

# Índice

<b>Índice de Quadros e Tabelas</b>	<b>VII</b>
<b>Índice de Figuras</b>	<b>IX</b>
<b>Abreviaturas</b>	<b>XIII</b>
<b>Resumo</b>	<b>XIX</b>
<b>Abstract</b>	<b>XXIII</b>
<b>Capítulo 1</b>	
<b>Fisiopatologia da enxaqueca e sua terapêutica farmacológica</b>	<b>1</b>
1. Introdução geral	1
1.1. Perspectiva histórica da fisiopatologia da enxaqueca e sua terapêutica	1
1.2. Classificação e critérios de diagnóstico da enxaqueca	3
1.3. Epidemiologia da enxaqueca	7
1.4. Fisiopatologia da enxaqueca	9
1.4.1. Predisposição genética	10
1.4.2. A teoria vascular da enxaqueca	11
1.4.3. A inervação dos vasos sanguíneos intracranianos	11
1.4.4. O sistema trigémino-vascular e a inflamação neurogênica	12
1.4.5. A serotonina na fisiopatologia da enxaqueca	14
1.4.6. O NO na fisiopatologia da enxaqueca	14
1.4.7. Alterações hemodinâmicas cerebrais e a aura da enxaqueca	15
1.4.8. Depressão cortical alastrante e a aura da enxaqueca	16
1.4.9. Evidências para um mecanismo central na enxaqueca	17
1.4.10. Os receptores da 5-HT e a enxaqueca	20
1.4.10.1. Os receptores 5-HT <sub>1</sub>	20
1.4.10.2. Outros receptores da 5-HT e a enxaqueca	22

1.5. O tratamento agudo da enxaqueca	24
1.5.1. Os analgésicos e os AINE	25
1.5.2. Os ergotamínicos	26
1.5.3. Os triptanos	27
1.5.3.1. Efeitos adversos dos triptanos	30
1.5.3.1.1. Os sintomas no peito (“triptan sensations”)	34
1.6. Tendências futuras da farmacoterapia da enxaqueca	35

## **Capítulo 2**

### **Avaliação da frequência de sinais e sintomas associados aos efeitos adversos dos triptanos, tal como percebidos por doentes com enxaqueca**

**39**

1. Introdução e Objectivos	39
1.1. Inquérito para avaliação da frequência de sinais e sintomas associados aos efeitos adversos dos triptanos, tal como percebidos por doentes com enxaqueca	39
1.2. Fiabilidade e validade do inquérito	41
2. Material e Métodos	44
2.1. Inquérito para avaliação da frequência de sinais e sintomas de efeitos adversos dos triptanos, tal como percebidos por doentes com enxaqueca	44
2.2. Análise estatística dos resultados	45
3. Resultados	46
3.1. Características da coorte de estudo	46
3.1.1. Características sócio-demográficas	46
3.1.2. Características das crises de enxaqueca	47
3.1.3. Terapêutica farmacológica e factores de comorbilidade	49
3.2. Características sócio-demográficas, clínicas e terapêuticas do grupo dos doentes com enxaqueca que utilizou triptanos	52

3.3. Efeitos adversos dos triptanos tal como percebidos pelos doentes da coorte de estudo	56
3.4. Exploração das diferenças estatísticas entre o grupo dos doentes com enxaqueca que tomou triptanos e o que não tomou triptanos	58
3.5. Exploração de relações de dependência das variáveis que definem características demográficas, clínicas e terapêuticas na coorte de estudo que utilizou triptanos e a ocorrência de sinais e sintomas de efeitos adversos	61
3.5.1. Influência das características demográficas, clínicas e terapêuticas da coorte de estudo que utilizou triptanos na ocorrência de efeitos adversos por sistema biológico	63
4. Discussão	66
4.1. Características sócio-demográficas, clínicas e terapêuticas dos doentes com enxaqueca	66
4.2. A tolerabilidade dos triptanos tal como percebida pelos doentes com enxaqueca	69

### **Capítulo 3**

#### **Efeitos contrácteis dos triptanos em vasos sanguíneos humanos**

1. Introdução e Objectivos	73
2. Material e Métodos	78
2.1. Caracterização dos indivíduos a partir dos quais foi obtido o material biológico utilizado	78
2.2. Preparação dos tecidos	79
2.3. Protocolo experimental – estudos funcionais	80
2.4. Validação da funcionalidade do material biológico <i>post-mortem</i> utilizado	81

2.5. Avaliação da funcionalidade dos subtipos de receptor 5-HT <sub>1</sub> ao longo do tempo, após isolamento do tecido	82
2.6. Análise estatística dos resultados dos estudos funcionais	83
2.7. Fármacos utilizados nos estudos funcionais	84
2.8. Protocolo experimental – Detecção de proteínas por <i>Western blot</i>	84
2.9. Análise estatística dos resultados da técnica de <i>Western blot</i>	86
2.10. Materiais e reagentes usados na técnica de <i>Western blot</i>	87
2.11. Protocolo experimental – Técnica de histologia e imunohistoquímica	87
2.11.1. Micro-anatomia dos vasos sanguíneos em estudo	87
2.11.2. Localização celular dos receptores dos subtipos 5-HT <sub>1B</sub> e 5-HT <sub>1D</sub> nos três vasos sanguíneos em estudo	89
2.12. Materiais e reagentes usados nos estudos histológicos e imunohistoquímicos	90
3. Resultados	91
3.1. Respostas contrácteis à 5-HT, sumatriptano, zolmitriptano e naratriptano da	91
3.1.1. Artéria basilar humana	91
3.1.2. Artéria cerebral média humana	92
3.1.3. Artéria uterina humana	93
3.2. Validação da funcionalidade do material biológico <i>post-mortem</i> utilizado	96
3.3. Acções do cianopindolol, BRL 15572 e cetanserina nas respostas contrácteis da artéria basilar humana à 5-HT e aos triptanos	99
3.4. Acções do cianopindolol, BRL 15572 e cetanserina na resposta contráctil da artéria cerebral média humana ao sumatriptano	103
3.5. Acções do cianopindolol e do BRL 15572 na resposta contráctil da artéria uterina humana ao sumatriptano	106

3.6. Acção do SB 224289 na curva concentração-resposta do sumatriptano nas artérias basilar, cerebral média e uterina humanas	109
3.7. Acções da cetanserina na curva concentração-resposta da 5-HT nas artérias basilar, cerebral média e uterina humanas	112
3.8. Avaliação da resposta contráctil ao sumatriptano, nas três artérias estudadas, ao longo do período pós-colheita	114
3.9. Avaliação da funcionalidade dos receptores do subtipo 5-HT <sub>1B</sub> envolvidos na resposta contráctil aos triptanos nos vasos sanguíneos humanos utilizados	117
3.10. Imunodeteccção dos subtipos de receptores 5-HT <sub>1B</sub> e 5-HT <sub>1D</sub> nas artérias basilar, cerebral média e uterina humanas pela técnica de <i>western blot</i>	120
3.11. Estudos histológicos e imunohistoquímicos das artérias basilar, cerebral média e uterina humanas	122
3.11.1. Micro-anatomia dos vasos sanguíneos em estudo	124
3.11.2. Localização celular dos receptores dos subtipos 5-HT <sub>1B</sub> e 5-HT <sub>1D</sub> nos três vasos sanguíneos em estudo	132
4. Discussão	139
4.1. Efeitos contrácteis dos triptanos na artéria basilar, cerebral média e uterina humanas	139
4.2. Caracterização farmacológica do subtipo de receptor 5-HT <sub>1</sub> envolvido no efeito contráctil dos triptanos em vasos sanguíneos humanos	143
4.2.1. Na artéria basilar humana	143
4.2.2. Na artéria cerebral media humana	148
4.2.3. Na artéria uterina humana	150
<b>Capítulo 4</b>	
<b>Conclusões gerais</b>	<b>159</b>

**Bibliografia**

**163**

**Anexo**

# Índice de Quadros e Tabelas

## Capítulo 1

<b>Quadro I</b>	Critérios de diagnóstico de enxaqueca sem aura (enxaqueca comum)	5
<b>Quadro II</b>	Critérios de diagnóstico de enxaqueca com aura típica (enxaqueca clássica)	6

## Capítulo 2

<b>Tabela 3.1</b>	Características sócio-demográficas dos 194 doentes classificados com enxaqueca	46
<b>Tabela 3.2</b>	Características das crises de enxaqueca na coorte de estudo	48
<b>Tabela 3.3</b>	Terapêutica farmacológica na coorte de estudo	50
<b>Tabela 3.4</b>	História familiar do primeiro grau de cefaleias e doença cardíaca coronária dos doentes com enxaqueca	51
<b>Tabela 3.5</b>	Factores de comorbilidade na coorte de estudo	51
<b>Tabela 3.6</b>	Características sócio-demográficas dos 76 doentes classificados com enxaqueca que tomaram triptanos	52
<b>Tabela 3.7</b>	Características das crises de enxaqueca dos 76 doentes que tomaram triptanos	53
<b>Tabela 3.8</b>	Terapêutica farmacológica dos 76 doentes com enxaqueca que tomaram triptanos	54
<b>Tabela 3.9</b>	História familiar do primeiro grau de cefaleias e doença cardíaca coronária dos doentes com enxaqueca que tomaram triptanos	55
<b>Tabela 3.10</b>	Factores de comorbilidade referidos por 62 doentes com enxaqueca que tomaram triptanos	55
<b>Tabela 3.11</b>	Efeitos adversos dos triptanos, tal como percebidos por 76 doentes com enxaqueca, por ordem crescente das respectivas frequências de ocorrência	57

## Capítulo 3

<b>Tabela 3.1</b>	Respostas contrácteis dos três vasos sanguíneos	
-------------------	---	--

	estudados à 5-HT, sumatriptano, zolmitriptano e naratriptano	95
<b>Tabela 3.2</b>	Respostas contrácteis da artéria uterina humana à 5-HT em condições <i>ex vivo</i> , com diferentes tempos de isolamento do órgão (0, 24 e 48 horas) e em condições <i>post-mortem</i>	98
<b>Tabela 3.3</b>	Valores de $E_{máx}$ e de $pCE_{50}$ de 2 curvas sucessivas concentração-resposta para a 5-HT e triptanos na artéria uterina humana em condições <i>ex vivo</i>	116
<b>Tabela 3.4</b>	Valores de $E_{máx}$ e de $pCE_{50}$ de 2 curvas sucessivas concentração-resposta do sumatriptano na artéria uterina humana em condições <i>ex vivo</i> , na presença e na ausência de cianopindolol	119
<b>Tabela I</b>	Respostas contrácteis dos três vasos sanguíneos estudados à 5-HT, sumatriptano, zolmitriptano e naratriptano	142
<b>Tabela II</b>	Afinidade dos triptanos para receptores da 5-HT	155



# Índice de Figuras

## Capítulo 2

<b>Figura 3.1</b>	A influência da idade na utilização de triptanos	58
<b>Figura 3.2</b>	A distribuição da idade, por faixas etárias, nos grupos de doentes com enxaqueca que utilizaram e não utilizaram triptanos	59
<b>Figura 3.3</b>	A influência do sexo na utilização de triptanos	59
<b>Figura 3.4</b>	A influência dos sintomas associados à crise de enxaqueca – náuseas ou vômitos – na utilização de triptanos	60
<b>Figura 3.5</b>	A influência da idade na ocorrência de sintomas no peito	61
<b>Figura 3.6</b>	A influência do sexo na ocorrência de sintomas no peito	62
<b>Figura 3.7</b>	A influência da história familiar de DCC na ocorrência de sintomas no peito	62
<b>Figura 3.8</b>	A ocorrência de efeitos adversos por sistema biológico e por sexo	64
<b>Figura 3.9</b>	A ocorrência de efeitos adversos por sistema biológico em doentes com e sem sintomas prodrómicos ou de aura	65

## Capítulo 3

<b>Figura 3.1</b>	Respostas contrácteis da artéria basilar humana à 5-HT, sumatriptano, zolmitriptano e naratriptano	91
<b>Figura 3.2</b>	Respostas contrácteis da artéria cerebral média humana à 5-HT, sumatriptano, zolmitriptano e naratriptano	92
<b>Figura 3.3</b>	Respostas contrácteis da artéria uterina humana à 5-HT, sumatriptano, zolmitriptano e naratriptano	93
<b>Figura 3.4</b>	Respostas contrácteis da artéria uterina humana à 5-HT em condições <i>ex vivo</i> , com diferentes tempos de isolamento do órgão (0, 24 e 48 horas) e em condições <i>post-mortem</i>	97
<b>Figura 3.5</b>	Efeitos de diferentes agonistas e antagonistas na resposta contráctil da artéria basilar humana	101

<b>Figura 3.6</b>	Respostas contrácteis da artéria basilar humana ao sumatriptano e zolmitriptano, na ausência e na presença de 0,1 $\mu$ M, 1 $\mu$ M e 10 $\mu$ M de BRL 15572	102
<b>Figura 3.7</b>	Ações de diferentes antagonistas na resposta contráctil da artéria cerebral média humana ao sumatriptano	104
<b>Figura 3.8</b>	Respostas contrácteis da artéria cerebral média humana ao sumatriptano, na ausência e na presença de 10 $\mu$ M de prazosina	105
<b>Figura 3.9</b>	Ações de diferentes antagonistas na resposta contráctil da artéria uterina humana <i>ex vivo</i> ao sumatriptano, às 0 e 24 horas de isolamento do órgão	107
<b>Figura 3.10</b>	Resposta contráctil da artéria uterina humana <i>ex vivo</i> ao sumatriptano, na ausência e na presença de 0,1 $\mu$ M e 10 $\mu$ M de BRL 15572	108
<b>Figura 3.11</b>	Respostas contrácteis das artérias basilar e cerebral média ao sumatriptano, na ausência e na presença de 63 nM de SB 224289	110
<b>Figura 3.12</b>	Respostas contrácteis ao sumatriptano da artéria uterina <i>ex vivo</i> , às 0 e 24 horas de isolamento do órgão, na ausência e na presença de 63 nM de SB 224289	111
<b>Figura 3.13</b>	Respostas contrácteis à 5-HT das artérias basilar, cerebral média e uterina humanas, na ausência e na presença de 1 $\mu$ M de cetanserina	113
<b>Figura 3.14</b>	Respostas contrácteis das artérias basilar, cerebral média e uterina humanas, a três curvas concentração-resposta sucessivas e cumulativas de sumatriptano, na ausência de qualquer antagonista	115
<b>Figura 3.15</b>	Resposta contráctil da artéria uterina humana <i>ex vivo</i> ao sumatriptano, ao longo do tempo de ensaio	118
<b>Figura 3.16</b>	Análise de <i>western blot</i> dos níveis proteicos de 5-HT <sub>1B/1D</sub> e actina	121
<b>Figura 3.17</b>	Artéria basilar (Mulher/54 anos). H/E X100	124
<b>Figura 3.18</b>	Artéria basilar (Homem/70anos). Coloração das fibras	

	elásticas com orceína ácida pela técnica Una-Taenzen X100	124
<b>Figura 3.19</b>	Artéria basilar (Mulher/41anos). Técnica de imunohistoquímica – NSE X200	125
<b>Figura 3.20</b>	Artéria basilar (Mulher/41anos). Técnica de imunohistoquímica – Proteína S-100 X200	125
<b>Figura 3.21</b>	Artéria basilar (Mulher/41anos). Técnica de imunohistoquímica – Factor VIII X200	126
<b>Figura 3.22</b>	Artéria cerebral média (Homem/70anos). H/E X100	126
<b>Figura 3.23</b>	Artéria cerebral média (Homem/70anos). Coloração das fibras elásticas com orceína ácida pela técnica de Una-Taenzen X100	127
<b>Figura 3.24</b>	Artéria cerebral média (Mulher/41anos). Técnica de imunohistoquímica – NSE X200	127
<b>Figura 3.25</b>	Artéria cerebral média (Mulher/41anos). Técnica de imunohistoquímica – Proteína S-100 X200	128
<b>Figura 3.26</b>	Artéria cerebral média (Mulher/41anos). Técnica de imunohistoquímica para células endoteliais – Factor VIII X200	128
<b>Figura 3.27</b>	Artéria uterina (42 anos). H/E X100	129
<b>Figura 3.28.</b>	Artéria uterina (42 anos). Coloração das fibras elásticas com orceína ácida pela técnica de Una-Taenzen X100	129
<b>Figura 3.29</b>	Artéria uterina (42 anos). Técnica de imunohistoquímica para NSE X200.	130
<b>Figura 3.30</b>	Artéria uterina (42 anos). Técnica de imunohistoquímica – Proteína S-100 X400	130
<b>Figura 3.31</b>	Artéria uterina (42 anos). Técnica de imunohistoquímica para células endoteliais – Factor VIII X200	131
<b>Figura 3.32</b>	Artéria basilar (Mulher/56anos). Técnica de imunohistoquímica: receptor 5-HT <sub>1B</sub> X200	132
<b>Figura 3.33</b>	Artéria basilar (Mulher/56anos). Técnica de imunohistoquímica: receptor 5-HT <sub>1B</sub> X400	132
<b>Figura 3.34</b>	Artéria basilar (Mulher/56anos). Técnica de	

	imunohistoquímica: receptor 5-HT <sub>1D</sub> X200	133
<b>Figura 3.35</b>	Artéria basilar (Mulher/56anos). Técnica de imunohistoquímica: marcação do receptor 5-HT <sub>1D</sub> X400	133
<b>Figura 3.36</b>	Artéria cerebral média (Mulher/56anos). Técnica de imunohistoquímica: receptor 5-HT <sub>1B</sub> X200	134
<b>Figura 3.37</b>	Artéria cerebral média (Mulher/56anos). Técnica de imunohistoquímica: receptor 5-HT <sub>1B</sub> X400	134
<b>Figura 3.38</b>	Artéria cerebral média (Mulher/56anos). Técnica de imunohistoquímica: receptor 5-HT <sub>1D</sub> X200	135
<b>Figura 3.39</b>	Artéria cerebral média (Mulher/56anos). Técnica de imunohistoquímica: receptor 5-HT <sub>1D</sub> X400	135
<b>Figura 3.40</b>	Artéria uterina (51anos). Técnica de imunohistoquímica: receptor 5-HT <sub>1B</sub> X40	136
<b>Figura 3.41</b>	Artéria uterina (51anos). Técnica de imunohistoquímica: receptor 5-HT <sub>1D</sub> X40	136
<b>Figura 3.42</b>	Artéria uterina (42anos). Técnica de imunohistoquímica: receptor 5-HT <sub>1B</sub> X100	137
<b>Figura 3.43</b>	Artéria uterina (42anos). Técnica de imunohistoquímica: receptor 5-HT <sub>1B</sub> X200	137
<b>Figura 3.44</b>	Artéria uterina (42anos). Técnica de imunohistoquímica: receptor 5-HT <sub>1D</sub> X100	138
<b>Figura 3.45</b>	Artéria uterina (42anos). Técnica de imunohistoquímica: receptor 5-HT <sub>1D</sub> X200	138

## Abreviaturas

AAS	ácido acetilsalicílico
Ach	acetilcolina
AINE	anti-inflamatórios não esteróides
AMPA	ácido $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropiónico
AMPc	monofosfato cíclico de adenosina
ANOVA	análise de variância
ATP	trifosfato de adenosina
AVC	acidente vascular cerebral
BCA	ácido bicinconínico
BIBN4096BS	[R-(R*,S*)]-N-[2-[[5-amino-1-[[4-(4-piridinil)-1-piperazinil]carbonil]pentil]amino]-1-[(3,5-dibromo-4-hidroxifenil)metil]-2-oxoetil]-4-(1,4-dihidro-2-oxo-3(2H)-quinazolinil)-1-piperidinacarboxamida
BRL 15572	3-[4-(3-clorofenil)piperazina-1-il]-1,1-difenil-2-propanol
CE <sub>50</sub>	concentração molar do agonista capaz de induzir 50% do efeito máximo
CGRP	peptídeo relacionado com o gene da calcitonina
Cmáx	concentração plasmática máxima atingida em doses clinicamente eficazes

CP-122 228	N-metil-3-[(1-metil-2-pirrolidinil)metil]-1H-indol-5-metanosulfonamida
CSD	depressão cortical alastrante
CTT	cefaleia tipo tensão
DAB	diaminobenzidina
DCC	doença cardíaca coronária
DHE	dihidroergotamina
DOCA	desoxicorticosterona
DP	desvio padrão
EAM	efeitos adversos a medicamentos
ECF	quimiofluorescência melhorada
EHF	enxaqueca hemiplégica familiar
Emáx	efeito máximo
ET	endotelina
Fig.	figura
GABA	ácido $\gamma$ -aminobutírico
Glu	glutamato
GR 79236	N-[(1S, trans)-2-hidroxiciclopentil] adenosina
GR 55562	3-[3-(dimetilamino)propil]-4-hidroxi-N-[4-(4-piridinil)fenil]benzamida
GR 125743	N-[4-metoxi-3,4-metilpiperazina-1-il]fenil]-3-metil-4-(4-piridinil)benzamida

GR 127935	ácido 2'-metil-4'-(5-metil[1,2,4]oxadiazol-3-il)bifenil-4-carboxílico [4-metoxi-3-(4-metilpiperazina-1-il)fenil]amida
H/E	hematoxilina/eosina
5-HIAA	ácido 5-hidroxi-indolacético
5-HT	5-hidroxitriptamina
IHS	Sociedade Internacional de Cefaleias
KCl	cloreto de potássio
KDal	kiloDalton
L-NAME	éster metílico de N <sup>G</sup> -Nitro-L-arginina
Log	logaritmo
LY 334370	4-fluoro-N-[3-(1-metil-4-piperidinil)-1H-indol-5-il]-benzamida
LY 303870	(R)-1-[N-(2-metoxibenzil)acetilamino]-3-(1H-indol-3-il)-2-[N-(2-(4-(piperidina-1-il)-piperidina-1-il)acetil)amino]propano
mCPP	meta-clorofenilpiperazina
MDL 72222	3-tropanil-3,5-diclorobenzoato
mGlu	receptores metabotrópicos do glutamato
mN	miliNewton
n	número de experiências
NA	noradrenalina
NK	neurocinina

NMDA	N-metil-D-aspartato
NOS	sintase do monóxido de carbono
NO	monóxido de carbono
NPY	neuropeptídeo Y
NSE	enolase específica neuronal
8-OH-DPAT	8-hidroxi-di-n-propilaminotetralina
PBS	tampão salino de fosfato
pCE <sub>50</sub>	logaritmo negativo da concentração molar do agonista capaz de induzir 50% do efeito máximo
PCR-RT	reação da polimerase em cadeia pela transcriptase reversa
pD <sub>2</sub>	pCE <sub>50</sub>
PET	tomografia de emissão de positrões
pK <sub>B</sub>	logaritmo negativo da concentração molar de um antagonista que em equilíbrio ocuparia 50% dos receptores na ausência do agonista
pK <sub>i</sub>	logaritmo negativo da concentração molar de um ligando num ensaio de competição que ocuparia 50% dos receptores na ausência do radioligando
PMSF	fluoreto de fenilmetilsulfonilo
PNU 142633	((s)-3,4-dihidro-1-[2-[4-[4-(aminocarbonil)fenil]-1-piperazinil]etil]-N-metil-1H-2-benzopirano-6-carboxamida



PVDF	difluoreto de polivinildieno
rCBF	fluxo sanguíneo regional cerebral
RNA	ácido ribonucleico
RNA <sub>m</sub>	RNA mensageiro
RPR 100893-201	[3 $\alpha$ S-[2(R*),3 $\alpha$ ,4 $\beta$ ,7 $\alpha$ ]]-octahidro-4-(2-metoxifenil)-2-[2-(2-metoxifenil)-1-oxopropil]-7,7-difenil-1H-isoindol-4-ol
SB 224289	1'-metil-5-[[2'-metil-4'-(5-metil-1,2,4-oxadiazol-3-il)bifenil-4-il]carbonil]-2,3,6,7-tetrahidrospiro[furo[2,3-f]indol-3,4'-piperidina
SDS	dodecilsulfato de sódio
SDS-PAGE	electroforese em gel de poliacrilamida com SDS
SEM	erro padrão da média
SNC	sistema nervoso central
SNF	Sistema Nacional de Farmacovigilância
TBS	tampão salino de Tris
TBST	tampão salino de Tris com Tween 20
Tris	2-amino-2-hidroximetil-1,3-propanodiol
VIP	peptídeo intestinal vasoactivo



## Resumo

A eficácia clínica dos triptanos no tratamento agudo da enxaqueca tem sido parcialmente atribuída à sua capacidade de induzir contracção de vasos sanguíneos intracranianos excessivamente dilatados. No entanto, têm surgido na literatura dados que sugerem o envolvimento dos triptanos, agonistas dos receptores 1B, 1D, e 1F da 5-hidroxitriptamina (5-HT), e da sua capacidade vasoconstritora, em acidentes isquémicos graves afectando órgãos tanto centrais, como periféricos.

Com o intuito de reduzir a incidência de tais efeitos adversos têm sido sintetizados novos compostos que sejam mais selectivos para os receptores dos subtipos 5-HT<sub>1D</sub> e 5-HT<sub>1F</sub>, podendo potencialmente inibir a transmissão central da dor, a nível das estruturas do tronco cerebral e cervicoespinhais, hipoteticamente sem a vasoconstricção periférica concomitante, cuja mediação é atribuída a receptores do subtipo 5-HT<sub>1B</sub>. Devido à semelhança de perfis farmacológicos dos subtipos 5-HT<sub>1B</sub> e 5-HT<sub>1D</sub> de receptores, só muito recentemente a utilização de antagonistas selectivos dos dois subtipos de receptores possibilitou a caracterização farmacológica do receptor envolvido na resposta contráctil a triptanos, tanto de vasos sanguíneos humanos periféricos, como centrais, sem a complementaridade dos estudos moleculares ou dos estudos imunohistoquímicos.

Porque os receptores 5-HT<sub>1D</sub> têm sido descritos como tendo uma localização pré-sináptica e não pós-sináptica, o seu envolvimento na resposta contráctil aos triptanos não tem sido considerado na maioria dos estudos. Acresce ainda que existe alguma contradição quanto à real contribuição dos receptores 5-HT<sub>1B/1D</sub> na mediação dos efeitos contrácteis da 5-HT, quer a nível periférico, quer a nível central.

Por outro lado, e de acordo com os resultados de um inquérito por nós especificamente desenvolvido, ao qual foi submetida uma amostra de

conveniência de 194 doentes com enxaqueca, da consulta externa de cefaleias dos Hospitais da Universidade de Coimbra, a frequência de ocorrência de sinais e sintomas associados aos efeitos adversos dos triptanos, tal como percebidos pelos doentes, nomeadamente a frequência dos efeitos cardiovasculares (taquicardia, palpitações, arritmia e hipotensão postural) e a daqueles potenciais indicadores de processos isquémicos (sensação de aperto, pressão, peso ou calor no peito que pode subir para o pescoço ou cabeça, dor abdominal e hematoquezia), parece ser reduzida em Portugal, e não ser dependente das características demográficas dos doentes ou dos fármacos em si, independentemente se são triptanos da primeira ou da segunda geração.

Neste contexto parece importante estudar os mecanismos farmacológicos que poderão estar subjacentes aos efeitos adversos isquémicos associados à toma de triptanos, procedendo-se à caracterização farmacológica e molecular do subtipo de receptor 5-HT<sub>1</sub> que medeia a contracção, induzida por triptanos, quer de vasos sanguíneos humanos centrais, quer periféricos e comparando a actividade de triptanos de diferentes gerações nesses vasos sanguíneos, o que pode contribuir para definir os seus perfis de segurança cerebro e cardiovascular.

Assim, anéis de vasos sanguíneos humanos de dois territórios arteriais cranianos (artéria cerebral média e basilar) e de um território arterial periférico (artéria uterina) foram preparados para estudos funcionais de contracção isométrica, isolamento de proteínas e análise por *western blot* ou foram submetidos a cortes histológicos e técnicas de imunohistoquímica. Foram realizadas curvas concentração-resposta com 5-HT, sumatriptano, zolmitriptano e naratriptano na ausência e na presença de antagonistas selectivos dos receptores 5-HT<sub>1B</sub> (cianopindolol ou SB 224289), 5-HT<sub>1D</sub> (BRL 15572) e 5-HT<sub>2</sub> (cetanserina). Foram também aplicados anticorpos primários anti-receptor 5-HT<sub>1B</sub> humano e anti-receptor 5-HT<sub>1D</sub> humano de forma a investigar quer a expressão da proteína destes

dois subtipos de receptores 5-HT<sub>1</sub>, quer a distribuição das respectivas imunoreactividades naqueles vasos sanguíneos.

Na avaliação de potenciais efeitos laterais dos triptanos, nomeadamente os efeitos adversos isquémicos, embora possam ser devido à sua capacidade vasoconstritora, concluímos, à luz dos nossos resultados nas artérias estudadas, que é pouco provável que os triptanos nas doses clinicamente eficazes causem acidentes isquémicos graves em indivíduos saudáveis, nomeadamente os triptanos da segunda geração (zolmitriptano e naratriptano) que demonstraram ter uma capacidade contráctil significativamente inferior ao sumatriptano, quer a nível de vasos sanguíneos centrais, quer a nível de vasos sanguíneos periféricos.

Para além da cranioselectividade dos triptanos, os resultados obtidos sugerem ainda, na artéria basilar e na artéria uterina, a presença, pela sua funcionalidade, de receptores tanto do subtipo 5-HT<sub>1B</sub> como do subtipo 5-HT<sub>1D</sub>, o que foi corroborado pelos resultados dos nossos estudos moleculares (técnica de *Western blot*), nos quais foram detectadas as proteínas de ambos os subtipos de receptores em ambos os vasos sanguíneos, e pelos resultados dos nossos estudos imunohistoquímicos, com os quais foi possível localizar estes subtipos de receptores em células musculares lisas da túnica média. Acresce ainda que, nas artérias cerebral média e basilar (artérias centrais) o receptor serotoninérgico predominante é dos subtipos 5-HT<sub>1B/1D</sub>, enquanto que na artéria uterina (artéria periférica) é do tipo 5-HT<sub>2</sub>, para o qual os triptanos não aparentam ter afinidade.

O facto de se ter verificado na artéria uterina um fenómeno de taquifilaxia ao efeito contráctil induzido pelos triptanos mediado pelos receptores 5-HT<sub>1B/1D</sub>, mas não nas artérias basilar e cerebral média, constitui um factor adicional de segurança, no que diz respeito aos efeitos adversos cardiovasculares descritos para este grupo de fármacos, resultantes da vasoconstrição concomitante que induzem. O estudo de mecanismos adicionais como a taquifilaxia, que poderão condicionar a resposta contráctil de vasos sanguíneos periféricos aos triptanos,

independentemente da contracção induzida por estes fármacos ser mediada por receptores do subtipo 5-HT<sub>1B</sub> ou do subtipo 5-HT<sub>1D</sub>, parece-nos determinante para a compreensão da acção vasoconstritora dos triptanos, tanto a nível periférico como a nível central.

## Abstract

The clinical effectiveness of triptans in the acute treatment of migraine has been partially attributed to its capacity to induce the contraction of intracranial blood vessels that are excessively dilated. However, data has appeared in the literature indicating the possible involvement of triptans, agonists of the receptors 1B, 1D, and 1F of 5-hydroxytryptamine (5-HT), and their vasoconstrictive capacity in serious ischaemic accidents affecting both central and peripheral organs.

In order to reduce the incidence of such adverse effects, new compounds have been synthesized that are more selective, targeting only receptors of 5-HT<sub>1D</sub> and 5-HT<sub>1F</sub> subtypes. These can partially inhibit the central transmission of pain on the level of the brain stem and cervicospinal structures, hypothetically without any concomitant peripheral vasoconstriction, the mediation of which is attributed to receptors of the subtype 5-HT<sub>1B</sub>. Because of the similarity in the pharmacological profiles of receptors of the subtypes 5-HT<sub>1B</sub> and 5-HT<sub>1D</sub>, the pharmacological characterization of the receptor involved in the contractile response of both peripheral and central human blood vessels to triptans has only recently been made possible by the use of selective antagonists, without complementary molecular or immunohistochemical studies.

As 5-HT<sub>1D</sub> receptors have been described as having a presynaptic rather than postsynaptic location, their involvement in the contractile response to triptans has not been considered by most studies. It should also be added that there exists some contradiction as regards the real contribution of 5-HT<sub>1B/1D</sub> receptors in the mediation of the contractile effects of 5-HT, on both the peripheral and central levels.

A survey specifically carried out by us on a convenience sample of 194 migraine patients from the Headache Clinic at the Coimbra University Hospitals suggested that the signs and symptoms associated with the

adverse effects of triptans, as perceived by patients, such as cardiovascular effects (tachycardia, palpitations, arrhythmia and postural hypotension) and potential indications of ischaemic processes (sensation of squeezing, pressure, weight or heat on the chest that could rise to the neck or head, abdominal pain and hematochezia) occur only infrequently in Portugal and are not dependent upon the demographic characteristics of patients or on the drugs in themselves, irrespective of whether they are first or second generation triptans.

Hence, the aim of this project was to study the pharmacological mechanisms underlying the adverse ischaemic effects associated with the use of triptans, preparing a pharmacological and molecular characterization of the 5-HT<sub>1</sub> receptor subtype that mediates the triptan-induced contraction of both central and peripheral human blood vessels and comparing the activity of different generations of triptans in those blood vessels. This could then contribute to the definition of their respective cerebral and cardiovascular safety profiles.

Thus, rings of human blood vessels from two cranial arterial territories (middle cerebral and basilar arteries) and from one peripheral arterial territory (uterine artery) were subjected to functional studies using isometric contraction, protein isolation and western blot analysis or to histological section and immunohistochemical techniques. Concentration-response curves were performed with 5-HT, sumatriptan, zolmitriptan and naratriptan in the absence and presence of selective antagonists of 5-HT<sub>1B</sub> (cyanopindolol or SB 224289), 5-HT<sub>1D</sub> (BRL 15572) and 5-HT<sub>2</sub> (ketanserin) receptors. Primary human anti-5-HT<sub>1B</sub> receptor and anti-5-HT<sub>1D</sub> receptor antibodies were also applied in order to study the protein expression of these two subtypes of 5-HT<sub>1</sub> receptors and the distribution of the respective immunoreactivities in those blood vessels.

In assessing the potential side effects of triptans, we concluded that, in the light of our results in the arteries studied, triptans in clinically effective doses are unlikely to cause serious ischaemic accidents in healthy



individuals. For although the adverse ischaemic effects of triptans could be due to their vasoconstrictive capacity, the second generation (zolmitriptan and naratriptan) showed a contractile capacity that was significantly less than that of sumatriptan, on the level of both central and peripheral blood vessels.

In addition to the cranioselectivity of triptans, the results obtained also suggest the presence in the basilar and uterine arteries of both the 5-HT<sub>1B</sub> and 5-HT<sub>1D</sub> receptor subtypes. This was corroborated by the results of our molecular studies (using the Western blot technique), in which proteins of both receptor subtypes were found in both blood vessels, and by the results of our immunohistochemical studies, which made it possible to locate these receptor subtypes in smooth muscle cells of the tunica media. It should also be added that, in the middle cerebral and basilar arteries (central arteries), the predominant serotonergic receptor is of the 5-HT<sub>1B/1D</sub> subtypes, while in the uterine artery (peripheral artery) it is of the 5-HT<sub>2</sub> type, for which triptans do not apparently have any affinity.

The fact that a tachyphylactic phenomenon was noted in the uterine artery in response to the contractile effect induced by the triptans, mediated by the 5-HT<sub>1B/1D</sub> receptors, but not in the basilar and middle cerebral arteries, constitutes an additional safety factor, as regards the adverse cardiovascular effects described for this group of drugs as a result of the concomitant vasoconstriction that they induce. The study of additional mechanisms such as tachyphylaxis, which may condition the contractile response of peripheral blood vessels to triptans, irrespective of whether the contraction induced by these drugs is mediated by receptors of the 5-HT<sub>1B</sub> subtype or of the 5-HT<sub>1D</sub> subtype, would seem to be essential for an understanding of the vasoconstrictive action of triptans, on both the peripheral and central levels.