeído redutase dando origem ao álcool 5-hidroxitriptofol (Fuller, 1984).



**Figura 4.** Sinapse serotonérgica. A serotonina (5-HT) é sintetizada a partir do aminoácido triptofano, sendo a triptofano hidroxilase a enzima que limita a velocidade. A 5-HT é transportada do citoplasma para o interior de vesículas sinápticas pelo transportador de monoaminas vesicular (VMAT). A neurotransmissão de serotonina é iniciada através de um potencial de ação no neurônio pré-sináptico que faz com que haja a fusão das vesículas sinápticas com a membrana plasmática, através de um processo dependente de  $\text{Ca}^{2+}$ . A 5-HT é removida da fenda sináptica através da sua recaptação por transportadores seletivos. A serotonina recaptada é, também, transportada do citoplasma para vesículas sinápticas, através do VMAT ou é degradada pela MAO mitocondrial. (Retirado de Nadal-Vicens et al., 2009)

## **2.2.1. Recetores 5-HT**

São conhecidos até hoje 7 tipos de recetores de serotonina, sendo que cada um deles se divide em vários subtipos. À exceção do tipo de recetores 5-HT<sub>3</sub> que são canais iónicos, todos os outros estão acoplados a proteínas G.

O tipo de recetores 5-HT<sub>1</sub> e 5-HT<sub>5</sub> encontram-se acoplados a proteínas G inibitórias (Gi). Após a ativação destes recetores vai ocorrer a inibição da atividade da adenilciclase, fazendo com que não haja produção de AMPcíclico (AMPc) e levando a uma resposta celular específica.

Por outro lado o tipo de recetores 5-HT<sub>2</sub> estão acoplados a proteínas Gq. Depois de ativado, este tipo de recetores vai levar à ativação da fosfolipase C (PLC) que, por sua vez, vai fazer com que o PIP2 dê origem ao DAG e ao IP3 que vão provocar um aumento de cálcio na célula e consequentemente a ativação da proteína cinase C provocando uma determinada resposta celular consoante o subtipo de recetor ativado. Por fim, os tipos de recetores 5-HT<sub>4</sub>, 5-HT<sub>6</sub> e 5-HT<sub>7</sub> encontram-se acoplados a proteínas G estimulatórias (Gs). Neste caso, após a ativação dos recetores, vai ocorrer a estimulação da atividade da adenilciclase e consequente formação de AMPc levando a uma resposta específica nas células (Hoyer, 2002).

## **2.2.2. Tipos e subtipos de recetores 5-HT**

Existem diversos tipos de recetores 5-HT sendo que a maior parte deles se divide, ainda, em vários subtipos. Estes subtipos encontram-se distribuídos por vários locais do organismo humano e desempenham diferentes funções quando são ativados.

### **2.2.2.1. Recetores 5-HT<sub>1</sub>**

O tipo de recetores 5-HT<sub>1</sub> é composto por cinco 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> todos eles acoplados a proteínas Gi, sendo a inibição da adenilciclase o seu primeiro mecanismo de sinalização.

Os recetores 5-HT<sub>1A</sub> encontram-se amplamente distribuídos pelo sistema nervoso central (SNC). São recetores pré e pós-sinápticos e estão presentes em

grande quantidade no cérebro. Estão envolvidos na regulação neuroendócrina da hormona ACTH (Jørgensen et al., 2001) e pensa-se que possam vir a ter um papel importante no tratamento da ansiedade. Recentemente foram examinados como um possível alvo no tratamento da esquizofrenia, possuem um papel importante no efeito de psicoestimulantes e para além disso os seus antagonistas podem ter potencial no uso como neuroprotetores. Agonistas deste subtipo de recetores, tal como a buspirona, estão a ser desenvolvidos para o tratamento da ansiedade e depressão (Boer et al., 2000; Tunnicliff, 1991).

Em relação aos recetores 5-HT<sub>1B</sub> estes encontram-se muito presentes no sistema cardiovascular, células endoteliais e células do músculo liso de vários vasos sanguíneos; estão, também, presentes no SNC e em artérias cerebrais (Hoyer, 2002). São o subtipo de recetores maioritariamente implicado na vasoconstrição, estão envolvidos na regulação da agressividade (Olivier, 2005), na resposta ao abuso de drogas e álcool (Przegaliński et al., 2007) e, também, em processos de aprendizagem e memória. (Wolff, 2003) Os agonistas deste subtipo de recetor são de grande interesse pelas suas propriedades no tratamento da enxaqueca, como é o caso do agonista não seletivo do subtipo de recetores 5-HT<sub>1B/1D</sub>, sumatriptano. Existem poucos antagonistas seletivos para este subtipo de recetor.

Os subtipos de recetores 5-HT<sub>1D</sub> encontram-se principalmente presentes no coração onde modulam a libertação de serotonina e de forma limitada do cérebro. São os recetores alvo principais dos fármacos para o tratamento da enxaqueca (Villalón, 1999). No SNC estes recetores estão envolvidos na locomoção e ansiedade. Estão, também, envolvidos nos processos de vasoconstrição no cérebro. Ainda não existe muita informação acerca deste subtipo de recetores.

Quanto aos subtipos 5-HT<sub>1E</sub> e 5-HT<sub>1F</sub> ainda se conhece pouco acerca das suas funções. Sabe-se, hoje em dia, que o subtipo de recetores 5-HT<sub>1E</sub> está presente no cérebro e pensa-se que esteja envolvido em processos de memória e cognição. Os 5-HT<sub>1F</sub> sabe-se apenas que estão presentes em maior quantidade no cérebro e músculo vascular liso e pensa-se que também possam estar envolvidos no alívio da enxaqueca (Pytliak et al., 2011).

### **2.2.2.2. Recetores 5-HT<sub>2</sub>**

Os recetores 5-HT<sub>2</sub> dividem-se em três subtipos 5-HT<sub>2A</sub>, 5-HT<sub>2B</sub> e 5-HT<sub>2C</sub>. Estando todos eles acoplados a proteínas Gq.

Em relação aos recetores 5-HT<sub>2A</sub> estes encontram-se largamente distribuídos nos tecidos periféricos do SNC, sistema cardiovascular e vasos sanguíneos. Encontram-se, também, muito presentes no músculo liso estando envolvidos no processo de vasoconstrição (Varghese et al., 2006) e nas plaquetas, facilitando a agregação plaquetar. Estes recetores estão envolvidos em várias doenças cardiovasculares, são o primeiro alvo de substâncias psicoativas e a sua ativação estimula a libertação de diversas hormonas (Kar Van de, 2001).

Os recetores 5-HT<sub>2B</sub> estão expressos em grande quantidade em diversos órgãos como rins, fígado, estômago, intestino e em quantidades moderadas nos pulmões e tecidos cardiovasculares. (Bassil, 2009) Estão associados ao funcionamento do sistema auditivo e a sua função mais importante consiste na formação de órgãos como o coração e o cérebro durante o desenvolvimento humano (Nebigil, 2000).

Quanto aos recetores 5-HT<sub>2C</sub> estes estão altamente expressos no plexo coróide e na amígdala. São um interessante alvo terapêutico no tratamento de abuso de psicoestimulantes, (Bubar, 2006) na regulação da ansiedade e acredita-se que desempenhem funções no mecanismo de ação da classe de antidepressivos SSRI. Antagonistas deste subtipo de recetor funcionam como antidepressivos, provocando um aumento dos níveis de dopamina e norepinefrina em certas áreas do cérebro (Goodwin et al., 2009).

### **2.2.2.3. Recetores 5-HT<sub>3</sub>**

O tipo de recetores 5-HT<sub>3</sub> são os únicos recetores de serotonina que se encontram associados a canais iónicos e são conhecidos três subtipos 5-HT<sub>3A</sub>, 5-HT<sub>3B</sub> e 5-HT<sub>3C</sub>. Estes recetores diferem estrutural e funcionalmente de todos os outros sendo constituídos por cinco subunidades que formam um poro iónico permeável a iões como o sódio, o potássio e o cálcio. Aquando da ligação da serotonina ao recetor dá-

se a abertura do canal e a passagem de íões, levando a uma resposta excitatória no neurónio.

Os recetores 5-HT<sub>3</sub> estão maioritariamente presentes no cérebro. Podem ser encontrados em neurónios centrais e periféricos e estão, também, presentes nos terminais nervosos pré-sinápticos onde se pensa que modulem a libertação de neurotransmissores (Pytliak, 2011). Para haver uma ativação total deste tipo de recetor é necessária a ativação de dois subtipos, 5-HT<sub>3A</sub> e 5-HT<sub>3B</sub> (Dubin, 1999).

A sua ativação exerce efeitos no trato gastrointestinal, têm sido estudados como um possível alvo no tratamento de náuseas e vômitos resultantes da quimioterapia e na síndrome do intestino irritável (IBD). Pensa-se, ainda, que estejam envolvidos em processos cognitivos e que os seus antagonistas possam ser úteis no aumento da memória, no tratamento da esquizofrenia, abuso de psicoestimulantes, ansiedade e demência. Existem evidências de que antagonistas deste tipo de recetores podem suprimir as consequências comportamentais de interromper o tratamento crónico com drogas de abuso tais como nicotina, álcool, anfetaminas e cocaína.

#### **2.2.2.4. Recetores 5-HT<sub>4</sub>**

Este tipo de recetores encontra-se acoplado a proteínas Gs. Encontram-se presentes, principalmente, no sistema nervoso central, no coração e intestino. Modulam a atividade intestinal e os seus agonistas estão envolvidos no aumento da memória e aprendizagem (Lamirault, 2001), estando presentes em quantidades significativamente menores em doentes de Alzheimer (Reynolds, 1995) e, também, no tratamento da obstipação (Tonini, 2006). A infusão de agonistas deste tipo de recetores em corações humanos isolados leva ao aumento do seu poder contráctil (Mialet, 2003). Os recetores 5-HT<sub>4</sub> no SNC modulam a libertação de outros neurotransmissores (acetilcolina, dopamina, serotonina, e GABA) e aumentam a transmissão sináptica o que pode afetar o desenvolvimento da memória. O uso de agonistas dos recetores 5-HT<sub>4</sub> extremamente potentes e seletivos pode resultar em efeitos cardiovasculares adversos (Reynolds, 1995).

### **2.2.2.5. Recetores 5-HT<sub>5</sub>**

Os recetores 5-HT<sub>5</sub> encontram-se acoplados a proteínas Gi e são constituídos por dois subtipos, os 5-HT<sub>5A</sub> e os 5-HT<sub>5B</sub>. Ainda se sabe pouco acerca das suas funções farmacológicas. Estes estão presentes, essencialmente, no sistema nervoso central, pensa-se que estejam envolvidos no ritmo circadiano, regulação do humor, funções cognitivas, ansiedade, depressão, aprendizagem, consolidação da memória e desenvolvimento do cérebro. Pensa-se, ainda, que os seus ligandos possam ser úteis no tratamento de distúrbios de sono (Nelson, 2004).

### **2.2.2.6. Recetores 5-HT<sub>6</sub>**

Em relação aos recetores 5-HT<sub>6</sub>, estes encontram-se acoplados a proteínas Gs e são expressos quase exclusivamente no sistema nervoso central. Pensa-se que estejam envolvidos em doenças psiquiátricas e que sejam um potencial alvo para o tratamento de défices cognitivos em doenças de Alzheimer e esquizofrenia (Ramírez, 2013). Em animais foi demonstrado que o bloqueio destes recetores aumenta a transmissão colinérgica (Riemer, 2003) e melhora os processos de memória e aprendizagem (Lieben, 2005).

### **2.2.2.7. Recetores 5-ht<sub>7</sub>**

Os recetores 5-ht<sub>7</sub> estão acoplados a proteínas Gs e estão expressos no sistema nervoso central, nos vasos sanguíneos periféricos e músculo liso (Prause, 2009). São importantes na regulação do sono, ritmo circadiano e humor (Hedlund, 2004), estão envolvidos na termorregulação e pensa-se que possam, também, estar envolvidos na depressão (Guscott, 2005).

Recetor	Efeitos e Funções
5-HT <sub>1A</sub>	<b>SNC:</b> agressão, ansiedade, vício, apetite, impulsividade, memória, sono, termorregulação, respiração <b>Sistema cardiovascular:</b> pressão sanguínea, frequência cardíaca, função cardiovascular, vasoconstrição <b>Outros:</b> dilatação das pupilas
5-HT <sub>1B</sub>	<b>SNC:</b> agressão, ansiedade, aprendizagem, vício, locomoção, memória <b>Vasos sanguíneos:</b> vasoconstrição
5-HT <sub>1D</sub>	<b>SNC:</b> locomoção, ansiedade <b>Vasos sanguíneos:</b> vasoconstrição
5-HT <sub>1E</sub>	<b>SNC:</b> memória, aprendizagem
5-HT <sub>1F</sub>	<b>SNC:</b> locomoção, ansiedade <b>Vasos sanguíneos:</b> vasoconstrição
5-HT <sub>2A</sub>	<b>SNC:</b> ansiedade, apetite, vício, cognição, imaginação, aprendizagem, memória, humor, percepção, sono, termorregulação. <b>Músculo liso:</b> contração <b>Vasos sanguíneos:</b> vasoconstrição, vasodilatação <b>Plaquetas:</b> agregação <b>Sistema cardiovascular:</b> função cardiovascular
5-HT <sub>2B</sub>	<b>SNC:</b> ansiedade, apetite, sono <b>Trato gastrointestinal:</b> motilidade gastrointestinal <b>Vasos sanguíneos:</b> vasoconstrição <b>Sistema cardiovascular:</b> função cardiovascular <b>Sistema auditivo:</b> formação do sistema auditivo
5-HT <sub>2C</sub>	<b>SNC:</b> ansiedade, apetite, vício, locomoção, humor, sono, termorregulação <b>Trato gastrointestinal:</b> motilidade gastrointestinal <b>Vasos sanguíneos:</b> vasoconstrição
5-HT <sub>3A/3B/3C</sub>	<b>SNC e SNP:</b> ansiedade, vício, náuseas, aprendizagem, memória, demência, excitação neuronal <b>Trato gastrointestinal:</b> motilidade gastrointestinal
5-HT <sub>4</sub>	<b>SNC:</b> ansiedade, apetite, aprendizagem, memória, humor, respiração <b>Trato gastrointestinal:</b> motilidade gastrointestinal
5-HT <sub>5A/5B</sub>	<b>SNC:</b> locomoção, sono, memória, aprendizagem, depressão, humor

<b>5-HT<sub>6</sub></b>	<b>SNC:</b> ansiedade, cognição, aprendizagem, memória, humor
<b>5-HT<sub>7</sub></b>	<b>SNC:</b> ansiedade, memória, humor, depressão, respiração, sono, termorregulação <b>Vasos sanguíneos:</b> vasoconstrição

**Tabela I.** Efeitos e funções dos subtipos de recetores da serotonina (5-HT). Adaptado de (Pytliak, 2011).

### 2.3. Endotélio

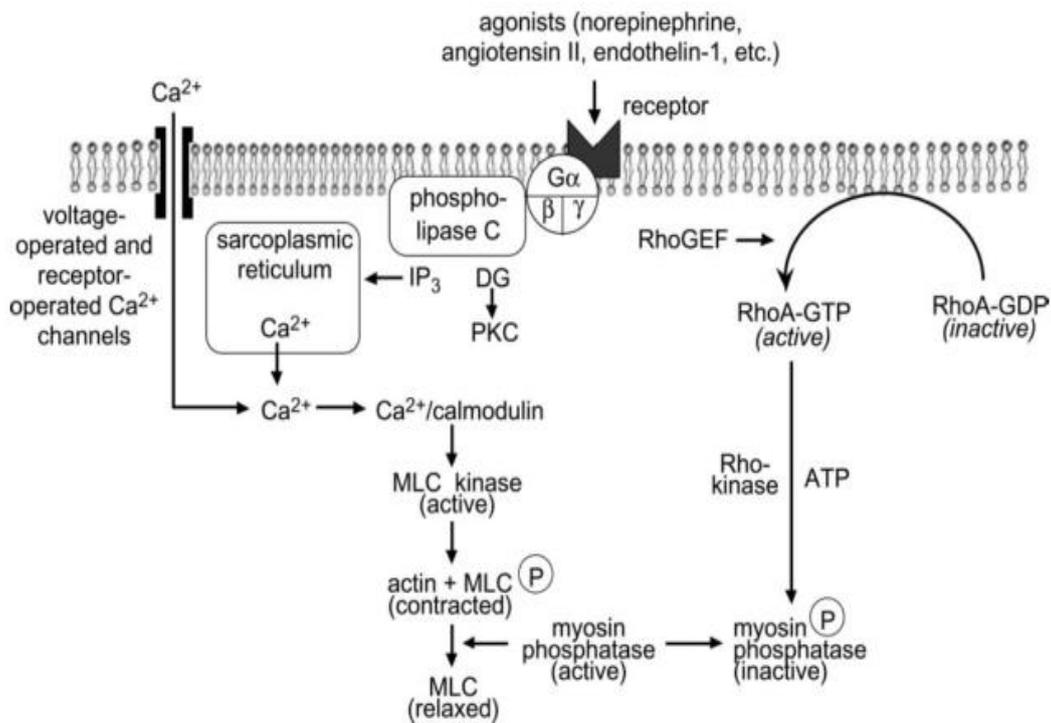
Durante vários anos o endotélio vascular foi considerado como um mero separador de superfícies, porém, hoje em dia, sabe-se que possui inúmeras funções metabólicas, neuroendócrinas, proliferativas e imunológicas. Pode ser considerado o maior órgão endócrino do corpo humano, uma vez que reveste todos os órgãos e tecidos do organismo. O endotélio é formado por uma única camada de células, sendo, portanto, classificado como epitélio pavimentoso simples (Lerman, 2005). Em relação ao endotélio vascular, algumas das suas ações principais consistem no controlo do fluxo sanguíneo, na regulação da resistência vascular e na modulação de respostas imunitárias e inflamatórias (Tsuneyoshi, 2012). Para além das suas importantes funções de delimitação e revestimento, o endotélio vascular produz uma vasta gama de substâncias de carácter hormonal, substâncias com propriedades vasodilatadoras como é o caso do monóxido de azoto ou vasoconstritoras como por exemplo a endotelina. Produz ainda importantes moduladores da homeostasia e substâncias capazes de reparar tecidos danificados (Vanhoutte, 1991).

### 2.4. Músculo liso e mecanismo contráctil

O músculo liso é um tipo de músculo não estriado que difere muito do músculo esquelético e do músculo cardíaco. Encontra-se sob o controlo do sistema nervoso autónomo e está presente em diversos órgãos como é o caso dos vasos sanguíneos. Este tipo de músculo está envolvido no mecanismo contráctil sendo que este processo de contração é controlado por hormonas, neurotransmissores e outros

sinais químicos locais. Grande parte do citoplasma das células do músculo liso é ocupado pelas proteínas actina e miosina uma vez que estas duas moléculas juntas estão na base da capacidade contráctil que o músculo liso possui (Webb, 2003).

O mecanismo de contração do músculo liso inicia-se, geralmente, pela alteração da concentração intracelular de  $\text{Ca}^{2+}$  quer através da despolarização da membrana celular e abertura dos canais de cálcio dependentes de voltagem que levam à libertação de  $\text{Ca}^{2+}$  a partir de armazenamentos intracelulares, aumentando a sua concentração no interior da célula (Figura 5) ou como resposta a um estímulo específico provocado, por exemplo, por um agonista (Amberg, 2013). A figura 5 mostra, detalhadamente, o mecanismo de contração das células do músculo liso.



**Figura 5.** Regulação da contração do músculo liso. Quando o agonista se liga a um recetor acoplado à proteína G esta vai sofrer uma mudança conformacional que vai estimular a atividade da fosfolipase C. Esta, por sua vez, vai dar origem à formação de dois potentes segundos mensageiros, o inositol trifosfato (IP<sub>3</sub>) e o diacilglicerol (DAG). A ligação do IP<sub>3</sub> a recetores presentes no retículo sarcoplasmático resulta na libertação de  $\text{Ca}^{2+}$  para o citosol. Posteriormente, o DAG juntamente com o  $\text{Ca}^{2+}$  vai ativar a proteína cinase C (PKC) que vai fosforilar proteínas alvo específicas. Na maior parte das células do músculo liso, a PKC promove o efeito

contráctil, por exemplo através da fosforilação dos canais de cálcio ou outras proteínas que regulam o processo contráctil. O aumento de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular e a sua combinação com a proteína calmodulina vai dar origem ao complexo  $\text{Ca}^{2+}$ -calmodulina que vai ativar a MLC cinase que, por sua vez, vai fosforilar a cadeia leve de miosina que em conjunto com a actina vai permitir que se inicie o ciclo de pontes cruzadas levando à contração das células do músculo liso (Webb, 2003).

## **2.5. Recetores e subtipo de recetores da 5-HT no sistema cardiovascular humano**

Os diferentes subtipos de recetores da serotonina encontram-se largamente distribuídos por todo o sistema cardiovascular. Consoante o subtipo de recetor de serotonina ativado obtém-se um efeito específico no organismo humano. A nível cardiovascular os efeitos mais frequentes são bradicardia ou taquicardia, vasoconstrição ou vasodilatação e hipotensão ou hipertensão, conforme o subtipo de recetor ativado (Saxena, 1990).

Em relação aos subtipos de recetores da serotonina aqueles que estão maioritariamente envolvidos na regulação do sistema cardiovascular são os 5-HT<sub>1</sub>, 5-HT<sub>2A</sub> e 5-HT<sub>2B</sub>. A estimulação do recetor 5-HT<sub>1A</sub> possui um efeito vasopressor e bradicárdico. A nível cardiovascular os 5-HT<sub>1B</sub> estão principalmente envolvidos nos processos de vasoconstrição, tal como os recetores 5-HT<sub>2A</sub>, que para além de estarem envolvidos em processos de vasoconstrição, estão, também, envolvidos em várias doenças cardiovasculares (Kaumann, 1993). O papel dos subtipos de recetores 5-HT<sub>2B</sub> no sistema cardiovascular é de grande importância, principalmente, durante a formação e desenvolvimento de órgãos, sendo os recetores responsáveis pela regulação das funções cardiovasculares durante a embriogénese e pela diferenciação e proliferação do desenvolvimento do coração (Kaumann, 1990). Pensa-se ainda que os subtipos de recetores 5-HT<sub>3</sub>, 5-HT<sub>4</sub> e 5-HT<sub>7</sub> também possam estar envolvidos em alguns processos cardiovasculares. Em relação aos 5-HT<sub>3</sub> a sua ativação pode levar a bradicardia, enquanto, pelo contrário, a taquicardia pensa-se que seja desencadeada pela ativação dos recetores 5-HT<sub>4</sub> (Kaumann, 1998). Os subtipos 5-HT<sub>5</sub> e 5-HT<sub>6</sub> pensa-se que não estejam envolvidos na regulação do sistema cardiovascular. Em relação ao subtipo de recetores 5-HT<sub>7</sub> estes parecem estar envolvidos nos processos de relaxamento estando

presentes em maior quantidade em artérias coronárias e no músculo vascular liso (Schoeffter, 1996).

## **2.6. Recetores da 5-HT na artéria mamária interna humana**

A artéria mamária interna humana tornou-se, há vários anos, o excerto de escolha na cirurgia de revascularização coronária uma vez que permite o aumento do tempo de vida dos pacientes e também melhores resultados clínicos. Em doentes que sofrem de aterosclerose a artéria mamária interna humana é a última a ser afetada, sendo esse, também, um dos fatores de escolha desta artéria para este tipo de cirurgias. A artéria mamária interna humana ou artéria torácica interna situa-se na face interna da parede anterior do tórax e deriva da artéria subclávia. A artéria mamária irriga o peito e a parede torácica anterior e os seus ramos mais finos vascularizam o diafragma e a parede abdominal. Esta artéria é farmacologicamente muito ativa e contrai em resposta a vários vasoconstritores como é o caso da serotonina. Esta contração parece ser mediada pelo subtipo de recetores 5-HT<sub>2A</sub> e 5-HT<sub>1B</sub> (Cohen et al., 1990) sendo que em estudos recentes foram detetados estes dois subtipos de recetores nas células musculares lisas da artéria mamária interna humana (Tanaka, 2008) e 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>).

Num estudo realizado com cetanserina, um antagonista do subtipo de recetores 5-HT<sub>2A</sub>, verificou-se uma significativa redução da resposta à serotonina, mas não uma redução total, o que mostra poder haver um possível envolvimento dos recetores 5-HT<sub>1</sub> no processo contráctil (Yildiz, 1996). Para além disso, estudos existentes, mostraram que a utilização de sumatriptano, um agonista dos recetores 5-HT<sub>1B/D</sub> provocou a contração de várias artérias, incluindo as artérias mamárias internas humanas estudadas (Edvinsson et al., 2005; Wackenfors et al., 2005).

A utilização de 5-carboxamidatriptamina, um agonista dos recetores 5-HT<sub>1</sub>, em particular dos subtipos 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub> e 5-HT<sub>1D</sub> e de sumatriptano, um agonista dos subtipos de recetores 5-HT<sub>1B</sub> e 5-HT<sub>1D</sub> leva à contração da artéria mamária interna humana.

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

## 2.7. Agonistas, agonistas parciais e antagonistas

Um agonista liga-se ao recetor e produz uma resposta biológica baseada na concentração de agonista e na fração de recetores ativados. A atividade intrínseca de uma substância determina a sua capacidade de ativar os recetores total ou parcialmente. Os fármacos e drogas devem ser categorizadas de acordo com a sua atividade intrínseca e o resultante valor de  $E_{max}$ .

Se uma substância se liga ao recetor e produz uma resposta biológica máxima que imita a resposta do ligando endógeno, é um agonista total. Agonistas totais ligam-se ao recetor e estabilizam-no no seu estado ativo levando a um efeito máximo.

Os agonistas parciais são compostos que se ligam ao recetor mas que não conseguem exercer uma resposta máxima no mesmo, ou seja, mesmo que todos os recetores estejam ocupados, os agonistas parciais não conseguem produzir o mesmo valor de  $E_{max}$  que os agonistas totais. Quando o recetor se encontra exposto aos dois tipos de agonistas, total e parcial, o agonista parcial pode atuar como um antagonista do agonista total. Considerando o que acontece ao valor de  $E_{max}$  de um recetor saturado com agonista total na presença de concentrações crescentes de agonista parcial verifica-se que à medida que o número de recetores ocupado pelo agonista parcial aumenta o valor de  $E_{max}$  diminui até atingir o valor de  $E_{max}$  do agonista parcial (Whalen et al., 2014).

Em relação aos antagonistas, estes podem-se ligar ao recetor com elevada afinidade mas não possuem atividade intrínseca. Ao contrário do agonista o antagonista não tem efeito mas pode diminuir o efeito do agonista quando este se encontra presente. O antagonismo pode ocorrer quer pelo bloqueio da capacidade do composto se ligar ao recetor quer pelo bloqueio da capacidade de o composto ativar o recetor (Preston, 2012). Se o antagonista e o agonista se ligam ao mesmo recetor é um processo chamado de antagonismo competitivo. Este antagonismo competitivo

impede o agonista de se ligar ao seu recetor e mantém-no no seu estado inativo havendo um desvio da curva dose-resposta do agonista para a direita, sem afetar o  $E_{máx}$ .

## 2.8. 5-Carboxamidatriptamina (5-CT)

A 5-carboxamidatriptamina (5-CT) é um derivado das triptaminas e possui uma estrutura muito semelhante ao neurotransmissor serotonina. Esta molécula atua como agonista parcial ao nível dos recetores 5-HT<sub>1</sub>, sendo que os principais subtipos de recetores envolvidos são os 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub> e 5-HT<sub>1D</sub>. Pensa-se, ainda, que a 5-CT possa atuar nos recetores 5-HT<sub>7</sub>, no entanto ainda se conhece muito pouco acerca disto. A nível vascular a 5-carboxamidatriptamina atua provocando a contração dos vasos sanguíneos, sendo que esta vasoconstrição é dependente da dose (Yamada et al., 1998).

## 2.9. Sumatriptano

O sumatriptano é um fármaco sintético que pertence à classe dos triptanos e que é utilizado no tratamento de enxaquecas. Este fármaco é estruturalmente semelhante à molécula de serotonina e atua como agonista parcial dos recetores 5-HT<sub>1</sub>, em particular dos subtipos de recetores 5-HT<sub>1B</sub> e 5-HT<sub>1D</sub>. A nível vascular o sumatriptano atua através da contração dos vasos sanguíneos, sendo que esta vasoconstrição, tal como no caso da 5-carboxamidatriptamina, é dependente da dose no entanto através da ativação de outros subtipos de recetores (Edvinsson, 2005; Wackenfors, 2005).

## 2.10. MDMA e 5-HT

A MDMA afeta as funções do sistema nervoso central e periférico uma vez que atua principalmente no sistema monoaminérgico. A MDMA é considerada um agonista monoaminérgico indireto atuando, principalmente, como um substrato do transportador de monoaminas. Esta substância atua maioritariamente no transportador

de serotonina mas também, em menor quantidade, no transportador de dopamina e norepinefrina (Montgomery et al., 2007; Schmidt et al., 1987).

Para além de outros mecanismos, a MDMA atua através da inibição/bloqueio do transportador da serotonina (SERT) fazendo com que a serotonina não seja recaptada para o interior dos neurónios pré-sinápticos e, por outro lado, com que este transportador atue de forma inversa e que liberte serotonina para a fenda sináptica aumentando aí a sua concentração. Outro dos mecanismos consiste no aumento da quantidade de neurotransmissor no citoplasma devido à desregulação do armazenamento vesicular provocado pela MDMA (Azmitia et al., 1990; Berger et al., 1992; Fleckenstein & Hanson, 2003). A MDMA atua também ao nível dos recetores de serotonina, consoante o subtipo de recetor e o local em que estes se encontram os efeitos produzidos vão ser diferentes. A ativação deste tipo de recetores pela MDMA pode levar, por exemplo, a efeitos alucinogénicos, vasoconstrição, toxicidade cardiovascular, entre muitos outros. Os subtipos de recetores para os quais a MDMA possui maior afinidade e onde normalmente atua são os 5HT<sub>1</sub> e 5HT<sub>2</sub>.

## 3- Objetivos



### 3. OBJETIVOS

A MDMA tem sido, desde há vários anos, uma das drogas mais consumida em ambientes recreativos por jovens e adultos. O facto de a sua administração provocar um bem-estar geral faz com que esta seja administrada cada vez mais vezes e em doses maiores para conseguir atingir o efeito desejado podendo causar dependência. Para além disso, a MDMA provoca diversos efeitos adversos a curto e a longo prazo podendo levar a elevado toxicidade no organismo humano, principalmente quando administrada em grandes quantidades. Embora a maior parte dos consumidores pense que esta droga é praticamente inofensiva à saúde humana esta pode conduzir a várias complicações graves a nível cardiovascular, hepático, renal, neurológico, entre outros, podendo mesmo levar à morte.

O elevado consumo de ecstasy representa um grave problema de saúde pública a nível global e, portanto, é essencial tentar perceber o seu mecanismo de atuação, quais os recetores em que a droga atua no organismo humano e quais os efeitos que provoca, quer para tentar garantir que esta informação chega aos principais consumidores, como também para poder descobrir novas formas de tratamento e prevenção desses efeitos.

Existem poucos estudos acerca da atividade vascular da MDMA no organismo humano, sabe-se apenas que um dos seus efeitos é a vasoconstrição que leva ao aumento da pressão arterial.

Estudos anteriores realizados no Laboratório de Farmacologia da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra por Silva et al. mostraram que a MDMA pode atuar como agonista parcial dos recetores 5-HT<sub>2A/2B</sub>, contudo, coloca-se a hipótese de ela poder atuar sobre outros subtipos de recetores nomeadamente os subtipos de recetores 5-HT<sub>1</sub>.

Assim sendo, é essencial investigar os efeitos da MDMA a nível vascular e quais os tipos e subtipos de recetores envolvidos no seu mecanismo de ação.

Neste estudo definiram-se os seguintes objetivos:

- I. Avaliar o efeito de diferentes concentrações de MDMA (400 $\mu$ M, 800 $\mu$ M e 1600 $\mu$ M) na artéria mamária interna humana;
- II. Investigar quais os subtipos de recetores da 5-HT envolvidos no mecanismo de ação da MDMA;
- III. Avaliar o efeito da 5-carboxamidatriptamina na artéria mamária interna humana após adição de diferentes concentrações de MDMA (400 $\mu$ M, 800 $\mu$ M e 1600 $\mu$ M);
- IV. Avaliar o efeito do sumatriptano na artéria mamária interna humana após adição de diferentes concentrações de MDMA (400 $\mu$ M, 800 $\mu$ M e 1600 $\mu$ M).

## **4- Materiais e Métodos**

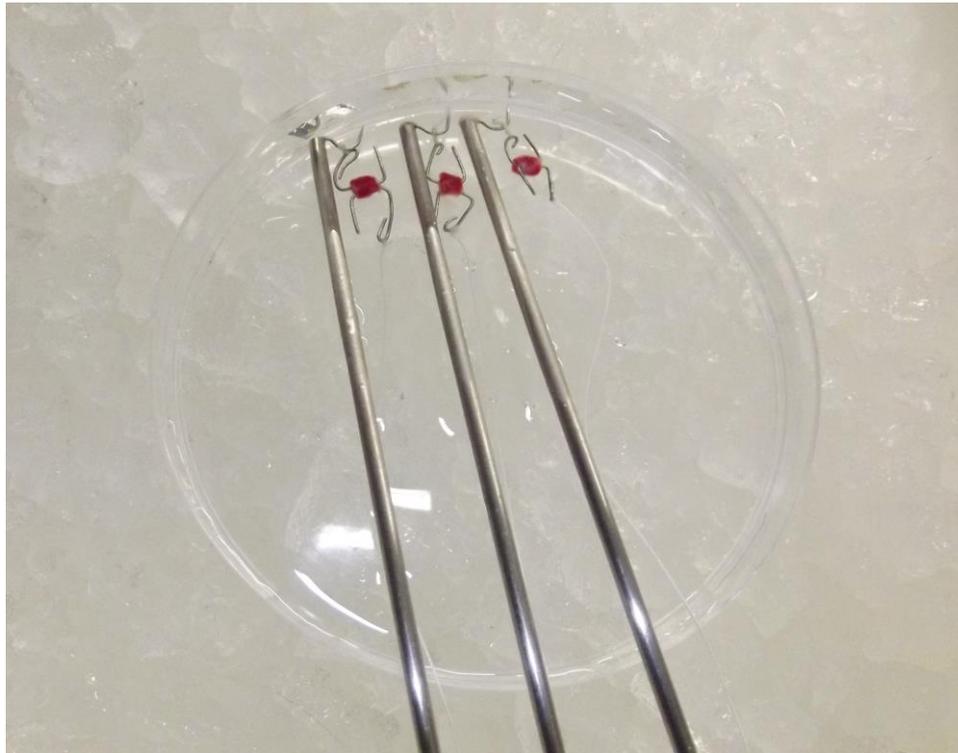


## **4. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1. Colheita das artérias mamárias internas humanas**

As artérias mamárias internas humanas foram cedidas pelo Serviço de Cirurgia Cardiorácica do Centro Hospitalar e Universitário da Universidade de Coimbra sendo colhidas a partir de doentes sujeitos a cirurgias de revascularização coronária. As idades dos doentes variaram entre os 50 e os 85 anos, sendo todos do sexo masculino. A idade e o género dos doentes, assim como as patologias associadas a cada um deles podem influenciar os resultados do estudo. Após a cirurgia, a artéria foi colocada na solução fisiológica de Krebs-Henseleit, que é constituída por: 119mM NaCl; 15mM NaHCO<sub>3</sub>; 4,6mM KCl; 1,2mM MgSO<sub>4</sub>; 1,2mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 1,5mM CaCl<sub>2</sub> e 5,5mM Glucose, mantida a uma temperatura de 4°C com o objetivo de não alterar as propriedades da artéria, sendo posteriormente transportada num recipiente isotérmico com gelo moído para o laboratório de farmacologia.

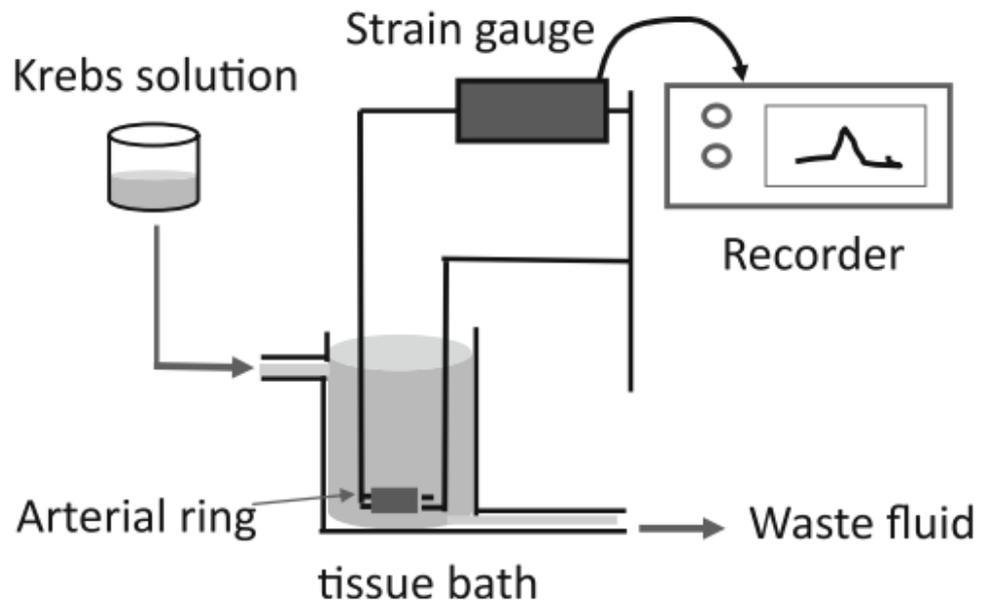
Uma vez no laboratório procedeu-se ao isolamento e à preparação da artéria. Para isso removeu-se o tecido adiposo e conjuntivo adjacente e, também, ramificações da artéria que pudessem existir. Este é um processo minucioso e que requer vários cuidados para que a artéria não seja danificada e não comprometa os resultados da experiência. Após o isolamento da artéria foram feitos alguns cortes transversais precisos com o objetivo de formar pequenos anéis (cerca de 2-3mm).



**Figura 6.** Anéis de artéria mamária interna humana montados entre duas ansas de platina antes da sua suspensão no banho de órgãos.

## 4.2. Protocolo Experimental

Os anéis vasculares foram colocados entre duas ansas de platina e suspensos no banho de órgãos previamente preenchido com 10 ml de solução de Krebs-Henseleit arejada com carbogênio (mistura de 5% de anidrido carbónico e 95% de oxigénio) e com o pH ajustado a 7,4. Todas as experiências foram feitas a 37°C, sendo a temperatura controlada pelo termostato. Depois das artérias estarem suspensas no banho de órgãos a tensão da parede vascular foi normalizada sendo ajustada a uma tensão ideal de repouso (2g). Após um período de estabilização de 2 horas de equilíbrio e de várias lavagens, de forma a remover qualquer tipo de substância que pudesse interferir com a experiência, como é o caso de alguns fármacos administrados pelos doentes, foram medidas variações nas tensões isométricas usando PowerLab® acoplado a um computador onde é feito o registo e leitura dos dados. No início e no final de cada experiência foi adicionado ao banho de órgãos cloreto de potássio 800mM com o objetivo de testar a capacidade contráctil da artéria.



**Figura 7.** Esquema representativo do banho de órgãos. Retirado de (Tsuneyoshi, 2012).



**Figura 8.** Anéis de artéria mamária interna humana suspensos no banho de órgãos com 10ml de solução de Krebs-Henseleit.

Para testar os efeitos da MDMA foram feitas, inicialmente, curvas cumulativas à 5-CT e ao sumatriptano ( $0,1\mu\text{M}$ - $60\mu\text{M}$ ) onde cada concentração foi adicionada após a anterior ter atingido o plateau de forma a observar a reatividade dos anéis. Após várias lavagens, relaxamento dos anéis e estabilização da tensão foram incubadas, durante 30 minutos, diferentes concentrações de MDMA ( $400\mu\text{M}$ ,  $800\mu\text{M}$  e  $1600\mu\text{M}$ ) em cada banho de órgãos. Depois dos 30 minutos de incubação foram feitas novas curvas cumulativas à 5-CT ou ao sumatriptano. Foram, também, feitas experiências controlo onde se adicionou apenas 5-CT ou sumatriptano.

### 4.3. Análise dos resultados

A resposta contráctil, de cada anel, à curva cumulativa concentração-resposta de 5-CT, sumatriptano e, também, ambas as substâncias na presença de MDMA, foram expressas em percentagem de contração máxima.

Os resultados foram, também, analisados em termos de mN de tensão, de forma a traduzir para valores absolutos a capacidade contráctil dos compostos utilizados.

A contração máxima registada ( $E_{m\acute{a}x}$ ) representa o efeito máximo do agonista, ou seja, a capacidade de o composto produzir um efeito farmacológico quando se liga ao recetor (atividade intrínseca). O  $pEC_{50}$  (logaritmo negativo da concentração molar de agonista capaz de induzir metade da resposta máxima) representa a potência de cada composto, ou seja, neste caso representa a quantidade de fármaco necessária para provocar 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  $\mu M$ ), utilizando o programa de computador GraphPad Prisma 5.03.

Foram avaliadas as diferenças estatisticamente significativas entre os valores resultantes de  $pEC_{50}$  calculados para cada fármaco, na ausência e na presença de diferentes concentrações de MDMA, bem como as diferenças entre as respostas contrácteis induzidas por cada dose da curva concentração-resposta do fármaco na presença de MDMA 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. 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 (SEM: Standard Error of the Mean) do número de experiências ( $n$ ) indicado.

#### **4.4. Fármacos utilizados**

Neste estudo, os fármacos utilizados foram MDMA, 5-carboxamidatriptamina e sumatriptano. A MDMA foi sintetizada por REQUINTE/Departamento de Química da Faculdade de Farmácia do Porto. A 5-carboxamidatriptamina foi adquirida na Sigma (EUA) e o sumatriptano gentilmente cedido pela GlaxoWellcome (GB).

# 5- Resultados

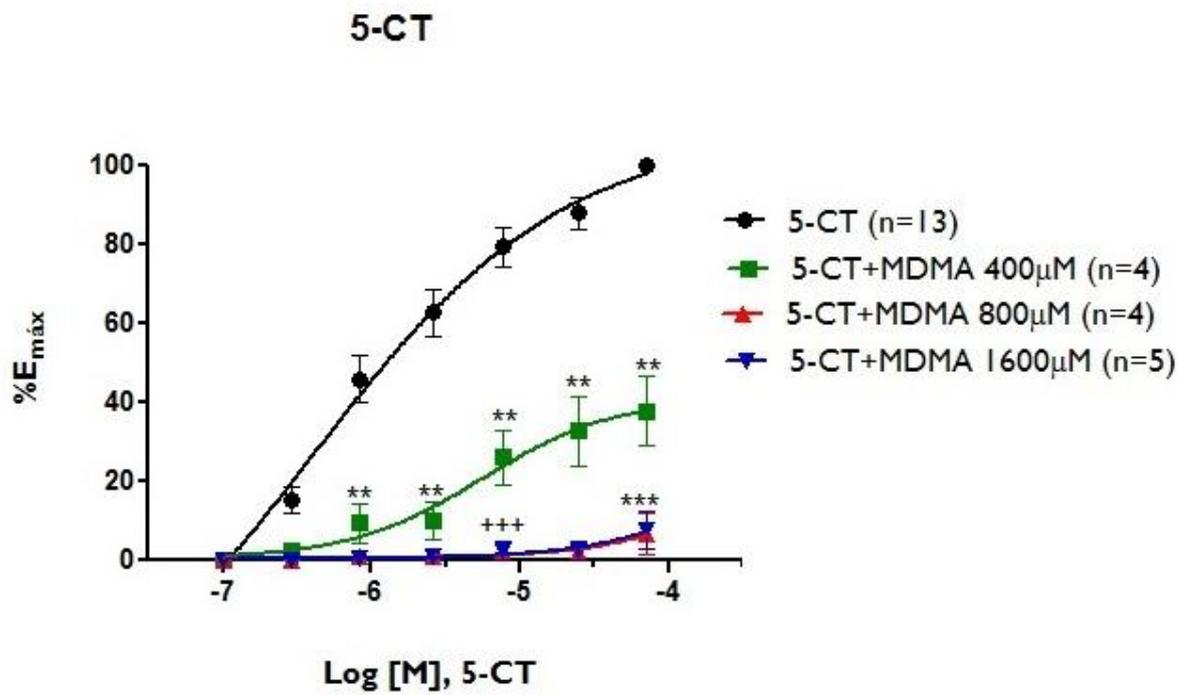


## 5. RESULTADOS

Neste capítulo vão ser apresentados os resultados obtidos ao longo das experiências realizadas. As respostas contrácteis da artéria mamária interna humana foram registadas através do sistema PowerLab® ligado a um computador para análise, interpretação e recolha de dados.

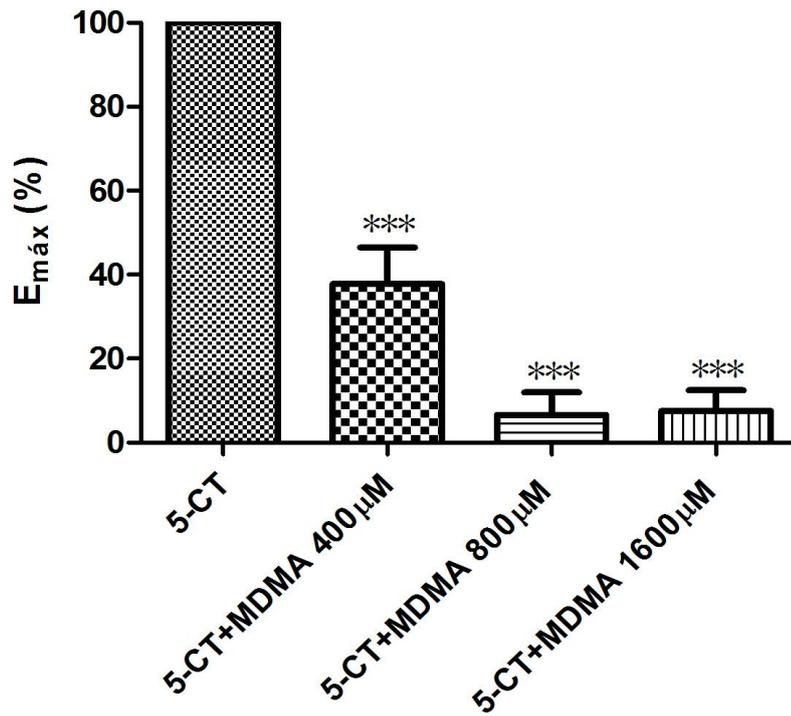
### **5.1. Resposta contráctil da artéria mamária interna humana à 5-carboxamidatriptamina (5-CT) na ausência e na presença de MDMA (400µM, 800µM e 1600µM)**

Os resultados das curvas concentração-resposta obtidas à 5-carboxamidatriptamina (5-CT), na ausência e na presença de MDMA, estão expressos em valores médios  $\pm$  S.E.M, possuindo um (n) de 13 experiências para curvas feitas à 5-CT, (n) de 4 experiências para a 5-CT na presença de 400 µM de MDMA, (n) de 4 experiências para a 5-CT na presença de 800 µM de MDMA e (n) de 5 experiências para a 5-CT na presença de 1600 µM de MDMA. As barras verticais representam o S.E.M.



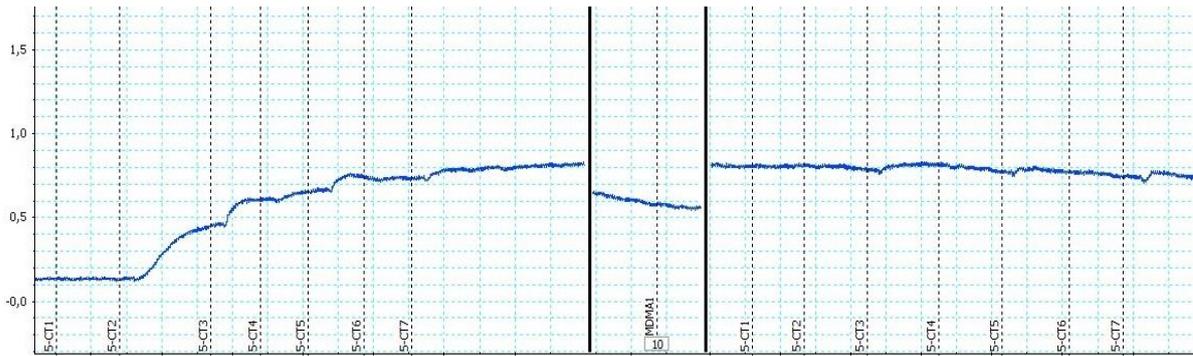
\* p<0,01 5-CT+MDMA 400µM versus 5-CT  
 \*\* p<0,001 5-CT+MDMA 800µM versus 5-CT  
 +++ p<0,001 5-CT+MDMA 1600µM versus 5-CT

**Gráfico 1.** Resposta contráctil da artéria mamária interna humana à 5-carboxamidotriptamina (5-CT) na ausência e na presença de MDMA (400µM, 800µM e 1600µM)



- \*\*\* $p < 0,001$  | 5-CT vs 5-CT+MDMA 400  $\mu$ M
- \*\*\* $p < 0,001$  | 5-CT vs 5-CT+MDMA 800  $\mu$ M
- \*\*\* $p < 0,001$  | 5-CT vs 5-CT+MDMA 1600  $\mu$ M
- \*\*\* $p < 0,001$  | 5-CT+MDMA 400  $\mu$ M vs 5-CT+MDMA 800  $\mu$ M
- \*\*\* $p < 0,001$  | 5-CT+MDMA 400  $\mu$ M vs 5-CT+MDMA 1600  $\mu$ M

**Gráfico 2.** Gráfico de barras da contração máxima da artéria mamária interna humana à 5-carboxamidotriptamina (5-CT) na ausência e na presença de MDMA (400 $\mu$ M, 800 $\mu$ M e 1600 $\mu$ M)



**Figura 9.** Resposta contráctil à 5-CT na ausência (controlo) e na presença de 1600µM de MDMA.

A tabela seguinte compara os valores de  $E_{m\acute{a}x}$  e  $pEC_{50}$  para a 5-carboxamidatriptamina na ausência de MDMA e na presença de diferentes concentrações de MDMA (400µM-1600µM).  $E_{m\acute{a}x}$  representa a contração máxima em percentagem (%) 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. Os valores de  $pEC_{50}$  em falta dizem respeito à incapacidade de o programa de computador GraphPad Prisma 5.03 os calcular pelo facto de os valores obtidos serem demasiado baixos e não serem capazes de dar origem a uma curva tipo dose-resposta (curva sigmóide).

**Tabela 2.** Comparação dos valores de  $E_{m\acute{a}x}$  e de  $pEC_{50}$  para a 5-carboxamidatriptamina na ausência de MDMA e na presença de diferentes concentrações de MDMA (400µM-1600µM)

	$E_{m\acute{a}x}$ (%)	$pEC_{50}$	n
<b>5-CT (controlo)</b>	100	6,38±0,56	13
<b>5-CT+MDMA(400µM)</b>	37,78±8,68**	5,26±0,36	4
<b>5-CT+MDMA(800µM)</b>	6,61±5,38***	-	4
<b>5-CT+MDMA(1600µM)</b>	7,56±4,86+++	-	5

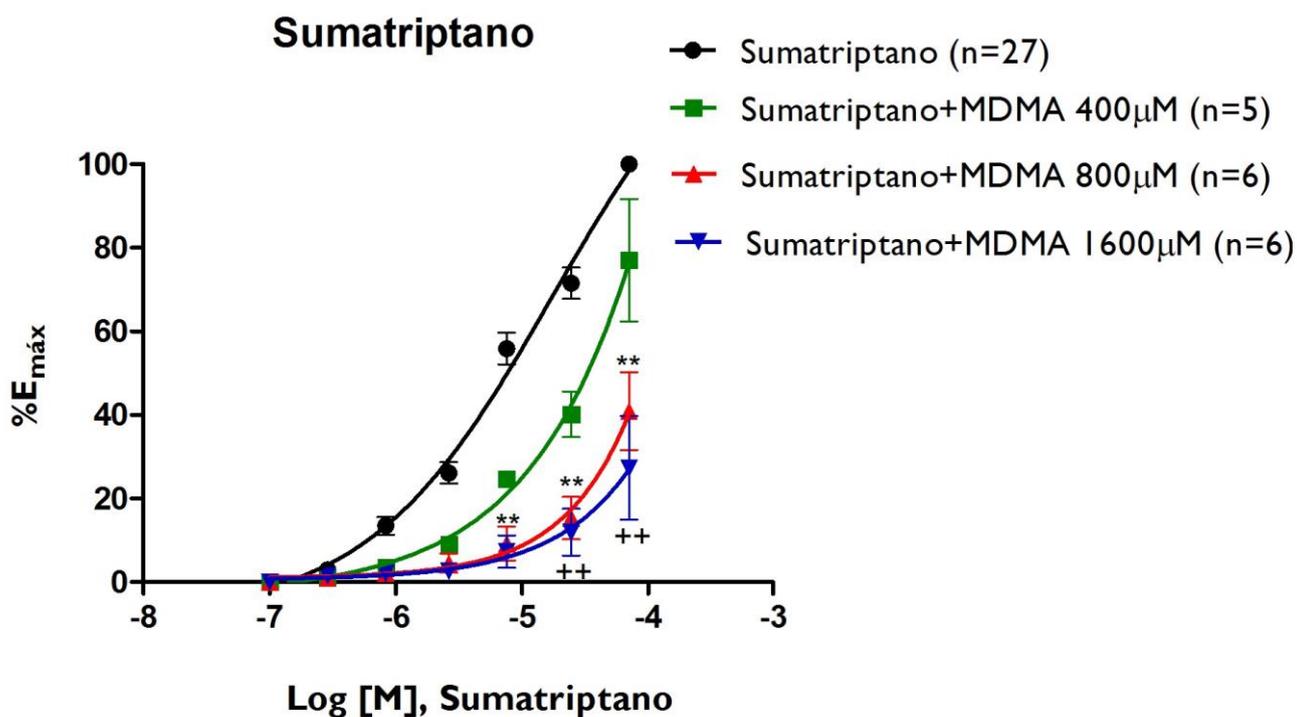
\*\*  $p < 0,01$  5-CT+MDMA 400mM versus 5-CT

\*\*\*  $p < 0,001$  5-CT+MDMA 800mM versus 5-CT

+++  $p < 0,001$  5-CT+MDMA 1600mM versus 5-CT

## 5.2. Resposta contráctil da artéria mamária interna humana ao sumatriptano na ausência e na presença de MDMA (400 $\mu$ M, 800 $\mu$ M e 1600 $\mu$ M)

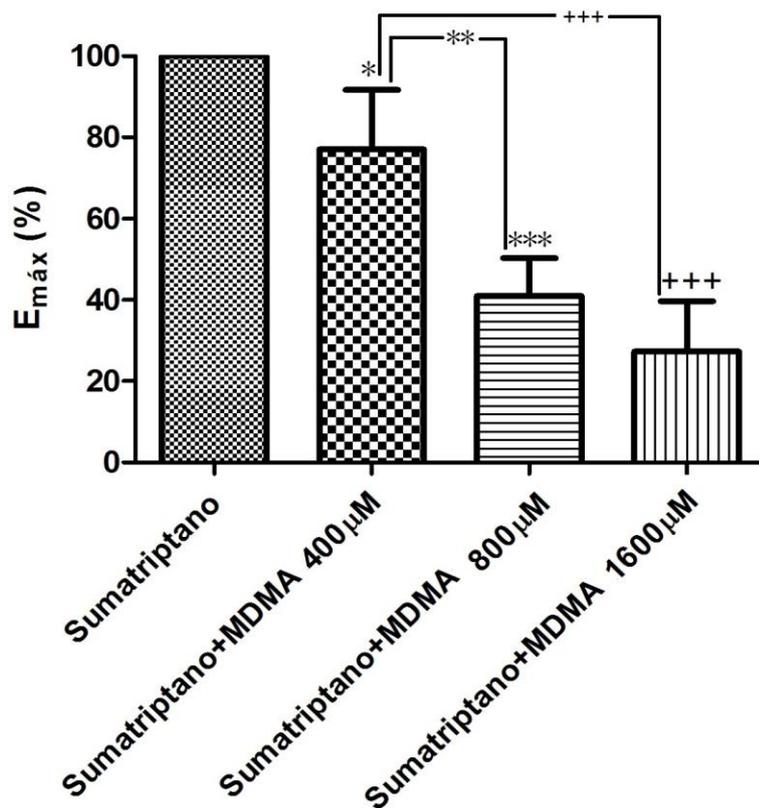
Os resultados das curvas concentração-resposta obtidas ao sumatriptano, na ausência e na presença de MDMA, estão expressos em valores médios  $\pm$  S.E.M, possuindo um (n) de 25 experiências para curvas feitas ao sumatriptano (controlo), (n) de 5 experiências para o sumatriptano na presença de 400  $\mu$ M de MDMA, (n) de 6 experiências para o sumatriptano na presença de 800  $\mu$ M de MDMA e (n) de 6 experiências para o sumatriptano na presença de 1600  $\mu$ M de MDMA. As barras verticais representam o S.E.M.



\*\*  $p < 0,01$  | Sumatriptano+MDMA 800 $\mu$ M versus Sumatriptano

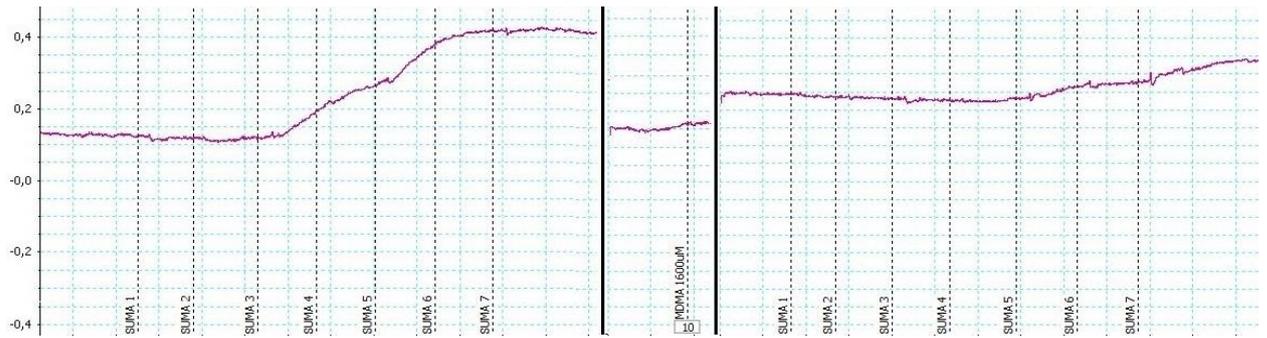
++  $p < 0,01$  | Sumatriptano + MDMA 1600 $\mu$ M versus Sumatriptano

**Gráfico 3.** Resposta contráctil da artéria mamária interna humana ao sumatriptano na ausência e na presença de MDMA (400 $\mu$ M, 800 $\mu$ M e 1600 $\mu$ M)



- \*p<0,05 Sumatriptano vs Sumatriptano+MDMA 400uM
- \*\*\*p<0,00 | Sumatriptano vs Sumatriptano+MDMA 800uM
- +++p<0,00 | Sumatriptano vs Sumatriptano+MDMA 1600uM
- \*\*p<0,0 | Sumatriptano+MDMA 400uM vs Sumatriptano+MDMA 800uM
- +++p<0,00 | Sumatriptano+MDMA 400uM vs Sumatriptano+MDMA 1600uM

**Gráfico 4.** Gráfico de barras da contração máxima da artéria mamária interna humana ao sumatriptano na ausência e na presença de MDMA (400μM, 800μM e 1600μM)



**Figura 10.** Resposta contráctil da artéria mamária interna humana ao sumatriptano na ausência (controlo) e na presença de 1600µM de MDMA.

A tabela seguinte compara os valores de  $E_{máx}$  e  $pEC_{50}$  para o sumatriptano na ausência de MDMA e na presença de diferentes concentrações de MDMA (400µM-1600µM).  $E_{máx}$  representa a contração máxima em percentagem (%) 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. Os valores de  $pEC_{50}$  em falta dizem respeito à incapacidade de o programa de computador GraphPad Prisma 5.03 os calcular pelo facto de os valores obtidos serem demasiado baixos e não serem capazes de dar origem a uma curva tipo dose-resposta (curva sigmóide).

**Tabela 3.** Comparação dos valores de  $E_{máx}$  e de  $pEC_{50}$  para o sumatriptano na ausência de MDMA e na presença de diferentes concentrações de MDMA (400µM-1600µM)

	$E_{máx}$ (%)	$pEC_{50}$	n
<b>Sumatriptano (controlo)</b>	100	4,75±0,23	27
<b>Sumatriptano + MDMA 400µM</b>	77,04±14,68	-	5
<b>Sumatriptano + MDMA 800µM</b>	40,94±9,36**	-	6
<b>Sumatriptano + MDMA 1600µM</b>	27,33±12,41++	-	6

\*\*  $p < 0,01$  Sumatriptano+MDMA 800mM versus Sumatriptano

++  $p < 0,01$  Sumatriptano + MDMA 1600mM versus Sumatriptano



## **6- Discussão dos resultados**



## 6. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Neste estudo foi avaliado o efeito da MDMA nos subtipos de recetores 5-HT<sub>1</sub>, em particular, 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub> e 5-HT<sub>1D</sub>, na artéria mamária interna humana. A artéria mamária é muito ativa farmacologicamente e contrai em resposta a vários vasoconstritores como é, por exemplo, o caso da serotonina (He et al., 1995).

Existem alguns estudos descritos que mostram que a 5-HT é um potente agonista desta artéria provocando contração através do subtipo 5-HT<sub>2A</sub> (Cohen, 1990).

Num estudo mais recente 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 (Tanaka, 2008).

A utilização de cetanserina, um antagonista do subtipo de recetores 5-HT<sub>2A</sub>, provoca uma significativa diminuição na resposta à serotonina, no entanto, não provoca uma diminuição total, o que mostra o possível envolvimento dos subtipos de recetores 5-HT<sub>1</sub> no processo contráctil (Yildiz et al, 1996).

Através destas evidências podemos verificar que não só os recetores 5-HT<sub>2</sub> estão envolvidos na resposta contráctil na artéria mamária interna humana, poderá haver, também, o envolvimento do subtipo de recetores 5-HT<sub>1</sub> neste processo contráctil.

Em estudos realizados anteriormente pelo Laboratório de Farmacologia da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, foram feitas curvas concentração-resposta à MDMA com o objetivo de verificar o efeito contráctil na artéria mamária interna humana na ausência e na presença de cetanserina, um antagonista dos recetores 5-HT<sub>2</sub>. Verificou-se que a MDMA provoca contração dependente da concentração na ausência de cetanserina. No entanto, verificou-se que na presença de cetanserina há uma pequena redução na resposta contráctil, levando a um desvio da curva para a direita sugerindo um efeito antagonista não competitivo da MDMA sobre os recetores 5-HT<sub>2</sub>. Apesar disso, não se pode excluir a hipótese de a MDMA atuar sobre outro tipo/subtipo de recetores 5-HT uma vez que a diminuição da resposta contráctil foi reduzida.

Nos estudos realizados anteriormente, em que se mostra o efeito vascular de diferentes concentrações de MDMA (400 $\mu$ M, 800 $\mu$ M e 1600 $\mu$ M) na resposta à 5-hidroamidatriptamina na artéria mamária interna humana, verificou-se uma redução na contração vascular e um desvio da curva para a direita para todas as concentrações de MDMA, sendo que, concentrações maiores de MDMA provocaram uma maior redução na contração, ou seja, uma maior diminuição do efeito máximo.

A MDMA mostrou provocar contrações dependentes da concentração na artéria mamária interna humana e por isso pode-se concluir que na presença de um agonista total, a serotonina (5-HT), a MDMA reduz a resposta contráctil da serotonina, comportando-se como um agonista parcial, possivelmente pelo envolvimento, não só do subtipo de recetores 5-HT<sub>2</sub> mas também, provavelmente, o subtipo de recetores 5-HT<sub>1</sub>.

No mesmo estudo observou-se o envolvimento dos recetores 5-HT<sub>2</sub> nos efeitos contrácteis da artéria mamária interna humana, usando o antagonista seletivo dos recetores 5-HT<sub>2</sub>, a cetanserina. A partir deste estudo verificou-se que a resposta contráctil à serotonina, na ausência de cetanserina, aumenta com o aumento da concentração da mesma. Na presença de cetanserina há uma redução significativa, mas não total da resposta contráctil, uma vez que a cetanserina, sendo um antagonista dos subtipos de recetores 5HT<sub>2</sub>, vai bloquear estes recetores fazendo com que a serotonina não atue nesse subtipo de recetores e, portanto, haja uma diminuição na resposta contráctil e um desvio da curva para a direita com redução do efeito máximo.

Uma vez que a redução da contração foi significativa mas não total mostra que podem existir outros recetores envolvidos na contração e presentes na artéria mamária interna humana, provavelmente o subtipo de recetores 5-HT<sub>1</sub>.

Para comprovar o envolvimento dos subtipos de recetores 5-HT<sub>1</sub> no processo contráctil da artéria mamária interna humana foi utilizada MDMA, um agonista parcial não seletivo dos recetores de serotonina e, também, dois agonistas específicos de alguns subtipos de recetores 5-HT<sub>1</sub>. Um dos agonistas utilizados foi a 5-carboxamidatriptamina, um agonista dos subtipos de recetores 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub> e 5-HT<sub>1D</sub>. O outro agonista utilizado foi o sumatriptano, um agonista dos subtipos de recetores 5-HT<sub>1B</sub> e 5-HT<sub>1D</sub>.

A partir do Gráfico 1, onde se mostra a resposta contráctil da artéria mamária interna humana à 5-carboxamidotriptamina (5-CT) na ausência e na presença de MDMA (400 $\mu$ M, 800 $\mu$ M e 1600 $\mu$ M), verifica-se que a resposta contráctil à 5-carboxamidotriptamina (5-CT) na ausência de MDMA (controlo) é dependente da concentração, ou seja, à medida que se aumenta a concentração de 5-CT aumenta também a contração na artéria mamária interna humana.

Na presença de MDMA, observa-se que há uma diminuição da resposta contráctil nesta artéria para todas as concentrações (400 $\mu$ M, 800 $\mu$ M e 1600 $\mu$ M) com um desvio das curvas para a direita e diminuição do efeito máximo. Através da tabela 2 verifica-se que há uma redução do efeito máximo ( $E_{m\acute{a}x}$ ) em relação ao controlo de cerca de 62,2% para 400 $\mu$ M, de cerca de 93,4% para 800 $\mu$ M e de cerca de 92,4% para 1600 $\mu$ M.

Esta diminuição significativa da contração, dependente da concentração de MDMA usada, ocorre devido ao facto de a MDMA se ligar aos subtipos de recetores 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub> e 5-HT<sub>1D</sub>, fazendo com que a 5-CT não consiga exercer o seu efeito neste subtipo de recetores e levando, então, à redução da resposta contráctil. Assim sendo, a MDMA diminui significativamente a resposta contráctil da 5-CT, comportando-se como um agonista parcial, pelo envolvimento do subtipo de recetores 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub> e 5-HT<sub>1D</sub>.

Uma vez que tanto a MDMA como a 5-CT atuam como agonistas parciais, a redução significativa na contração que ocorre na presença de MDMA mostra que esta possui uma menor potência neste subtipo de recetores levando, assim, a uma diminuição da resposta contráctil.

Através do Gráfico 2, gráfico de barras que mostra a contração máxima da artéria mamária interna humana à 5-carboxamidotriptamina (5-CT) na ausência e na presença de MDMA (400 $\mu$ M, 800 $\mu$ M e 1600 $\mu$ M), verifica-se que a contração máxima diminui significativamente na presença de MDMA, sendo de cerca de 37,71% para 400 $\mu$ M, 6,61% para 800 $\mu$ M e 7,56% para 1600 $\mu$ M, sendo que, a contração máxima é menor para a concentração de 800 $\mu$ M, no entanto, não há diferenças significativas entre as concentrações maiores (800 $\mu$ M e 1600 $\mu$ M).

Isto confirma que a MDMA não atua apenas no subtipo de recetores 5-HT<sub>2</sub>, atua também no subtipo 5-HT<sub>1</sub>, em particular nos 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub> e/ou 5-HT<sub>1D</sub>.

A partir da análise do Gráfico 3, que mostra a resposta contráctil da artéria mamária interna humana ao sumatriptano na ausência e na presença de MDMA (400 $\mu$ M, 800 $\mu$ M e 1600 $\mu$ M) verifica-se que a resposta contráctil ao sumatriptano na ausência de MDMA (controlo) é dependente da concentração, ou seja, à medida que se aumenta a concentração de sumatriptano aumenta também a contração na artéria, o que vem, também, confirmar a presença deste subtipo de recetores nesta artéria.

Na presença de MDMA observa-se uma redução na resposta contráctil na artéria mamária interna humana para todas as concentrações (400 $\mu$ M, 800 $\mu$ M e 1600 $\mu$ M) com um desvio das curvas para a direita e redução do efeito máximo. À medida que se aumenta a concentração de MDMA diminui a resposta contráctil na artéria mamária interna humana ao sumatriptano. Através da tabela 3, verifica-se que há uma redução do efeito máximo ( $E_{m\acute{a}x}$ ) em relação ao controlo para todas as concentrações, sendo essa redução de cerca de 23% para 400 $\mu$ M, de 59,06% para 800 $\mu$ M e de 76,67% para 1600 $\mu$ M.

Esta redução significativa da contração dependente da concentração de MDMA utilizada na artéria mamária interna humana ocorre devido à ligação da MDMA ao subtipo de recetores 5-HT<sub>1B/1D</sub>, o que faz com que o sumatriptano não consiga exercer o seu efeito neste subtipo de recetores levando, então, à diminuição da contração.

Assim sendo, a MDMA diminui a resposta contráctil ao sumatriptano, comportando-se como um agonista parcial, através do envolvimento do subtipo de recetores 5-HT<sub>1B/1D</sub>.

Uma vez que tanto a MDMA como o sumatriptano atuam como agonistas parciais, a redução significativa na contração que ocorre na presença de MDMA mostra que esta possui uma menor potência neste subtipo de recetores levando, assim, a uma diminuição da resposta contráctil.

Através do Gráfico 4, que mostra a contração máxima da artéria mamária interna humana ao sumatriptano na ausência e na presença de MDMA (400 $\mu$ M, 800 $\mu$ M e 1600 $\mu$ M), verifica-se que a contração máxima diminui significativamente na presença de MDMA, sendo de cerca de 77,04% para 400 $\mu$ M, de 40,49% para 800 $\mu$ M e de 27,33% para 1600 $\mu$ M.

A análise destes resultados confirma que a MDMA atua, também, no subtipo de recetores 5-HT<sub>I</sub>, em particular o subtipo 5-HT<sub>1B/1D</sub>, o que, também, vem confirmar a presença deste subtipo de recetores na artéria mamária interna humana.

Assim sendo, podemos concluir através deste estudo, que a MDMA também atua no subtipo de recetores 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub> e/ou 5-HT<sub>1D</sub>, uma vez que a utilização de agonistas parciais destes subtipos de recetores (5-CT e sumatriptano) na presença de diferentes concentrações de MDMA resulta numa diminuição da resposta contráctil quando comparada à resposta contráctil na ausência de MDMA (controlo), levando a um desvio das curvas para a direita com diminuição do efeito máximo ( $E_{máx}$ ).

É necessário ter em conta que todos estes estudos foram realizados em artérias provenientes de cirurgias de revascularização coronária em doentes que podem sofrer de várias patologias como diabetes, hipertensão arterial, entre outras, o que pode ter influência nos resultados obtidos.

A MDMA é uma substância cada vez mais consumida em ambientes recreativos devido aos seus efeitos rápidos de bem-estar geral, euforia e empatia com os outros. No entanto, são inúmeros os efeitos adversos a curto e a longo prazo provocados pelo ecstasy no organismo humano, provavelmente devido ao facto de a MDMA possuir afinidade para vários tipos e subtipos de recetores.

Em particular no sistema cardiovascular, a MDMA produz efeitos graves como taquicardia, vasoconstrição, hipertensão, enfarte agudo do miocárdio, cardiomiopatias irreversíveis entre outros (Ghuran, 2000; Mas, 1999). O consumo continuado de MDMA tem, também, vindo a ser associado a colapso cardiovascular e morte súbita (Milroy, 1996).

O efeito da MDMA a nível cardiovascular pode ser indireto, atuando através do transportador da serotonina (SERT) ou pode, ainda, ser direto, atuando nas células cardíacas e vasculares (Capela et al., 2009).

Uma vez que a MDMA é um agonista parcial não seletivo, que atua em diferentes recetores de serotonina, é essencial perceber detalhadamente, quais os subtipos específicos em que a droga atua de maneira a poder atenuar os seus efeitos adversos, ou até mesmo, tentar encontrar tratamento para os danos irreversíveis que a MDMA provoca.

Para isso, estudos posteriores serão necessários, em particular através da utilização de agonistas específicos de outros subtipos de recetores, com o objetivo de verificar o papel de cada um destes subtipos em particular na contração vascular.

## **7- Conclusões**



## 7. CONCLUSÕES

A partir da análise dos resultados obtidos neste estudo e tendo em conta os objetivos definidos verifica-se que a 5-carboxamidatriptamina induz contração dependente da dose na artéria mamária interna humana. A resposta contráctil à 5-carboxamidatriptamina na presença de diferentes concentrações de MDMA é significativamente menor à resposta contráctil à 5-carboxamidatriptamina na ausência de MDMA (controlo), sendo que a contração máxima ( $E_{m\acute{a}x}$ ) para a concentração de  $400\mu\text{M}$  foi de  $37,78\pm 8,68\%$ , para  $800\mu\text{M}$  foi de  $6,61\pm 5,38\%$  e para  $1600\mu\text{M}$  foi de  $7,56\pm 4,86\%$ . Uma vez que a 5-carboxamidatriptamina é um agonista parcial do subtipo de recetores  $5\text{-HT}_{1A}$ ,  $5\text{-HT}_{1B}$  e  $5\text{-HT}_{1D}$  isto mostra que a MDMA atua neste subtipo de recetores, ligando-se aos mesmos e provocando uma redução na contração vascular.

Em relação ao sumatriptano, um agonista parcial do subtipo de recetores  $5\text{-HT}_{1B/1D}$  pode-se concluir que este também provoca contração dependente da dose na artéria mamária interna humana. A resposta contráctil ao sumatriptano na presença de diferentes concentrações de MDMA é significativamente inferior à resposta contráctil do sumatriptano sozinho (controlo) na artéria mamária interna humana. Na presença de  $400\mu\text{M}$  de MDMA a contração máxima ( $E_{m\acute{a}x}$ ) da artéria foi de  $77,04\pm 14,68\%$ , para a concentração de  $800\mu\text{M}$  a contração máxima ( $E_{m\acute{a}x}$ ) foi de  $40,94\pm 9,36\%$  e para  $1600\mu\text{M}$  foi de  $27,33\pm 12,41\%$ . O facto de o sumatriptano ser um agonista parcial do subtipo de recetores  $5\text{-HT}_{1B/1D}$  e o facto de na presença de MDMA a contração da artéria mamária interna humana ser menor que na presença de sumatriptano sozinho (controlo) mostra que a MDMA atua neste subtipo de recetores ligando-se a estes e fazendo com que haja uma redução na contração vascular.

Assim sendo, pode-se concluir através deste estudo que a MDMA além de se comportar como um agonista parcial dos recetores  $5\text{-HT}_2$  também atua nos subtipos de recetores  $5\text{-HT}_{1A}$ ,  $5\text{-HT}_{1B}$  e/ou  $5\text{-HT}_{1D}$ .



## **8- Bibliografia**



## 8. BIBLIOGRAFIA

AMBERG, G. C.; NAVEDO, M. F. - Calcium Dynamics in Vascular Smooth Muscle. *Microcirculation*, 2013, 20:281–289.

AZMITIA, E. C.; MURPHY, R. B.; WHITAKER-AZMITIA, P. M. - MDMA (ecstasy) effects on cultured serotonergic neurons: evidence for Ca<sup>2+</sup>(+)-dependent toxicity linked to release. *Brain research*, 1990, 510:97–103.

BADON, L. A.; HICKS, A.; LORD, K.; OGDEN, B. A.; MELEG-SMITH, S.; VARNER, K. J. - Changes in cardiovascular responsiveness and cardiotoxicity elicited during binge administration of Ecstasy. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2002, 302:898–907.

BAKER, L. E.; TAYLOR, M. M. - Assessment of the MDA and MDMA optical isomers in a stimulant-hallucinogen discrimination. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 1997, 57:737–748.

BASSIL, A.; TAYLOR, C.; BOLTON, V.; GRAY, K.; BROWN, J.; CUTLER, L.; SUMMERFIELD, S.; BRUTON, G.; *et al.* - Inhibition of colonic motility and defecation by RS-127445 suggests an involvement of the 5-HT<sub>2B</sub> receptor in rodent large bowel physiology. *British Journal of Pharmacology*, 2009, 158:252–258.

BERGER, U. V.; GU, X. F.; AZMITIA, E. C. - The substituted amphetamines 3,4-methylenedioxymethamphetamine, methamphetamine, p-chloroamphetamine and fenfluramine induce 5-hydroxytryptamine release via a common mechanism blocked by fluoxetine and cocaine. *European Journal of Pharmacology*, 1992, 215:153–160.

BOER, J. A. DEN; BOSKER, F. J.; SLAAP, B. R. - Serotonergic drugs in the treatment of depressive and anxiety disorders. *Hum Psychopharmacol*, 2000, 15:315–336.

BUBAR, M. J.; CUNNINGHAM, K. A. - Serotonin 5-HT<sub>2A</sub> and 5-HT<sub>2C</sub> receptors as potential targets for modulation of psychostimulant use and dependence. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 2006, 6:1971–1985.

CAPELA, J. P.; CARMO, H.; REMIÃO, F.; BASTOS, M. L.; MEISEL, A.; CARVALHO, F. - Molecular and cellular mechanisms of ecstasy-induced neurotoxicity: An overview. *Molecular Neurobiology*, 2009, 39:210–271.

CAPELA, J. P.; MACEDO, C.; BRANCO, P. S.; FERREIRA, L. M.; LOBO, A. M.; FERNANDES, E.; REMIÃO, F.; BASTOS, M. L. - Neurotoxicity mechanisms of thioether ecstasy metabolites. *Neuroscience*, 2007, 146:1743–1757.

CAPELA, J. P.; MEISEL, A.; ABREU, A. R.; BRANCO, P. S.; FERREIRA, L. M.; LOBO, A. M.; REMIÃO, F.; BASTOS, M. L.; CARVALHO, F. - Neurotoxicity of Ecstasy metabolites in rat cortical neurons, and influence of hyperthermia. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2006, 316:53–61.

CARVALHO, M.; HAWKSWORTH, G.; MILHAZES, N.; BORGES, F.; MONKS, T. J.; FERNANDES, E.; CARVALHO, F.; BASTOS, M. - Role of metabolites in MDMA (ecstasy)-induced nephrotoxicity: An in vitro study using rat and human renal proximal tubular cells. *Archives of Toxicology*, 2002, 76:581–588.

CARVALHO M.; REMIÃO F.; MILHAZES N.; BORGES F.; FERNANDES E.; MONTEIRO M. C.; GONÇALVES M. J.; SEABRA V.; AMADO F.; CARVALHO F.; BASTOS M. L. - Metabolism is required for the expression of ecstasy-induced cardiotoxicity in vitro. *Chemical Research in Toxicology*, 2004, 17:623–632.

CARVALHO, M.; REMIÃO, F.; MILHAZES, N.; BORGES, F.; FERNANDES, E.; CARVALHO, F.; BASTOS, M. L. - The toxicity of N-methyl- $\alpha$ -methyldopamine to freshly isolated rat hepatocytes is prevented by ascorbic acid and N-acetylcysteine. *Toxicology*, 2004, 200:193–203.

COLE, J. C. - MDMA and the «Ecstasy Paradigm». *Journal of Psychoactive Drugs*, 2014, 46:44–56.

COLE, J. C.; SUMNALL, H. R. - Altered states: The clinical effects of Ecstasy. *Pharmacology and Therapeutics*, 2003, 98:35–58.

CONTI, A.; MONOPOLI, A.; FORLANI, A.; ONGINI, E.; ANTONA, C.; & BIGLIOLI, R. - Role of 5-HT<sub>2A</sub> receptors in serotonin-induced contractions in the human mammary artery. *Eur J Pharmacol*, 1990, 176:207-212.

DE LA TORRE, R.; FARRÉ, M.; NAVARRO M.; PACIFICI R.; ZUCCARO P.; PICHINI S. - Clinical pharmacokinetics of amphetamine and related substances monitoring in conventional and non-conventional matrices. *Clin Pharmacokinet*, 2004, 43:157–185.

DUBIN, A. E.; HUVAR, R.; ANDREA, M. R. D.; PYATI, J.; ZHU, J. Y.; JOY, K. C.; WILSON, S. J.; GALINDO, J. E. - The Pharmacological and Functional Characteristics of the Serotonin 5-HT<sub>3A</sub> Receptor Are Specifically Modified by a 5-HT<sub>3B</sub> Receptor Subunit. *Journal of Biological Chemistry*, 1999, 274:30799–30810.

EDVINSSON, L.; UDDMAN, E.; WACKENFORS, A.; DAVENPORT, A.; LONGMORE, J.; MALMSJÖ, M. - Triptan-induced contractile (5-HT<sub>1B</sub> receptor) responses in human cerebral and coronary arteries: relationship to clinical effect. *Clinical science (London, England : 1979)*, 2005, 109: 335–342.

FANTEGROSSI, W. E.; WOOLVERTON, W. L.; KILBOURN, M.; SHERMAN, P.; YUAN, J.; HATZIDIMITRIOU, G.; RICAURTE, G. A; WOODS, J. H.; WINGER, G. - Behavioral and neurochemical consequences of long-term intravenous self-administration of MDMA and its enantiomers by rhesus monkeys. *American College of Neuropsychopharmacology*, 2004, 29:1270–1281.

FLECKENSTEIN, A. E.; HANSON, G. R. - Impact of psychostimulants on vesicular monoamine transporter function. *European Journal of Pharmacology*, 2003, 479:283–289.

FREUDENMANN, R. W.; ÖXLER, F.; BERNSCHNEIDER-REIF, S. - The origin of MDMA (ecstasy) revisited: The true story reconstructed from the original documents. *Addiction*, 2006 101:1241–1245.

NICHOLS, D. E.; NICHOLS, C. D. Serotonin receptors. *Chemical Reviews*, 2008, 108: 1614-1641.

GERRA, G.; ZAIMOVIC, A.; FERRI, M.; ZAMBELLI, U.; TIMPANO, M.; NERI, E.; MARZOCCHI, G. F.; DELSIGNORE, R.; BRAMBILLA, F. - Long-lasting effects of (±)3,4-methylene-dioxymethamphetamine (Ecstasy) on serotonin system function in humans. *Biological Psychiatry*, 2000, 47:127–136.

GHURAN, A; NOLAN, J. - Recreational drug misuse: issues for the cardiologist. *Heart (British Cardiac Society)*, 2000, 83:627–633.

GLENNON, R. A.; YOUNG, R. - MDMA stimulus generalization to the 5-HT(1A) serotonin agonist 8-hydroxy-2- (di-n-propylamino)tetralin. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 2000, 66:483–488.

GREEN, A R.; GREEN, A R.; CROSS, A J.; CROSS, A J.; GOODWIN, G. M.; GOODWIN, G. M. - Review of the pharmacology and clinical pharmacology of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA or «Ecstasy»). *Psychopharmacology*, 1995, 119:247–60.

GREEN, A R.; MECHAN, A. O.; ELLIOTT, J. M.; SHEA, E. O.; COLADO, M. I. - The Pharmacology and Clinical Pharmacology of 3 , 4- Methylenedioxymethamphetamine ( MDMA , « Ecstasy »). *Pharmacologic Reviews*, 2003, 55:463–508.

GREER, G., & STRASSMAN, R. - Information on "Ecstasy". *The American Journal of Psychiatry*, 1985, 142:1391.

GOODWIN, G. M.; EMSLEY, R.; REMBRY, S.; & ROUILLON, F. - Agomelatine prevents relapse in patients with major depressive disorder without evidence of a discontinuation syndrome: a 24-week randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *The Journal of Clinical Psychiatry*, 2009, 70:1128-1137.

GUSCOTT, M.; BRISTOW, L. J.; HADINGHAM, K.; ROSAHL, T. W.; BEER, M. S.; STANTON, J. A.; BROMIDGE, F.; OWENS, A. P.; *et al.* - Genetic knockout and pharmacological blockade studies of the 5-HT 7 receptor suggest therapeutic potential in depression. *Neuropharmacology*, 2005, 48:492–502.

HE, G. W.; YANG, C. Q.; STARR, A. - Overview of the nature of vasoconstriction in arterial grafts for coronary operations. *The Annals of Thoracic Surgery*, 1995, 59:676–683.

HEDLUND, P. B.; SUTCLIFFE, J. G. - Functional, molecular and pharmacological advances in 5-HT 7 receptor research. *Trends in Pharmacological Sciences*, 2004, 25:481–486.

HIRAMATSU, M.; KUMAGAI, Y.; UNGER, S. E.; CHO, A. K. - Metabolism of methylenedioxyamphetamine: formation of dihydroxyamphetamine and a quinone identified as its glutathione adduct. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1990, 254:521–527.

HOYER, D.; HANNON, J. P.; MARTIN, G. R. - Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 2002, 71:533–554.

HUETHER, G.; ZHOU, D.; RÜTHER, E. - Causes and consequences of the loss of serotonergic presynapses elicited by the consumption of 3,4-methylenedioxyamphetamine (MDMA, «ecstasy») and its congeners. *Journal of Neural Transmission (Vienna, Austria : 1996)*, 1997, 104:771–794.

IRAVANI, M. M.; ASARI, D.; PATEL, J.; WIECZOREK, W. J.; KRUK, Z. L. - Direct effects of 3,4-methylenedioxyamphetamine (MDMA) on serotonin or dopamine re-lease and uptake in the caudate putamen, nucleus accumbens, substantia nigra pars reticulata, and the dorsal raphe nucleus slices. *Synapse*, 2000, 36:275-85.

JØRGENSEN, H.; KJAER, A.; WARBERG, J.; KNIGGE, U. - Differential effect of serotonin 5-HT<sub>1A</sub> receptor antagonists on the secretion of corticotropin and prolactin. *Neuroendocrinology*, 2001, 73:322–333.

KALANT, H. - The pharmacology and toxicology of «ecstasy» (MDMA) and related drugs. *Cmaj*, 2001, 165:917–928.

KAR, L. D. VAN DE; JAVED, A.; ZHANG, Y.; SERRES, F.; RAAP, D. K.; GRAY, T. S. - 5-HT<sub>2A</sub> receptors stimulate ACTH, corticosterone, oxytocin, renin, and prolactin release and activate hypothalamic CRF and oxytocin-expressing cells. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 2001, 21:3572–3579.

KARCH, S. B. - Mescaline analogs (“designer drugs”). In: *The Pathology of Drug Abuse*, 1986, 103:202-18.

KAUMANN, A. J.; & BROWN, A. M. - Allosteric modulation of arterial 5-HT<sub>2</sub> receptors. *Cardiovascular Pharmacology of 5- hydroxytryptamine*, 1990, 335:127-142.

KAUMANN, A. J.; & SANDERS, L. - Both  $\beta_1$  - and  $\beta_2$  -adrenoceptors mediate catecholamine-evoked arrhythmias in isolated human atrium. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 1993, 349:331-337.

KAUMANN, A. J.; SANDERS, L. - 5-hydroxytryptamine and Human Heart Function : The Role of 5-HT<sub>4</sub> Receptors. *5-HT<sub>4</sub> Receptors in the Brain and Periphery*, 1998, 127-148.

KRETH, K. P.; KOVAR, K. A.; SCHWAB, M.; ZANGER, U. M. - Identification of the Human Cytochromes P450 Involved in the Oxidative Metabolism of «Ecstasy» - Related Designer Drugs. *Biochem.Pharmacol*, 2000, 59:1563–1571.

LA TORRE R, DE; FARRÉ, M.; ROSET, P. N.; LOPEZ, C. H.; MAS, M.; ORTUÑO, J.; MENOYO, E.; PIZARRO, N. - Pharmacology of MDMA in humans. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2000, 914:225–237.

LA TORRE, R. DE; FARRÉ, M.; ORTUÑO, J.; MAS, M.; BRENNEISEN, R.; ROSET, P. N.; SEGURA, J.; CAMI, J. - Non-linear pharmacokinetics of MDMA ('ecstasy') in humans. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 2000, 49:104–109.

LA TORRE, R. DE; FARRÉ, M.; ROSET, P. N.; PIZARRO, N.; ABANADES, S.; SEGURA, M.; SEGURA, J.; CAMÍ, J. - Human pharmacology of MDMA: pharmacokinetics, metabolism, and disposition. *Therapeutic drug monitoring*, 2004, 26:137–144.

LAMIRAULT, L.; SIMON, H. - Enhancement of place and object recognition memory in young adult and old rats by RS 67333, a partial agonist of 5-HT<sub>4</sub> receptors. *Neuropharmacology*, 2001, 41:844–853.

LERMAN, A.; ZEIHNER, A. M. - Endothelial function: Cardiac events. *Circulation*, 2005, 111:363–368.

LIEBEN, C. K. J.; BLOKLAND, A.; SIK, A.; SUNG, E.; NIEUWENHUIZEN, P. VAN; SCHREIBER, R. - The selective 5-HT<sub>6</sub> receptor antagonist Ro4368554 restores memory performance in cholinergic and serotonergic models of memory deficiency in the rat. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 2005, 30:2169–2179.

LIECHTI, M. E.; BAUMANN, C.; GAMMA, A.; VOLLENWEIDER, F. X. - Acute psychological effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, «Ecstasy») are attenuated by the serotonin uptake inhibitor citalopram. *Neuropsychopharmacology*, 2000, 22:513–521.

MAS, M.; FARRÉ, M.; LA TORRE, R. DE; ROSET, P. N.; ORTUÑO, J.; SEGURA, J.; CAMÍ, J. - Cardiovascular and neuroendocrine effects and pharmacokinetics of 3, 4-methylenedioxymethamphetamine in humans. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1999, 290:136–145.

MAURER, H. H.; BICKEBOELLER-FRIEDRICH, J.; KRAEMER, T.; PETERS, F. T. - Toxicokinetics and analytical toxicology of amphetamine-derived designer drugs ('Ecstasy'). *Toxicology Letters*, 2000, 112:133–142.

MCCANN, U., SLATE, S., & RICAURTE, G. - Adverse reactions with 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA; 'ecstasy'). *Drug Safety: an international journal of medical toxicology and drug experience*, 1996, 15:107–115.

MEYER, M. R.; PETERS, F. T.; MAURER, H. H. - The Role of Human Hepatic Cytochrome P450 Isozymes in the Metabolism of Racemic 3, 4-Methylenedioxy-Methamphetamine and Its Enantiomers ABSTRACT. *Pharmacology*, 2008, 36:2345–2354.

MIALET, J.; FISCHMEISTER, R.; LEZOUALC'H, F. - Characterization of human 5-HT<sub>4</sub>(d) receptor desensitization in CHO cells. *British Journal of Pharmacology*, 2003, 138:445–452.

MILROY, C. M.; CLARK, J. C.; FORREST, A R. - Pathology of deaths associated with «ecstasy» and «eve» misuse. *Journal of Clinical Pathology*, 1996, 49:149–153.

MONTGOMERY, T.; BUON, C.; EIBAUER, S.; GUIRY, P. J.; KEENAN, A K.; MCBEAN, G. J. - Comparative potencies of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) analogues as inhibitors of [3H]noradrenaline and [3H]5-HT transport in mammalian cell lines. *British Journal of Pharmacology*, 2007, 152:1121–1130.

NADAL-VICENS, M.; CHYUNG, J. H.; TURNER, T. J. - Farmacologia da Neurotransmissão Serotoninérgica e Adrenérgica Central. *Princípios de Farmacologia - A Base Fisiopatológica da Farmacoterapia*, 2009, 922:186-202.

NEBIGIL, C. G.; CHOI, D. S.; DIERICH, A; HICKEL, P.; MEUR, M. LE; MESSADDEQ, N.; LAUNAY, J. M.; MAROTEAUX, L. - Serotonin 2B receptor is required for heart development. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2000, 97:9508–9513.

NELSON, D. L. - 5-HT<sub>5</sub> receptors. *Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders*, 2004, 3:53-58.

O'SHEA, E.; ORIO, L.; ESCOBEDO, I.; SANCHEZ, V.; CAMARERO, J.; GREEN, A. R.; COLADO, M. I. - MDMA-induced neurotoxicity: long-term effects on 5-HT biosynthesis and the influence of ambient temperature. *British Journal of Pharmacology*, 2006, 148:778–785.

OLIVIER, B.; OORSCHOT, R. VAN - 5-HT<sub>1B</sub> receptors and aggression: A review. *European Journal of Pharmacology*, 2005, 526:207–217.

PARROTT, A. C. - MDMA in humans: factors which affect the neuropsychobiological profiles of recreational ecstasy users, the integrative role of bioenergetic stress. *Journal of Psychopharmacology (Oxford, England)*, 2006, 20:147–163.

PATEL, M. M.; BELSON, M. G.; WRIGHT, D.; LU, H.; HENINGER, M.; MILLER, M. A. - Methylenedioxymethamphetamine (ecstasy)-related myocardial hypertrophy: An autopsy study. *Resuscitation*, 2005, 66:197–202.

PERRINE, S. A.; MICHAELS, M. S.; GHODDOUSSI, F.; HYDE, E. M.; TANCER, M. E.; GALLOWAY, M. P. - Cardiac effects of MDMA on the metabolic profile determined with 1H-magnetic resonance spectroscopy in the rat. *NMR in Biomedicine*, 2009, 22:419–425.

PRAUSE, A. S.; STOFFEL, M. H.; PORTIER, C. J.; & MEVISSSEN, M. - Expression and function of 5-HT<sub>7</sub> receptors in smooth muscle preparations from equine duodenum, ileum, and pelvic flexure. *Research in Veterinary Science*, 2009, 87:292-299.

PRZEGALIŃSKI, E.; GOŁDA, A.; FRANKOWSKA, M.; ZANIEWSKA, M.; FILIP, M. - Effects of serotonin 5-HT<sub>1B</sub> receptor ligands on the cocaine- and food-maintained self-administration in rats. *European Journal of Pharmacology*, 2007, 559:165–172.

PYTLIAK, M.; VARGOVÁ, V.; MECHÍROVÁ, V.; FELŠÖCI, M. - Serotonin receptors - from molecular biology to clinical applications. *Physiological research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca*, 2011, 60:15–25.

RAMÍREZ, M. J. - 5-HT<sub>6</sub> receptors and Alzheimer's disease. *Alzheimer's Research & Therapy*, 2013, 5.2:15.

REYNOLDS, G. P.; MASON, S. L.; MELDRUM, A.; KECZER, S. De; PARNES, H.; EGLIN, M.; WONG, E. H. F. - Human Brain Tissue : Distribution , Pharmacology and Effects of Neurodegenerative Diseases. *Br J Pharmacol*, 1995, 114:993–998.

RIEMER, C.; BORRONI, E.; LEVET-TRAFIT, B.; MARTIN, J. R.; POLI, S.; PORTER, R. H. P.; BÖS, M. - Influence of the 5-HT<sub>6</sub> receptor on acetylcholine release in the cortex: Pharmacological characterization of 4-(2-bromo-6-pyrrolidin-1-ylpyridine-4-sulfonyl)phenylamine, a potent and selective 5-HT<sub>6</sub> receptor antagonist. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2003, 46:1273–1276.

ROGERS, G.; ELSTON, J.; GARSIDE, R.; ROOME, C.; TAYLOR, R.; YOUNGER, P.; ZAWADA, A.; SOMERVILLE, M.; et al. - The harmful health effects of recreational ecstasy The harmful health effects of recreational ecstasy : a systematic review of observational evidence. *Health Technology Assessment*, 2009, 13:6.

ROPERO-MILLER, J. D.; & GOLDBERGER, B. A. - Recreational drugs. Current trends in the 90s. *Clinics in Laboratory Medicine*, 1998, 18:727-46.

SAXENA, P. R.; & VILLALÓ, C. M. - Cardiovascular effects of serotonin agonists and antagonists. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 1990, 15:S17-S34.

SCHINDLER, C. W.; THORNDIKE, E. B.; BLOUGH, B. E.; TELLA, S. R.; GOLDBERG, S. R.; BAUMANN, M. H. - Effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) and its main metabolites on cardiovascular function in conscious rats. *British Journal of Pharmacology*, 2004, 171:83–91.

SCHMIDT, C. J.; LEVIN, J. A.; LOVENBERG, W. - In vitro and in vivo neurochemical effects of methylenedioxymethamphetamine on striatal monoaminergic systems in the rat brain. *Biochemical Pharmacology*, 1987, 36:747–755.

SCHOEFFTER, P.; ULLMER, C.; BOBIRNAC, I.; GABBIANI, G.; LÜBBERT, H. - Functional, endogenously expressed 5-hydroxytryptamine 5-HT<sub>7</sub> receptors in human vascular smooth muscle cells. *British Journal of Pharmacology*, 1996, 117:993–994.

SEGURA, M.; ORTUÑO, J.; FARRÉ, M.; MCLURE, J. A.; PUJADAS, M.; PIZARRO, N.; LLEBARIA, A.; JOGLAR, J.; ROSET, P. N.; SEGURA, J.; DE LA TORRE, R. - 3,4-Dihydroxymethamphetamine (HHMA). A major in vivo 3,4-

methylenedioxyamphetamine (MDMA) metabolite in humans. *Chemical Research in Toxicology*, 2001, 14:1203–1208.

SHULGIN, A T. - The background and chemistry of MDMA. *Journal of Psychoactive Drugs*, 2012, 18:291–304.

SILVA S.; CARVALHO F.; FERNANDES E.; ANTUNES M.J.; COTRIM M.D. - “Effects of 3, 4-methylenedioxyamphetamine on the human mammary artery in the presence of fluoxetine and on the 5-HT concentration-response curve in human mammary artery and rat aorta”.

TANAKA, N.; NAKAMURA, E.; OHKURA, M.; KUWABARA, M.; YAMASHITA, A.; ONITSUKA, T.; ASADA, Y.; HISA, H.; YAMAMOTO, R. - 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. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 2008, 35:836–840.

TONINI, M.; PACE, F. - Drugs acting on serotonin receptors for the treatment of functional GI disorders. *Digestive Diseases*, 2006, 24: 59–69.

Abstracts of the 45th Congress of the European Societies of Toxicology. *Toxicology Letters*, Volume 180, Supplement 1, 5 Oct. 2008, Pages S157-S158 .

TSUNEYOSHI, I. - Vascular reactivity in human arteries: From experimental study to clinical application. *Journal of Anesthesia.*, 2012, 26:147–151.

TUNNICLIFF, G. - Molecular basis of buspirone’s anxiolytic action. *Pharmacology & Toxicology*, 1991, 69:149–156.

VANHOUTTE, P. M. - Platelet-derived serotonin, the endothelium, and cardiovascular disease. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 1991, 17:S13.

VARGHESE, A.; HONG, Z.; WEIR, E. K. - Serotonin-induced inhibition of KV current: A supporting role in pulmonary vasoconstriction? *Circulation Research*, 2006, 98:860–862.

VERHEYDEN, S. L.; HENRY, J. A.; CURRAN, H. V. - Acute, sub-acute and long-term subjective consequences of «ecstasy» (MDMA) consumption in 430 regular users. *Human Psychopharmacology*, 2003, 18:507–517.

VILLALÓN, C. M.; VRIES, P. DE; RABELO, G.; CENTURIÓN, D.; SÁNCHEZ-LÓPEZ, A; SAXENA, P. - Canine external carotid vasoconstriction to methysergide, ergotamine and dihydroergotamine: role of 5-HT<sub>1B</sub>/1D receptors and alpha<sub>2</sub>-adrenoceptors. *British Journal of Pharmacology*, 1999, 126:585–594.

WACKENFORS, A.; JARVIUS, M.; INGEMANSSON, R.; EDVINSSON, L.; MALMSJÖ, M. - Triptans induce vasoconstriction of human arteries and veins from the thoracic wall. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 2005, 45:476–484.

WEBB, R. C. - Smooth muscle contraction and relaxation. *Advances in Physiology Education*, 2003, 27: 201–206.

WHALEN K.; FINKEL R.; PANAVELIL T. A. (2014). Lippincott Illustrated Reviews, Pharmacology. Ed.6. Wolters Kluwer, Florida.

WOLFF, M.; BENHASSINE, N.; COSTET, P.; HEN, R.; SEGU, L.; BUHOT, M.-C. - Delay-Dependent Working Memory Impairment in Young-Adult and Aged 5-HT1BKO Mice as Assessed in a Radial-Arm Water Maze. *Learning & Memory*, 2003, 10:401–409.

WU, D.; OTTON, S. V.; INABA, T.; KALOW, W.; SELLERS, E. M. - Interactions of amphetamine analogs with human liver CYP2D6. *Biochem Pharmacol*, 1997, 53:1605-12

XAVIER, C. A. C.; LOBO, P. L. D.; FONTELES, M. M. D. F.; VASCONCELOS, S. M. M. DE; VIANA, G. S. D. B.; SOUSA, F. C. F. DE - Êxtase (MDMA): Efeitos farmacológicos e tóxicos, mecanismo de ação e abordagem clínica. *Revista de Psiquiatria Clínica*, 2008, 35:96–103.

YAMADA, J.; SUGIMOTO, Y.; NOMA, T.; YOSHIKAWA, T. - Effects of the non-selective 5-HT receptor agonist, 5-carboxamidotryptamine, on plasma glucose levels in rats. *European Journal of Pharmacology*, 1998, 359:81–86.

YAMAMOTO, B. K.; MOSZCZYNSKA, A.; GUDELSKY, G. A. - Amphetamine toxicities: Classical and emerging mechanisms. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2010, 1187:101–121.

YILDIZ, O.; ÇIÇEK, S.; AY, I.; DEMIRKILIÇ, U.; TUNCER, M. - Hypertension increases the contractions to sumatriptan in the human internal mammary artery. *Annals of Thoracic Surgery*, 1996, 62:1392–1395.







