



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA

DANIEL MAIA NOGUEIRA DE OLIVEIRA

EFEITOS AGUDOS DAS FENILETILAMINAS SOBRE A MOTILIDADE
GASTRINTESTINAL EM RATOS

Fortaleza

2021

DANIEL MAIA NOGUEIRA DE OLIVEIRA

EFEITOS AGUDOS DAS FENILETILAMINAS SOBRE A MOTILIDADE
GASTRINTESTINAL EM RATOS

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito para obtenção do título de doutor em farmacologia. Área de concentração: Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Pedro Jorge Caldas Magalhães

Fortaleza

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- O46e Oliveira, Daniel Maia Nogueira de.
Efeitos agudos das feniletilaminas sobre a motilidade gastrointestinal em ratos / Daniel Maia Nogueira de Oliveira. – 2021.
104 f. : il. color.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Fortaleza, 2021.
Orientação: Prof. Dr. Pedro Jorge Caldas Magalhães.
1. Feniletilaminas. 2. Trato gastrointestinal. 3. Motilidade gastrointestinal. I. Título.
- CDD 615.1
-

DANIEL MAIA NOGUEIRA DE OLIVEIRA

EFEITOS AGUDOS DAS FENILETILAMINAS SOBRE A MOTILIDADE
GASTRINTESTINAL EM RATOS

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito para obtenção do título de doutor em farmacologia. Área de concentração: Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Pedro Jorge Caldas Magalhães

Aprovada em: 16/07/2021.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Pedro Jorge Caldas Magalhães
Universidade Federal do Ceará – UFC

Prof. Dr. Alexandre Havt Bindá
Universidade Federal do Ceará – UFC

Prof. Dr. Armênio Aguiar dos Santos
Universidade Federal do Ceará – UFC

Prof. Dr. Helder Veras Ribeiro Filho
Universidade Estadual de São Paulo – UNICAMP

Prof. Dra. Camila Ferreira Roncari
Universidade Federal do Ceará – UFC

RESUMO

Feniletilaminas são uma ampla e diversa classe de compostos que incluem neurotransmissores, hormônios, estimulantes, alucinógenos, anorexígenos, broncodilatadores e antidepressivos. Muitos desses compostos estão presentes em suplementos alimentares com o objetivo de melhora de condicionamento físico e emagrecimento. O trato gastrointestinal é o primeiro sistema de órgãos expostos a esses compostos após ingestão oral e pouco se sabe sobre seus efeitos fisiológicos nesses órgãos. Assim, o objetivo do presente trabalho foi estudar os efeitos das feniletilaminas β -feniletilamina (β -PEA), octopamina, 1-4-metilfeniletilamina (1-4-MPEA), 2-metoxi-1-feniletilamina (2-M-PEA), 1-metil-1-feniletilamina (1-M-1-PEA) e β -metilfeniletilamina (β -MPEA) em aspectos motores do trato gastrointestinal de ratos. Para tanto, foram utilizados ratos Wistar pesando 250 – 300 g. Para avaliação da contratilidade dos tecidos isolados do trato gastrointestinal foram utilizados os tecidos de fundo de estômago, intestino delgado proximal, medial e distal e cólon distal. Foi utilizado sistema de banho para tecidos isolados conectados a transdutores de força para a captação das contrações isométricas. A verificação dos efeitos das feniletilaminas β -MPEA e octopamina na motilidade gastrointestinal de líquidos foi realizada mediante a técnica de diluição de corante. Em tecidos de fundo gástrico sob tônus de repouso as feniletilaminas β -PEA, β -MPEA e 1-M-1-PEA apresentaram perfil de resposta contraturante. Já a octopamina apresentou resposta relaxante significativa. Nos tecidos intestinais, a 1-M-1-PEA foi a única a apresentar resposta contraturante em todos os tecidos intestinais. β -PEA e 2-M-PEA apresentaram resposta relaxante em todas as porções do intestino delgado e a octopamina apresentou resposta relaxante em todas as porções intestinais e do cólon. Em tecidos de fundo de estômago pré-contraídos com CCh, todas as feniletilaminas promoveram efeitos relaxantes. Tal resposta também foi vista em todos os tecidos intestinais, com exceção da 1-M-1-PEA na porção distal do cólon. Por fim, foi demonstrado em tecidos de fundo gástrico, que β -MPEA e octopamina apresentaram efeitos distintos. Os efeitos excitatórios promovido pela β -MPEA parece resultar da ativação de receptores 5-HT (5A e 6). Já seu efeito relaxante ocorreu por uma via ainda não identificada. Por sua vez, a octopamina promoveu apenas efeitos relaxantes com provável envolvimento dos receptores 5-HT₄ e TA₁. O perfil predominantemente inibitório da octopamina foi efetivo em retardar o trânsito gastrointestinal em ratos.

Palavras-chave: Feniletilaminas. Trato gastrointestinal. Motilidade gastrointestinal.

ABSTRACT

ACUTE EFFECTS OF PHENYLETHYLAMINES IN RAT GASTROINTESTINAL MOTILITY

Phenylethylamines are a broad and diverse class of compounds that include neurotransmitters, hormones, stimulants, hallucinogens, anorectics, bronchodilators, and antidepressants. Many of these compounds are present in dietary supplements with the aim of improving physical fitness and weight loss. The gastrointestinal tract is the first organ system exposed to these compounds after oral ingestion and little is known about their physiological effects on these organs. Thus, the aim of the present work was to study the effects of the following phenylethylamines: β -phenylethylamine (β -PEA), octopamine, 1-4-methylphenylethylamine (1-4-MPEA), 2-methoxy-1-phenylethylamine (2-M-PEA), 1-methyl-1-phenylethylamine (1-M-1-PEA) and β -methylphenylethylamine (β -MPEA) in the motor aspects of the gastrointestinal tract of rats. For this, male Wistar rats weighing 250 – 300 g were used. To assess the contractility of isolated gastrointestinal tract tissues we tested the stomach fundus, proximal, medial and distal small intestine and distal colon tissues. A bath system for isolated tissues connected to force transducers was used to capture isometric contractions. The verification of the effects of phenylethylamines β -MPEA and octopamine on the gastrointestinal motility of liquids was carried out using the dye dilution technique. In tissues of the gastric fundus under resting tone, the phenylethylamines β -PEA, β -MPEA and 1-M-1-PEA presented a contracting response profile. Octopamine, on the other hand, showed a significant relaxing response. In intestinal tissues, 1-M-1-PEA was the only one to present a contracting response in all intestinal tissues. β -PEA and 2-M-PEA and octopamine had a relaxing response in all portions of the small intestine, but octopamine also presented a relaxing response of the colon. All phenylethylamines promoted relaxing effects in carbachol pre-contracted stomach fundus tissues. Such response was also seen in all intestinal tissues, except for 1-M-1-PEA in the distal portion of the colon. Finally, it was demonstrated that β -MPEA and octopamine had distinct effects in tissues of the gastric fundus. The excitatory effects promoted by β -MPEA appear to result from the activation of 5-HT receptors (5A and 6). Its relaxing effect occurred through an as-yet-unidentified pathway. In turn, octopamine only promoted relaxing effects with a probable involvement of 5-HT₄ and TA₁ receptors. The predominantly inhibitory profile of octopamine was effective in delaying gastrointestinal transit in rats.

Keywords: Phenylethylamines. Gastrointestinal Tract. Gastrointestinal Motility.

A Deus, minha fortaleza.

Aos meus pais, José Dedilson de Oliveira e Maria do Carmo Maia Nogueira de Oliveira, meus maiores incentivadores.

À minha tia Maria Edineuza Nogueira de Oliveira (Tia Edineuza) (*in memoriam*), que foi bastante presente na minha infância e adolescência em minhas férias em Limoeiro do Norte, que fazia de tudo para me agradar e tornar a sua casa a minha casa, que sempre foi um exemplo de mulher sertaneja, forte e batalhadora e que sempre torceu pelas minhas conquistas. Fica com Deus, tia.

Ao meu amigo Rodolfo Nobre Sousa (*in memoriam*), que sua alegria e simplicidade viva em nós eternamente. Em sua breve passagem aqui na terra deixou por onde passou sua marca de gentileza e a satisfação de viver e aproveitar os momentos bons da vida. Fica em paz, “monstro” (forma que nos chamávamos mutuamente).

AGRADECIMENTOS

Às minhas irmãs, Lucy Maia e Luciana Maia, mais do que irmãs, sempre presentes nos momentos que precisei, verdadeiras segundas mães para mim. E ao meu irmão, Dunga, pelo incentivo e ser um exemplo de dedicação. Meu muito obrigado.

Aos meus cunhados, Valci e Gustavo, por serem solícitos sempre que precisei. Obrigado.

À minha noiva, Mariana Duarte Bona, pelo companheirismo, amor, dedicação, incentivo, e por fazer minha vida mais feliz. Muito obrigado meu amor.

Ao meu orientador prof. Dr. Pedro Jorge Caldas Magalhães, por ter me recebido em seu laboratório, ter confiado no meu trabalho, pelos conselhos e ensinamentos e pela grande colaboração no desenvolvimento da tese e da minha construção como pesquisador, além de bons momentos de descontração e convívio. Meu muito obrigado.

Ao professor Dr. Alexandre Havt Bindá, pela oportunidade de ingressar na carreira acadêmica, pelos ensinamentos e por acreditar em mim, além de ter sido solícito sempre que precisei. E ao professor Dr. Armênio Aguiar dos Santos, por sempre abrir as portas do laboratório LELC sempre que precisei, além do convívio agradável. Obrigado.

Aos alunos de iniciação científica Carlos Alberto da Silva e Camila Gadelha, pelo apoio na realização da parte experimental do trabalho, pela convivência e pela oportunidade de poder exercer o papel de co-orientação em suas monografias. Muito obrigado.

Às minhas amigas de laboratório Kalinne Gadelha e Karine Lima, pela ajuda nos experimentos e pelo convívio e momentos de alegria compartilhados nesses últimos anos. Muito obrigado.

À colega do Laboratório Escola Luís Capelo, Karol Cavalcante, pela ajuda nos experimentos e convívio agradável. Obrigado.

Aos colegas do Laboratório de Farmacologia do Músculo Liso: Alfredo, Teresinha Brito, Manu, Thiago Brasileiro, Franzé pela agradável convivência, colaboração e amizade. Obrigado.

Aos membros da banca de qualificação, Prof. Dr. Daniel Freire de Sousa, Prof. Dr. Richard Boarato David e ao Prof. Dr. Raimundo Campos Palheta Júnior, pelas valorosas contribuições e apontamentos para melhorar o trabalho. Obrigado.

Aos membros da banca de defesa da tese, Dr. Helder Veras Ribeiro Filho, Profa. Dr. Camila Ferreira Roncari, Prof. Dr. Alexandre Havt Bindá e Prof. Dr. Armênio Aguiar dos Santos, pelas

considerações apresentadas, pelas indicações de correções para melhoria do trabalho. Meu muito obrigado.

Aos funcionários do Centro de Biomedicina, em especial, José Amadeus, Valdenir, Cláudia, Marcílio e Rogério pela atenção e disponibilidade. E ao técnico, Haroldo Pinheiro pelo auxílio e convívio. Obrigado.

À coordenação de aperfeiçoamento de pessoal de nível superior (CAPES) pelo pagamento de bolsa de estudo da modalidade doutorado e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) que financiou o projeto desenvolvido na presente tese através do Edital Universal e pelo apoio financeiro aos alunos do programa de iniciação científica (PIBIC). Obrigado.

Às funcionárias da secretaria do programa de pós-graduação em farmacologia, Laura e Milena, pela presteza e disponibilidade para auxiliar nos processos burocráticos durante o período do doutorado.

A todos os amigos e familiares que torceram e acreditaram em mim, muito obrigado.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura molecular da β -feniletilamina e os locais de substituição mais comuns em sua estrutura química	15
Figura 2 – Aminas traço clássicas	16
Figura 3 – Aminas biogênicas clássicas	17
Figura 4 – Vias de síntese das aminas traço clássicas β -feniletilamina, tiramina, triptamina e octopamina	20
Figura 5 – Estrutura molecular da efedrina	22
Figura 6 – Estrutura molecular da anfetamina	23
Figura 7 – Estrutura química das feniletilaminas sintéticas β -metilfeniletilamina, 1-metil-1-feniletilamina, 1-4-metilfeniletilamina e 2-metoxi-1-feniletilamina	25
Figura 8 – Acoplamento elétrico entre as células musculares lisas gastrintestinais e as células intersticiais de Cajal.....	27
Figura 9 – Ilustração da montagem dos tecidos no sistema de contratilidade para tecidos isolados	33
Figura 10 – Estabilização e teste de viabilidade tecidual	34
Figura 11 – Adições de concentrações crescentes das feniletilaminas em tecidos sob tônus de repouso	36
Figura 12 – Adições de concentrações crescentes das feniletilaminas em tecidos pré contraído com carbacol 1 μ M	37
Figura 13 – Traçado típico de tecido intestinal demonstrando a ocorrência de contrações fásicas	38
Figura 14 – Adições crescentes das feniletilaminas em tecidos sob tônus de repouso na presença de antagonistas	39
Figura 15 – Adições crescentes das feniletilaminas em tecidos pré-contraídos na presença de antagonistas	41
Figura 16 – Efeitos contráteis excitatórios ou inibitórios promovidos por compostos fenetilamínicos em tecidos isolados de fundo de estômago de ratos sob tônus basal	45
Figura 17 – Efeitos contráteis das feniletilaminas em tecidos isolados nas porções proximal, medial e distal do intestino delgado e na porção distal em cólon de ratos	47
Figura 18 – Efeitos de curvas concentração-efeito a feniletilaminas na frequência das contrações fásicas das porções proximal, medial e distal do intestino delgado e distal do cólon sob tônus de repouso	50

Figura 19 – Efeitos de curvas concentração-efeito a feniletilaminas na amplitude das contrações fásicas das porções proximal, medial e distal do intestino delgado e distal do cólon sob tônus de repouso	53
Figura 20 – Efeitos inibitórios das feniletilaminas em tecidos isolados de fundo de estômago de ratos contraídos previamente com carbacol 1 μ M	56
Figura 21 – Efeitos inibitórios das feniletilaminas em segmentos isolados das porções proximal, medial e distal do intestino delgado e da porção distal do cólon de ratos contraídos previamente com carbacol 1 μ M	58
Figura 22 – Efeitos de curvas concentração-efeito a feniletilaminas na frequência das contrações fásicas das porções proximal, medial e distal do intestino delgado e distal do cólon em tecidos pré-contraídos com carbacol 1 μ M	61
Figura 23 – Efeitos de curvas concentração-efeito a feniletilaminas na amplitude das contrações fásicas das porções proximal, medial e distal do intestino delgado e distal do cólon em tecidos pré-contraídos com carbacol 1 μ M	64
Figura 24 – Efeitos diferenciais induzidos por β -metilfeniletilamina (β -MPEA) e octopamina em fundo gástrico de ratos	68
Figura 25 – Efeitos contráteis da β -metilfeniletilamina (β -MPEA) em tiras de fundo gástrico de ratos	70
Figura 26 – Efeitos relaxantes induzidos por β -metilfeniletilamina (β -MPEA) e octopamina em preparações de fundo gástrico de ratos previamente contraídas com carbacol	73
Figura 27 – Avaliação do efeito relaxante induzido pela β -metilfeniletilamina (β -MPEA) e octopamina em tiras de fundo gástrico de ratos	75
Figura 28 – Avaliação do trânsito gastrintestinal de líquidos em ratos após tratamento com β -metilfeniletilamina (β -MPEA) e octopamina	77
Figura 29 – Efeitos induzidos pela β -metilfeniletilamina (β -MPEA) e octopamina no tônus basal de tecidos do intestino delgado proximal de ratos	79
Figura 30 – Efeitos relaxantes induzidos pela octopamina em tecidos de intestino delgado proximal de ratos previamente contraídos com carbacol	81

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
1.1 Feniletilaminas.....	15
1.1.1 Aminas Traço (Feniletilaminas fisiológicas).....	15
1.1.1.1 Descoberta das aminas traço e de seus receptores TAARs	17
1.1.1.2 Biossíntese e degradação	19
1.1.1.3 Fontes não teciduais de aminas traço	21
1.1.2 Feniletilaminas sintéticas	23
1.1.3 Feniletilaminas no trato gastrintestinal	25
1.1.3.1 Expressão dos TA ₁ em tecidos gastrintestinais	25
1.1.3.2 Motilidade gastrintestinal	26
1.1.3.3 Efeitos fisiológicos das feniletilaminas no trato gastrintestinal.....	27
2 JUSTIFICATIVA	29
3 OBJETIVOS	30
3.1 Geral.....	30
3.2 Específicos.....	30
4 METODOLOGIA	31
4.1 Animais	31
4.2 Fármacos utilizados.....	31
4.3 Preparações isoladas de tecidos gastrintestinais	32
4.4 Avaliação da contratilidade em tecidos gastrintestinais isolados	34
4.4.1 Estabilização e viabilidade tecidual das preparações	34
4.4.2 Protocolos experimentais.....	35
4.4.2.1 Série experimental 1	35
4.4.2.2 Série experimental 2	36
4.4.3 Medida das contrações rítmicas nos tecidos de intestino delgado e do cólon	37

4.4.4 Protocolos de contratilidade com utilização de antagonistas em tecidos gastrintestinais mantidos sob tônus de repouso	38
4.4.5 Protocolos de contratilidade com utilização de antagonistas em tecidos gastrintestinais pré-contraídos	40
4.5 Avaliação da motilidade gastrintestinal	41
4.6 Análise estatística	42
5 RESULTADOS	43
5.1 Parte I – Efeitos contráteis das feniletilaminas 1-4-metilfeniletilamina, 2-metoxi-1-feniletilamina, 1-metil-1-feniletilamina, β -feniletilamina, β -metilfeniletilamina e octopamina em tecidos gastrintestinais	44
5.1.1 Efeitos na contratilidade de tecidos gastrintestinais mantidos sob tônus basal	44
5.1.2 Efeitos na contratilidade de tecidos gastrintestinais pré-contraídos com CCh 1 μ M	55
5.2 Parte II – Resultados presentes no artigo intitulado “Differential effects of β -methylphenylethylamine and octopamine on contractile parameters of the rat gastrointestinal tract”	66
5.2.1 Efeitos contrastantes da β -metilfeniletilamina e octopamina em fundo gástrico de ratos	66
5.2.2 Efeitos relaxantes induzidos pela β -MPEA e octopamina em tiras de fundo gástrico pré-contraídas com CCh.....	72
5.2.3 Efeitos da β -MPEA e octopamina no trânsito gastrintestinal de líquido	76
5.2.4 Efeitos da β -MPEA e da octopamina em tecidos isolados de intestino delgado proximal estimulados com carbacol	78
6 DISCUSSÃO	83
6.1 Parte I – Efeitos contráteis das feniletilaminas em tecidos gastrintestinais mantidos sob tônus basal ou pré-contraídos	83
6.2 Parte II – Discussão dos resultados do artigo “Differential effects of β -methylphenylethylamine and octopamine on contractile parameters of the rat gastrointestinal tract”	88
6.3 Considerações finais.....	93
6.3.1 Limitações e perspectivas futuras	93
7 CONCLUSÃO	94
REFERÊNCIAS	95

LISTA DE ABREVIATURAS

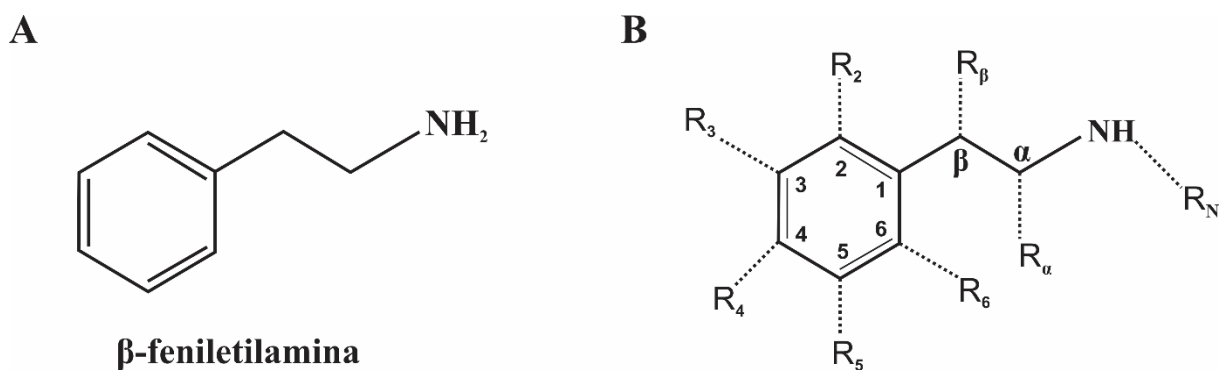
β -PEA	β -Feniletilamina
β -MPEA	β -Metilfeniletilamina
1-4-MPEA	1-4-Metilfeniletilamina
1-M-1-PEA	1-Metil-1-feniletilamina
2-M-PEA	2-Metoxi-1-feniletilamina
EPPTB	N-(3-Etoxi-fenil) -4-pirrolidina-1-il-3-trifluorometil-benzamida
5 - HT	Serotonina
CCh	Carbacol
Ca ²⁺	Íon cálcio
CaM	Calmodulina
IP ₃	Trifosfato de inositol
IP ₃ R	Receptores de IP ₃
K ⁺	Íon potássio
KCl	Cloreto de potássio
GPCR	Receptor acoplado à proteína G

1 INTRODUÇÃO

1.1 Feniletilaminas

Feniletilaminas são uma ampla e diversa classe de compostos que incluem neurotransmissores, hormônios, estimulantes, alucinógenos, anorexígenos, broncodilatadores e antidepressivos (KHAN et al., 2012). A ocorrência natural desses compostos comumente se dá a partir do aminoácido fenilalanina sob ação de enzimas descarboxilases (BERRY et al., 2017). Já as formas sintéticas são derivadas da β -feniletilamina (figura 1A), nas quais a natureza do grupo substituinte e o local da substituição têm grande efeito na atividade do composto formado (figura 1B) (KHAN et al., 2012).

Figura 1 – Estrutura molecular da β -feniletilamina e os locais de substituição mais comuns em sua estrutura química



Fonte: elaborada pelo autor.

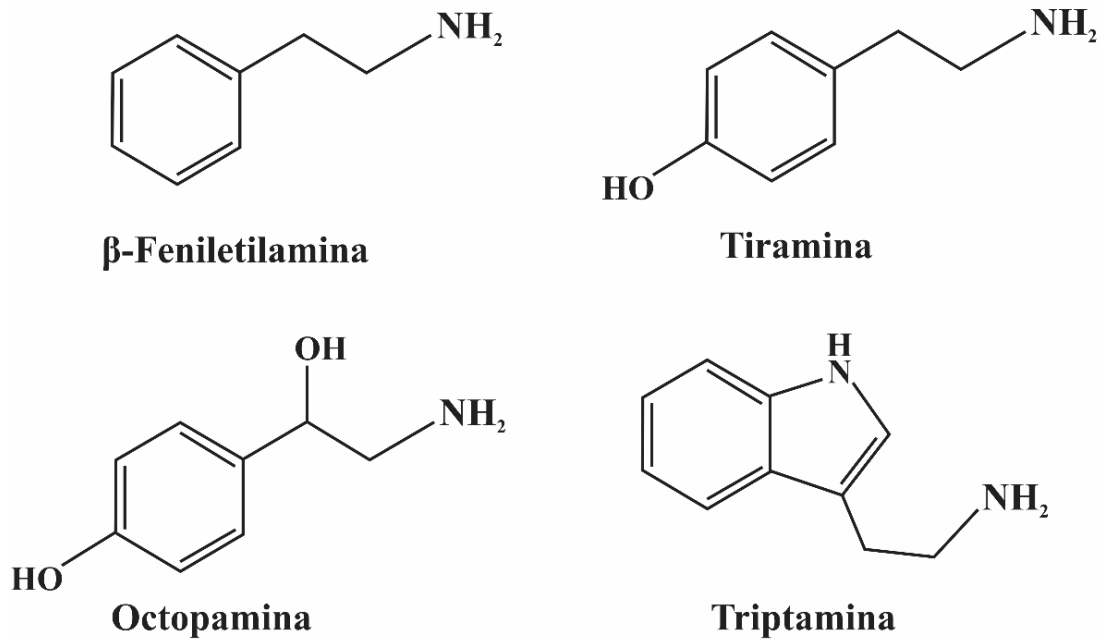
R = locais de substituição na molécula

1.1.1 Aminas Traço (*Feniletilaminas fisiológicas*)

As pesquisas e o interesse nos compostos endógenos agora conhecidos como aminas traço datam de pelo menos 150 anos atrás (GAINETDINOV et al., 2018). As aminas traço clássicas são a β -feniletilamina (β -PEA), a tiramina, a octopamina e a triptamina (Figura 2). O termo amina traço foi adotado por conta de sua baixa concentração (< 10 ng/g tecido) o que é pelo menos 100 vezes menor do que a concentração de aminas biogênicas clássicas como a dopamina, a epinefrina, a norepinefrina e a serotonina (BOULTON, 1974). As aminas traço

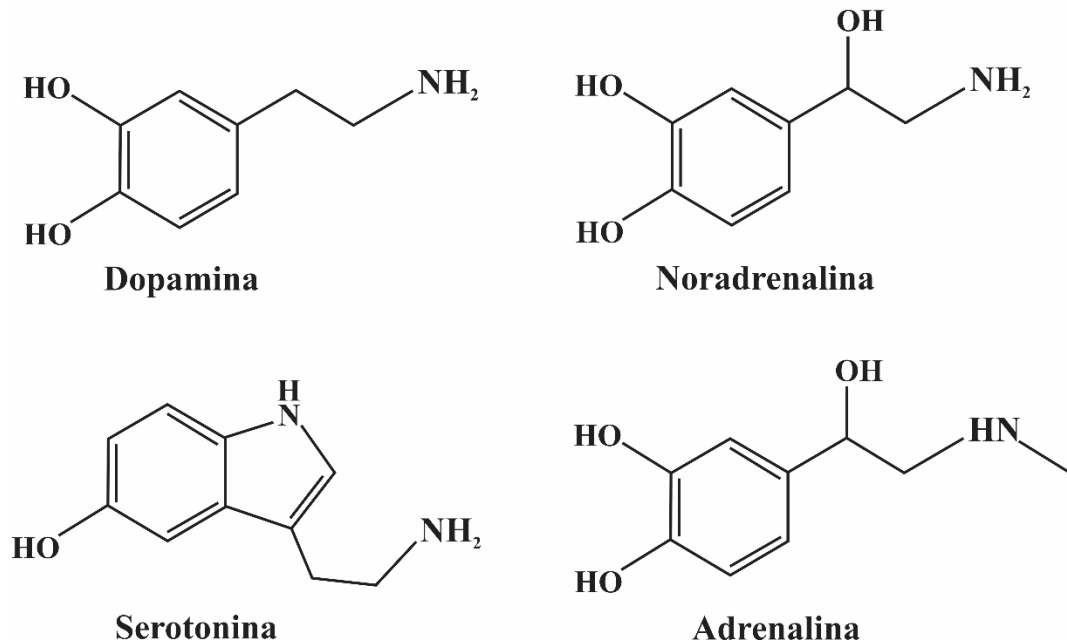
historicamente foram também citadas na literatura como falsos transmissores (KOPIN et al., 1964), micro aminas (BOULTON, 1976), e feniletilaminas não catecólicas (MOSNAIM et al., 1985).

Figura 2 – Aminas traço clássicas



Fonte: elaborada pelo autor.

Essas aminas são estruturalmente próximas das aminas biogênicas clássicas dopamina, norepinefrina, epinefrina e serotonina (GRANDY, 2007) (Figura 3). Em conjunto, as aminas traço formam uma coleção de compostos aromáticos alifáticos quimicamente relacionados, de baixo peso molecular, de ocorrência natural e com potentes ações simpatomiméticas (GAINETDINOV et al., 2018). Além da similaridade estrutural, as aminas traço são semelhantes às aminas biogênicas em relação à síntese, localização celular, distribuição anatômica, degradação e eliminação (BOULTON & WU, 1972; WU & BOULTON, 1973). E ainda, essas aminas também são estruturalmente próximas dos compostos feniletilamínicos sintéticos, tais com a anfetamina e vários de seus análogos (CHO & SEGAL, 1994).

Figura 3 – Aminas biogênicas clássicas

Fonte: elaborada pelo autor.

1.1.1.1 Descoberta das aminas traço e de seus receptores TAARs

A amina aromática β -feniletilamina (β -PEA), de fórmula molecular ($C_8H_{11}N$), é a feniletilamina de estrutura mais simples e a mais estudada das aminas traço, e considerada o protótipo da classe (REESE et al., 2007; GRANDY, 2007). A primeira vez em que um composto com essa composição foi mencionado data de 1876 na busca e no esforço do entendimento dos processos de putrefação e fermentação em que Nencki, contemporâneo de Louis Pasteur, isolou a β -PEA de gelatina em decomposição (GRANDY, 2007).

Nos anos seguintes, relatos apontaram que a β -PEA poderia ser produzida por descarboxilação do aminoácido fenilalanina pela ação de bactérias na decomposição de matérias orgânicas em condições anaeróbicas (LINDEMANN & HOENER, 2005; GRANDY, 2007). Atualmente, sabe-se que a β -PEA pode ser encontrada em variadas concentrações em outros produtos de fermentação, tais como, queijos, vinhos e cervejas (DA PRADA et al., 1988; SKERRITT et al., 2000). A β -PEA pode ser isolada de diversas espécies de plantas como as do gênero *Acacia*, o que confere a elas a habilidade de afugentar animais predadores (SMITH, 1977; KAWANO et al, 2000).

Durante o início do século XX, a β -PEA já era bem aceita como um subproduto oriundo de processos de fermentação (BRANCHEK & BLACKBURN, 2003). Contudo, suas propriedades biológicas ainda eram incertas até 1906 com a demonstração de que extratos orgânicos da putrefação de carne de cavalo causava aumento pronunciado na pressão sanguínea arterial (GRANDY, 2007). Em 1909, β -PEA e tiramina foram purificadas e isoladas pela primeira vez, também a partir da putrefação de matéria orgânica, e quando injetadas por via intravenosa causavam um rápido aumento na pressão arterial (BARGER & WALPOLE, 1909; BARGER, DALE, 1905). Apesar do conhecimento de químicos sobre a presença da β -PEA e tiramina em matérias orgânicas em decomposição e extratos de cereais contaminados com fungos, só a partir dos trabalhos pioneiros de Barger, Walpole, Dale, Clark e Dixon é que β -PEA e tiramina puderam ter revelados seus efeitos simpatomiméticos (LINDEMANN et al., 2005; GRANDY, 2007). A octopamina, outra amina traço, foi sintetizada pela primeira vez em 1910 (GRANDY, 2007). Contudo, só em 1952 foi identificada como um constituinte oriundo da glândula salivar do *Octopus vulgaris*, passando a se chamar octopamina (ERSPAMER, 1952).

Apesar do interesse nos efeitos desses compostos feniletilamínicos e na detecção de sua presença em várias espécies de animais vertebrados e plantas, maiores destaques foram dados aos estudos das monoaminas clássicas, como a noradrenalina, adrenalina, dopamina e serotonina (BERRY, 2004). Com o passar dos anos, junto com o crescimento da utilização de drogas psicotrópicas nos anos 1960, como a anfetamina e derivados, e devido a semelhança estrutural com esses compostos, o interesse nas aminas traço reapareceu (BORISON et al., 1975; JANSSEN et al., 1999). Pesquisas passaram a caracterizar as aminas traço como biomarcadores de doenças psiquiátricas. Historicamente, as aminas traço estão relacionadas com doenças psíquicas como esquizofrenia e depressão (WOLF & MOSNAIM, 1983; SZABO et al., 2001; BERRY, 2017). Contudo, a falta de um alvo específico para esses compostos diminuiu o interesse nesse tema (PEI et al., 2016).

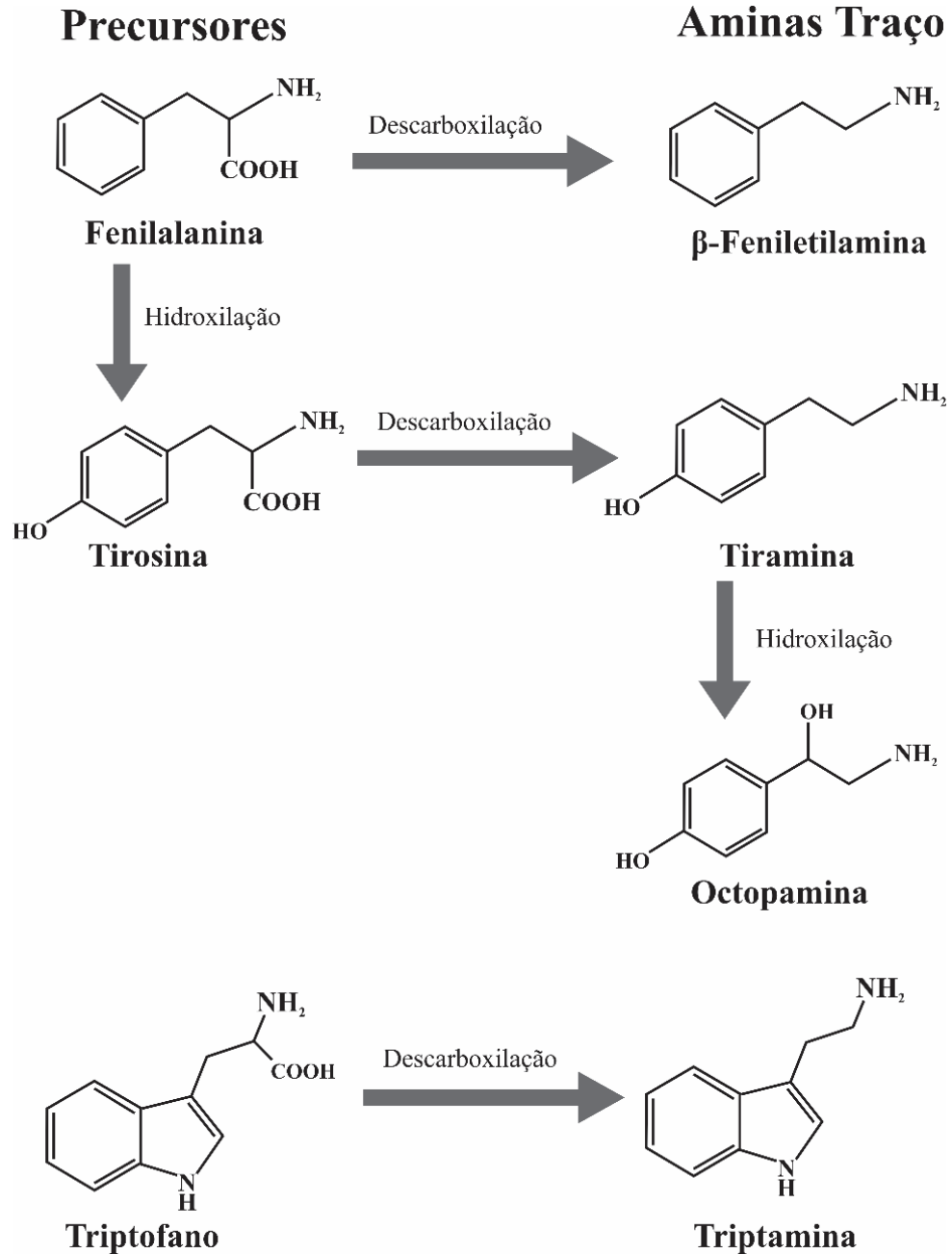
O interesse nas aminas traço ressurgiu de forma mais contundente com a descoberta de receptores seletivos para esses compostos por dois grupos de pesquisadores distintos no ano de 2001 (BOROWSKY et al., 2001; BUNZOW et al., 2001). Esses receptores, denominados de receptores associados às aminas traço (TAAR), são do tipo acoplados às proteínas Gas com produção intracelular do segundo mensageiro AMP cíclico (AMPC) pela estimulação da adenilato ciclase (BERRY et al., 2017). As aminas traço foram os primeiros compostos endógenos caracterizados como agonistas do TAAR1 (BOROWSKY et al., 2001).

A partir desse ponto, a nomenclatura utilizada para os receptores de aminas traço ao longo do presente trabalho será (TA_1), a qual é preconizada pela *International Union of Basic & Clinical Pharmacology (IUPHAR)* (MAGUIRE et al., 2009).

1.1.1.2 Biossíntese e degradação

As aminas traço clássicas são sintetizadas pela descarboxilação de aminoácidos precursores (BERRY, 2017). β -Feniletilamina, tiramina e triptamina são formadas pela ação direta das descarboxilases de aminoácidos aromáticos sobre fenilalanina, tirosina e triptofano, respectivamente (figura 4) (BOULTON; WU; PHILIPS, 1972; SAAVEDRA, 1974; DYCK et al., 1983). Octopamina pode ser formada posteriormente por ação da dopamina- β -hidroxilase (BOULTON & WU, 1972).

Figura 4 – Vias de síntese das aminas traço clássicas β -feniletilamina, tiramina, triptamina e octopamina



Fonte: elaborada pelo autor.

A semelhança com a síntese de neurotransmissores monoaminérgicos fez com que se pensasse que a síntese das aminas traço fosse exclusivamente neuronal (EDWARDS & BLAU, 1973; GAINETDINOV et al., 2018). No entanto, enzimas descarboxilases são expressas em inúmeras outras células de outros tecidos como vasos sanguíneos (LI et al., 2014),

rins (Christenson et al., 1970), fígado (Dominici et al., 1987), pulmão (Linnoila et al., 1993), estômago (Lichtenberger et al., 1982) e intestinos (Lauweryns & Van Ranst, 1988). Assim, é de se esperar que nesses tecidos os aminoácidos precursores sejam prontamente transformados nas aminas traço correspondentes (GAINETDINOV et al., 2018).

O catabolismo das aminas traço ocorrem primariamente pela ação das enzimas monoamino oxidases (MAO), sendo a β -feniletilamina mais seletiva para a forma B da enzima (MAO-B) (YANG & NEFF, 1973). A via de catabolismo por meio das isoenzimas do citocromo P450 também parece ser uma forma de degradação, porém menos comum em condições fisiológicas normais (NIWA et al., 2011; YU et al., 2003). A interconversão das aminas via metilação gerando N-metil e N,N-dimetil derivados também é uma via comum para esses compostos (LINDEMANN & HOENER, 2005).

1.1.1.3 Fontes não teciduais de aminas traço

Como mencionado em tópicos anteriores, as aminas traço foram primeiramente descobertas através do estudo de matéria orgânica em decomposição bacteriana (GRANDY, 2007). Os procariontes, dentre as quais os da microbiota intestinal, contemplam um grande acervo de enzimas descarboxilases de aminoácidos, assim, sendo responsáveis por uma importante fonte de aminas traço (ZHENG et al., 2011; NELSON et al., 2015). A produção de β -feniletilamina, tiramina e triptamina por bactérias comensais tem sido demonstrado (WILLIAMS et al., 2014; YANG et al., 2016). Diante dessa produção de aminas traço pela microbiota intestinal e com a confirmação da expressão de receptores TA₁ em tecidos gastrintestinais, parece razoável inferir que essas feniletilaminas possam promover efeitos fisiológicos nesses tecidos.

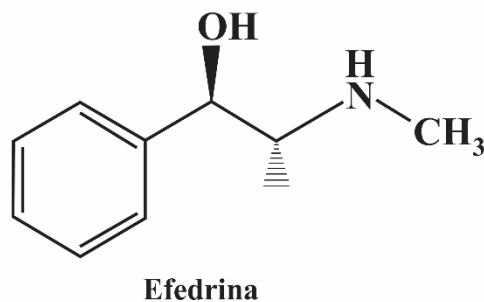
Em alimentos do cotidiano são encontradas aminas traço como a β -feniletilamina, a tiramina e a triptamina (COUTTS et al., 1986). A presença dessas aminas pode dar por conta da presença de bactérias contaminando os alimentos ou como parte no processo de sua produção que necessitam do processo de fermentação anaeróbica (GARDINI et al., 2016). Como exemplos de alimentos ricos em aminas traço temos queijos, carnes fermentadas, vinho tinto, produtos da soja e chocolate (COUTTS et al., 1986). Outra fonte dessas aminas são os frutos do mar, como moluscos e crustáceos (AN et al., 2015).

Uma fonte também importante de aminas traço são as provenientes de extratos de ervas usadas e cultivadas por várias culturas com o propósito de uso medicinal, bem como para utilização em rituais religiosos (GAINETDINOV et al., 2018). Segundo Smith (1977)

feniletilaminas estão presentes em pelo menos quarenta e quatro (44) famílias de planta, dentre as quais estão *Acacia* e *Citrus*. As amins traço octopamina e sinefrina estão presentes nas plantas do gênero *Citrus aurantium* e β -feniletilamina e tiramina estão presentes nas de gênero *Acacia rigidula* (PELLATI & BENVENUTI, 2007; PAWAR & GRUNDEL, 2017).

Uma outra espécie de planta bastante utilizada ao longo da história foi a efedra (ma huang), fonte natural da efedrina (figura 5), conhecida por suas propriedades medicinais na China a 5000 anos (PALAMAR, 2011).

Figura 5 – Estrutura molecular da efedrina



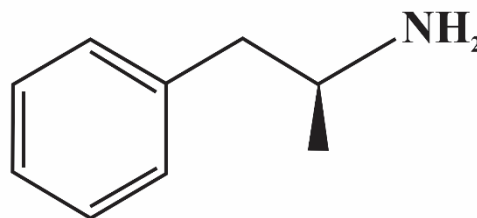
Fonte: elaborada pelo autor.

A efedrina começou a ser utilizada no ocidente no início do século vinte por aliviar os efeitos da gripe e agir como broncodilatador, melhorando sintomas de doenças respiratórias como a asma (CHRISTOPHERSON & BROADBENT, 1934). Considerada inicialmente de uso seguro, a efedrina passou a ser largamente utilizada não só para usos medicinais, mas também como droga estimulante do sistema nervoso central, usada para melhoria de desempenho físico em esportes, emagrecimento e como droga de abuso (BOHN et al., 2003). Os crescentes relatos de eventos adversos, devido ao uso de suplementos alimentares contendo efedrina, como taquicardia, hipertensão, palpitação, infarto do miocárdio, e até mesmo morte súbita, fez acelerar a necessidade de regulamentar o uso da efedrina nesses produtos (HALLER & BENOWITZ, 2000). Assim, devido ao seu crescente uso para fins não medicinais, a comercialização de forma livre da efedrina em produtos de suplementação alimentar foi proibida no início do século XXI (PAWAR & GRUNDEL, 2017). A regulamentação da utilização da efedrina durou quase todo o século XX, o que durante esse percurso fez surgir diversos outros compostos como uma nova alternativa disponível no mercado (PALAMAR, 2011).

1.1.2 Feniletilaminas sintéticas

A adição de um único grupo metil (-CH₃) ao esqueleto de feniletilamina converte um composto neuromodulador de ocorrência natural em várias drogas com propriedades anorexígenas (KHAN et al., 2012). Esse é o caso da anfetamina (figura 6), que anos após a comercialização da efedrina como agente terapêutico surgiu como uma alternativa mais simples e mais barata em comparação com a síntese da efedrina (HEAL et al., 2013). A anfetamina, em um primeiro momento passou a ser utilizada no tratamento da narcolepsia, depressão menor e déficits de atenção.

Figura 6 – Estrutura molecular da anfetamina



Anfetamina

Fonte: elaborada pelo autor.

As anfetaminas agem principalmente deslocando as catecolaminas de seus locais de estocagem ou impedindo sua recaptação quando elas são liberadas nas terminações nervosas e, assim, caracterizadas como aminas simpatomiméticas de ação indireta (JANSSEN et al., 1999). Suas ações simpatomiméticas estimulantes podem causar efeitos excitatórios em alguns tecidos e inibitórios em outros (PAWAR & GRUNDEL, 2017). A estimulação via receptores adrenérgicos promove a contração do músculo liso de vasos sanguíneos, aumento da frequência cardíaca e força de contração do coração, dilatação das vias aéreas e vasodilatação nos músculos esqueléticos (STOHS et al., 2020). Portanto, algumas dessas ações fisiológicas despertaram o interesse de sua utilização como recurso para melhorar a capacidade física e mental de atletas e praticantes de atividades físicas recreacionais, assim como auxiliar na perda de gordura corporal.

Nos anos 90 e início dos anos 2000 a utilização de suplementos dietéticos com o intuito de melhorar a performance física e perda de peso, com a utilização de derivados das anfetaminas e efedrina em sua composição, cresceram absurdamente (PAWAR & GRUNDEL,

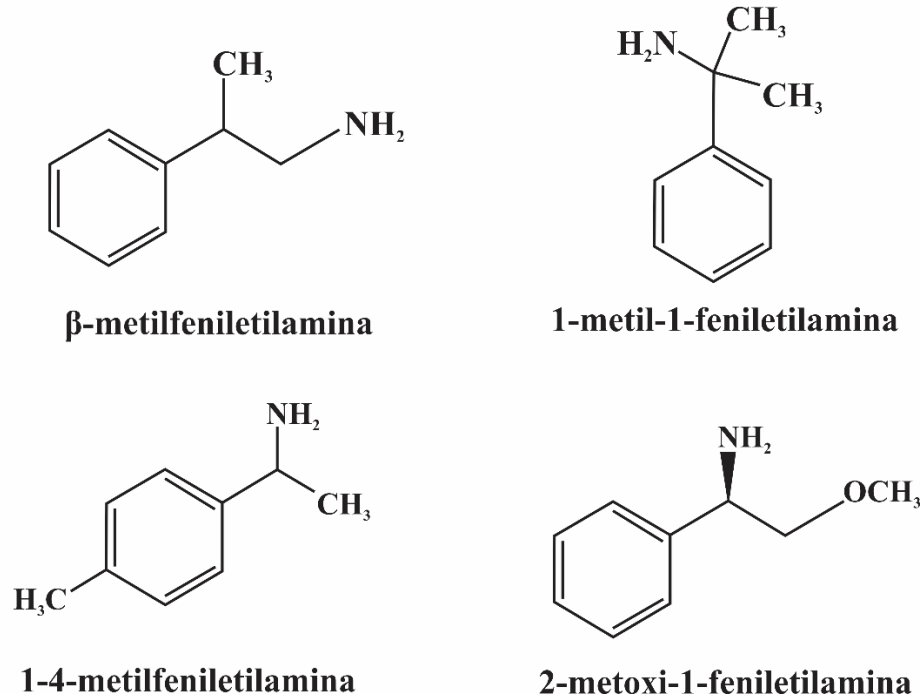
2017; VENHUIS et al., 2014; EUDY et al., 2013; RICKLI et al., 2019). E como consequência, cresceram também os relatos de efeitos adversos causados pelo uso desses compostos. Tais efeitos, vão desde os mais leves, como dor de cabeça, irritabilidade, ansiedade, tremor, psicose, até efeitos mais graves, como hipertensão, arritmias, infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral e morte (VACLAVIK et al., 2014). Por conta desses efeitos graves relatados às autoridades, essas substâncias foram proibidas de serem comercializadas em suplementos alimentares (PAWAR & GRUNDEL, 2017).

Contudo, novos compostos amínicos sintéticos foram e continuam sendo criados para manter esse mercado tão lucrativo (RASMUSSEN & KAIZERS, 2015; SCHINDLER et al., 2019). Para justificar que esses suplementos alimentares são seguros, os fabricantes relatam que a origem desses compostos é de fonte natural, advindos de plantas medicinais de uso popular (VENHUIS et al., 2014; COHEN et al., 2016). Muitas das plantas utilizadas nesses suplementos como fonte de amins fisiológicas são ricas em amins traço (AT) (SMITH, 1977). No entanto, vários estudos contradizem os fabricantes desses produtos ao verificar que no conteúdo existem compostos sintéticos (PAWAR et al., 2014).

Compostos sintéticos derivados da β -PEA têm sido largamente introduzidos em “suplementos alimentares” com a promessa de reduzirem a gordura corporal, diminuição da sensação de fadiga, dentre outros efeitos desejados (EICHNER et al., 2016; RICKLI et al., 2019). A adição de compostos sintéticos é uma forma de aumentar a ação farmacológica esperada por esses produtos, diante da baixa concentração nas fontes de amins naturais utilizadas em sua fabricação (RASMUSSEN & KEIZERS, 2015). Um desses compostos sintéticos é a β -metilfeniletilamina (β -MPEA) (PAWAR et al., 2014). Os estudos de Pawar et al. (2014) e Cohen et al. (2016) relataram a presença de β -MPEA em várias marcas de suplementos alimentares produzidos a partir da *acacia rigidula*, evidenciando a presença de compostos sintéticos proibidos de serem comercializados, com o agravante da omissão nas informações de composição dos produtos. *Acacia rigidula* é conhecida por conter grandes quantidades de amins traço, principalmente β -PEA (COHEN et al., 2016). Por ser estruturalmente semelhante à anfetamina e derivados a presença da β -MPEA em suplementos alimentares é proibida por órgãos regulamentadores.

Embora uma grande quantidade de feniletilaminas sintéticas sejam conhecidas, boa parte dos compostos derivativos contém os grupos metil (-CH₃), hidroxila (-OH) ou metoxi (-O-CH₃) (KHAN et al., 2012). Este é o caso dos compostos feniletilamínicos sintéticos incluídos no presente estudo: β -metilfeniletilamina, 1-metil-1-feniletilamina, 1-4-metilfeniletilamina e 2-metoxi-1-feniletilamina (Figura 7).

Figura 7 – Estrutura química das feniletilaminas sintéticas β -metilfeniletilamina, 1-metil-1-feniletilamina, 1-4-metilfeniletilamina e 2-metoxi-1-feniletilamina



Fonte: elaborada pelo autor.

1.1.3 Feniletilaminas no trato gastrintestinal

1.1.3.1 Expressão dos receptores TA_1 em tecidos gastrintestinais

No cérebro, os receptores TA_1 são encontrados em áreas conhecidas por serem associadas com a regulação e o comportamento alimentar (GAINETDINOV et al., 2018). Em tecidos periféricos humanos, os receptores TA_1 foram detectados em órgãos chaves que regulam o metabolismo e a homeostase energética, tais como o pâncreas, estômago e intestino delgado e cólon (REVEL et al., 2013; OHTA et al., 2017; ZUCCHI et al., 2006; ITO et al., 2009).

O receptor TA_1 é expresso em células enteroendócrinas e co-localizadas com a insulina no pâncreas e com GLP-1 e PYY no intestino delgado e células D no estômago (RAAB et al 2016; ADRIAENSSENS et al., 2015). A distribuição desses receptores junto com a produção facilitada de aminas traço provenientes de aminoácido advindos da alimentação faz com que o TA_1 seja um alvo atrativo no envolvimento no controle do metabolismo energético

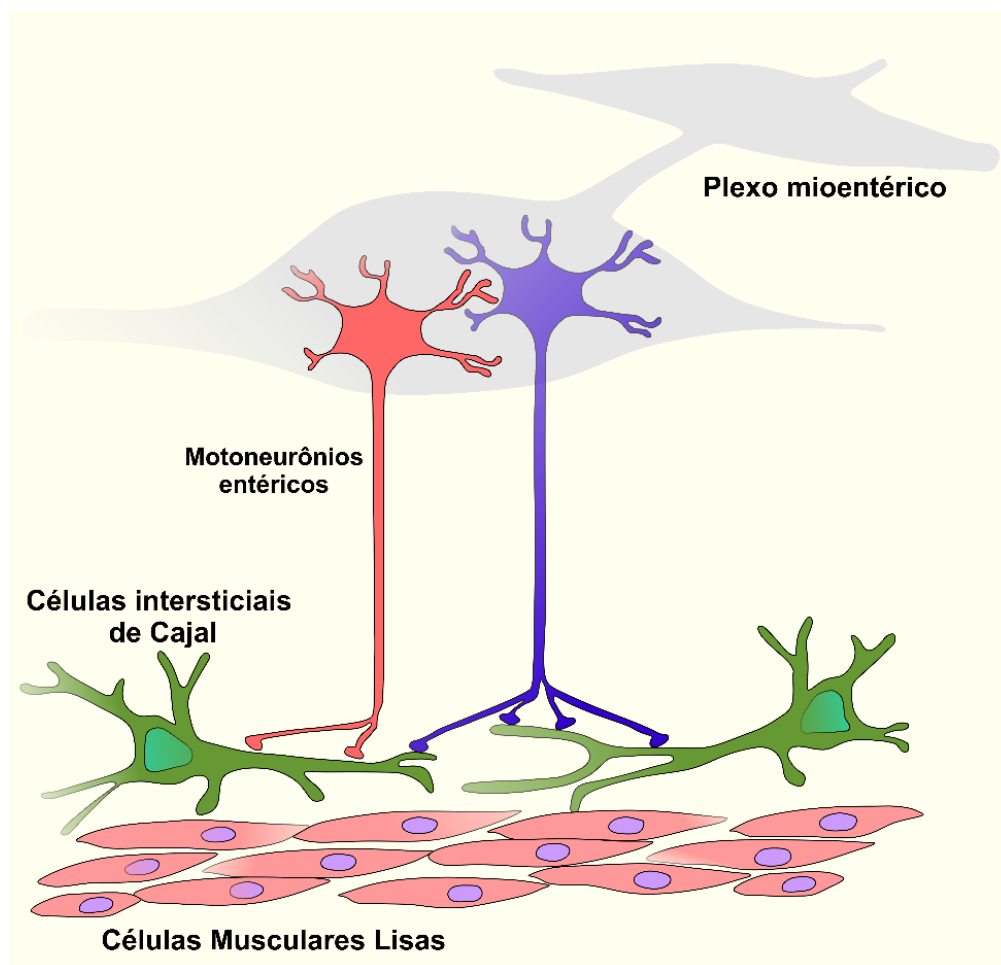
e ingestão de nutrientes, e ainda podendo atuar no controle da função secretora e na motilidade gastrointestinal (GAINETDINOV et al., 2018; ITO et al., 2009; OHTA et al., 2017).

1.1.3.2 Motilidade gastrointestinal

A principal função da motilidade do trato gastrointestinal (TGI) é promover a propulsão através do tubo digestivo, misturar o conteúdo alimentar com as secreções (quimo) e expor esse material às superfícies absorptivas (BOECKXSTAENS et al., 2016; MALAGELADA & MALAGELADA, 2017). Em cada região do trato gastrointestinal, as camadas musculares das paredes ao longo do tubo e as inervações estão organizadas para produzir um padrão motor específico (SANDERS et al., 2006; BITAR et al., 2014).

O comportamento contrátil na maior parte da musculatura lisa no TGI consiste em ciclos espontâneos de contração-relaxamento, demonstrando uma natureza fásica (HANANI et al., 2005; SANDERS et al., 2012). As contrações fásicas no músculo liso gastrointestinal são conduzidas por potenciais elétricos de ondas lentas, as quais são desencadeadas pelas células intersticiais de Cajal (SANDERS, 2006) (Figura 8). A despolarização da célula muscular lisa aumenta a probabilidade da abertura dos canais de cálcio dependentes de voltagem, e com isso iniciando a entrada de Ca^{2+} e a contração (SANDERS et al., 2012). As células intersticiais de Cajal são eletricamente acopladas às células musculares lisas do TGI (figura 8) e promovem momento a momento a modulação da excitabilidade dessas células musculares (WANG et al., 2003; SANDERS et al., 2012).

Figura 8 - Acoplamento elétrico entre as células musculares lisas gastrintestinais e as células intersticiais de Cajal



Fonte: Adaptada de Sanders et al., 2012.

1.1.3.3 Efeitos fisiológicos das feniletilaminas no trato gastrintestinal

No trato gastrintestinal, as feniletilaminas estimulam a liberação de gastrina pelas células G do antro (Dial et al., 1991), bem como aumentam a capacidade da microbiota em aderir às células epiteliais (LUQMAN et al., 2018). Em células enterocromafins humanas, as células neuroendócrinas mais predominantes no trato gastrintestinal e que desempenham papel crucial na secreção e motilidade, as aminas traço promovem a liberação de serotonina (5-HT) de seus estoques intracelulares (KIDD et al., 2008). A maior parte da serotonina encontrada no corpo está presente nas células enterocromafins, e tendo em vista que a 5-HT desempenha importantes ações secretórias e de motilidade, a ingestão de aminas traço parece ser um

estímulo positivo para essas ações (CETIN et al., 1994; BRAUN et al., 2007; KIDD et al., 2008).

As feniletilaminas, também no trato gastrintestinal, demonstraram efeitos contraturantes e relaxantes em tecidos isolados, dependendo da espécie de animal testado e da porção do trato gastrintestinal exposta aos compostos feniletilamínicos (INNES & KOHLI, 1969; CHENG & CHENG, 1988; BROADLEY et al., 2009; BATISTA-LIMA et al., 2019). Em tecidos isolados, efeitos contraturantes e relaxantes foram encontrados em fundo de estomago de ratos (INNES & KOHLI, 1969; BATISTA-LIMA et al., 2019), efeitos contraturantes em íleo de ratos (BROADLEY et al., 2009) e efeitos relaxantes em tecidos de jejuno de coelhos (CHENG & CHENG, 1988). Contudo, ainda não se pode afirmar que esses efeitos sejam desencadeados por meio da ativação de receptores do tipo TA₁ (GAINETDINOV et al., 2018).

De modo semelhante às aminas traço, as poliaminas alifáticas (putrescina, espermidina, espermina e cadaverina) são encontradas tanto em seres eucariontes como procariontes e são provenientes do metabolismo de aminoácidos (GAINETDINOV et al., 2018). As poliaminas espermina, espermidina e putrescina desencadeiam efeitos inibitórios em tecidos gástricos de cobaios (KIM et al., 2008). Efeitos inibitórios das poliaminas cadaverina, espermina, espermidina e putrescina também foram demonstrados nas contrações espontâneas fásicas de tecidos intestinais de íleo e cólon de camundongos (SÁNCHEZ et al., 2017).

Também em experimentos *in vitro*, a anfetamina, feniletilamina sintética, demonstrou ser capaz de contrair tecidos gastrintestinais, tais como, fundo gástrico de ratos, porções de íleo de cobaios e jejuno de coelhos (INNES, 1963; INNES & KOHLI, 1969). E ainda, essas ações contraturantes da anfetamina parecem ser decorrentes da ativação de receptores serotoninérgicos (INNES, 1963; INNES & KOHLI, 1969; VACCARI & VERTUA, 1970). Esse perfil contraturante da anfetamina em tecidos gastrintestinais se opõe aos efeitos relaxantes ocasionados por agentes simpaticomiméticos nesses segmentos gastrintestinais (INNES & KOHLI, 1969). Contudo, em experimentos *in vivo*, a administração de anfetamina demonstrou retardar o esvaziamento gástrico de líquidos, tal efeito foi revertido pelo tratamento com antagonista de receptor de colecistocinina (DOONG et al., 1998).

Portanto, as feniletilaminas, fisiológicas ou sintéticas, são capazes de modular o perfil motor gastrintestinal, no entanto, quais receptores e vias pelas quais essas respostas são desencadeadas ainda precisam ser melhores estudadas para uma compreensão mais abrangente desse tópico.

2 JUSTIFICATIVA

A utilização de compostos feniletilamínicos em suplementos alimentares como recurso ergogênico cresceu de forma significativa a partir do final do século XX e continua crescendo atualmente (EUDY et al., 2013; PAWAR et al., 2014; VENHUIS et al., 2014; COHEN et al., 2015; PAWAR & GRUNDEL, 2016; RICKLI et al., 2019). Esses compostos são estruturalmente semelhantes às catecolaminas, noradrenalina, dopamina, serotonina e adrenalina e compostos sintéticos como anfetaminas e derivados. Assim, se espera que seus efeitos fisiológicos sejam semelhantes a tais compostos. Já foi demonstrado que catecolaminas promovem efeitos excitatório e ou inibitórios na contratilidade do trato gastrintestinal dependendo do segmento estimulado e da espécie estudada (DE PONTI et al., 1996; TANIYAMA et al., 2000; KOMADA, YANO, 2007). Aminas traço e compostos feniletilamínicos sintéticos também já foram demonstrados possuir ações na contratilidade de tecidos gastrintestinais (INNES & KOHLI, 1969; CHENG & CHENG, 1988; BROADLEY et al., 2009; BATISTA-LIMA et al., 2019). Contudo, os trabalhos presentes na literatura até o momento se detiveram em estudar, na maioria das vezes, apenas uma região do trato gastrintestinal e poucos investigaram efeitos na motilidade.

Portanto, diante da reconhecida expressão de receptores de aminas traço em diversos órgãos do trato gastrintestinal, da grande produção de feniletilaminas por bactérias intestinais e do consumo de alimentos e utilização de suplementos alimentares com a presença de compostos feniletilamínicos naturais e sintéticos, é imprescindível conhecer os efeitos fisiológicos desses compostos no trato gastrintestinal, pois estes tecidos são bastante expostos a essas aminas. Assim, o presente trabalho investigou os efeitos das feniletilaminas fisiológicas β -feniletilamina e octopamina, e das feniletilaminas sintéticas 1-4-metilfeniletilamina, 2-metoxi-1-feniletilamina, 1-metil-1-feniletilamina e β -metilfeniletilamina, na contratilidade de tecidos isolados gastrintestinais e na motilidade gastrintestinal de líquidos em ratos.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Estudar os efeitos das feniletilaminas β -feniletilamina, octopamina, 1-4-metilfeniletilamina, 2-metoxi-1-feniletilamina, 1-metil-1-feniletilamina e β -metilfeniletilamina em aspectos motores do trato gastrintestinal de ratos

3.2 Específicos

Verificar os efeitos das feniletilaminas citadas:

- Na contratilidade de tecidos isolados do trato gastrintestinal de ratos mantidos sob tônus basal;
- Na contratilidade de tecidos isolados do trato gastrintestinal de ratos mantidos pré-contraídos com agonista muscarínico;
- No perfil das contrações rítmicas espontâneas em tecidos intestinais;
- No perfil das contrações rítmicas em tecidos intestinais estimulados previamente com agonista muscarínico;
- Avaliar a participação de receptores muscarínicos, serotoninérgicos e de aminas traço nos efeitos desses compostos na contratilidade de tiras isoladas de fundo de estômago e em tecidos de intestino delgado de rato;
- Investigar os efeitos da administração in vivo das feniletilaminas β -metilfeniletilamina e octopamina na motilidade gastrintestinal de líquidos.

4 METODOLOGIA

4.1 Animais

Foram utilizados ratos Wistar, machos, pesando 240 - 280 gramas, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Ceará (UFC). Os animais foram mantidos com água e alimentação *ad libitum*. Todos os animais foram tratados de acordo com as normas de manipulação de animais de laboratório conforme o Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). Todos os procedimentos realizados passaram por aprovação na Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA – UFC) da Universidade Federal do Ceará (UFC), com número de protocolo 28/16.

4.2 Fármacos utilizados

Os fármacos utilizados, destacados logo abaixo, foram todos adquiridos da Sigma-Aldrich (Saint Louis, MO, E.U.A):

Tabela 1 – Fármacos utilizados

FÁRMACO	Nº CAS	CONCENTRAÇÃO
β -metilfeniletilamina	582-22-9	10 – 1000 μ M
Octopamina	770-05-8	10 – 1000 μ M
β -feniletilamina	64-04-0	10 – 1000 μ M
1-metil-1-feniletilamina	585-32-0	10 – 1000 μ M
1-4-metilfeniletilamina	586-70-9	10 – 1000 μ M
2-metoxi-1-feniletilamina	64715-85-1	10 – 1000 μ M
Carbacol	51-83-2	1 μ M
EPPTB	1110781-88-8	50 μ M
Atropina	5908-99-6	1 μ M
Ioimbina	146-48-5	50 nM
Metiotepina	74611-28-2	500 nM
Ciproheptadina	41354-29-4	100 nM
Ritanserina	87051-43-2	300 nM
Ketanserina	83846-83-7	1 μ M

Iloperidona	133454-47-4	200 nM
Tropisetrona	105826-92-4	500 nM
RO5263397	1357266-05-7	1 – 100 μ M
Zacoprida	101303-98-4	10 – 100 μ M

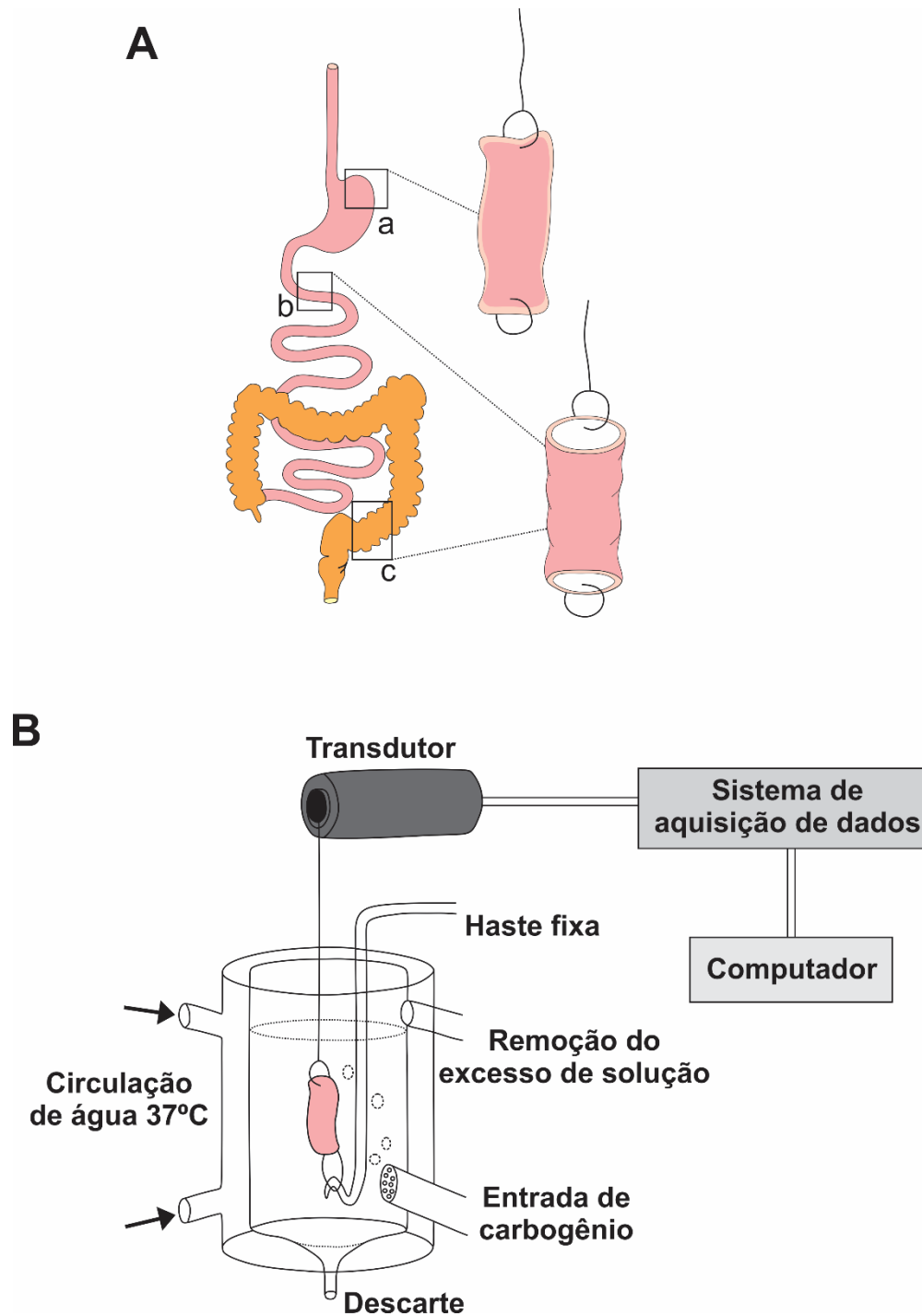
4.3 Preparações isoladas de tecidos gastrintestinais

Para o estudo dos efeitos das feniletilaminas, preparações isoladas de tecidos gastrintestinais de rato (fundo de estômago, segmentos proximal, medial e distal de intestino delgado e preparações de cólon) foram montadas em sistema de banho para órgãos isolados, permitindo a avaliação da contratilidade. Primeiramente, os animais foram eutanasiados por exsanguinação após prévia anestesia com tribromoetanol (250 mg/kg) imediatamente antes do início dos protocolos experimentais para obtenção dos tecidos de diferentes segmentos gastrintestinais.

Após laparotomia, os tecidos gastrintestinais de fundo de estômago e intestinos (proximal, medial e distal) ou cólon, foram cuidadosamente removidos e transferidos para placas de Petri contendo solução de Tyrode (composição em mM: NaCl, 136; KCl, 5; MgCl₂, 0,98; NaH₂PO₄, 0,36; CaCl₂, 2; NaHCO₃, 11,9; glicose, 5,5) devidamente aerada com mistura carbogênica (5% de CO₂ e 95% de O₂), mantida inicialmente em temperatura ambiente. Depois de apropriada dissecação, os mesmos foram cortados de forma longitudinal, sendo o estômago aberto pela curvatura menor e cortado no formato de tiras. Por sua vez, os tecidos intestinais foram cortados em segmentos de aproximadamente 1 cm e ambos foram transferidos em seguida para câmaras de banho para órgãos isolados contendo 5 ml de solução nutritora (Figura 9), pH 7,4, aerada continuamente com mistura carbogênica (5% de CO₂ e 95% de O₂) e mantida a 37°C pelo uso de bomba de circulação equipada com termostato.

As tiras de tecido foram conectadas a dois pontos, um fixo na câmara e outro conectado à unidade transdutora de força apropriada para registro das contrações isométricas (ML870B60/C-V, AD Instruments, Sydney, Australia). Os sinais gerados pelo transdutor de força foram amplificados e registrados em um sistema digital de aquisição (PowerLab™ 8/30, AD Instruments).

Figura 9 – Ilustração da montagem dos tecidos no sistema de contratilidade para tecidos isolados



Fonte: elaborado pelo autor.

Na **figura 9A** são mostradas as regiões das quais os tecidos gastrintestinais foram retirados. a = fundo de estômago; b = intestino delgado porção proximal (as porções medial e distal também foram utilizadas nos experimentos); c = cólon distal.

Na **figura 9B** é demonstrado de forma ilustrativa o sistema de banho para tecidos isolados que está acoplado a um transdutor de força e ao sistema de aquisição de dados.

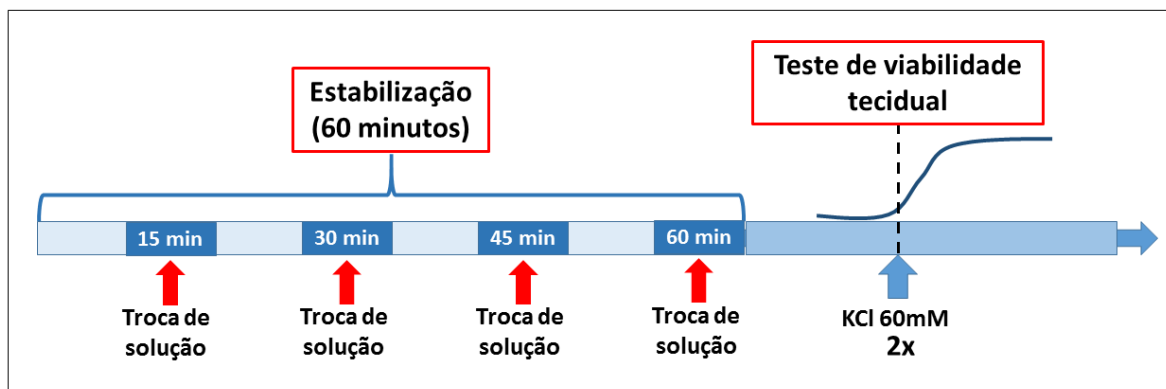
4.4 Avaliação da contratilidade em tecidos gastrintestinais isolados

4.4.1 Estabilização e viabilidade tecidual das preparações

Os protocolos experimentais foram iniciados apenas após o período de estabilização das preparações e teste de viabilidade tecidual. A tensão aplicada a cada segmento foi inicialmente ajustada em 1 g. O período de estabilização médio foi de 1 h com troca do líquido de incubação a cada 15 min. Os tecidos foram estimulados visando a obtenção de contrações de referência para avaliar inicialmente a responsividade tecidual. Em todas as preparações isoladas de tecidos gastrintestinais, contrações iniciais foram induzidas pela adição de alta concentração de KCl (60 mM) e esse procedimento foi repetido até que duas contrações de mesma magnitude fossem observadas (Figura 10). Nesse momento o tecido foi considerado viável para que os protocolos experimentais fossem executados.

As contrações foram consideradas como a deflexão positiva dos traçados experimentais registrados no software de aquisição de dados e foram medidas pela diferença entre o valor do pico da deflexão e o valor registrado no traçado de tensão basal observada antes da adição de dado agente contraturante. Os relaxamentos foram considerados pela deflexão negativa do traçado. Todos os tecidos isolados foram utilizados em apenas uma sessão experimental. Os procedimentos citados acima são inerentes a todos os protocolos, os quais serão descritos a seguir.

Figura 10 – Estabilização e teste de viabilidade tecidual



Fonte: elaborado pelo autor.

4.4.2 Protocolos experimentais

Inicialmente os protocolos experimentais na investigação da ação das feniletilaminas na contratilidade de tecidos gastrintestinais isolados de ratos foram divididos em duas séries de experimentos, como será descrito a seguir.

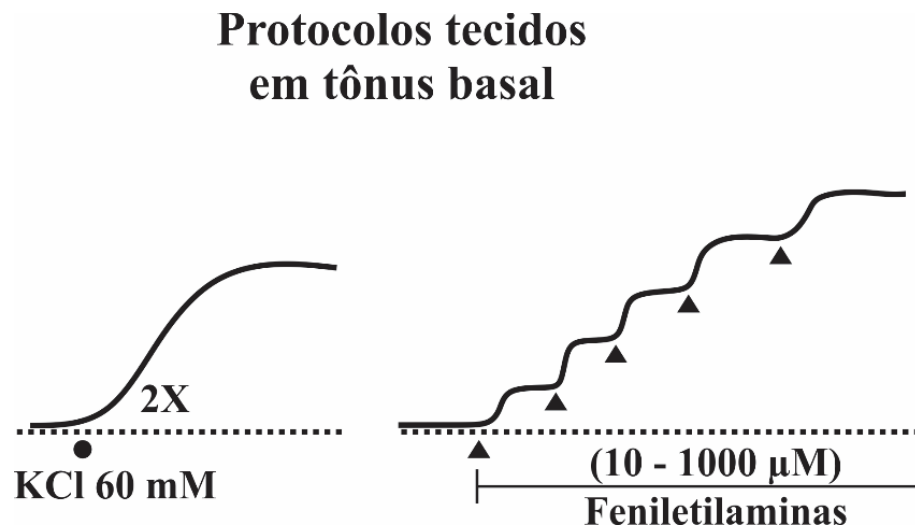
4.4.2.1 Série experimental 1

Na primeira série de experimentos foram analisados os efeitos da adição de concentrações crescentes (10 – 1000 μM) das feniletilaminas (1-4-metilfeniletilamina, 2-metoxi-1-feniletilamina, 1-metil-1-feniletilamina, β -feniletilamina, β -metilfeniletilamina ou octopamina) em tecidos mantidos sob tónus de repouso (Figura 11).

Para isso, primeiramente os tecidos passaram pelo período de estabilização padrão, com o posterior teste de viabilidade tecidual pela adição de KCl 60 mM.

Assim, após o teste de viabilidade tecidual era iniciado a adição de concentrações crescentes (10 – 1000 μM) da feniletilamina a ser testada naquele tecido (fundo de estômago, intestino delgado proximal, medial e distal ou cólon distal). Cada tecido era exposto a apenas uma feniletilamina por experimento. O grupo controle consistiu na adição de solução de Tyrode (solução de diluição das feniletilaminas) nos mesmos volumes utilizados em cada concentração das aminas testadas. Entre cada adição de solução de Tyrode foi permitido o tempo de 4 min (mesmo tempo entre a adição das concentrações das feniletilaminas testadas (5 adições de Tyrode). Assim, o tempo total do controle foi de 20 min.

Figura 11 – Adições de concentrações crescentes das feniletilaminas em tecidos sob tônus de repouso



Fonte: elaborada pelo autor.

Figura 11 – Esquema representativo do procedimento experimental em tecidos gastrintestinais sob tônus de repouso e estimulados com as feniletilaminas testadas adicionadas em concentrações crescentes (1 - 1000 µM).

4.4.2.2 *Série experimental 2*

Na segunda série de experimentos foram analisados os efeitos da adição de concentrações crescentes (10 – 1000 µM) das feniletilaminas (1-4-metilfeniletilamina, 2-metoxi-feniletilamina, 1-metil-1-feniletilamina, β-feniletilamina, β-metilfeniletilamina ou octopamina) em tecidos previamente contraídos pela estimulação de carbacol (CCh) na concentração de 1 µM (Figura 12).

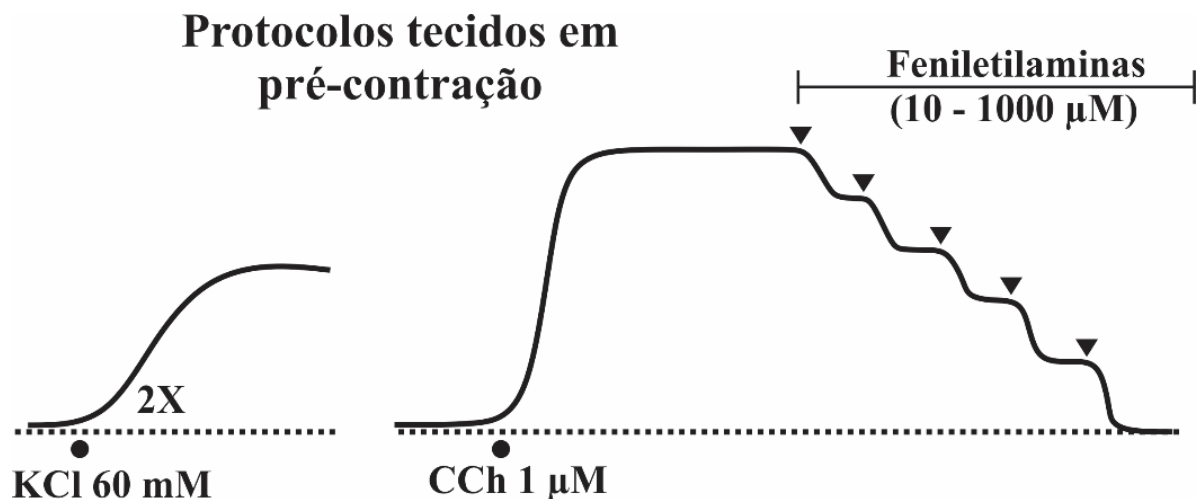
Assim como descrito anteriormente na série 1, primeiramente os tecidos passaram pelo período de estabilização padrão, com o posterior teste de viabilidade tecidual pela adição de KCl 60 mM. Os demais experimentos não passaram pelo procedimento controle citado anteriormente.

Em seguida, após o término do procedimento controle foi realizada a troca da solução de banho dos tecidos para uma nova pré-contração com CCh 1 µM. Assim, após a contração atingir um platô, as feniletilaminas foram adicionadas em concentrações crescentes (10 – 1000 µM) em cada tecido (fundo de estômago, intestino delgado proximal, medial e distal

e cólon distal), (Figura 12). Cada tecido foi exposto a apenas uma feniletilamina por experimento.

O grupo controle consistiu na adição de solução de Tyrode (solução de diluição das feniletilaminas) nos mesmos volumes utilizados em cada concentração das aminas testadas. Contudo, antes da adição do volume correspondente as concentrações das feniletilaminas testadas, os tecidos foram pré-contraídos com CCh 1 μ M. Entre cada adição de solução de Tyrode foi permitido o tempo de 4 min (mesmo tempo entre a adição das concentrações das feniletilaminas testadas (5 adições de Tyrode). Assim, o tempo total do controle foi de 20 min.

Figura 12 – Adições de concentrações crescentes das feniletilaminas em tecidos pré contraído com carbacol 1 μ M



Fonte: elaborada pelo autor.

Figura 12 – Esquema representativo do procedimento experimental em tecidos gastrintestinais previamente contraídos com carbacol, com posterior estimulação com as feniletilaminas testadas adicionadas em concentrações crescentes (1 - 1000 μ M).

4.4.3 Medida das contrações rítmicas nos tecidos de intestino delgado e do cólon

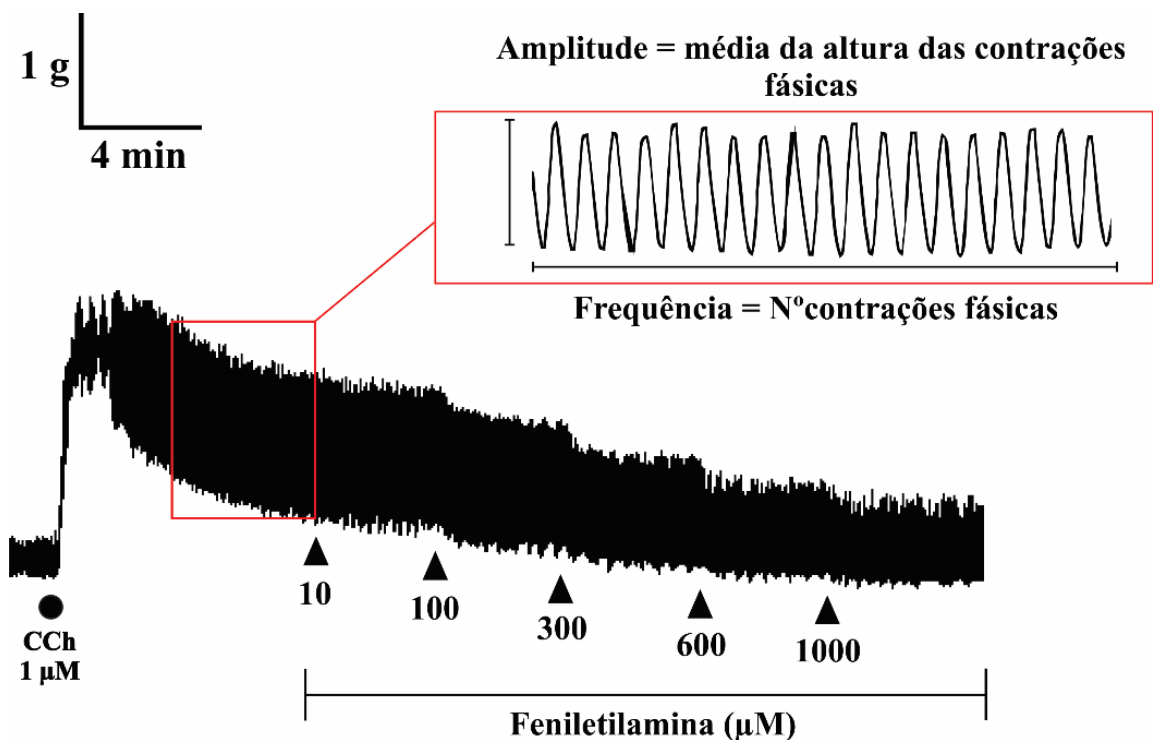
Os tecidos de intestino delgado, porções proximal, medial e distal, e cólon (distal), tiveram suas contrações rítmicas espontâneas quantificadas e expressas graficamente. A quantificação dessas contrações fásicas envolveu medidas da amplitude e frequência.

As medidas da amplitude das contrações consideraram a magnitude pico a pico das contrações fásicas no tempo de 1 minuto imediatamente antes da adição das feniletilaminas e igual período de registro após a adição de cada concentração das feniletilaminas (Figura 13).

A medida da frequência das contrações espontâneas foram realizadas pela contagem dos picos das contrações em 1 (um) minuto, anterior à adição de feniletilaminas, e comparado ao número de contrações no mesmo período de tempo entre cada concentração de feniletilamina adicionada à preparação (Figura 13). Esse procedimento foi realizado tanto para os tecidos da série 1 como das séries 2 de protocolos experimentais.

Por fim, as representações gráficas foram expressas em percentual da amplitude ou frequência das contrações fásicas no período de tempo antes da adição de qualquer das feniletilaminas testadas. Os controles foram os mesmos das séries 1 e 2 descritos na seção anterior. Assim, nos tecidos intestinais que passaram pelo procedimento controle foram quantificadas a amplitude e a frequência de suas contrações fásicas.

Figura 13 – traçado típico de tecido intestinal demonstrando a ocorrência de contrações fásicas

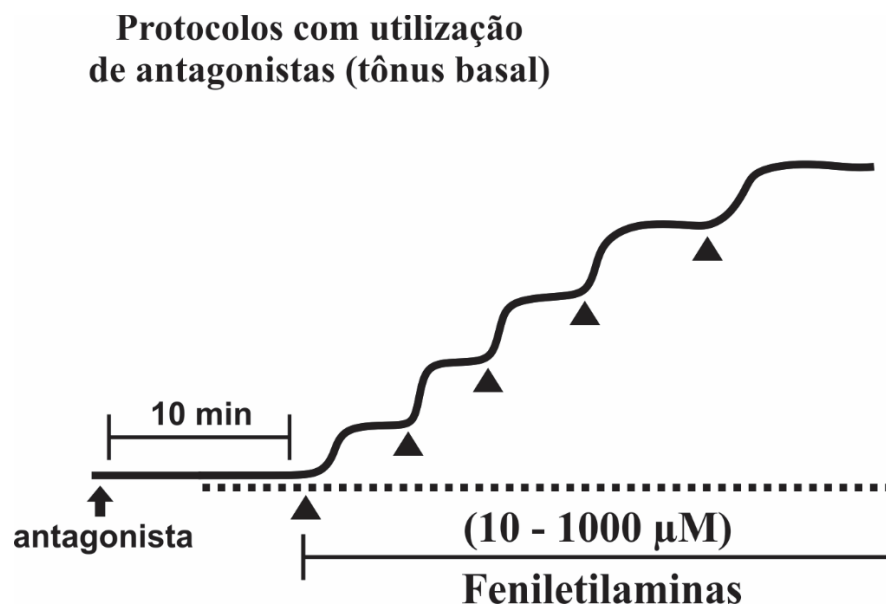


Fonte: elaborada pelo autor.

4.4.4 Protocolos de contratilidade com utilização de antagonistas em tecidos gastrintestinais mantidos sob tónus de repouso

Após a verificação da ação das feniletilaminas na contratilidade de tecidos gastrintestinais sob tónus de repouso foram realizados procedimentos experimentais com a utilização de antagonistas farmacológicos. A realização desses experimentos seguiu os mesmos passos iniciais descritos nos protocolos anteriores, com o teste inicial de viabilidade tecidual com estimulação com KCl 60 mM. Em seguida os antagonistas foram adicionados e após 10 min foram realizadas as adições crescentes da feniletilaminas testadas nesses protocolos experimentais (Figura 14).

Figura 14 – Adições crescentes das feniletilaminas em tecidos sob tónus de repouso na presença de antagonistas



Fonte: elaborada pelo autor.

Figura 14 – Esquema representativo do procedimento experimental em tecidos gastrintestinais sob tónus de repouso, na presença de antagonista e estimulados com as feniletilaminas testadas adicionadas em concentrações crescentes (1 - 1000 µM).

Os antagonistas e suas concentrações utilizados nesses protocolos estão listados a seguir (Tabela 2).

Tabela 2 – Antagonistas utilizados no protocolo de adições crescentes de feniletilaminas em tecidos gastrintestinais sob tónus de repouso

Antagonista	Concentração
EPPTB / TA ₁	50 µM
Atropina / M ₁ – M ₄	1 µM
Ioimbina / 5-HT _{2B, 1F}	50 nM
Metiotepina / 5-HT _{5A, 6, 7}	500 nM
Ciproheptadina / 5-HT _{6, 7}	100 nM
Ritanserina / 5-HT _{2A, 2B, 6, 7}	300 nM
Ketanserina / 5-HT _{2A, 2B, 7}	1 µM
Iloperidona / 5-HT _{1A, 6, 7}	200 nM
Tropisetrona / 5-HT ₄	500 nM

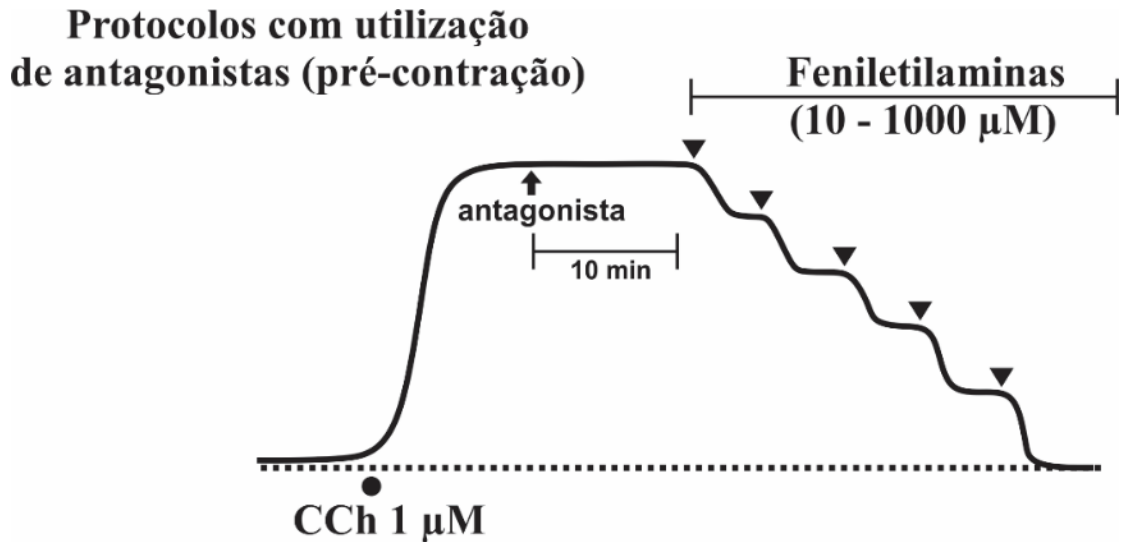
4.4.5 Protocolos de contratilidade com utilização de antagonistas em tecidos gastrintestinais pré-contraídos

A utilização de antagonistas farmacológicos de alguns receptores também foi realizada em protocolos com tecidos gastrintestinais pré-contraídos com carbacol na concentração de 1 µM. Assim, objetivou-se verificar se as respostas com a adição de concentrações crescentes das feniletilaminas poderiam ser promovidas por agir nos receptores antagonizados por esses antagonistas.

Portanto, o procedimento experimental foi iniciado como padrão através da realização do teste de viabilidade tecidual. Em seguida após a troca de solução de banho e aguardado o tempo para a tensão se reestabelecer foi adicionado CCh 1 µM para dar um estímulo contraturante. E então, após a contração atingir um platô o antagonista de interesse foi adicionado, sendo aguardado o tempo de 10 min para que as adições crescentes das feniletilaminas fossem acrescentadas a solução de banho tecidual (Figura 15). Os antagonistas

utilizados nesses experimentos foram o EPPTB (50 μM ; antagonista de receptores TA_1) e tropisetrona (500 nM; antagonista de receptores 5-HT₄).

Figura 15 - Adições crescentes das feniletilaminas em tecidos pré-contraídos na presença de antagonistas



Fonte: elaborada pelo autor.

Figura 15 – Esquema representativo do procedimento experimental em tecidos gastrintestinais previamente contraídos com carbacol, com posterior estimulação com as feniletilaminas testadas adicionadas em concentrações crescentes (1 - 1000 μM) na presença de antagonistas.

4.5 Avaliação da motilidade gastrintestinal

A verificação dos efeitos das feniletilaminas β -metilfeniletilamina e octopamina na motilidade gastrintestinal de líquidos foi realizada mediante a técnica de diluição de corante, descrita inicialmente por Reynell & Spray (1956). Primeiramente, nos animais do grupo teste foram administradas por via intraperitoneal as feniletilaminas na dose 30 mg/kg.

Em seguida, transcorridos 30 min, os ratos receberam mediante sonda orogástrica a refeição teste (solução glicosada a 5% contendo vermelho fenol, 0,75 mg/ml). Após um período pós-prandial de 10 min os ratos foram eutanasiados via *overdose* letal de anestésico (tiopental 50 mg/kg, i.v).

Após o término de cada protocolo (dose administrada e período de tempo pós-prandial), os animais foram eutanasiados e, em seguida foi realizada uma laparotomia mediana seguida de ligaduras obstrutivas no piloro e na cárdia, permitindo a retirada do estômago e dos

intestinos, os quais foram delicadamente estendidos sobre uma mesa. O intestino delgado foi então dividido em três segmentos consecutivos, a saber: proximal (40% iniciais), medial (30%) e distal (30% finais).

Em seguida, o estômago e cada segmento intestinal foram colocados numa proveta graduada contendo 100 ml de NaOH a 0,1 M, para medição do volume. Então, os segmentos foram fragmentados e homogeneizados com auxílio de liquidificador manual, sendo retirados 10 ml do sobrenadante para centrifugação (2800 rpm por 10 min).

Após a centrifugação, foram coletados 5 ml do sobrenadante e acrescentado 0,5 ml de solução de ácido tricloroacético (TCA - 20%) a fim de precipitar as proteínas teciduais. Em seguida, nova centrifugação foi realizada (20 min a 2800 rpm), e então, foram retirados 3 ml do sobrenadante aos quais foram adicionados a 4 ml de NaOH a 0,5 M para determinação final da absorbância das amostras pelo método colorimétrico, com o auxílio de um leitor de Elisa (Spectronic 20 Genesis).

Por fim, foi determinada a massa (m) de vermelho fenol existente em cada segmento ($m=C \times \text{volume}$). A retenção de vermelho fenol em cada segmento foi calculada pela equação:

$$\text{Retenção Fracional do Segmento} = \frac{\text{Retenção Segmento (X)} \times 100}{\text{Retenção Estômago} + \text{Retenção Intestino}}$$

Taxa de esvaziamento gástrico (%) = Retenção Fracional do Estômago

4.6 Análise Estatística

Os dados foram expressos como média \pm erro padrão da média, com “n” representando o número de experimentos. A magnitude dos efeitos contraturante ou relaxantes foi expresso como percentual de uma contração de referência como indicados nas seções apropriadas. As diferenças estatísticas nos experimentos de contratilidade foram avaliadas por *one-way* ou *two-way* ANOVA, seguido de teste de Holme-Sidak. Já para os experimentos de motilidade gastrintestinal de líquidos foi utilizado o teste de Mann-Whitney. O nível de significância “P” para assumir diferença estatística foi estabelecido como ($P < 0,05$).

5 RESULTADOS

A seguir serão descritos os resultados da investigação dos efeitos contráteis das feniletilaminas (1-4-metilfeniletilamina (1-4-MPEA), 2-metoxi-1-feniletilamina (2-M-PEA), 1-metil-1-feniletilamina (1-M-1-PEA), β -feniletilamina (β -PEA), β -metilfeniletilamina (β -MPEA) e octopamina em tecidos isolados do trato gastrointestinal de ratos.

As porções do trato gastrointestinal das quais foram retirados os tecidos para a realização da avaliação da contratilidade foram fundo de estômago, intestino delgado (proximal, medial e distal) e a porção distal do cólon. Uma particularidade dos tecidos intestinais é a presença de contrações rítmicas espontâneas. Portanto, para os tecidos de intestino delgado e cólon foram analisados, além da tensão isométrica, a frequência e a amplitude dessas contrações fásicas.

A apresentação dos resultados será feita em duas seções. Na primeira (parte I), serão mostrados os resultados referentes aos experimentos que investigaram os efeitos das feniletilaminas na contratilidade dos tecidos gastrintestinais mantidos sob tônus de repouso e também os resultados dos experimentos com estimulações prévias dos tecidos com agente contraturante conhecido. De início, serão descritos os resultados dos tecidos gástricos de fundo de estômago, seguidos das três porções intestinais (proximal, medial e distal) e por fim os tecidos distais do cólon.

Na parte II serão apresentados os resultados presentes no artigo intitulado “*Differential effects of β -methylphenylethylamine and octopamine on contractile parameters of the rat gastrointestinal tract*”, proveniente da presente tese. Esses resultados comparam os efeitos das feniletilaminas β -metilfeniletilamina (β -MPEA) e octopamina na contratilidade de tecidos isolados de fundo de estômago e porção proximal intestinal, mediante abordagens farmacológicas com utilização de antagonistas para investigar possíveis vias mais específicas de atuação. E ainda, serão apresentados resultados dessas duas feniletilaminas na motilidade gastrointestinal de líquidos.

5.1 Parte I - Efeitos contráteis das feniletilaminas 1-4 metilfeniletilamina, 2-metoxi-1-feniletilamina, 1-metil-1-feniletilamina, β -feniletilamina, β -metilfeniletilamina e octopamina em tecidos gastrintestinais

5.1.1 Efeitos na contratilidade de tecidos gastrintestinais mantidos sob tônus basal

A seguir serão descritos os resultados de contratilidade obtidos com a realização de curvas concentração-efeito (10 – 1000 μ M) dos 6 (seis) compostos feniletilamínicos 1-4-metilfeniletilamina (1-4-MPEA), 2-metoxi-1-feniletilamina (2-M-PEA), 1-metil-1-feniletilamina (1-M-1-PEA), β -feniletilamina (β -PEA), β -metilfeniletilamina (β -MPEA) e octopamina em tecidos isolados de fundo gástrico de ratos e em tecidos intestinais mantidos em condição de tônus basal. Na figura 16, destacamos os efeitos dos compostos sintéticos β -MPEA, 1-M-1-PEA e a amina traço β -PEA demonstrando perfil contrátil excitatório com diferenças significativas no efeito máximo com valores de $77,8 \pm 6,4\%$, $27,4 \pm 5,0\%$ e $69,8 \pm 13,9$, respectivamente, em comparação com o grupo controle $0,15 \pm 0,2\%$ (valores expressos como % da contração de referência induzida por KCl 60 mM; $P < 0,05$ *two-way* ANOVA, seguido de teste de Holm-Sidak). Diferença significativa também foi encontrada para a octopamina em comparação ao controle, com valor máximo de $-21,9 \pm 4,6\%$ ($P < 0,05$), porém, apresentando efeito relaxante. Não foram encontradas diferenças entre as curvas concentração-efeito dos compostos 1-4-MPEA e 2-M-PEA em relação ao grupo controle ($P > 0,05$).

Figura 16 – Efeitos contráteis excitatórios ou inibitórios promovidos por compostos fenetilamínicos em tecidos isolados de fundo de estômago de rato mantidos sob tônus basal

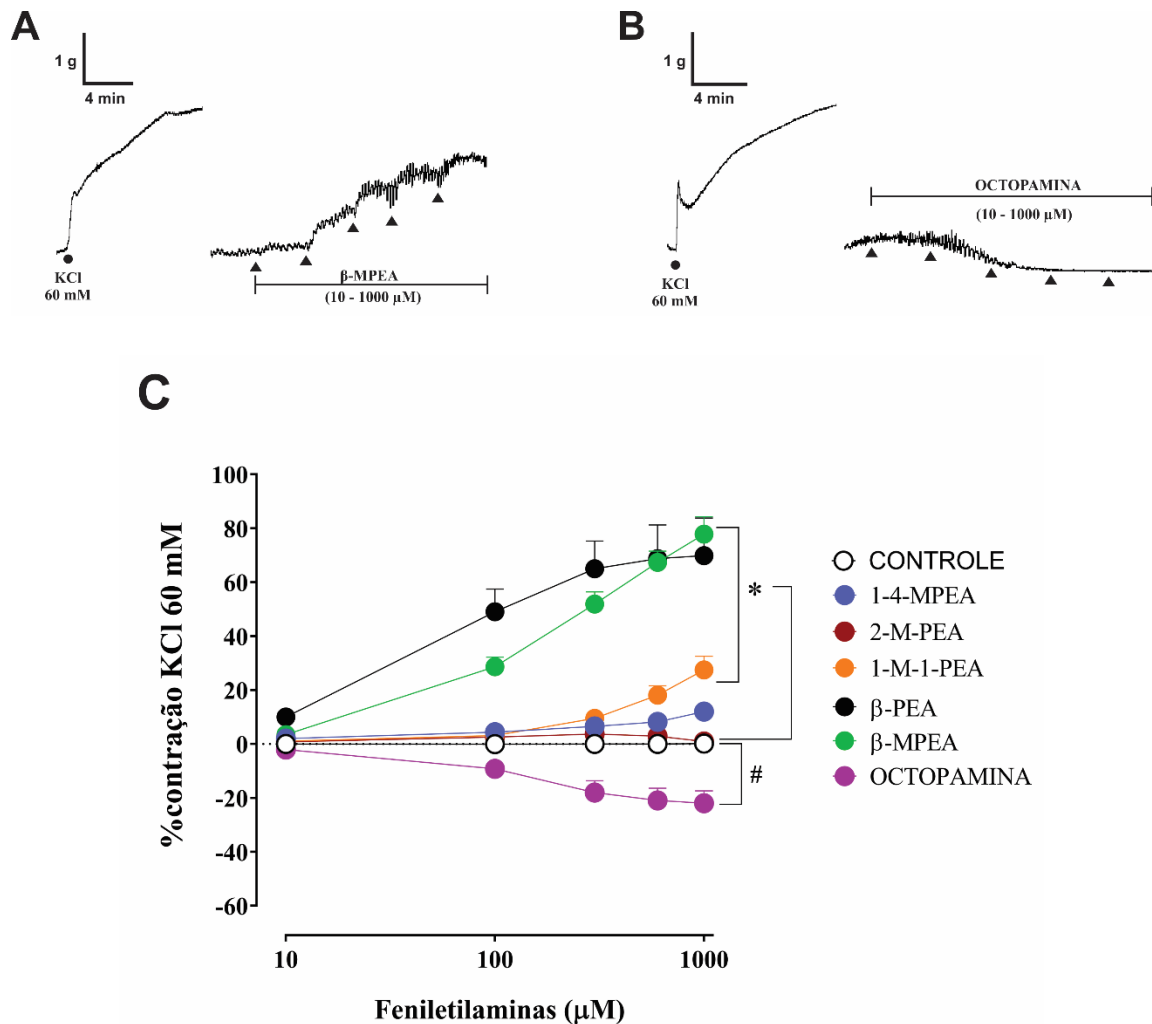


Figura 16A – Traçado típico de experimento com adição de concentrações crescentes da β -MPEA (10 – 1000 μ M) em tecidos de fundo de estômago sob tônus basal.

Figura 16B – Traçado típico de experimento com adição de concentrações crescentes da OCTOPAMINA (10 – 1000 μ M) em tecidos de fundo de estômago sob tônus basal.

Figura 16C – Gráfico com valores médios das respostas a concentrações crescentes (10 – 1000 μ M) das feniletilaminas 1-4-MPEA ●, n = 8; 2-M-PEA ●, n = 12; 1-M-1-PEA ●, n = 15; β -PEA ●, n = 11; β -MPEA ●, n = 11; OCTOPAMINA ●, n = 8; em tiras isoladas de fundo de estômago de ratos sobre tônus de repouso. Valores expressos em percentual da contração em resposta ao KCl 60 mM. * = P < 0,05 em comparação com o grupo CONTROLE ○, n = 7. # = P < 0,05 em comparação com o grupo controle, respostas inibitórias.

Na porção proximal do intestino, a construção de curva concentração-efeito mostra que apenas 1-M-1-PEA e 1-4-MPEA apresentaram ação contrátil (Figura 17), comparadas na mesma ordem de concentração (10 – 1000 μ M) com as demais aminas. Contudo, apenas 1-M-1-PEA apresentou diferença significativa no efeito máximo (23,1 \pm 5,3%) em comparação com o grupo controle (2,0 \pm 5,1%) (valores expressos como % da contração induzida por KCl 60 mM; $P < 0,05$ *two-way* ANOVA, seguido de teste de Holm-Sidak), (Figura 17C). Já as aminas β -PEA, 2-M-PEA e octopamina apresentaram efeitos contráteis inibitórios com a adição de concentrações crescentes (10 – 1000 μ M). Todas elas apresentaram efeitos máximos com diferenças significativas em comparação com o grupo controle com valores respectivos de -36,8 \pm 5,3%, -21,6 \pm 7,0% e -28,2 \pm 6,2% vs. 2,0 \pm 5,1 ($P < 0,05$), (Figura 17C).

Na porção medial do intestino, 1-M-1-PEA (10 – 1000 μ M) apresentou perfil contrátil excitatório com diferença significativa no efeito máximo com valor de 19,0 \pm 4,1% vs. 6,5 \pm 5,3% do controle (valores expressos como % da contração de referência induzida por KCl 60 mM; $P < 0,05$ *two-way* ANOVA, seguido de teste de Holm-Sidak), (Figura 17D). O efeito inibitório na tensão dos tecidos da porção medial foi significativamente diferente para as curvas concentração-efeito dos compostos β -PEA, 2-M-PEA e octopamina com valores obtidos de -22,0 \pm 5,6%, -19,6 \pm 7,1%, -26,3 \pm 4,9% vs. 6,5 \pm 5,3% ($P < 0,05$), (Figura 17D). As aminas β -MPEA e 1-4-MPEA não apresentaram respostas contraturantes excitatórios ou inibitórias com diferença estatística ($P > 0,05$), (Figura 2B).

Os efeitos contráteis das feniletilaminas aqui estudadas na porção distal do intestino foram excitatórios para três delas (1-4-MPEA, 1-M-1-PEA e β -MPEA), com diferenças significativas nas respostas máximas com valores de 13,4 \pm 3,4%, 17,9 \pm 4,3 e 9,9 \pm 5,0%, respectivamente (valores expressos como % da contração de referência induzida por KCl 60 mM; $P < 0,05$), (Figura 17E). Já para as outras três aminas (octopamina, 2-M-PEA e β -PEA) foram obtidas diferenças significativas, porém com respostas contráteis inibitórias, onde os valores encontrados foram respectivamente de -28,2 \pm 6,2%, -17,0 \pm 1,4% e -18,6 \pm 5,4% vs. 0,5 \pm 1,6 do controle ($P < 0,05$), (Figura 17E).

Na porção distal do cólon, em segmentos isolados, as aminas 1-M-1-PEA e octopamina apresentaram respostas contráteis com diferenças significativas em relação ao controle. No entanto, essas aminas evocaram efeitos opostos, enquanto a 1-M-1-PEA promoveu ação contrátil excitatória com o efeito máximo no valor de 27,0 \pm 4,2% vs. -1,2 \pm 2,8% do controle, a octopamina desencadeou resposta contrátil inibitória com efeito máximo de -26,2 \pm 5,3 (valores expressos como % da contração de referência induzida por KCl 60 mM; $P < 0,05$), (Figura 17F).

Figura 17 – Efeitos contráteis das feniletilaminas em tecidos isolados nas porções proximal, medial e distal do intestino delgado e na porção distal em cólon de ratos

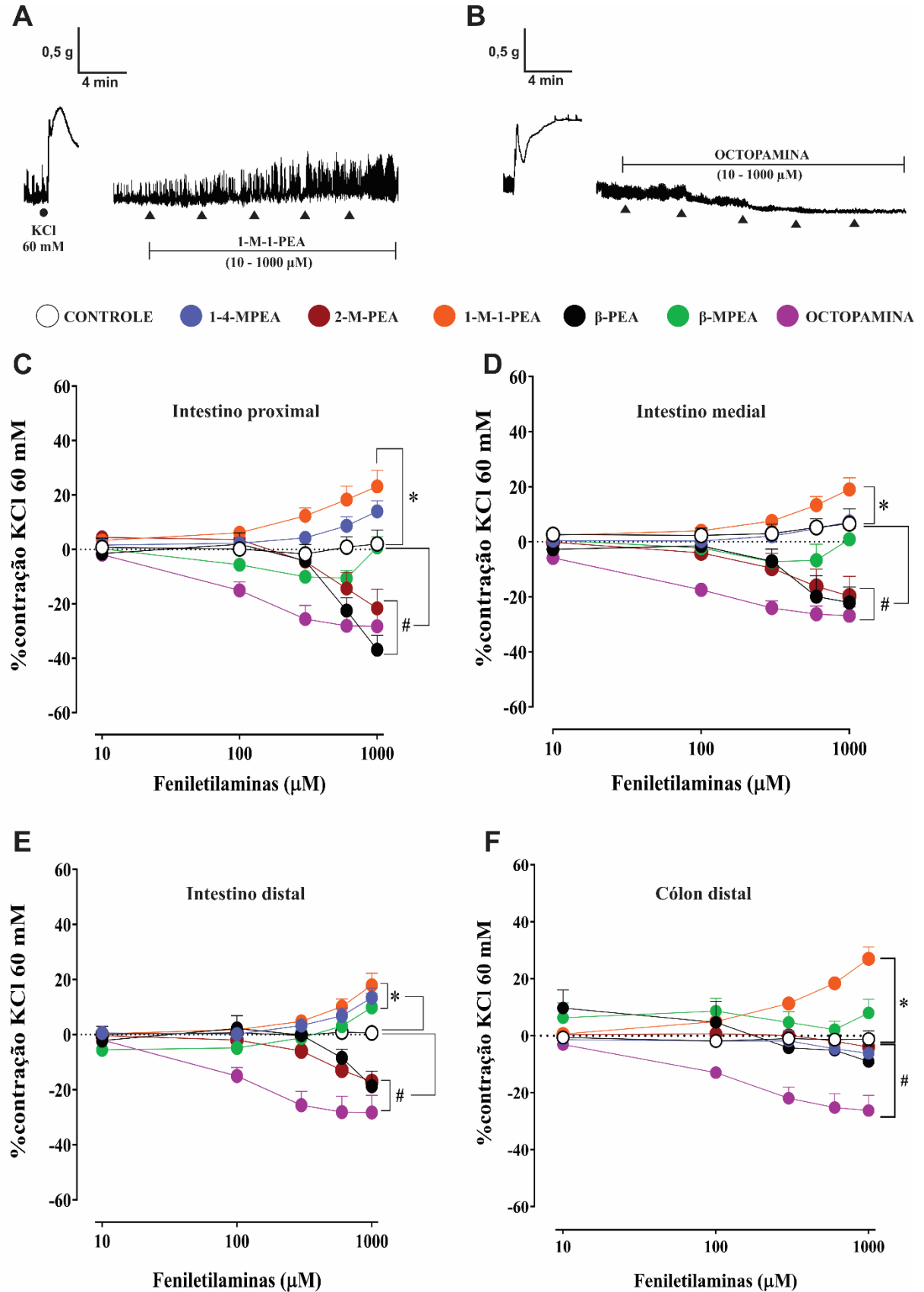


Figura 17A - Traçado típico de experimento com adição de concentrações crescentes da 1-M-1-PEA (10 – 1000 μM) em tecidos de intestino delgado porção proximal sob tônus basal.

Figura 17B - Traçado típico de experimento com adição de concentrações crescentes da OCTOPAMINA (10 – 1000 μM) em tecidos de intestino delgado porção proximal sob tônus basal.

Gráficos com valores médios das respostas a concentrações crescentes das feniletilaminas (10 – 1000 μM). * = $P < 0,05$ em comparação com o grupo controle. # = $P < 0,05$ em comparação com o grupo controle, respostas inibitórias. Valores expressos em percentual da contração em resposta ao KCl 60 Mm.

Figura 17C - 1-4-MPEA ●, n = 9; 2-M-PEA ●, n = 10; 1-M-1-PEA ●, n = 13; β -PEA ●, n = 6; β -MPEA ●, n = 6; OCTOPAMINA ●, n = 6; CONTROLE ○, n = 6. Porção proximal do intestino delgado de ratos.

Figura 17D - 1-4-MPEA ●, n = 10; 2-M-PEA ●, n = 9; 1-M-1-PEA ●, n = 11; β -PEA ●, n = 6; β -MPEA ●, n = 6; OCTOPAMINA ●, n = 6; CONTROLE ○, n = 6. Porção medial do intestino delgado de ratos.

Figura 17E - 1-4-MPEA ●, n = 8; 2-M-PEA ●, n = 8; 1-M-1-PEA ●, n = 10; β -PEA ●, n = 6; β -MPEA ●, n = 6; OCTOPAMINA ●, n = 6; CONTROLE ○, n = 6. Porção distal do intestino delgado de ratos.

Figura 17F - 1-4-MPEA ●, n = 9; 2-M-PEA ●, n = 6; 1-M-1-PEA ●, n = 9; β -PEA ●, n = 6; β -MPEA ●, n = 6; OCTOPAMINA ●, n = 6; CONTROLE ○, n = 6. Porção distal de cólon de ratos.

A figura 18 apresenta os resultados dos efeitos de adições crescentes das feniletilaminas na frequência das contrações fásicas de segmentos isolados das porções proximal, media e distal do intestino delgado e da porção distal do cólon. Em segmento proximal do intestino delgado, as amins 2-M-PEA e octopamina (10 – 1000 μ M) diminuiram significativamente a frequência das contrações fásicas com efeito máximo na concentração de 1000 μ M, com valores respectivos de $54,7 \pm 5,1\%$ e $46,2 \pm 11,5\%$ (valores expressos como % da frequência basal das contrações fásicas antes das adições crescentes das amins; $P < 0,05$ *two-way* ANOVA, seguido de teste de Holm-Sidak), (Figura 18C). Nas porções medial e distal essas duas amins também reduziram significativamente a frequência das contrações fásicas com valores na concentração de 1000 μ M de $47,2 \pm 12,0\%$ e $31,9 \pm 11,2\%$ para 2-M-PEA e valores de $30,1 \pm 12,4\%$ e $14,9 \pm 9,1\%$ para octopamina ($P < 0,05$), (Figuras 18D e 18E).

Já os resultados das curvas concentração-efeito as feniletilaminas na frequência das contrações fásicas da porção distal do cólon houve aumento nos valores em resposta as amins 1-4-MPEA e 1-M-1-PEA e diminuição para a octopamina. A 1-4-MPEA aumentou significativamente a frequência das contrações fásicas com valores de $153,0 \pm 31,0\%$, assim como houve um acentuado e significativo aumento na frequência em resposta a 1-M-1-PEA com valores de $247,2 \pm 50,6\%$ ($P < 0,05$; valores expressos como % da frequência basal das contrações fásicas antes das adições crescentes das amins), (Figura 18F). Já a octopamina diminuiu significativamente a frequência das contrações para valores de $9,3 \pm 7,1\%$ ($P < 0,05$), (Figura 18F).

Figura 18 – Efeitos de curvas concentração-efeito às feniletilaminas na frequência das contrações fásicas das porções proximal, medial e distal do intestino delgado e distal do cólon sob tônus de repouso

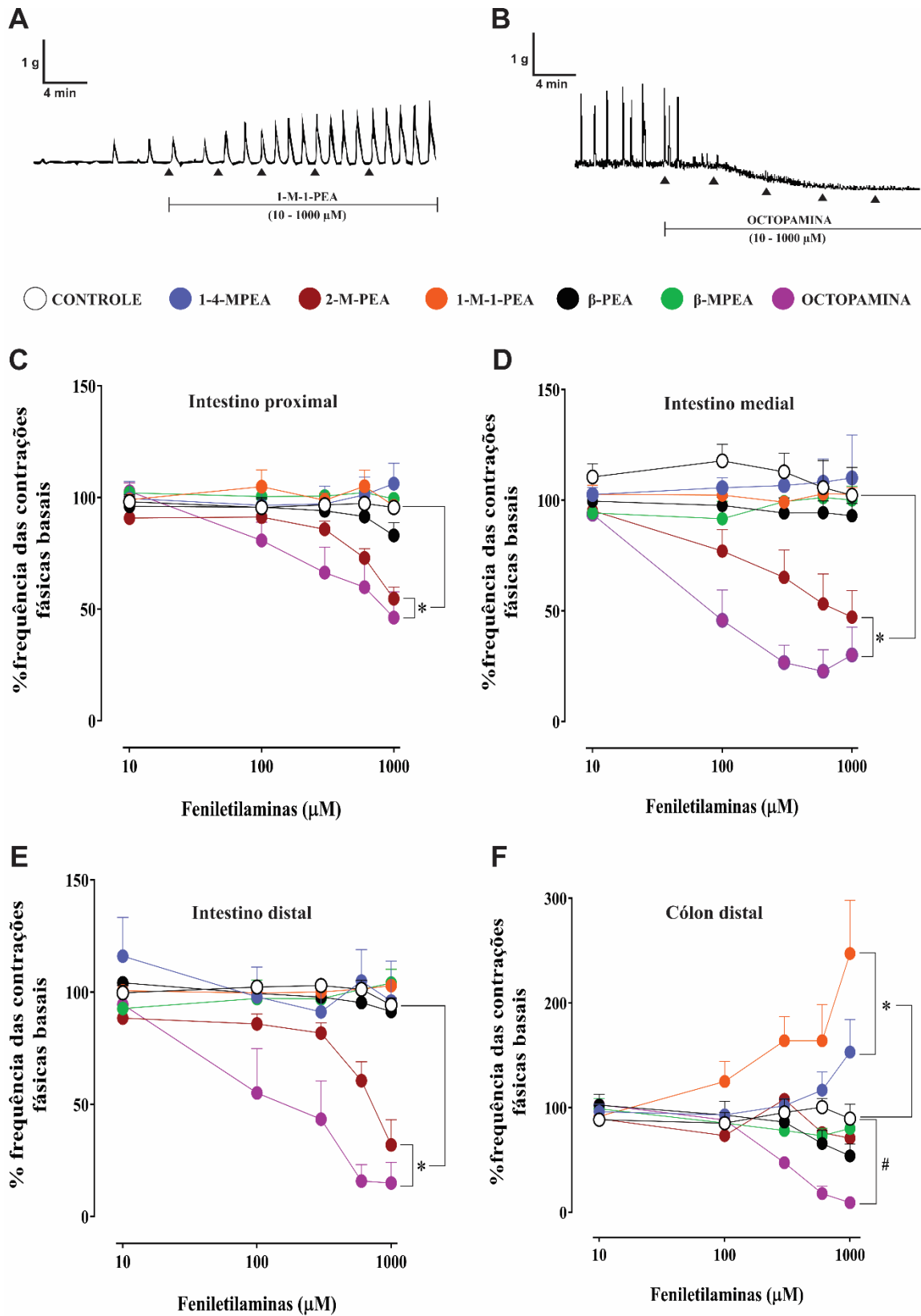


Figura 18A - Traçado típico de experimento com adição de concentrações crescentes da 1-M-1-PEA (10 – 1000 μ M) em tecidos de cólon distal sob tônus basal.

Figura 18B - Traçado típico de experimento com adição de concentrações crescentes da OCTOPAMINA (10 – 1000 μ M) em tecidos de cólon distal sob tônus basal.

Gráficos com valores médios das respostas a concentrações crescentes das feniletilaminas (10 – 1000 μ M). * = $P < 0,05$ em comparação com o grupo controle. # = $P < 0,05$ em comparação com o grupo controle, respostas inibitórias. Valores expressos em percentual da frequência das contrações fásicas antes da adição das feniletilaminas.

Figura 18C - 1-4-MPEA ●, n = 8; 2-M-PEA ●, n = 6; 1-M-1-PEA ●, n = 11; β -PEA ●, n = 6; β -MPEA ●, n = 6; OCTOPAMINA ●, n = 6; CONTROLE ○, n = 6. Porção proximal do intestino delgado de ratos.

Figura 18D - 1-4-MPEA ●, n = 8; 2-M-PEA ●, n = 6; 1-M-1-PEA ●, n = 7; β -PEA ●, n = 6; β -MPEA ●, n = 6; OCTOPAMINA ●, n = 6; CONTROLE ○, n = 6. Porção medial do intestino delgado de ratos.

Figura 18E - 1-4-MPEA ●, n = 8; 2-M-PEA ●, n = 6; 1-M-1-PEA ●, n = 8; β -PEA ●, n = 6; β -MPEA ●, n = 6; OCTOPAMINA ●, n = 6; CONTROLE ○, n = 6. Porção distal do intestino delgado de ratos.

Figura 18F - 1-4-MPEA ●, n = 8; 2-M-PEA ●, n = 6; 1-M-1-PEA ●, n = 6; β -PEA ●, n = 6; β -MPEA ●, n = 6; OCTOPAMINA ●, n = 6; CONTROLE ○, n = 6. Porção distal de cólon de ratos.

Os efeitos das feniletilaminas na amplitude das contrações fásicas de segmentos do intestino delgado e cólon estão representados na figura 19. Na porção proximal do intestino delgado as curvas concentração-efeito as aminas 1-4-MPEA e 1-M-1-PEA promoveram aumentos significativos na amplitude das contrações fásicas, de modo contrário a octopamina apresentou resposta inibitória na amplitude das contrações. 1-4-MPEA aumentou a amplitude para $209,2 \pm 35,4\%$ e 1-M-1-PEA aumentou para $198,7 \pm 41,0\%$ (valores expressos como % da amplitude das contrações fásicas basais antes das adições crescentes das aminas; $P < 0,05$ *two-way* ANOVA, seguido de teste de Holm-Sidak), (Figura 19C). A octopamina diminuiu a amplitude das contrações fásicas para valores de $26,1 \pm 5,1\%$ ($P < 0,05$), (Figura 19C).

Na porção medial do intestino delgado apenas a adição crescente da octopamina apresentou resposta contrátil com valores significativamente diferentes em relação ao padrão de amplitude no estado de repouso. Assim, houve uma diminuição da amplitude após a curva concentração-efeito a octopamina para $45,7 \pm 17,4\%$ ($P < 0,05$), (Figura 19D).

Já, em segmentos da porção distal do intestino delgado, tanto a octopamina como a 2-M-PEA promoveram diminuição da amplitude das contrações fásicas após a realização de suas curvas concentração-efeito. Adições crescentes de octopamina reduziu a amplitude para $29,2 \pm 15,1\%$, enquanto a 2-M-PEA reduziu para $36,0 \pm 7,1\%$ da amplitude de repouso ($P < 0,05$), (Figura 19E).

Em segmentos de cólon houve aumento e diminuição na amplitude das contrações fásicas em resposta as adições crescentes de 1-M-1-PEA e octopamina, respectivamente. O aumento da amplitude em resposta a adições crescentes de 1-M-1-PEA foi para o valor $174,1 \pm 17,1\%$, enquanto a redução na amplitude pela octopamina foi para $18,0 \pm 3\%$ (valores expressos como % da amplitude das contrações fásicas basais antes das adições crescentes das aminas; $P < 0,05$ *two-way* ANOVA, seguido de teste de Holm-Sidak), (Figura 19F).

Figura 19 – Efeitos de curvas concentração-efeito a feniletilaminas na amplitude das contrações fásicas das porções proximal, medial e distal do intestino delgado e distal do cólon sob tónus de repouso

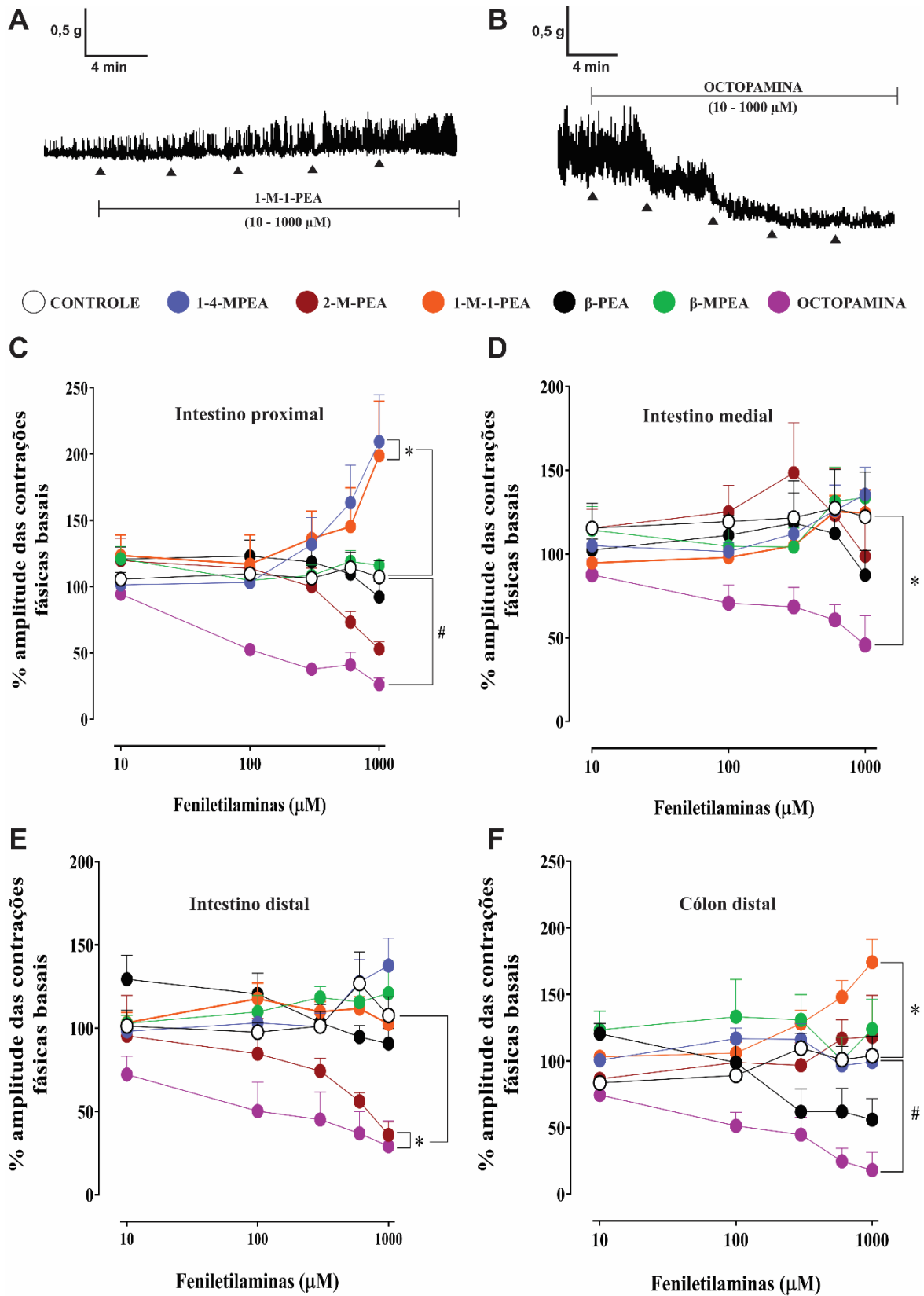


Figura 19A - Traçado típico de experimento com adição de concentrações crescentes da 1-M-1-PEA (10 – 1000 μ M) em tecidos de intestino delgado porção proximal sob tônus basal.

Figura 19B - Traçado típico de experimento com adição de concentrações crescentes da OCTOPAMINA (10 – 1000 μ M) em tecidos de intestino delgado porção proximal sob tônus basal.

Gráficos com valores médios das respostas a concentrações crescentes das feniletilaminas (10 – 1000 μ M). * = $P < 0,05$ em comparação com o grupo controle. # = $P < 0,05$ em comparação com o grupo controle, respostas inibitórias. Valores expressos em percentual da amplitude das contrações fásicas antes da adição das feniletilaminas.

Figura 19C - 1-4-MPEA ●, n = 8; 2-M-PEA ●, n = 6; 1-M-1-PEA ●, n = 11; β -PEA ●, n = 6; β -MPEA ●, n = 6; OCTOPAMINA ●, n = 6; CONTROLE ○, n = 6. Porção proximal do intestino delgado de ratos.

Figura 19D - 1-4-MPEA ●, n = 8; 2-M-PEA ●, n = 6; 1-M-1-PEA ●, n = 7; β -PEA ●, n = 6; β -MPEA ●, n = 6; OCTOPAMINA ●, n = 6; CONTROLE ○, n = 6. Porção medial do intestino delgado de ratos.

Figura 19E - 1-4-MPEA ●, n = 8; 2-M-PEA ●, n = 6; 1-M-1-PEA ●, n = 8; β -PEA ●, n = 6; β -MPEA ●, n = 6; OCTOPAMINA ●, n = 6; CONTROLE ○, n = 6. Porção distal do intestino delgado de ratos.

Figura 19F - 1-4-MPEA ●, n = 8; 2-M-PEA ●, n = 6; 1-M-1-PEA ●, n = 6; β -PEA ●, n = 6; β -MPEA ●, n = 6; OCTOPAMINA ●, n = 6; CONTROLE ○, n = 6. Porção distal de cólon de ratos.

A seguir, na tabela 3, estão resumidos os resultados dos efeitos das feniletilaminas na contratilidade de tecidos gastrintestinais sob tônus basal.

Tabela 3 – Efeitos das feniletilaminas na contratilidade de tecidos gastrintestinais mantidos sob tônus basal

	β-PEA			β-MPEA			1-M-1-PEA		
	tensão	freq	amp	tensão	freq	amp	tensão	freq	amp
Fundo	aumenta	-	-	aumenta	-	-	aumenta	-	-
Prox	diminui	S/efeito	S/efeito	S efeito	S/efeito	S/efeito	aumenta	S/efeito	aumenta
Medial	diminui	S/efeito	S/efeito	S efeito	S/efeito	S/efeito	aumenta	S/efeito	S/efeito
Distal	diminui	S/efeito	S/efeito	aumenta	S/efeito	S/efeito	aumenta	S/efeito	S/efeito
Cólon	S/efeito	S/efeito	S/efeito	S efeito	S/efeito	S/efeito	aumenta	aumenta	aumenta
	OCTOPAMINA			1-4-M-PEA			2-M-PEA		
	tensão	freq	amp	tensão	freq	amp	tensão	freq	amp
Fundo	diminui	-	-	S/efeito	-	-	S efeito	-	-
Prox	diminui	diminui	diminui	S/efeito	S/efeito	aumenta	diminui	diminui	diminui
Medial	diminui	diminui	diminui	S/efeito	S/efeito	S/efeito	diminui	diminui	S efeito
Distal	diminui	diminui	diminui	aumenta	S/efeito	S/efeito	diminui	diminui	diminui
Cólon	diminui	diminui	diminui	S/efeito	aumenta	S/efeito	S/efeito	S/efeito	S/efeito

Legenda:

Fundo = resposta em tecidos de fundo de estômago; **Prox** = resposta em tecidos de intestino delgado proximal; **Medial** = resposta em tecidos de intestino delgado proximal; **Distal** = resposta em tecidos de intestino delgado distal; **Cólon** = resposta em tecidos de intestino de cólon distal. **tensão** = medidas da tensão isométrica das contrações; **freq** = frequência das contrações espontâneas; **amp** = amplitude das contrações espontâneas.

5.1.2 Efeitos na contratilidade de tecidos gastrintestinais pré-contraídos com CCh 1 μM

Neste tópico serão descritas curvas concentração-efeito das feniletilaminas em tecidos gastrintestinais isolados com prévia estimulação com agente contraturante (CCh 1 μM). As adições crescentes das feniletilaminas (10 – 1000 μM) foram realizadas quando os tecidos, já pré-contraídos, atingiam o platô de tensão. Nestas condições, todas as feniletilaminas promoveram efeitos relaxantes significativos em tiras isoladas de fundo de estômago quando comparadas com seu controle. Dentre elas, três (β-PEA, octopamina e 2-M-PEA) tiveram respostas inibitórias maiores em relação ao controle e as demais aminas, e tiveram valores respectivos de 38,5 ± 4,5%, 37,1 ± 4,9% e 39,0 ± 5,6%, respectivamente, vs. 92,3 ± 3,7% do grupo controle (valores expressos como % da contração de referência induzida por CCh 1 μM; P < 0,05 two-way ANOVA, seguido de teste de Holm-Sidak), (Figura 20).

Figura 20 – Efeitos inibitórios das feniletilaminas em tecidos isolados de fundo de estômago de ratos contraídos previamente com CCh 1 μ M

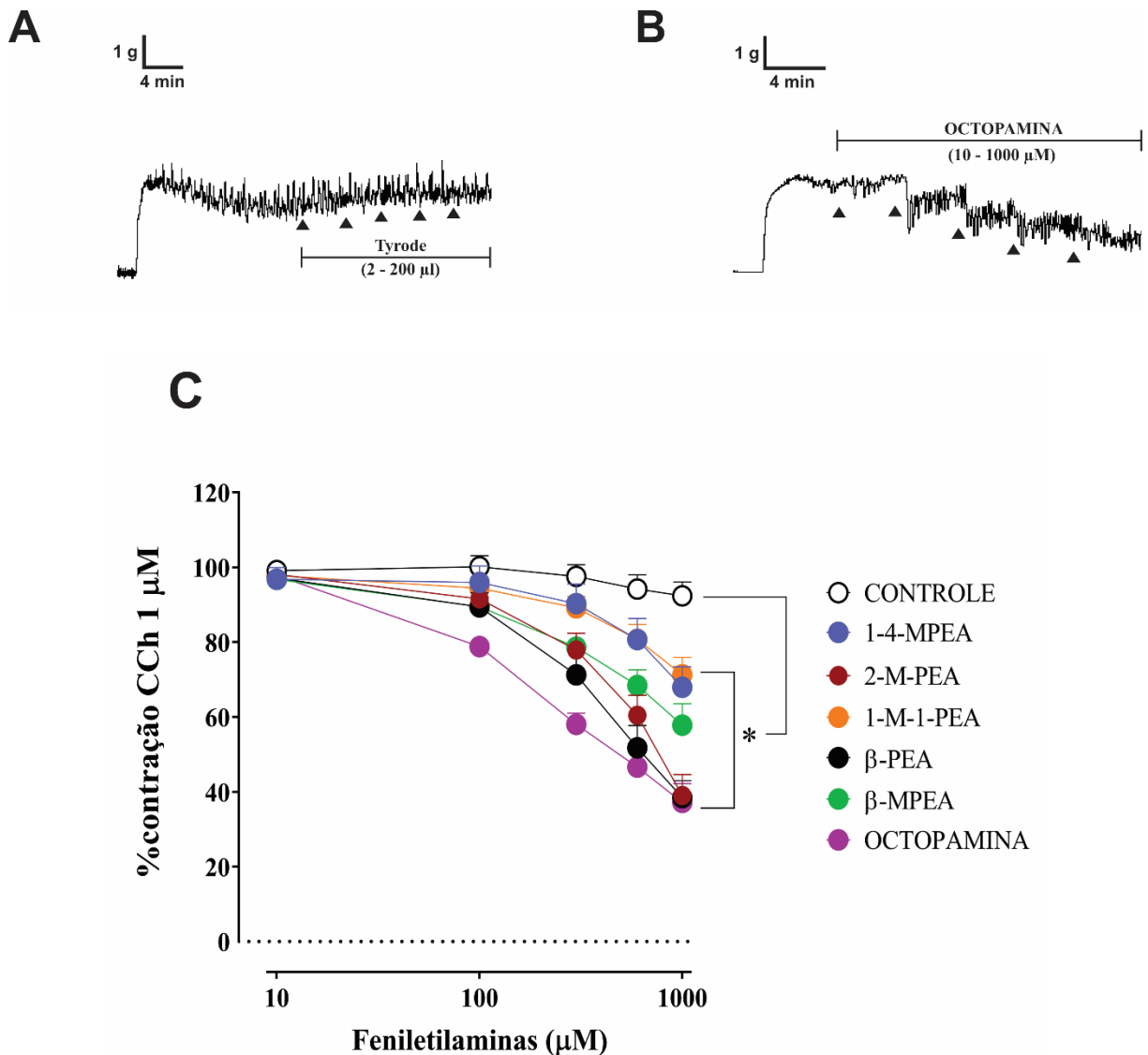


Figura 20A - Traçado típico de experimento com adição de volumes crescentes de Tyrode (2 – 200 μ l – mesmo volume administrado com as feniletilaminas) (solução de banho para as preparações e que foi utilizada para a diluição das feniletilaminas) como procedimento controle em tecidos de fundo de estômago pré-contraídos com CCh 1 μ M.

Figura 20B - Traçado típico de experimento com adição de concentrações crescentes da OCTOPAMINA (10 – 1000 μ M) em tecidos de fundo de estômago pré-contraídos com CCh 1 μ M.

Figura 20C - Gráfico com valores médios das respostas a concentrações crescentes (10 – 1000 μ M) das feniletilaminas 1-4-MPEA \bullet , n = 18; 2-M-PEA \bullet , n = 18; 1-M-1-PEA \bullet , n = 8; β -PEA \bullet , n = 7; β -MPEA \bullet , n = 9; OCTOPAMINA \bullet , n = 7; em tiras isoladas de fundo de estômago de ratos pré-contraídos com CCh 1 μ M. * = P < 0,05 em comparação com o grupo CONTROLE \circ , n = 12.

Valores expressos em percentual da contração em resposta ao CCh 1 μ M.

Na porção proximal do intestino delgado todas as feniletilaminas ao serem adicionadas em concentrações crescentes (10 – 1000 μM) promoveram relaxamento dos tecidos contraídos previamente com CCh 1 μM ($P < 0,05$). As aminas 2-M-PEA e octopamina tiveram as maiores respostas relaxantes com valores médios de $-55,7 \pm 9,6\%$ e $-38,3 \pm 11,0\%$, respectivamente vs. $80,5 \pm 4,3\%$ do grupo controle (valores expressos como % da contração de referência induzida por CCh 1 μM ; $P < 0,05$ *two-way* ANOVA, seguido de teste de Holm-Sidak), (Figura 21C).

Na figura 21D estão mostrados graficamente os efeitos contráteis inibitórios das feniletilaminas em segmentos isolados da porção medial do intestino delgado pré-excitados positivamente. Todas as aminas testadas promoveram resposta relaxante significativa ($P < 0,05$) em relação ao controle. Os efeitos inibitórios mais proeminentes ocorreram na concentração de 1000 μM . As aminas com maiores valores de inibição foram respectivamente a β -PEA com $-11,7 \pm 6,1\%$, a octopamina com $-5,3 \pm 7,5\%$ e a 2-M-PEA com $-5,1 \pm 3,6\%$ vs. $72,7 \pm 4,6$ do grupo controle ($P < 0,05$), (Figura 21D).

De modo semelhante ao reportado no parágrafo anterior, as curvas concentração-efeito de todas as aminas foram capazes de diminuir significativamente o efeito contrátil de tecidos isolados da porção distal do intestino delgado contraídos com CCh 1 μM . As maiores respostas inibitórias foram encontradas com as feniletilaminas 2-M-PEA, octopamina e β -PEA com valores de $-30,1 \pm 7,5\%$, $-15,9 \pm 10,0\%$ e $-12,4 \pm 4,0\%$, respectivamente vs. $70,5 \pm 4,0\%$ do grupo controle ($P < 0,05$), (Figura 21E).

Em seguimentos distais do cólon, de todas as aminas estudadas, somente adições crescentes da feniletilamina 1-M-1-PEA não foi capaz de promover efeito inibitório significativo ($P > 0,05$; Figura 21F). A feniletilamina com efeito mais proeminente foi o da octopamina com o valor de $-15,0 \pm 11,6$ que além de ser significativamente diferente do grupo controle, ainda é estatisticamente mais eficaz na ação inibitória na concentração de 1000 μM do que todos os outros grupos ($P < 0,05$; Figura 21F).

Figura 21 – Efeitos inibitórios das feniletilaminas em segmentos isolados das porções proximal, medial e distal do intestino delgado e da porção distal do cólon de ratos contraídos previamente com CCh 1 μ M

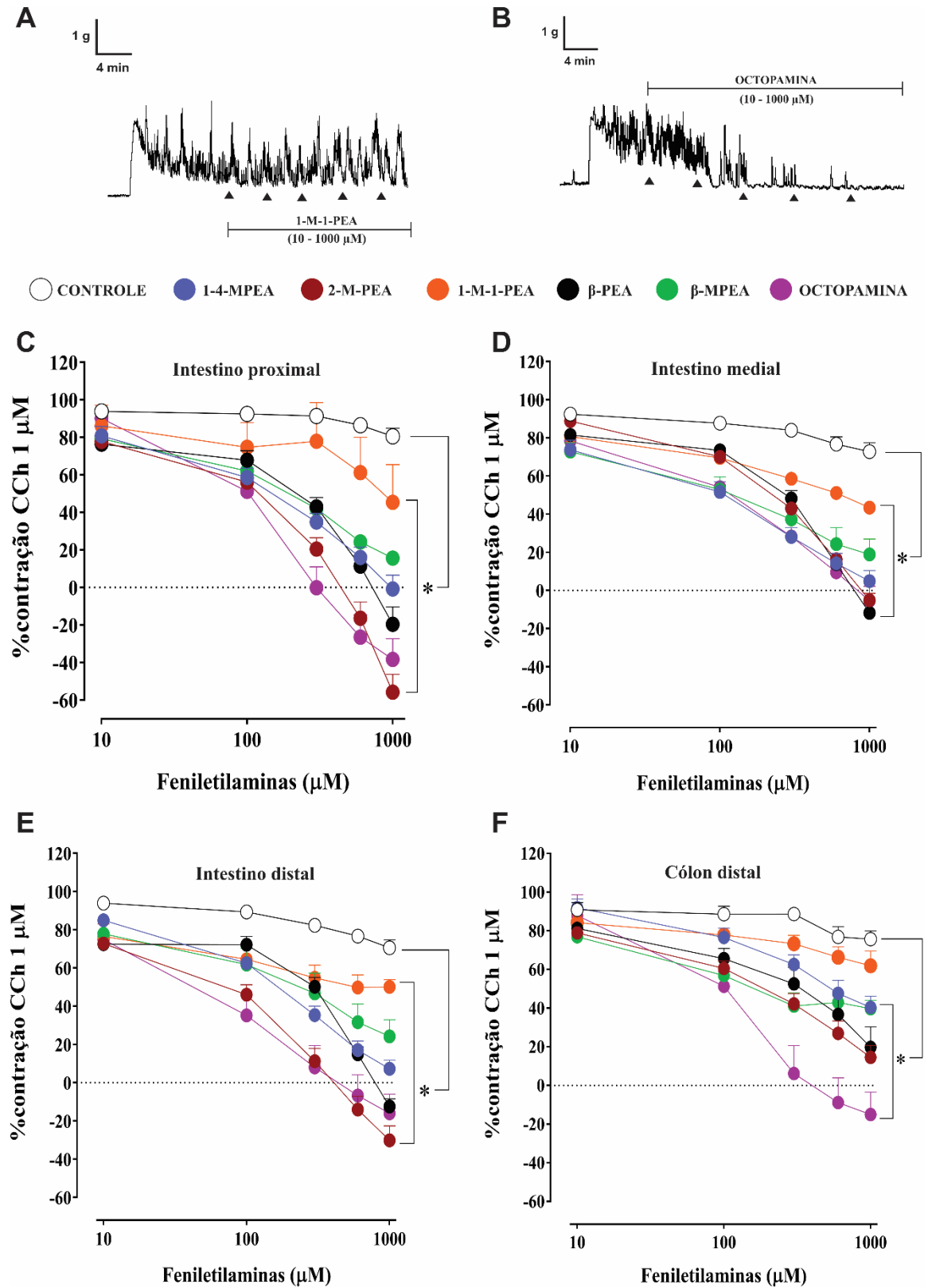


Figura 21A - Traçado típico de experimento com adição de concentrações crescentes da 1-M-1-PEA (10 – 1000 μM) em tecidos de cólon distal pré-contraídos com CCh 1 μM .

Figura 21B - Traçado típico de experimento com adição de concentrações crescentes da OCTOPAMINA (10 – 1000 μM) em tecidos de cólon distal pré-contraídos com CCh 1 μM .

Gráficos com valores médios das respostas a concentrações crescentes das feniletilaminas (10 – 1000 μM). * = $P < 0,05$ em comparação com o grupo controle. # = $P < 0,05$ em comparação com o grupo controle, respostas inibitórias. Valores expressos em percentual da contração induzida por CCh 1 μM .

Figura 21C - 1-4-MPEA ●, n = 13; 2-M-PEA ●, n = 12; 1-M-1-PEA ●, n = 6; β -PEA ●, n = 12; β -MPEA ●, n = 6; OCTOPAMINA ●, n = 8; CONTROLE ○, n = 16. Porção proximal do intestino delgado de ratos pré-contraídos com CCh 1 μM .

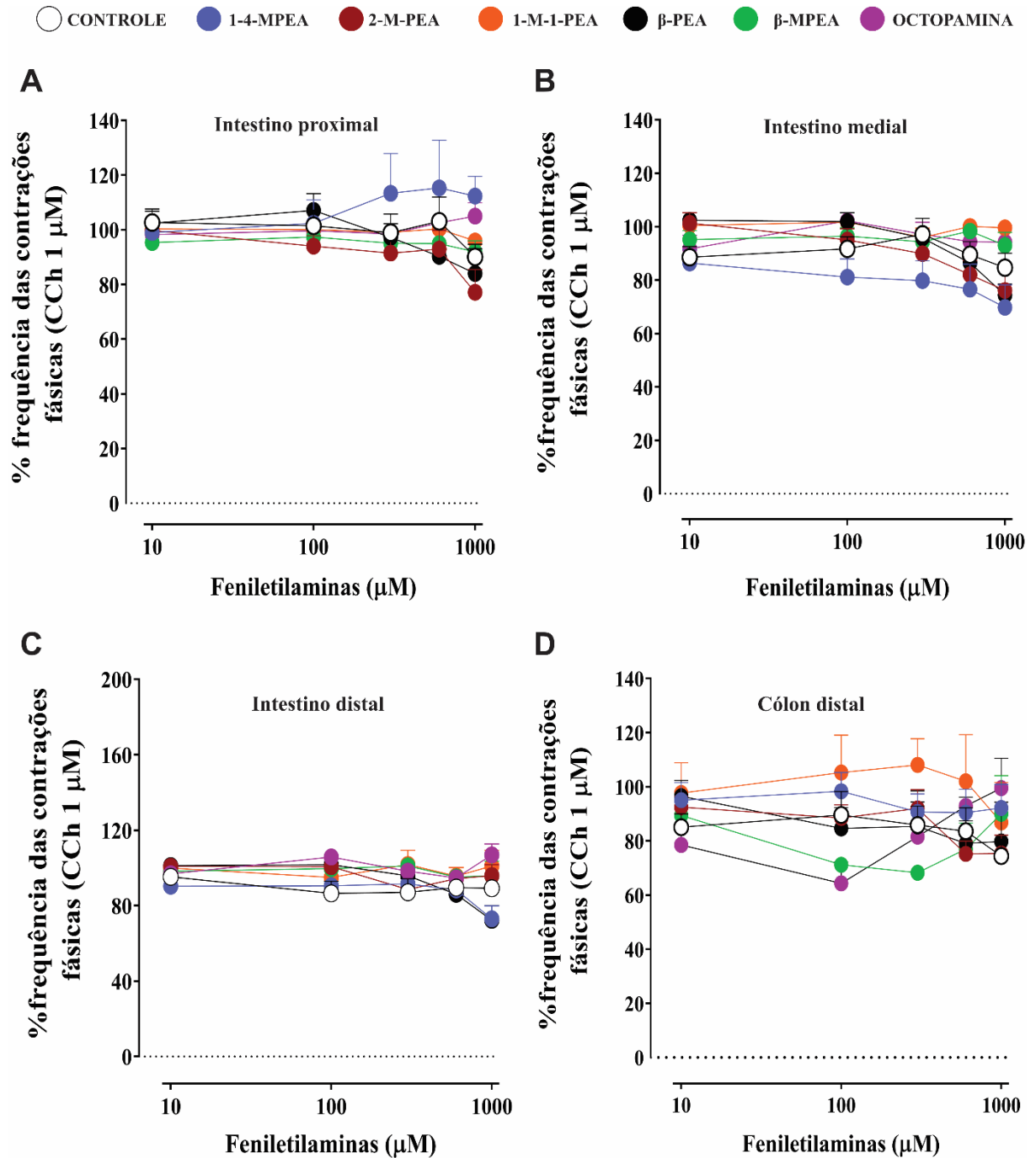
Figura 21D - 1-4-MPEA ●, n = 11; 2-M-PEA ●, n = 18; 1-M-1-PEA ●, n = 6; β -PEA ●, n = 11; β -MPEA ●, n = 6; OCTOPAMINA ●, n = 6; CONTROLE ○, n = 13. Porção medial do intestino delgado de ratos pré-contraídos com CCh 1 μM .

Figura 21E - 1-4-MPEA ●, n = 10; 2-M-PEA ●, n = 14; 1-M-1-PEA ●, n = 6; β -PEA ●, n = 12; β -MPEA ●, n = 6; OCTOPAMINA ●, n = 8; CONTROLE ○, n = 16. Porção distal do intestino delgado de ratos pré-contraídos com CCh 1 μM .

Figura 21F - 1-4-MPEA ●, n = 17; 2-M-PEA ●, n = 14; 1-M-1-PEA ●, n = 14; β -PEA ●, n = 12; β -MPEA ●, n = 6; OCTOPAMINA ●, n = 6; CONTROLE ○, n = 14. Porção distal de cólon de ratos pré-contraídos com CCh 1 μM .

Na figura 22 estão os resultados referentes aos efeitos de curvas concentração-efeito com adições crescentes das feniletilaminas (10 – 1000 μ M) na frequência das contrações fásicas em tecidos intestinais pré-contraídos com CCh 1 μ M. Nessa condição, todos os tecidos estimulados com CCh apresentaram um aumento na frequência nas contrações espontâneas. No entanto, em nenhuma das porções do intestino delgado ou em tecidos de cólon distal as feniletilaminas não modificaram o perfil fásico das contrações em relação a frequência ($P > 0,05$; figuras 22A, B, C e D).

Figura 22 – Efeitos de curvas concentração-efeito a feniletilaminas na frequência das contrações fásicas das porções proximal, medial e distal do intestino delgado e distal do cólon em tecidos pré-contraídos com CCh 1 μ M



Gráficos com valores médios das respostas a concentrações crescentes das feniletilaminas (10 – 1000 μ M). * = $P < 0,05$ em comparação com o grupo controle. # = $P < 0,05$ em comparação com o grupo controle, respostas inibitórias. Valores expressos em percentual da frequência das contrações fásicas antes da adição das feniletilaminas.

Figura 22A - 1-4-MPEA ●, n = 9; 2-M-PEA ●, n = 17; 1-M-1-PEA ●, n = 6; β -PEA ●, n = 12; β -MPEA ●, n = 6; OCTOPAMINA ●, n = 11; CONTROLE ○, n = 13. Porção proximal do intestino delgado de ratos pré-contraídos com CCh 1 μ M.

Figura 22B - 1-4-MPEA ●, n = 9; 2-M-PEA ●, n = 15; 1-M-1-PEA ●, n = 6; β -PEA ●, n = 12; β -MPEA ●, n = 6; OCTOPAMINA ●, n = 6; CONTROLE ○, n = 13. Porção medial do intestino delgado de ratos pré-contraídos com CCh 1 μ M.

Figura 22C - 1-4-MPEA ●, n = 10; 2-M-PEA ●, n = 8; 1-M-1-PEA ●, n = 6; β -PEA ●, n = 12; β -MPEA ●, n = 6; OCTOPAMINA ●, n = 10; CONTROLE ○, n = 14. Porção distal do intestino delgado de ratos pré-contraídos com CCh 1 μ M.

Figura 22D - 1-4-MPEA ●, n = 15; 2-M-PEA ●, n = 19; 1-M-1-PEA ●, n = 6; β -PEA ●, n = 12; β -MPEA ●, n = 6; OCTOPAMINA ●, n = 8; CONTROLE ○, n = 12. Porção distal de cólon de ratos pré-contraídos com CCh 1 μ M.

Na figura 23 estão representados os resultados referentes aos efeitos de adições crescentes das feniletilaminas na amplitude das contrações fásicas em tecidos intestinais pré-contraídos com CCh 1 μ M. Em segmentos da porção proximal do intestino delgado, enquanto a feniletilamina sintética 1-M-1-PEA promoveu aumento significativo na amplitude das contrações fásicas, as feniletilaminas fisiológicas β -PEA e octopamina promoveram diminuição significativa na amplitude das contrações fásicas. Após curva concentração-efeito na concentração de 1000 μ M a 1-M-1-PEA aumentou a amplitude das contrações em $175,5 \pm 35,5\%$, enquanto adições crescentes da β -PEA e octopamina resultou em diminuição para $50,3 \pm 5,6\%$ e $38,4 \pm 6,4$, em relação ao controle (valores expressos como % da amplitude das contrações fásicas após estimulação com CCh 1 μ M; $P < 0,05$ two-way ANOVA, seguido de teste de Holm-Sidak), (Figura 23C).

Na porção medial do intestino delgado as aminas 2-M-PEA, 1-4-MPEA e β -PEA diminuíram de forma significativa a amplitude das contrações fásicas em tecidos previamente estimulados com CCh 1 μ M. O efeito máximo inibitório ocorreu na concentração de 1000 μ M com valores de $61,9 \pm 6,3\%$ para a 2-M-PEA, de $45,7 \pm 5,1\%$ para a 1-4-MPEA e de $41,1 \pm 3,3\%$ para β -PEA vs. $95,8 \pm 5,8\%$ do grupo controle ($P < 0,05$; Figura 23D).

Em segmentos da porção distal do intestino delgado a feniletilamina 1-M-1-PEA foi eficaz em aumentar a amplitude das contrações fásicas quando adicionada em concentrações crescentes (10 – 1000 μ M) em tecidos pré-excitados com CCh 1 μ M. O efeito máximo ocorreu na concentração de 1000 μ M aumentando a amplitude para $111,5 \pm 13,2\%$ ($P < 0,05$; Figura 23E). De outro modo na mesma condição, as feniletilaminas β -PEA e 1-4-MPEA reduziram os valores da amplitude das contrações fásicas para $53,1 \pm 6,3\%$ e $36,9 \pm 4,0\%$ vs. $79,0 \pm 3,4$ do grupo controle ($P < 0,05$; Figura 23E).

Já em segmentos distais de cólon, também pré-excitados com CCh 1 μ M, adições crescentes da β -PEA e da octopamina diminuíram a amplitude das contrações fásicas. O maior valor de diminuição ocorreu na concentração de 1000 μ M sendo o valor da amplitude das contrações reduzidas para $49,4 \pm 7,1\%$ e $31,2 \pm 11,5\%$ vs. $96,2 \pm 4,3$ vs. $96,2 \pm 4,3$ do controle, respectivamente ($P < 0,05$; Figura 23F).

Figura 23 – Efeitos de curvas concentração-efeito a feniletilaminas na amplitude das contrações fásicas das porções proximal, medial e distal do intestino delgado e distal do cólon em tecidos pré-contraídos com CCh 1 μ M

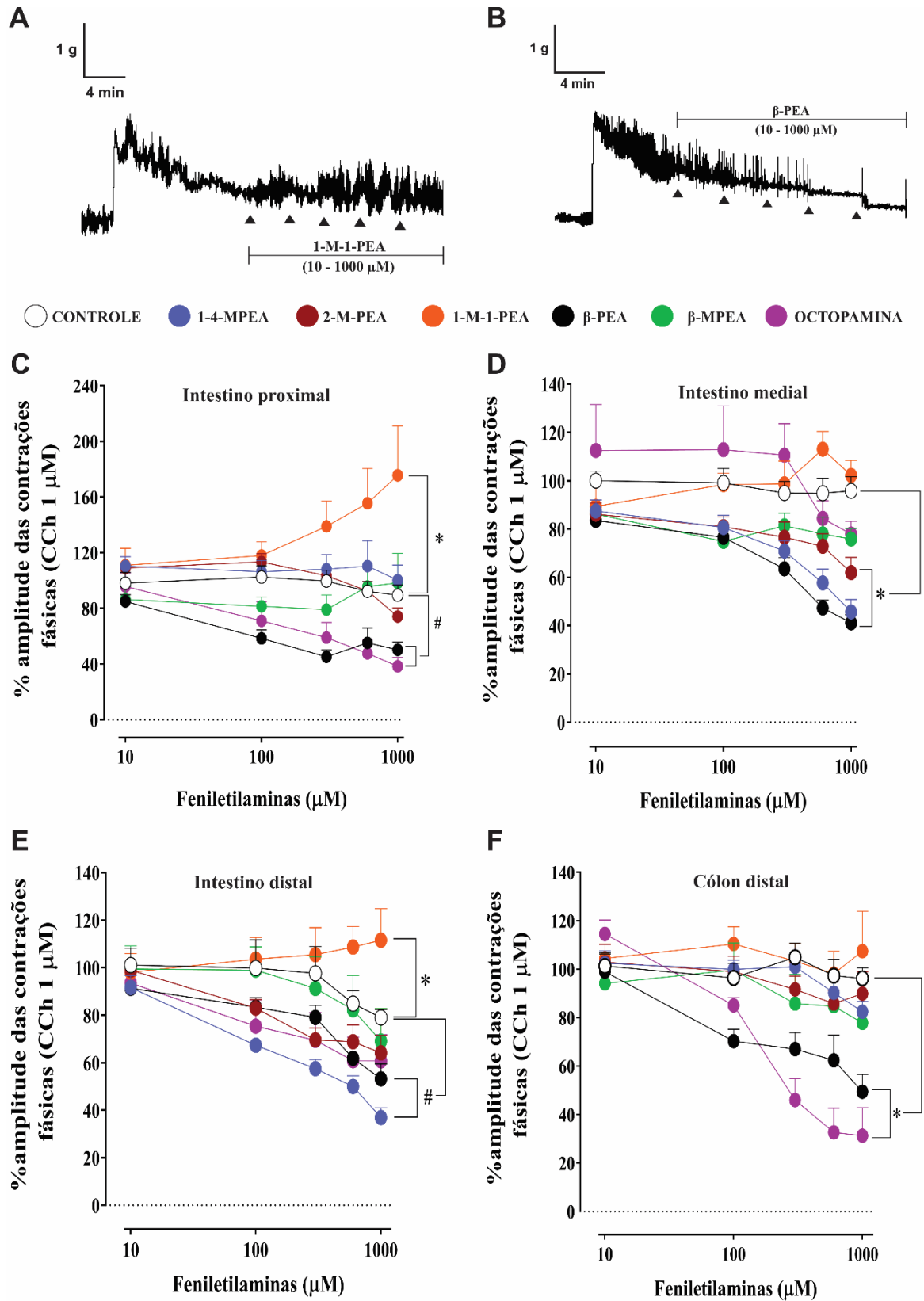


Figura 23A - Traçado típico de experimento com adição de concentrações crescentes da 1-M-1-PEA (10 – 1000 μ M) em tecidos de intestino delgado proximal pré-contraídos com CCh 1 μ M.

Figura 23B - Traçado típico de experimento com adição de concentrações crescentes da β -PEA (10 – 1000 μ M) em tecidos de intestino delgado proximal pré-contraídos com CCh 1 μ M.

Gráficos com valores médios das respostas a concentrações crescentes das feniletilaminas (10 – 1000 μ M). * = $P < 0,05$ em comparação com o grupo controle. # = $P < 0,05$ em comparação com o grupo controle, respostas inibitórias. Valores expressos em percentual da amplitude das contrações fásicas antes da adição das feniletilaminas.

Figura 23C - 1-4-MPEA ●, n = 9; 2-M-PEA ●, n = 17; 1-M-1-PEA ●, n = 6; β -PEA ●, n = 12; β -MPEA ●, n = 6; OCTOPAMINA ●, n = 9; CONTROLE ○, n = 14. Porção proximal do intestino delgado de ratos pré-contraídos com CCh 1 μ M.

Figura 23C - 1-4-MPEA ●, n = 14; 2-M-PEA ●, n = 16; 1-M-1-PEA ●, n = 6; β -PEA ●, n = 12; β -MPEA ●, n = 6; OCTOPAMINA ●, n = 6; CONTROLE ○, n = 14. Porção medial do intestino delgado de ratos pré-contraídos com CCh 1 μ M.

Figura 23E - 1-4-MPEA ●, n = 11; 2-M-PEA ●, n = 13; 1-M-1-PEA ●, n = 6; β -PEA ●, n = 12; β -MPEA ●, n = 6; OCTOPAMINA ●, n = 8; CONTROLE ○, n = 14. Porção distal do intestino delgado de ratos pré-contraídos com CCh 1 μ M.

Figura 23F - 1-4-MPEA ●, n = 18; 2-M-PEA ●, n = 19; 1-M-1-PEA ●, n = 6; β -PEA ●, n = 12; β -MPEA ●, n = 6; OCTOPAMINA ●, n = 6; CONTROLE ○, n = 12. Porção distal de cólon de ratos pré-contraídos com CCh 1 μ M.

Logo abaixo, na tabela 4, estão resumidos os resultados dos efeitos das feniletilaminas na contratilidade de tecidos gastrintestinais previamente contraídos com carbacol.

Tabela 4 – Efeitos das feniletilaminas na contratilidade de tecidos gastrintestinais previamente contraídos com carbacol

	β -PEA			β -MPEA			1-M-1-PEA		
	tensão	freq	amp	tensão	freq	amp	tensão	freq	amp
Fundo	diminui	-	-	diminui	-	-	diminui	-	-
Prox	diminui	S/efeito	diminui	diminui	S/efeito	S/efeito	diminui	S/efeito	aumenta
Medial	diminui	S/efeito	diminui	diminui	S/efeito	S/efeito	diminui	S/efeito	S/efeito
Distal	diminui	S/efeito	diminui	diminui	S/efeito	S/efeito	diminui	S/efeito	aumenta
Cólon	diminui	S/efeito	diminui	diminui	S/efeito	S/efeito	S/efeito	S/efeito	S/efeito
	OCTOPAMINA			1-4-M-PEA			2-M-PEA		
	tensão	freq	amp	tensão	freq	amp	tensão	freq	amp
Fundo	diminui	-	-	diminui	-	-	diminui	-	-
Prox	diminui	S/efeito	diminui	diminui	S/efeito	S/efeito	diminui	S/efeito	S/efeito
Medial	diminui	S/efeito	S/efeito	diminui	S/efeito	diminui	diminui	S/efeito	diminui
Distal	diminui	S/efeito	S/efeito	diminui	S/efeito	diminui	diminui	S/efeito	S/efeito
Cólon	diminui	S/efeito	diminui	diminui	S/efeito	S/efeito	diminui	S/efeito	S/efeito

Legenda:

Fundo = resposta em tecidos de fundo de estômago; **Prox** = resposta em tecidos de intestino delgado proximal; **Medial** = resposta em tecidos de intestino delgado proximal; **Distal** = resposta em tecidos de intestino delgado distal; **Cólon** = resposta em tecidos de intestino de cólon distal. **tensão** = medidas da tensão isométrica das contrações; **freq** = frequência das contrações espontâneas; **amp** = amplitude das contrações espontâneas.

5.2 Parte II – Resultados presentes no artigo intitulado “*Differential effects of β -methylphenylethylamine and octopamine on contractile parameters of the rat gastrointestinal tract*”

5.2.1 Efeitos contrastantes da β -metilfeniletilamina e octopamina em fundo gástrico de ratos

Sob tônus basal, tiras de tecidos de fundo gástrico apresentaram resposta contraturante em resposta a adições cumulativas de β -MPEA (10 – 1000 μ M; Figura 24A). Efeitos contráteis significativos nos tecidos de fundo de estômago foram observados a partir da concentração de 100 μ M ($P < 0,05$, *one-way* ANOVA seguido de teste de Holm-Sidak) e a magnitude da contração na concentração de 1000 μ M correspondeu a $51,1 \pm 2,1\%$ ($n = 105$;

dados coletados de todos os experimentos controles) da contração de referência induzida por KCl 60 mM (Figura 24C). De modo contrário, a octopamina (10 – 1000 μ M) promoveu uma resposta relaxante (Figura 24B) com magnitude correspondente a $-21,9 \pm 4,6\%$ ($n = 8$; os valores negativos indicam relaxamento) na concentração de 1000 μ M (Figura 24C).

Figura 24 – Efeitos diferenciais induzidos por β -metilfeniletilamina (β -MPEA) e octopamina em fundo gástrico de ratos

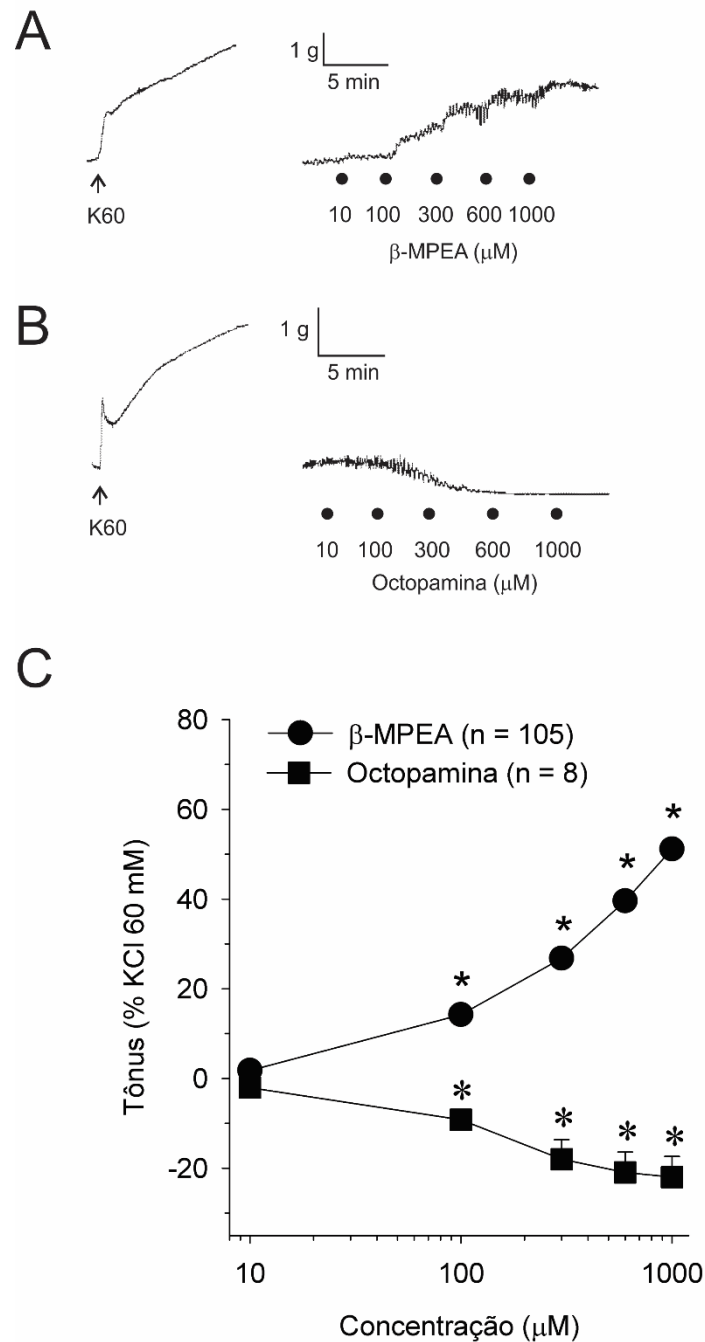


Figura 24 – Em A e B, traçados típicos de experimentos com tecidos isolados de fundo gástrico. Ambos os tecidos foram inicialmente estimulados com alta concentração de KCl (60 mM), o qual serviu como referência para expressar as respostas das feniletilaminas. As curvas concentração-efeito foram construídas pela adição cumulativa de 10 – 1000 μ M da β -MPEA (n = 105; dados obtidos de todos os controles experimentais) (A) ou octopamina (n = 8) (B). Note que β -MPEA induziu efeito contrátil, enquanto a octopamina relaxou as preparações de músculo liso. Os valores de tais efeitos foram representados no painel C como média \pm erro padrão da média, n = número de experimentos. Valores negativos indicam relaxamento. * e * indicam $P < 0,05$ em comparação com os valores respectivos obtidos antes da adição da β -MPEA e octopamina, respectivamente (*one-way* ANOVA seguido de teste de Holm-Sidak).

Na presença do EPPTB (50 μ M), agonista TA₁, a contração induzida pela β -MPEA correspondeu a $52,2 \pm 9,9\%$ (n = 9) na concentração de 1000 μ M, o qual não diferiu dos valores obtidos na ausência do antagonista nas preparações controles (Figura 25A). Os efeitos contráteis da β -MPEA em tecidos de fundo gástrico também não foram afetados pelo tratamento prévio com atropina (1 μ M; figura 25B; n = 10) ou com os antagonistas de receptores de serotonina (5-HT) ritanserina (0.3 μ M; 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B}, 5-HT-6, 5-HT₇; Figura 25C; n = 10), ketanserina (1 μ M; 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B}, 5-HT₇; Figura 25D; n = 12), tropisetrona (0.5 μ M; 5-HT₄; Figura 25E; n = 23) ou iloperidona (0.2 μ M; 5-HT_{1A}, 5-HT-6, 5-HT₇; Figura 25F; n = 8). Uma redução significativa na magnitude da contração foi observada ($P < 0.05$, *two-way* ANOVA seguido de teste de Holm-Sidak), quando as preparações de musculatura lisa de fundo gástrico foram pré-tratadas com o antagonista serotoninérgico ciproheptadina (0.1 μ M; 5-HT-6, 5-HT₇; Figura 25G; n = 13) ou metiotepina (0.5 μ M; 5-HT_{5A}, 5-HT-6, 5-HT₇; Figura 25H; n = 21).

Figura 25 – Efeitos contráteis da β -metilfeniletilamina (β -MPEA) em tiras de fundo gástrico de ratos

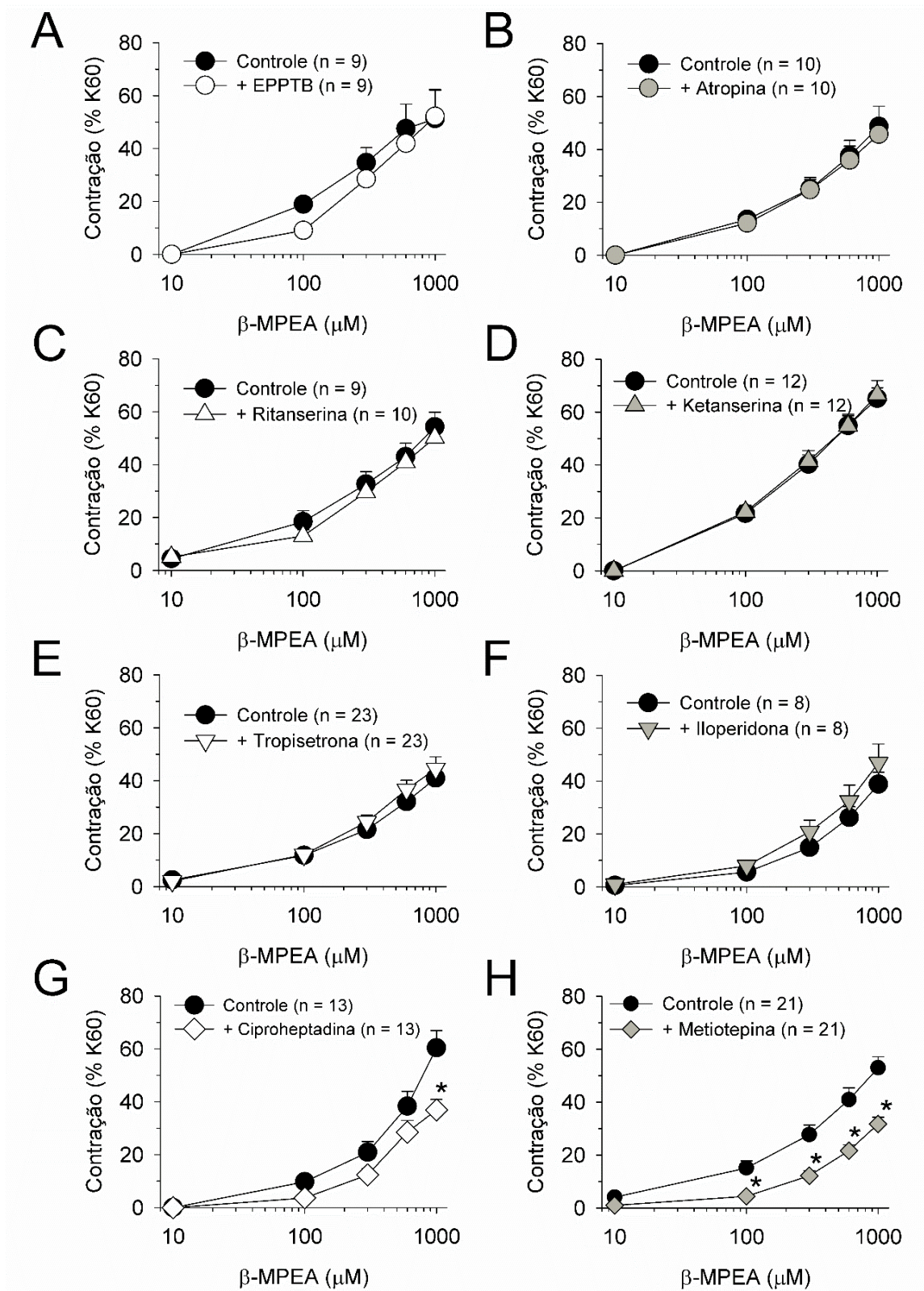


Figura 25 – Curvas concentração-efeito em resposta a adições cumulativas de 10 – 1000 μ M de β -MPEA foram construídas na ausência (controle) ou na presença dos antagonistas: EPPTB (50 μ M; TA₁; A; n = 9), atropina (1

μM ; receptor muscarínico; B), ritanserina (0.3 μM ; 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B}, 5-HT₋₆, 5-HT₇; C), ketanserina (1 μM ; 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B}, 5-HT₇; D), tropisetrona (0.5 μM ; 5-HT₄; E), iloperidona (0.2 μM ; 5-HT_{1A}, 5-HT₋₆, 5-HT₇; F), ciproheptadina (0.1 μM ; 5-HT₋₆, 5-HT₇; G) ou metiotepina (0.5 μM ; 5-HT_{5A}, 5-HT₋₆, 5-HT₇; H). Os valores de tais efeitos foram representados no painel C como média \pm erro padrão da média, n = número de experimentos. ★, $P < 0,05$ em comparação com os respectivos valores controles (*two-way* ANOVA seguido de teste de Holm-Sidak).

5.2.2 Efeitos relaxantes induzidos pela β -MPEA e octopamina em tiras de tecido de fundo gástrico pré-contraídas com CCh

Estimulados com CCh (1 μ M), tiras de fundo gástrico contraíram como mostrado na figura 26. Adicionados na fase sustentada da contração, β -MPEA e octopamina (10 – 1000 μ M; Figura 26A e 26B) induziram relaxamento dependente de concentração ($P < 0,001$, ANOVA). Quando a β -MPEA estava na concentração de 1000 μ M, a contração induzida por CCh foi significativamente reduzida para o valor de $58,9 \pm 4,5\%$ do valor do controle ($n = 19$; Figura 26C; $P < 0.05$, Holm-Sidak). Um efeito relaxante mais proeminente foi visto quando a octopamina (10 – 1000 μ M) foi adicionada no pico da contração induzida pelo carbacol, valores de $27,7 \pm 4,8\%$ em relação ao valor do controle ($n = 18$; Figura 26C), comparado com o efeito promovido pela β -MPEA ($P < 0.05$; *two-way* ANOVA seguido de teste de Holm-Sidak).

Figura 26 – Efeitos relaxantes induzidos por β -metilfeniletilamina (β -MPEA) e octopamina em preparações de fundo gástrico de ratos previamente contraídas com carbacol

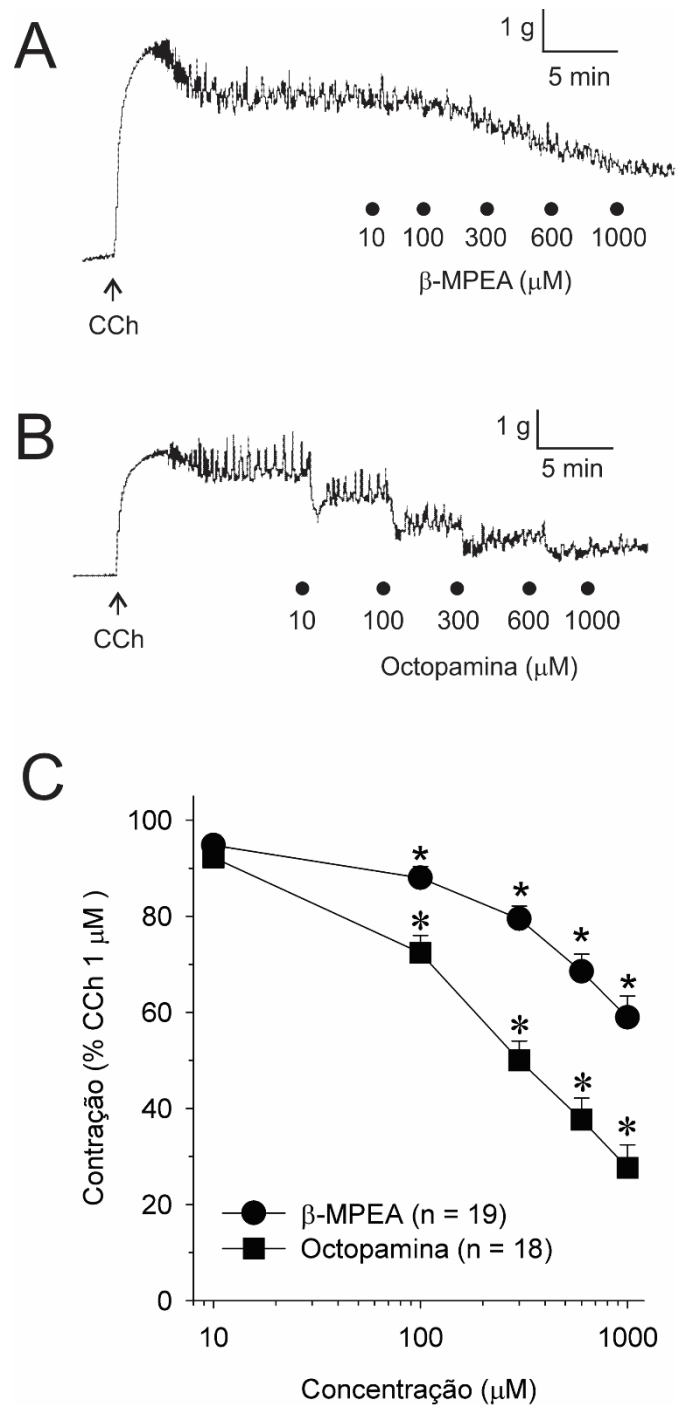


Figura 26 – Adicionadas na fase estável da contração induzida por carbacol (CCh) 1 μ M, β -MPEA (10 – 1000 μ M; A; n = 19) e octopamina (10 – 1000 μ M; B; n = 18) promoveram resposta relaxante. Os valores desses efeitos estão no gráfico (C) como média \pm erro padrão da média e foram expressos como % da magnitude do pico de contração induzido por CCh e registrado imediatamente antes da adição das feniletilaminas. Os valores de tais efeitos foram representados no painel C como média \pm erro padrão da média, n = número de experimentos. ★ e * indicam $P < 0,05$ em comparação com os valores respectivos obtidos antes da adição da β -MPEA e octopamina, respectivamente (*one-way* ANOVA seguido de teste de Holm-Sidak).

O efeito relaxante induzido pela β -MPEA e octopamina em tiras de fundo gástricos contraídas por CCh foram investigadas na presença do EPPTB (50 μ M) ou tropisetrona (0,5 μ M) (Figura 27). Enquanto o antagonista EPPTB (n = 9) e a tropisetrona (n = 9) não modificaram o efeito induzido pela β -MPEA (Figura 27A e 27C, respectivamente), tais antagonistas reduziram significativamente o efeito relaxante induzido pela octopamina (Figura 27B (n = 11) e 27D (n = 9), respectivamente) ($P < 0,05$, *two-way* ANOVA seguido de teste de Holm-Sidak).

Em um conjunto separado de experimentos, o agonista TA_1 RO5263397 (1 – 100 μ M) relaxou significativamente (na maior concentração – 100 μ M) a contração induzida por CCh 1 μ M em tiras isoladas de fundo de estômago gástrico de rato para o valor de $34,5 \pm 7,8\%$ (n = 6) (Fig. 27E, $P < 0,001$, ANOVA). Da mesma forma, a contração induzida pelo CCh diminuiu significativamente para $73,5 \pm 4,2\%$ (n = 8) em resposta ao agonista 5-HT₄ zacoprida (10 – 100 μ M; Fig. 27F, $P < 0,001$, ANOVA). Os efeitos relaxantes induzidos por RO5263397 ou por zacoprida permaneceram inalterados na presença de EPPTB 50 μ M (Fig. 27E e F; $P > 0,05$, *two way* ANOVA).

Figura 27 – Avaliação do efeito relaxante induzido pela β -metilfeniletilamina (β -MPEA) e octopamina em tiras de fundo gástrico de ratos

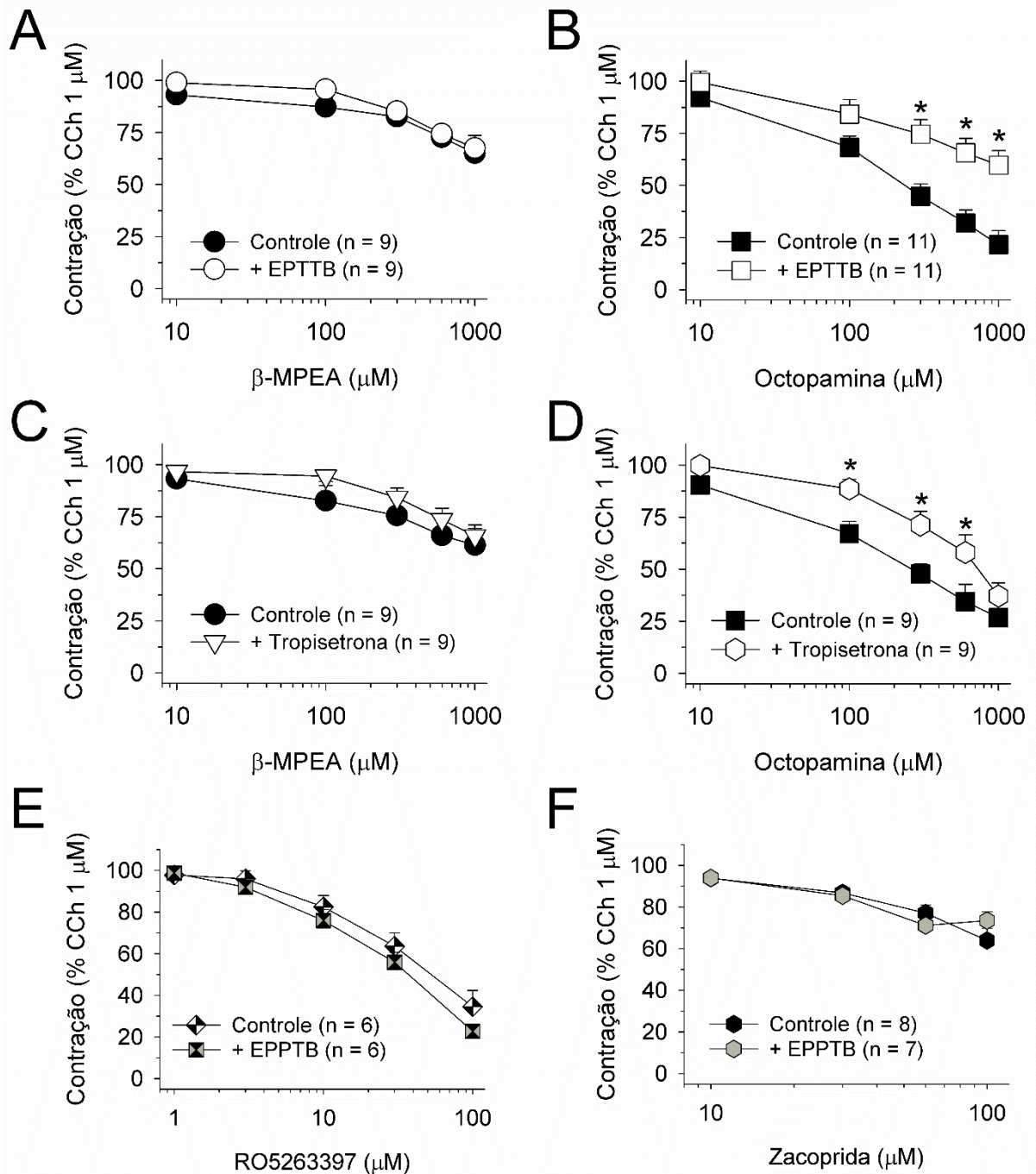


Figura 27 – Curvas concentração efeito em resposta a adições cumulativas (10 – 1000 μ M) de β -MPEA (A e C) ou octopamina (B e D) foram construídas na ausência (Controle) ou na presença dos antagonistas: EPPTB (50 μ M; TA₁; A e B) ou tropisetrona (0,5 μ M; 5-HT₄; C e D). Os valores de tais efeitos foram representados no painel C como média \pm erro padrão da média, n = número de experimentos. *, $P < 0,05$ em comparação com o respectivo valor do controle (*two-way* ANOVA seguido de teste de Holm-Sidak).

5.2.3 Efeitos da β -MPEA e octopamina no trânsito gastrintestinal de líquido

Em comparação com animais que receberam salina administrada por via intraperitoneal (n = 5), β -MPEA (30 mg/kg; n = 6) não alterou o perfil dos valores de retenção do corante teste no trato gastrintestinal de ratos que receberam o alimento líquido teste (Figura 28A). De modo contrário, valores de retenção do corante teste foram significativamente maiores ($P < 0,05$, teste de Mann-Whitney) na porção proximal do intestino delgado dos animais tratados com octopamina (30 mg/kg; n = 7) com valores de retenção de $38,3 \pm 3,5\%$, em comparação com os animais tratados com salina (n = 6), com valores de $21 \pm 3,8\%$, respectivamente (Figura 28B). Além disso, valores de retenção do corante teste significativamente menores foram vistos na porção medial do intestino delgado ($13,1 \pm 0,3\%$ no grupo octopamina vs. $30,0 \pm 2,8\%$ do grupo controle; $P < 0,05$, teste de Mann-Whitney; figura 28B).

Figura 28 – Avaliação do trânsito gastrointestinal de líquidos em ratos após tratamento com β -metilfeniletilamina (β -MPEA) e octopamina

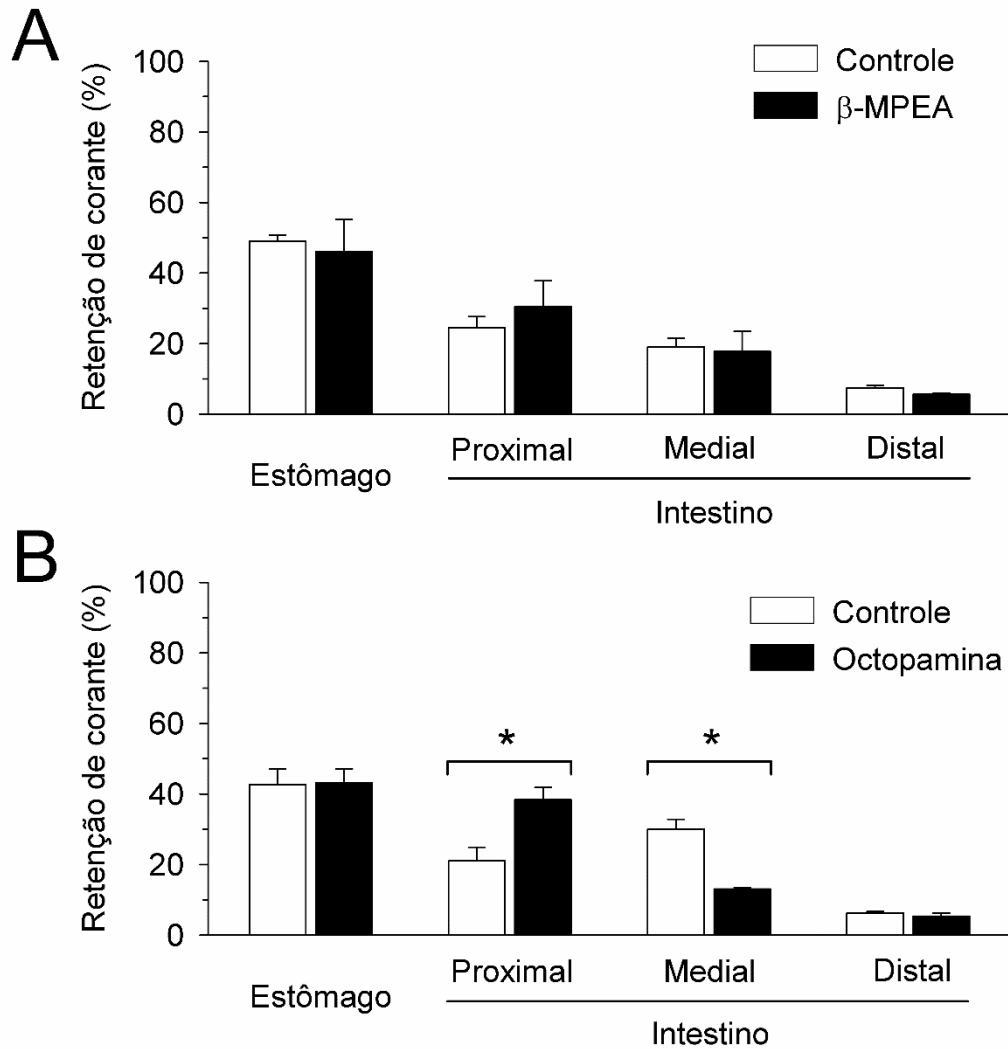


Figura 28 – Painel A e B mostram os valores da retenção de corante recuperados dos segmentos gastrintestinais (estômago e intestino delgado proximal, medial e distal) de ratos previamente tratados (barras pretas) in vivo com administração intraperitoneal de 30 mg/kg de β -MPEA (A; n = 6) ou octopamina (B; n = 7), em comparação com animais tratados com salina (barras brancas; n = 5; n = 6). ★, $P < 0,05$ em comparação com os respectivos valores do grupo controle (teste de Mann-Whitney).

5.2.4 Efeitos da β -MPEA e da octopamina em tecidos isolados de intestino delgado proximal estimulados com carbacol

Experimentos adicionais foram realizados para destacar os efeitos da β -MPEA e da octopamina em tecidos isolados obtidos da região proximal do intestino delgado de ratos. Em preparações mantidas sob a condição de tônus de repouso, enquanto a β -MPEA (10 – 1000 μ M) não promoveu efeitos contráteis significativos ($P > 0,05$), a octopamina (10 – 1000 μ M) induziu relaxamento significativo nas concentrações acima de 300 μ M, com valor máximo correspondente a $30,2 \pm 7,2\%$ ($n = 5$; $P < 0,05$, *one-way* ANOVA seguido de teste de Holm-Sidak) na concentração de 1000 μ M (Figura 29).

Figura 29 – Efeitos induzidos pela β -metilfeniletilamina (β -MPEA) e octopamina no tônus basal de tecidos do intestino delgado proximal de ratos

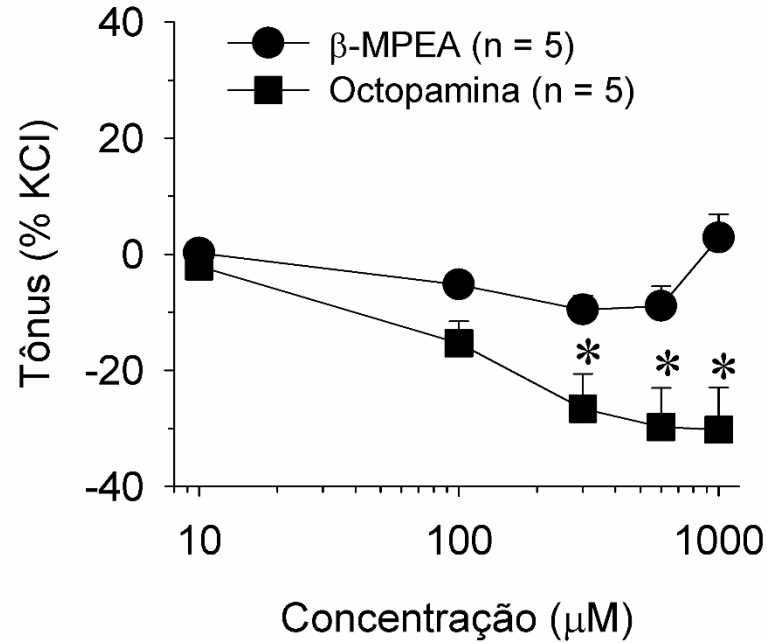


Figura 29 – Gráfico com os efeitos induzidos por 10 – 1000 μM da β -MPEA e octopamina (n = 5) em tecidos da porção proximal do intestino delgado de ratos. As preparações foram mantidas sob tônus de repouso. Valores do tônus são média \pm erro padrão da média e foram expressos como % de uma contração de referência induzida por KCl 60 mM. Valores negativos indicam relaxamento; n = número de experimentos. * indica $P < 0,05$ em comparação com os valores do controle obtidos imediatamente antes da adição da octopamina (*one-way* ANOVA seguido de teste de Holm-Sidak).

Em tecidos de intestino delgado estimulados com carbacol (1 μM), a resposta contrátil mostrou um típico perfil com uma primeira fase com um pico característico seguido por uma segunda fase de contração sustentada (figura 30). No estado estável da segunda fase da contração, a atividade rítmica permaneceu mensurável e uma diminuição significativa na amplitude ($P < 0,05$, teste de Holm-Sidak) ocorreu em resposta a adições cumulativas a octopamina (10 – 1000 μM ; Figura 30B e E). Tal redução na amplitude da atividade rítmica causada pela octopamina foi observada na presença do antagonista do receptor TA_1 (EPPTB 50 μM ; figura 30A, traçado direito e Fig. 30B). Na presença do antagonista do receptor serotoninérgico 5-HT_4 (tropisetrona 0,5 μM ; Fig. 30D, traçado direito), a octopamina não conseguiu reduzir a magnitude da atividade rítmica (Fig. 30E). É importante notar que a octopamina não alterou a frequência da atividade rítmica contrátil (Fig. 30C e F).

Figura 30 – Efeitos relaxantes induzidos pela octopamina em tecidos de intestino delgado proximal de ratos previamente contraídos com carbacol

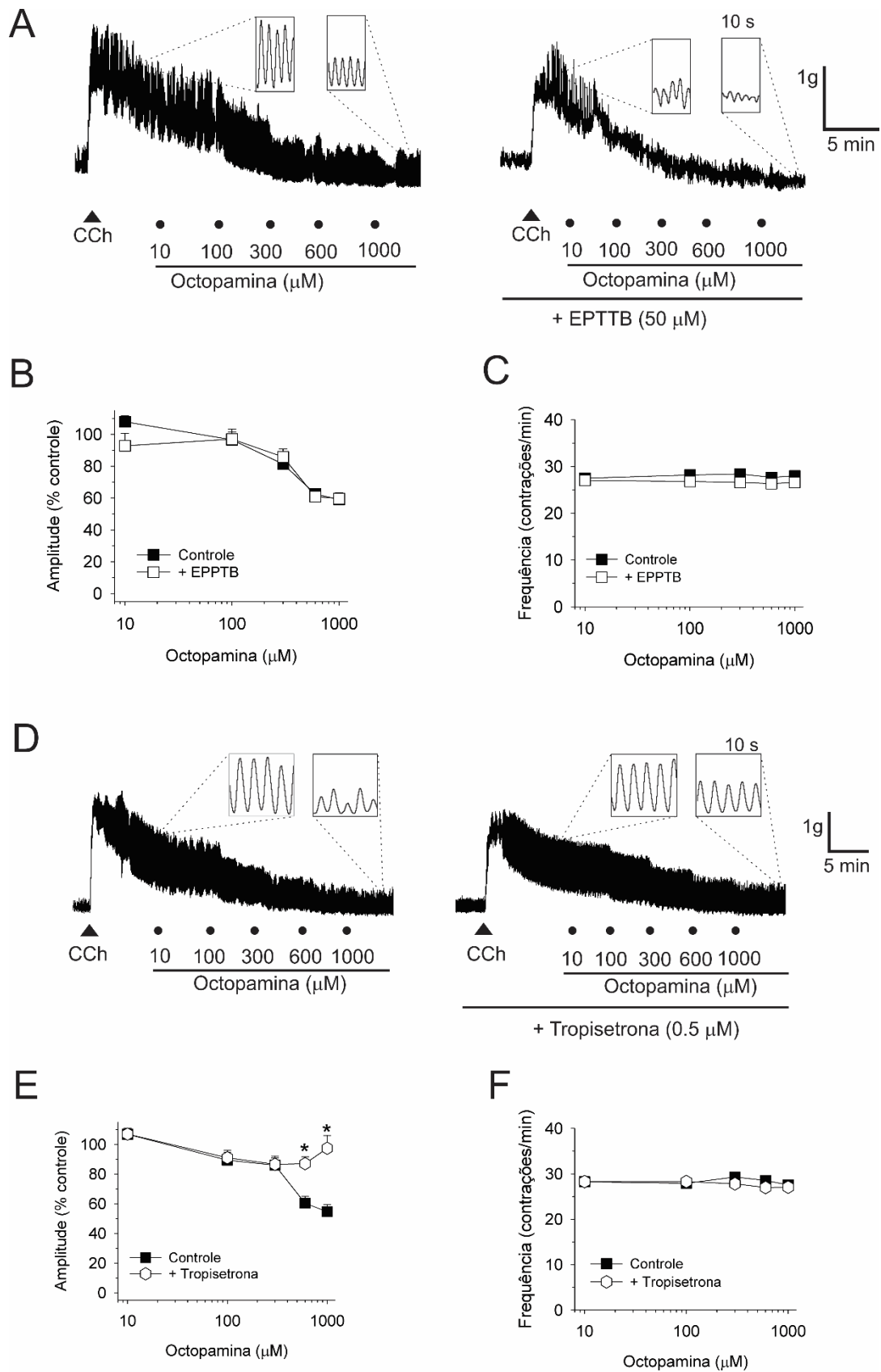


Figura 30 – Traçados experimentais no lado esquerdo dos painéis A e D mostram que a octopamina (10 – 1000 μM) induziram resposta relaxante quando adicionada sozinha no estado estável da contração induzida por carbacol (CCh 1 μM). Tipicamente, as contrações induzidas por CCh foram sobrepostas por contrações rítmicas espontâneas (inseridas acima dos traçados experimentais presentes no painel A e D, tempo de 10 segundos). A magnitude dessas contrações rítmicas foi significativamente reduzida pela octopamina (painéis B e E) na ausência, mas não na presença de tropisetrona (E). O EPPTB (B) não alterou o efeito inibitório promovido pela octopamina nas contrações rítmicas do intestino delgado proximal. Note que em nenhum caso a frequência das contrações rítmicas mudaram após a adição de octopamina (C e F). Os valores nos gráficos estão apresentados como média \pm erro padrão da média e foram expressos como % da magnitude das contrações rítmicas registradas imediatamente antes da adição da octopamina; n = número de experimentos. ★ indica $P < 0,05$ em comparação com o respectivo valor do controle (barras pretas) (*one-way* ANOVA seguido de teste de Holm-Sidak).

6 DISCUSSÃO

Os compostos feniletilamínicos naturais ou sintéticos têm semelhança estrutural com neurotransmissores reconhecidos por seus efeitos na contratilidade gastrointestinal. O presente trabalho se propôs a investigar os efeitos contráteis da feniletilaminas 1-4 metilfeniletilamina (1-4-MPEA), 2-metil-1-feniletilamina (2-M-PEA), 1-metil-1-feniletilamina (1-M-1-PEA), β -feniletilamina (β -PEA), β -metilfeniletilamina (β -MPEA) e octopamina em tecidos isolados do trato gastrointestinal de ratos. A escolha dessas feniletilaminas se deu pela variação nos grupos substituintes mais comuns na estrutura da β -PEA, considerada o protótipo da classe das feniletilaminas (KHAN et al., 2012). A seguir, será apresentada a discussão dos resultados obtidos no presente trabalho, a qual foi dividida em duas partes.

Na primeira parte discutiremos os resultados dos efeitos contráteis de todos os seis compostos estudados em duas situações, em tecidos mantidos sob tônus de repouso e em tecidos previamente contraídos com agente contraturante conhecido (carbacol).

Na segunda parte será apresentada a discussão dos resultados que fazem parte do artigo *“Differential effects of β -methylphenylethylamine and octopamine on contractile parameters of the rat gastrointestinal tract”* proveniente da presente tese.

6.1 Parte I – Efeitos contráteis das feniletilaminas em tecidos gastrintestinais mantidos sob tônus basal ou pré-contraídos

No presente estudo, inicialmente, verificamos os efeitos das seis feniletilaminas estudadas na contratilidade dos tecidos gastrintestinais (fundo de estômago, intestino delgado proximal, medial e distal e cólon distal) mantidos sob tônus basal.

Em tecidos de fundo de estômago de ratos, as feniletilaminas β -PEA, β -MPEA e 1-M-1-PEA apresentaram efeitos contráteis excitatórios quando adicionados em concentrações crescentes. A primeira demonstração de efeito contrátil excitatório da β -PEA em tecidos gástricos de ratos foi em 1969 no trabalho de Innes & Kohli et al. Nesses mesmos tecidos, Batista-Lima et al. (2019) também verificaram efeitos contráteis excitatórios da β -PEA na mesma variação de concentração utilizada no presente trabalho.

No entanto, com relação as feniletilaminas β -MPEA e 1-M-1PEA inexistem relatos na literatura de seus efeitos em tecidos gastrintestinais. Contudo, a β -MPEA é considerada um isômero da anfetamina (Cohen et al., 2016), e esta, já foi demonstrado apresentar efeitos contráteis excitatórios em tecidos isolados de fundo gástrico de ratos (INNES & KOHLI, 1969;

VACCARI & VERTUA, 1970). A β -MPEA é um composto utilizado como recurso ergogênico para a melhoria da performance e do controle do peso corporal, porém, é proibido de ser comercializado em suplementos alimentares. No entanto, sua presença em diversas marcas de produtos dessa categoria vem sendo relatado na literatura (PAWAR et al., 2014; COHEN et al., 2016). Até o momento, foi demonstrada apenas a resposta da β -MPEA no aumento da pressão arterial em ratos (SCHINDLER et al., 2019). Assim, é importante conhecer seus efeitos farmacológicos no trato gastrointestinal, visto serem consumidos por via oral expõem os tecidos desse sistema a esse composto.

Os compostos feniletilamínicos 2-M-PEA e 1-4-MPEA não apresentaram resposta contrátil significativa em comparação com as respostas controles. Esses dois compostos são de origem sintética e não existem estudo com relatos de seus efeitos farmacológicos em tecidos isolados ou em experimentos *in vivo*.

No entanto, a octopamina apresentou resposta relaxante significativa em tecidos isolados de fundo de estômago de ratos. A octopamina é uma feniletilamina hidroxilada naturalmente produzida em algumas espécies de plantas, com destaque para o gênero *Citrus*, e vem sendo utilizada como recurso ergogênico para melhoria de desempenho físico e na perda de gordura corporal (STOHS, 2015). A octopamina faz parte das feniletilaminas conhecidas como aminas traço e também é produzida naturalmente em animais vertebrados e invertebrados através do metabolismo do aminoácido L-tirosina pela ação de enzimas descarboxilases e hidroxilases (STOHS et al., 2020).

Em tecidos isolados do intestino delgado sob tônus basal a feniletilamina sintética 1-M-1-PEA foi a única a apresentar resposta contraturante em todas as porções (proximal, medial e distal) e em tecidos de cólon distal. Esse composto demonstrou um comportamento distinto em comparação com as demais feniletilaminas que não tiveram resposta contraturante significativa ou apresentaram um perfil relaxante nesses tecidos.

As aminas traço β -PEA e octopamina e a feniletilamina sintética 2-M-PEA promoveram respostas relaxantes em todas as três porções do intestino delgado e a octopamina também promoveu resposta relaxante nos tecidos de cólon distal. Em relação a β -PEA, Broadley et al. (2009) demonstraram que essa amina promoveu resposta contraturante em tecidos da porção distal do intestino delgado em ratos, indo de encontro aos resultados obtidos no presente trabalho. No entanto, é importante ressaltar que tal resposta contraturante da β -PEA demonstrada por Broadley e cols. foi obtida numa magnitude de concentração que superou em três vezes a utilizada em nosso estudo. Além disso, esses autores apontaram para uma possível atuação da β -PEA em receptores TA_1 para promover tal resposta contratura. No entanto, a via

de sinalização desse receptor é a produção do AMPc (Bunzow et al., 2001; Borowsky et al., 2001), o que nesses tecidos intestinais ocasionaria resposta relaxante e não contraturante (SANDERS et al., 2012).

Já, os efeitos relaxantes encontrados com a adição de concentrações crescentes de octopamina em tecidos intestinais são corroboradas por Cheng & Cheng (1988), onde estes também demonstraram que a octopamina promoveu efeito relaxante em tecidos de intestino medial, contudo, obtidos de coelho. Esses pesquisadores relacionaram a resposta relaxante promovida pela octopamina com o aumento da produção do AMPc.

Nos tecidos isolados de intestino delgado e de cólon, além de verificar os efeitos das feniletilaminas na tensão isométrica, também foram analisados os efeitos dessas aminas na amplitude e frequência de suas contrações espontâneas. Nesses tecidos, o comportamento contrátil na maior parte consiste em ciclos rítmicos de contração-relaxamento, demonstrando natureza fásica (HANANI et al., 2005). Essas contrações fásicas são conduzidas por potências elétricas de ondas lentas, desencadeadas pelas células intersticiais de Cajal (SANDERS, 2012). As células intersticiais de Cajal são eletricamente acopladas às células musculares lisas do TGI e promovem a modulação da excitabilidade dessas células musculares atuando como células marca-passo (WANG et al., 2003).

No presente trabalho, como esperado, todos os tecidos de intestino delgado e cólon apresentaram contrações espontâneas fásicas. Assim como encontrado por Sánchez et al. (2017), as contrações nos tecidos de intestino delgado apresentaram maior frequência das contrações espontâneas comparadas as contrações nos tecidos de cólon, enquanto os tecidos do cólon apresentaram maior amplitude dessas contrações. Contudo, nenhuma das feniletilaminas estudadas foi capaz de aumentar a frequência das contrações fásicas basais nos tecidos de intestino delgado (proximal, medial e distal). No entanto, as feniletilaminas sintéticas 1-M-1-PEA e 1-4-MPEA aumentaram significativamente a frequência das contrações fásicas basais em tecidos de cólon distal. Já a feniletilamina sintética 2-M-PEA e a octopamina promoveram diminuição da frequência das contrações fásicas em todas as porções (proximal, medial e distal) do intestino delgado, e ainda, a octopamina também promoveu diminuição na frequência das contrações espontâneas fásicas nos tecidos de cólon distal. Tal efeito inibitório de alguma forma pode estar relacionado a uma ação desses compostos em células marca-passos.

Em relação a amplitude das contrações fásicas basais espontâneas, as feniletilaminas sintéticas 1-M-1-PEA e a 1-4-MPEA foram as únicas aminas que aumentaram a amplitude das contrações, a primeira nos tecidos proximal do intestino delgado e cólon distal, e a última apenas no intestino delgado proximal. De modo contrário, a feniletilamina fisiológica

octopamina diminuiu a amplitude das contrações fásicas espontâneas basais em todas as porções do intestino delgado e nos tecidos de cólon distal. Já a amina sintética 2-M-PEA diminuiu a amplitude nas porções proximal e distal do intestino delgado.

Em tecidos de intestino delgado e de cólon, Sánchez et al. (2017) demonstraram em tecidos isolados de camundongos, que as poliaminas putrescina, espermidina, espermina e cadaverina e a amina traço isoamilamina diminuíram a amplitude e a frequência das contrações espontâneas basais nesses tecidos. Esses compostos, assim como as aminas traço clássicas (β -feniletilamina, tiramina, triptamina e octopamina), também são sintetizados a partir do metabolismo de aminoácidos e produzidos naturalmente em tecidos gastrintestinais e bactérias intestinais, bem como estão presentes em alimentos fermentados (GAINETDINOV et al., 2018). Portanto, esses compostos feniletilamínicos derivados de aminoácidos são rotineiramente expostos aos tecidos gastrintestinais, seja por produção tecidual ou por bactérias comensais, e ainda, por ingestão alimentar. Esses compostos, portanto, se apresentam capazes de modular a peristalse intestinal (SÁNCHEZ et al., 2017). É importante ressaltar que no trabalho de Sánchez e cols. foram utilizadas concentrações 3 vezes maior (3 mM) do que a concentração máxima utilizada no presente trabalho (1 mM), no entanto, ainda assim, as feniletilaminas nas concentrações utilizadas em nosso estudo promoveram respostas contráteis de magnitude comparável.

Os efeitos das feniletilaminas no presente trabalho também foram investigados em tecidos gastrintestinais em situação de estimulação contrátil prévia com agonista muscarínico (carbacol) conhecido por promover a contração nesses tecidos (EHLERT et al., 2012). Todos os tecidos estimulados com o carbacol na concentração apresentaram resposta contrátil excitatória. Esse efeito está de acordo com a ação de um agonista de receptor muscarínico M_3 ao desencadear a contração do músculo liso gastrintestinal pela entrada de cálcio (Ca^{2+}) no meio intracelular e consequente estimulação de enzimas quinases que fosforilam enzimas regulatórias desencadeando o mecanismo contrátil (SANDERS et al., 2012).

Em nosso estudo, nos tecidos de fundo de estômago previamente contraídos com carbacol (acoplamento farmacomecânico), todas as feniletilaminas promoveram efeitos relaxantes ao serem adicionadas em concentrações crescentes. Também em tecidos de fundo de estômago de ratos pré-contraídos, Batista-Lima et al. (2019) demonstraram efeitos relaxantes quando a β -PEA foi adicionada na mesma ordem de concentração utilizada no presente trabalho (1 mM). Contudo, a estimulação contrátil dos tecidos de fundo de estômago de ratos no estudo de Batista-Lima e cols. foi sob alta concentração de cloreto de potássio (KCl) adicionado ao meio no qual os tecidos eram mantidos. A presença do KCl em altas concentrações promove a

abertura de canais de cálcio dependentes de voltagem e com isso permite que ocorra a entrada de Ca^{2+} e o desencadeamento dos eventos contráteis (acoplamento eletromecânico) (SOMLYO & SOMLYO, 1994; BERRIDGE et al., 2003). Portanto, a β -PEA demonstra ser capaz de promover efeito relaxante em tecidos de fundo de estômago previamente excitados independente do estímulo ser eletromecânico ou farmacológico.

No presente trabalho, todos os tecidos das porções proximal, medial e distal do intestino delgado e da porção distal do cólon apresentaram efeitos contraturantes com a estimulação do agonista muscarínico carbacol (CCh). Nos tecidos de intestino delgado, previamente contraído com CCh, todas as feniletilaminas estudadas diminuíram a tensão isométrica das contrações comparados com os tecidos do grupo controle (sem a adição das feniletilaminas). Já nos tecidos de cólon distal, apenas a feniletilamina sintética 1-M-1-PEA não promoveu diminuição na tensão isométrica das contrações.

Além do aumento da tensão isométrica desencadeado pela estimulação dos tecidos intestinais com o CCh, também ocorreu aumento no perfil contrátil das contrações espontâneas. Isso ocorre em função das células musculares lisas no trato gastrintestinal serem eletricamente acopladas às células auto excitáveis conhecidas como células intersticiais de Cajal (LANGTON et al., 1989; OZAKI et al., 1991; ZHU et al., 2009). Essa característica faz com que essas células ditem o ritmo das contrações fásicas nesses tecidos (HANANI et al., 2005). Nas células intersticiais de Cajal existem receptores excitatórios e inibitórios, assim, ao serem estimulados podem aumentar ou diminuir a contratilidade nesses tecidos, respectivamente (SANDERS et al., 2012). Portanto, o aumento na magnitude das contrações fásicas nos tecidos intestinais está de acordo com o esperado para estimulação dos receptores excitatórios M_3 por agonista desse receptor.

Nas contrações fásicas desencadeadas pela estimulação com o CCh, a feniletilamina sintética 1-M-1-PEA foi o único composto a promover aumento na amplitude dessas contrações no intestino delgado nas porções proximal e distal. De modo contrário, a β -PEA diminuiu a amplitude das contrações fásicas em todas as porções do intestino delgado e do cólon distal bem como diminuiu a frequência dessas contrações na porção distal do intestino delgado. Já a feniletilamina sintética 1-4-MPEA diminuiu a amplitude das contrações fásicas nas porções medial e distal do intestino delgado, enquanto a octopamina promoveu diminuição na amplitude das contrações fásicas nos tecidos de intestino proximal e de cólon distal. Inibição dessas contrações em tecidos intestinais com estimulação prévia com agonista muscarínico também foi observado por Sánchez et al. (2017) com adições crescentes de poliaminas. Esses efeitos inibitórios podem estar relacionados de alguma forma com alterações na ação das células

marca-passo, contudo, a metodologia utilizada no presente trabalho não permite afirmar se tais efeitos inibitórios se devem a uma ação direta dos compostos feniletilamínicos em receptores localizados nessas células marca-passo.

De uma maneira geral, as feniletilaminas estudadas no presente trabalho apresentaram um perfil de resposta com ênfase em efeitos contraturantes e relaxantes, dependendo se os tecidos estavam no estado basal ou pré-contraído (β -feniletilamina, β -metilfeniletilamina, 1-metil-1-feniletilamina e 1-4-metilfeniletilamina), ou apenas efeitos relaxantes (octopamina e 2-metoxi-1-feniletilamina). A β -feniletilamina é considerada o protótipo da classe das feniletilaminas, possuindo a estrutura mais simples em relação as demais. Portanto, os demais compostos dessa classe, sejam eles de origem natural ou sintética apresentam substituições na estrutura da β -feniletilamina. As moléculas contendo o metil (CH_3) como grupo substituinte (β -metilfeniletilamina, 1-metil-1-feniletilamina e 1-4-metilfeniletilamina) apresentaram respostas contrárias duais, assim como a β -feniletilamina, ou seja, respostas com perfil contraturante nos tecidos em estado basal e um perfil relaxante em tecidos pré-contraídos. Já a octopamina e 2-metoxi-1-feniletilamina que apresenta como grupo substituinte a hidroxila (OH) ou metoxi (OCH_3), respectivamente, apresentaram apenas resposta relaxantes, independente se os tecidos estavam no estado basal ou previamente contraídos. Assim, de alguma forma, essas substituições na estrutura molecular da β -feniletilamina podem alterar o perfil contrátil desses compostos.

Portanto, diante dos resultados obtidos e da identificação de efeitos contrastantes da feniletilamina sintética β -metilfeniletilamina em comparação com a amina traço octopamina, o presente trabalho aprofundou na verificação dos efeitos dessas feniletilaminas na presença de antagonistas de receptores conhecidamente por apresentar respostas contrárias nos tecidos do trato gastrointestinal e do receptor de aminas traço TA_1 . Os resultados obtidos fazem parte do artigo, “*Differential effects of β -methylphenylethylamine and octopamine on contractile parameters of the rat gastrointestinal tract*”, e a discussão desse trabalho será apresentada na sessão a seguir.

6.2 Parte II – Discussão dos Resultados do artigo “*Differential effects of β -methylphenylethylamine and octopamine on contractile parameters of the rat gastrointestinal tract*”

No presente estudo, comparamos os efeitos da β -metilfeniletilamina (β -MPEA) e octopamina, dois compostos pertencentes a classe das feniletilaminas, na contratilidade de

preparações de músculo liso obtidas do fundo gástrico e intestino delgado de ratos. Em preparações gástricas, a adição cumulativa da β -MPEA induziu efeito dual. A β -MPEA promoveu efeito contraturante em preparações sob tônus basal, enquanto provocou o relaxamento dos tecidos em condição de pré-contração com carbacol. De modo contrário, a octopamina induziu efeitos relaxantes em tecidos gástricos de fundo de estômago, tanto em tecidos mantidos sob tônus de repouso, bem como nos tecidos sob estimulação colinérgica com carbacol. Quando administradas por via intraperitoneal, apenas a octopamina modificou o comportamento motor gastrointestinal, o qual promoveu retardo no trânsito de líquido, marcado com corante, nos segmentos de intestino delgado em ratos acordados.

Existem poucos relatos na literatura abordando as ações farmacológicas das feniletilaminas em tecidos isolados do trato gastrintestinal. Enquanto Innes & Kohli (1969) reportaram apenas efeitos contraturantes causados pela molécula protótipo β -feniletilamina em tiras isoladas de fundo gástrico de ratos, Batista-Lima et al. (2019) recentemente demonstrou que a β -feniletilamina promoveu efeitos contráteis duais, excitatórios e inibitórios, na musculatura lisa desses mesmos tecidos. Assim como a β -feniletilamina, no presente trabalho demonstramos em tecidos de fundo gástrico efeitos duais, contraturantes e relaxantes, com seu análogo β -metilfeniletilamina, um isômero posicional da anfetamina com escassa informação publicada sobre seu perfil de efeitos farmacológicos.

O fundo gástrico é uma preparação de musculatura lisa útil para o estudo de composto que possuem efeitos estimulantes em receptores serotoninérgicos (5-HT) (Winter et al., 1967) e já foi anteriormente demonstrado a expressão de receptores 5-HT nesses tecidos (FOGUET et al., 1992). Innes & Kohli (1969), foram um dos primeiros a propor que a β -feniletilamina promovia efeitos excitatórios pela estimulação de receptores 5-HT nesses tecidos. Os resultados recentes demonstrados por Batista-Lima et al. (2019) reiteram o envolvimento dos receptores 5-HT nos efeitos contraturantes promovidos pela β -feniletilamina em tecidos gástricos, mas com efeitos relaxantes atribuídos a estimulação de receptores TA_1 , um subtipo de receptor com uma notável expressão em tecidos gástricos de ratos (CHIELLINI et al., 2012).

No presente trabalho, nós investigamos o envolvimento dos receptores 5-HT nos efeitos excitatórios causados pela β -MPEA em tecidos gástricos de fundo de estômago de ratos. A significativa redução dos efeitos contráteis promovidos pela β -MPEA na presença de antagonistas de receptores 5-HT metiotepina ou ciproheptadina sugerem o envolvimento dos subtipos 5-HT_{5A}, 5-HT₆ ou 5-HT₇. A inibição da adenilato ciclase (por 5-HT_{5A}) e da estimulação da fosfolipase C (por 5-HT_{5A} ou 5-HT₆) já foi reportado como mecanismo de

transdução em resposta a ativação de subtipos 5-HT_{5A} e 5-HT₆ (Noda et al., 2003; Zhang et al., 2003), o qual deve favorecer o desenvolvimento de força por células musculares lisas (Kuo & Ehrlich, 2015). Contudo, o envolvimento do receptor 5-HT₇ no efeito contraturante promovido pela β -MPEA é improvável pelo fato da ativação desse subtipo resultar na estimulação da adenilato ciclase em células do músculo liso (BAKER et al., 1998). A participação dos subtipos 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A} e 5-HT_{2B} também parece improvável por conta do efeito excitatório promovido pela β -MPEA ter sido indiferente na presença dos antagonistas desses subtipos iloperidona, ketanserina e ritanserina, respectivamente (WAINSCOTT et al., 1993; KONGSAMUT et al., 1996; KNIGHT et al., 2004). Uma vez que a presença da atropina não alterou a resposta contrátil promovida pela β -MPEA, o envolvimento de receptores muscarínicos é similarmente improvável.

Na análise dos efeitos relaxantes vistos em tecidos de fundo gástrico sob contração sustentada induzida por carbacol, é importante notar que a tropisetrona (antagonista de receptores 5-HT₄; Adham et al., 1996) e o EPPTB (antagonista de receptores TA₁; Bradaia et al., 2009) não inibiram o efeito relaxante promovido pela β -MPEA, mas reduziram significativamente o efeito relaxante induzido pela octopamina. Esse achado sugere que a octopamina provavelmente atuou por mecanismo similar e de forma inespecífica nos receptores 5-HT₄ e TA₁. Já é conhecido que a estimulação dos receptores 5-HT₄ (Komada & Yano, 2007) e TA₁ (Bunzow et al., 2001) promovem a ativação da proteína-G (Gs) com consequente aumento na produção intracelular da adenosina 3',5'-monofosfato cíclico (AMPC). Essa via intracelular faz com que agonistas desses receptores apresentem propriedades relaxantes, especialmente em musculatura lisa gástrica (Komada & Yano, 2007; Batista-Lima et al., 2019).

Ambos, RO5263397 (agonista parcial com alta afinidade por receptores TA₁; Galley et al., 2016) e zacoprida (agonista seletivo 5-HT₄; Adham et al., 1996) relaxaram tiras de fundo de estômago gástrico de ratos previamente contraídas com carbacol. Esses achados demonstram a ocorrência de resposta relaxante pela estimulação de agonista TA₁ e 5-HT₄ em tiras de fundo gástrico de ratos. De modo contrário do ocorrido com a octopamina, o EPPTB em alta concentração (50 μ M) não inibiu o efeito relaxante em fundo gástrico desencadeado pelo agonista TA₁ RO5263397. E ainda, no mesmo tecido, o EPPTB também não diminuiu o efeito relaxante promovido pela zacoprida, o que nos permite excluir possível interação do EPPTB em receptores 5-HT₄. Tal discrepância reforça a noção da octopamina agir através de ativação inespecífica dos receptores 5-HT₄ e TA₁, e levanta a hipótese da octopamina e o EPPTB poderem interagir com outro subtipo de receptor TA além do TA₁. Uma hipótese similar

para explicar a interação entre a octopamina e o EPPTB foi previamente sugerida por Koh et al. (2019) em anéis de artérias coronárias de porco.

Agonistas de receptores 5-HT₄ e TA₁ demonstraram a capacidade de modificar o trânsito gastrointestinal *in vivo* em cachorros, cobaios e camundongos. Raab et al. (2016), mostrou que a ativação do receptor TA₁ pelo agonista específico RO5166017 retardou o esvaziamento gástrico em camundongos, enquanto o tegaserode, agonista do receptor 5-HT₄, inibiu a contração induzida pela serotonina em fundo gástrico de ratos e aumentou o trânsito do cólon em cobaios via ativação do receptor 5-HT₄ (BEATTIE et al., 2004). O também agonista 5-HT₄, YKP10811, acelerou o esvaziamento gástrico de líquidos sem alterar a acomodação gástrica em cachorros (YIN et al., 2017).

No presente estudo, o padrão da motilidade do trato gastrintestinal em ratos permaneceu inalterada quando a β -MPEA foi administrada por via intraperitoneal. Levando em consideração que o tratamento dos tecidos de musculo liso com tropisetrona ou EPPTB nos experimentos *in vitro* não modificaram as respostas desencadeadas pela β -MPEA, os achados vistos nos experimentos *in vivo* sugerem que a β -MPEA é incapaz de recrutar os receptores 5-HT₄ ou TA₁ para produzir efeitos inibitórios. De modo contrário, a octopamina retardou o trânsito gastrointestinal de líquido, como indicado pelos altos valores de retenção na porção proximal do intestino delgado nos animais tratados com octopamina.

De acordo com Camilleri et al. (2019), o trânsito gastrintestinal resulta de uma gama de fatores neuro-hormonais que agem no comportamento propulsivo do estômago e da influência exercida no papel receptivo no intestino delgado. Nesse sentido, parece plausível que a influência inibitória da octopamina vista nos experimentos *in vitro* nas tiras de tecidos gástricos não modificou a taxa de esvaziamento gástrico nos experimentos *in vivo*, pois nenhuma diferença foi vista na retenção de corante na porção gástrica, pelo menos em nossa condição experimental. Contudo, uma vez que mudanças significantes foi observada na retenção de corante nos segmentos do intestino delgado, a octopamina pode ser considerada farmacologicamente ativa *in vitro* nesses tecidos intestinais.

De fato, enquanto a β -MPEA não produziu efeitos contráteis no tônus basal, a octopamina relaxou os tecidos intestinais. Assim como no fundo gástrico, tal propriedade inibitória da octopamina foi apresentada em preparações intestinais mantidas em tônus basal, bem como em tecidos previamente contraídos com carbacol. Tipicamente, as preparações intestinais mostraram atividade contrátil rítmica espontânea em condições basais, o qual aumentaram em magnitude quando as preparações foram estimuladas com carbacol. O comportamento rítmico espontâneo das contrações é intrinsicamente gerado na parede do

intestino delgado e resulta da influência elétrica pelas células intersticiais de Cajal (SANDERS et al., 2006).

É importante destacar que além do efeito miorelaxante visto após a adição da octopamina na fase estável da contração sustentada desencadeada pelo carbacol, ficou evidente que a octopamina diminuiu significativamente a magnitude da amplitude das contrações rítmicas espontâneas. Esse efeito foi abolido quando a tropisetrona foi previamente adicionada nas preparações, mas não com adição do EPPTB, o que sugere que o receptor 5-HT₄, mas não o TA₁, pode estar envolvido no efeito inibitório da octopamina nessas contrações rítmicas.

Contudo, a octopamina não foi capaz de alterar a frequência dessas contrações nos tecidos intestinais. Tal evidência nos permite supor que o efeito inibitório da octopamina deve ocorrer preferencialmente no músculo liso, mas não nas células marca-passos.

6.3 Considerações Finais

6.3.1 Limitações e perspectivas futuras

Uma limitação que deve ser destacada em nossos experimentos é que pode haver diferença entre a resposta da liberação de um neurotransmissor diretamente na junção neuroefetora em relação a adição desse mesmo neurotransmissor diretamente no tecido (meio em que o tecido esteja presente). O que para Sanders et al. (2012), tal diferença pode ser por conta dos neurotransmissores se ligarem a receptores diferentes, pois os receptores que estão nas junções neuroefetoras podem não ser os mesmos estimulados quando adicionados ao meio tecidual.

Devemos observar também, que das seis feniletilaminas utilizadas, β -feniletilamina e octopamina são naturalmente produzidas por tecidos de animais vertebrados. Esses compostos são encontrados no organismo em pequenas concentrações. Portanto, é importante reconhecer que as concentrações utilizadas no presente trabalho foram extrapoladas em relação as concentrações fisiológicas, no entanto, outros trabalhos que investigaram efeitos de compostos feniletilamínicos utilizaram concentrações até três vezes a utilizada em nosso estudo (BROADLEY et al., 2009; SÁNCHEZ et al. 2017). Portanto, as respostas duais excitatórias e inibitórias desencadeadas por algumas das feniletilaminas podem estar relacionadas a estimulação em mais de um receptor, podendo as altas concentrações utilizadas explicar em parte essas respostas.

E ainda, também é importante destacar que respostas em tecidos isolados nem sempre reproduzem os resultados obtidos com experimentos em cultura de células. Por exemplo, a utilização do antagonista seletivo dos receptores TA₁ não alterou a resposta do agonista desses receptores em diferentes espécies testadas. Tal fato pode estar relacionado ao tipo de tecido testado em nosso trabalho (trato gastrintestinal), portanto a falta de outros antagonistas trouxe um fator limitante em determinar uma via mais específica de atuação de alguns compostos aqui estudados.

Por fim, destacamos que a descoberta de agonistas e antagonistas seletivos para o receptor TA₁ representa um avanço no estudo dos efeitos fisiológicos e de patologias relacionados com a ativação desses receptores. Portanto, novas investigação dos efeitos de compostos feniletilamínicos com a utilização de agonistas e antagonistas cada vez mais específicos precisam ser continuadas para o melhor entendimento do comportamento desses compostos no trato gastrintestinal.

7 CONCLUSÃO

As feniletilaminas estudadas no presente trabalho, de um modo geral, foram capazes de modificar o perfil contrátil de segmentos gastrintestinais, demonstrando efeitos excitatórios e ou inibitórios. Portanto, a ingestão de suplementos alimentares contendo compostos feniletilamínicos têm a capacidade de promover ações contráteis em tecidos gastrintestinais.

Assim, em tecidos de fundo gástrico sob tônus de repouso as feniletilaminas β -PEA, β -MPEA e 1-M-1-PEA apresentaram perfil de resposta contraturante. Já octopamina apresentou resposta relaxante. Nos tecidos intestinais, a 1-M-1-PEA foi a única feniletilamina a apresentar resposta contraturante em todas as porções do intestino delgado e em tecidos de cólon. Octopamina, β -PEA e 2-M-PEA apresentaram respostas relaxantes em todas as porções do intestino delgado e octopamina também relaxou tecidos de cólon.

Em tecidos gástricos previamente estimulados com carbacol, todas as feniletilaminas promoveram efeitos relaxantes. Tal resposta inibitória também foi visto em todos os tecidos intestinais, com exceção da 1-M-1-PEA na porção distal do cólon.

Nas contrações fásicas em tecidos intestinais sob tônus de repouso, octopamina foi a única feniletilamina a produzir efeito inibitório na frequência e na amplitude em todas as porções intestinais estudadas. Já nas contrações fásicas nos tecidos intestinais, nenhuma das feniletilaminas alterou a frequência das contrações.

Por fim, foi demonstrado em tecidos de fundo gástrico, que embora β -MPEA e octopamina possuam uma certa proximidade química, esses dois compostos apresentaram efeitos distintos. Os efeitos excitatórios promovido pela β -MPEA parece resultar da ativação de receptores 5-HT, com destaque para os subtipos 5-HT_{5A} e 5-HT₆. De modo contrário, a β -MPEA apresentou efeito relaxante por uma via ainda não identificada. Por sua vez, a octopamina promoveu apenas efeitos relaxantes com provável envolvimento dos receptores 5-HT₄ e TA₁. O perfil predominantemente inibitório da octopamina parece efetivo em retardar o trânsito gastrointestinal em ratos.

REFERÊNCIAS

- ADHAM, N. et al. [3H]5-hydroxytryptamine labels the agonist high affinity state of the cloned rat 5-HT₄ receptor. **European Journal of Pharmacology**, v. 304, n. 1–3, p. 231–235, 1996.
- ADRIAENSSENS, A. et al. A transcriptome-led exploration of molecular mechanisms regulating somatostatin-producing D-cells in the gastric epithelium. **Endocrinology**, v. 156, n. 11, p. 3924–3936, 2015.
- AN, D. et al. Determination of biogenic amines in oysters by capillary electrophoresis coupled with electrochemiluminescence. **Food Chemistry**, v. 168, p. 1–6, 2015.
- BAKER, L. P. et al. Stimulation of type 1 and type 8 Ca²⁺/calmodulin-sensitive adenylyl cyclases by the G(s)-coupled 5-hydroxytryptamine subtype 5-HT(7A) receptor. **Journal of Biological Chemistry**, v. 273, n. 28, p. 17469–17476, 1998.
- BARGER, G.; DALE, H. H. Chemical Structure and Sympathomimetic. **Physiological Research**, 1905.
- BARGER, G; WALPOLE, G. S. Isolation of the pressor principles of putrid meat. **Journal of Physiology**, v. 1, n. 38, p. 343–352, 1909.
- BATISTA-LIMA, F. J. et al. Dual excitatory and smooth muscle-relaxant effect of β-phenylethylamine on gastric fundus strips in rats. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 46, n. 1, p. 40–47, 2019.
- BEATTIE, D. T. et al. The 5-HT₄ receptor agonist, tegaserod, is a potent 5-HT_{2B} receptor antagonist in vitro and in vivo. **British Journal of Pharmacology**, v. 143, n. 5, p. 549–560, 2004.
- BERRY, M. D. Mammalian central nervous system trace amines. Pharmacologic amphetamines, physiologic neuromodulators. **Journal of Neurochemistry**, v. 90, n. 2, p. 257–271, 2004.
- BERRY, M. D. et al. Pharmacology of human trace amine-associated receptors: Therapeutic opportunities and challenges. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 180, p. 161–180, 2017.
- BERRIDGE, M.J.; BOOTMAN, M. D.; RODERICK, H. L. Calcium signaling: dynamics, homeostasis and remodeling. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, n. 4, p. 517-529, 2003.
- BITAR, K. N.; RAGHAVAN, S.; ZAKHEM, E. Tissue engineering in the gut: Developments in neuromusculature. **Gastroenterology**, v. 146, n. 7, p. 1614–1624, 2014.
- BOECKXSTAENS, G. et al. Fundamentals of neurogastroenterology: Physiology/motility - Sensation. **Gastroenterology**, v. 150, n. 6, p. 1292- 1304.e2, 2016.
- BOHN, A. M.; KHODAEI, M.; SCHWENK, T. L. Ephedrine and Other Stimulants As Ergogenic Aids. **Current Sports Medicine Reports**, v. 2, n. 4, p. 220–225, 2003.

- BOROWSKY, B. et al. Trace amines: identification of a family of mammalian G protein-coupled receptors. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 98, n. 16, p. 8966–8971, 2001.
- BOULTON, A. A. Amines and Theories in Psychiatry. **The Lancet**, v. 304, n. 7871, p. 52–53, 1974.
- BOULTON, A. A. Identification, distribution, metabolism, and function of meta and para tyramine, phenylethylamine and tryptamine in brain. **Advances in Biochemistry Psychopharmacology**, v. n. 15, p. 57-57, 1976.
- BOULTON, A. A.; WU, P. H. Biosynthesis of cerebral phenolic amines. I. In vivo formation of p-tyramine, octopamine, and synephrine. **Canadian journal of biochemistry**, v. 50, n. 3, p. 261–267, 1972.
- BOULTON, A.A; WU. P.H; PHILIPS, S. Binding of some primary aromatic amines to certain rat brain particulate fractions. **Canadian journal of biochemistry**, v. 50, n. 11, p. 1210-1218, 1972.
- BORISON R. L. et al. Brain 2-phenylethylamine as a major mediator for the central actions of amphetamine and methylphenidate. **Life Science**, v. 17, n. 8, p. 1331-1343,1975.
- BRADAIA, A. et al. The selective antagonist EPPTB reveals TAAR1-mediated regulatory mechanisms in dopaminergic neurons of the mesolimbic system. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 106, n. 47, p. 20081–20086, 2009.
- BRANCHEK, T. A; BLACKBURN, T. P. Trace amine receptors as targets for novel therapeutics: Legend, myth and fact. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 3, p. 90–97, 2003.
- BRAUN, T. et al. Enterochromaffin Cells of the Human Gut: Sensors for Spices and Odorants. **Gastroenterology**, v. 132, n. 5, p. 1890–1901, 2007.
- BROADLEY, K. J. et al. Effects of dietary amines on the gut and its vasculature. **British Journal of Nutrition**, v. 101, n. 11, p. 1645–1652, 2009.
- BUNZOW, J. R. et al. Amphetamine, 3,4-Methylenedioxymethamphetamine, Lysergic Acid Diethylamide, and Metabolites of the Catecholamine Neurotransmitters Are Agonists of a Rat Trace Amine Receptor. **Molecular Pharmacology**, v. 60, n. 6, p. 1181–1188, 2001.
- CAMILLERI, M. Gastrointestinal hormones and regulation of gastric emptying. **Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity**, v. 26, n. 1, p. 3–10, 2019.
- CETIN, Y. et al. Enterochromaffin cells of the digestive system: Cellular source of guanylin, a guanylate cyclase-activating peptide. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 91, n. 8, p. 2935–2939, 1994.

CHENG, J. T.; HSIEH-CHEN, S. C. Octopamine relaxes rabbit jejunal smooth muscle by selective activation of dopamine D1 receptors. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 338, n. 4, p. 373–378, 1988.

CHIELLINI, G. et al. Distribution of exogenous [¹²⁵I]-3-iodothyronamine in mouse in vivo: Relationship with trace amine-associated receptors. **Journal of Endocrinology**, v. 213, n. 3, p. 223–230, 2012.

CHRISTENSON, J. G.; DAIRMAN, W.; UDENFRIEND, S. Preparation and properties of a homogeneous aromatic l-amino acid decarboxylase from hog kidney. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 141, n. 1, p. 356–367, 1970.

CHRISTOPHERSON, J. B.; BROADBENT, M. Ephedrine and pseudo-ephedrine in asthma, bronchial asthma, and enuresis. **British Medical Journal**, v. 1, n. 3830, p. 978–979, 1934.

COHEN, P. A. et al. An amphetamine isomer whose efficacy and safety in humans has never been studied, β-methylphenylethylamine (BMPEA), is found in multiple dietary supplements. **Drug Testing and Analysis**, v. 8, n. 3–4, p. 328–333, 2016.

COUTTS, R.T. et al. Foodstuffs as sources of psychoactive amines and their precursors: Content, significance and identification. **Advances in Drug Research**, v.15, p.169-231, 1986.

CHO, A. K; SEGAL, D. S. **Amphetamine and its analogs: Psychopharmacology, Toxicology and Abuse**, Academic press, London, 1994. 503 p.

DALE, P. B. Y. H. H.; DIXON, W. E. **Pharmacological Laboratory**, Cambridge, London, 1909.

DA PRADA, M. et al. On tyramine, food, beverages and the reversible MAO inhibitor moclobemide. **Journal of neural transmission. Supplementum**, v. 1, n. 26, p. 31–56, 1988.

DE PONTI, F. et al. Adrenergic mechanisms in the control of gastrointestinal motility: From basic science to clinical applications. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 69, n. 1, p. 59–78, 1996.

DIAL, E. J. et al. Amino acid- and amine-induced gastrin release from isolated rat endocrine granules. **American Journal of Physiology**, v. 1, n. 260, p. 175–181, 1991.

DOONG, M. L. et al. Inhibition of gastric emptying and intestinal transit by amphetamine through a mechanism involving an increased secretion of CCK in male rats. **British Journal of Pharmacology**, v. 124, n. 6, p. 1123–1130, 1998.

DOMINICI, P. et al. Purification and characterization of rat-liver 3,4-dihydroxyphenylalanine decarboxylase. **European Journal of Biochemistry**, v 169, n. 1, p. 209-213, 1987.

DYCK, LE. Release of monoamines from striatal slices by phenelzine and beta-phenylethylamine. **Progress in Neuropsychopharmacology, Biology and Psychiatry**, v. 7 n. 46, p. 797-800, 1983.

EDWARDS, D. J.; BLAU, K. Phenethylamines in brain and liver of rats with experimentally induced phenylketonuria like characteristics. **Biochemical Journal**, v. 132, n. 1, p. 95–100, 1973.

EHLERT, F. J.; PAK, K. J.; GRIFFIN, M. T. **Muscarinic agonists and antagonists: Effects on gastrointestinal function**, eds. Springer, Berlin, 2012. p. 208.

EICHNER, S. et al. Banned and discouraged-use ingredients found in weight loss supplements. **Journal of the American Pharmacists Association**, v. 56, n. 5, p. 538–543, 2016.

EUDY, A. E. et al. Efficacy and safety of ingredients found in preworkout supplements. **American Journal of Health-System Pharmacy**, v. 70, n. 7, p. 577–588, 2013.

ERSPAMER, V. Identification of octopamine as l-p hydroxyphenylethanolamine. **Nature**, v. 169, n. 4296, p. 375–376, 1952.

FOGUET, M. et al. Cloning and functional characterization of the rat stomach fundus serotonin receptor. **EMBO Journal**, v. 11, n. 9, p. 3481–3487, 1992.

GAINETDINOV, R. R.; HOENER, M. C.; BERRY, M. D. Trace amines and their receptors. **Pharmacological Reviews**, v. 70, n. 3, p. 549–620, 2018.

GALLEY, G. et al. Discovery and Characterization of 2-Aminooxazolines as Highly Potent, Selective, and Orally Active TAAR1 Agonists. **ACS Medicinal Chemistry Letters**, v. 7, n. 2, p. 192–197, 2016.

GARDINI, F. et al. Technological factors affecting biogenic amine content in foods: A review. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, n. AUG, p. 1–18, 2016.

GRANDY, D. K. Trace amine-associated receptor 1-Family archetype or iconoclast? **Pharmacology and Therapeutics**, v. 116, n. 3, p. 355–390, 2007.

HALLER, C. A.; BENOWITZ, N. L. Adverse Cardiovascular and Central Nervous System Events Associated with Dietary Supplements Containing Ephedra Alkaloids. **New England Journal of Medicine**, v. 343, n. 25, p. 1833–1838, 2000.

HANANI, M.; FARRUGIA, G.; KOMURO, T. Intercellular coupling of interstitial cells of cajal in the digestive tract. **International Review of Cytology**, v. 242, p. 249–282, 2004.

HEAL, D. J. et al. Amphetamine, past and present - A pharmacological and clinical perspective. **Journal of Psychopharmacology**, v. 27, n. 6, p. 479–496, 2013.

INNES, I. R. Action of Dexamphetamine on 5-Hydroxytryptamine Receptors. **British Journal of Pharmacology and Chemotherapy**, v. 21, n. 3, p. 427–435, 1963.

INNES, I. R.; KOHLI, J. D. Excitatory action of sympathomimetic amines on 5-hydroxytryptamine receptors of gut. **British journal of pharmacology**, v. 35, n. 3, p. 383–393, 1969.

ITO, J. et al. Anatomical and histological profiling of orphan G-protein-coupled receptor

expression in gastrointestinal tract of C57BL/6J mice. **Cell and Tissue Research**, v. 338, n. 2, p. 257–269, 2009.

JACOBS, J. P. et al. A Disease-Associated Microbial and Metabolomics State in Relatives of Pediatric Inflammatory Bowel Disease Patients. **Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology**, v. 2, n. 6, p. 750–766, 2016.

JANSSEN, P. A. J. et al. Does phenylethylamine act as an endogenous amphetamine in some patients? **International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 2, n. 3, p. 229–240, 1999.

KAWANO, T. et al. Phenylethylamine-induced generation of reactive oxygen species and ascorbate free radicals in tobacco suspension culture: Mechanism for oxidative burst mediating Ca²⁺ influx. **Plant and Cell Physiology**, v. 41, n. 11, p. 1259–1266, 2000.

KIDD, M. et al. Luminal regulation of normal and neoplastic human EC cell serotonin release is mediated by bile salts, amines, tastants, and olfactants. **American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 295, n. 2, p. 260–272, 2008.

KIM, Y. C. et al. Relaxant effect of spermidine on acetylcholine and high K⁺-induced gastric contractions of guinea-pig. **Korean Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 12, n. 2, p. 59–64, 2008.

KHAN et al. **Basic principles of forensic chemistry**. 1. ed. New York: Springer, 2012. 360 p.

KNIGHT, A. R. et al. Pharmacological characterisation of the agonist radioligand binding site of 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} and 5-HT_{2C} receptors. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 370, n. 2, p. 114–123, 2004.

KOH, A. H. W.; CHESS-WILLIAMS, R.; LOHNING, A. E. Differential mechanisms of action of the trace amines octopamine, synephrine and tyramine on the porcine coronary and mesenteric artery. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–9, 2019.

KOMADA, T.; YANO, S. Pharmacological characterization of 5-hydroxytryptamine-receptor subtypes in circular muscle from the rat stomach. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 30, n. 3, p. 508–513, 2007.

KONGSAMUT, S. et al. Iloperidone binding to human and rat dopamine and 5-HT receptors. **European Journal of Pharmacology**, v. 317, n. 2–3, p. 417–423, 1996.

KOPIN, I. J. et al. Evidence for a False Neurochemical Transmitter As a Mechanism for the Hypotensive Effect of Monoamine Oxidase Inhibitors. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 52, n. 3, p. 716–721, 1964.

KUO, I. Y.; EHRLICH, B. E. Signaling in muscle contraction. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 7, n. 2, 2015.

LANGTON, P. et al. Spontaneous electrical activity of interstitial cells of Cajal isolated from canine proximal colon. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United**

States of America, v. 86, n. 18, p. 7280–7284, 1989.

LAUWERYNS, J. M.; VAN RANST, L. Immunocytochemical Acid Decarboxylase Bronchopulmonary. **The Journal of Histochemistry and Cytochemistry**, v. 36, n. 9, p. 1181–1186, 1988.

LI, Y. et al. Synthesis, transport, and metabolism of serotonin formed from exogenously applied 5-HTP after spinal cord injury in rats. **Journal of Neurophysiology**, v. 111, n. 1, p. 145–163, 2014.

LICHTENBERGER L. M. et al. Importance of amino acid uptake and decarboxylation in gastrin release from isolated G cells. **Nature**, v. 295, n. 5851, p. 698–700, 1982.

LINDEMANN, L. et al. Trace amine-associated receptors form structurally and functionally distinct subfamilies of novel G protein-coupled receptors. **Genomics**, v. 85, p. 372–385, 2005.

LINDEMANN, L.; HOENER, M. C. A renaissance in trace amines inspired by a novel GPCR family. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 26, n. 5, p. 274–281, 2005.

LINNOILA, R. I. et al. Long-term selective culture of hamster pulmonary endocrine cells. **The Anatomical Record**, v. 236, n. 1, p. 231–240, 1993.

LUQMAN, A. et al. SadA-Expressing Staphylococci in the Human Gut Show Increased Cell Adherence and Internalization. **Cell Reports**, v. 22, n. 2, p. 535–545, 2018.

MAGUIRE, J. J. et al. International union of pharmacology. LXXII. Recommendations for trace amine receptor nomenclature. **Pharmacological Reviews**, v. 61, n. 1, p. 1–8, 2009.

MALAGELADA, C.; MALAGELADA, J. R. Small Bowel Motility. **Current Gastroenterology Reports**, v. 19, n. 6, 2017.

MOSNAIM A.D. et al. Phenylethylamine Metabolism by Postmortem Human Brain and Liver Preparations. In: Boulton A.A. et al. **Neuropsychopharmacology of the Trace Amines**. 1. ed. Humana Press, 1985.

NELSON, T. M. et al. Vaginal biogenic amines: Biomarkers of bacterial vaginosis or precursors to vaginal dysbiosis? **Frontiers in Physiology**, v. 6, n. SEP, p. 1–15, 2015.

NIWA, T. et al. Human Liver Enzymes Responsible for Metabolic Elimination of Tyramine, a Vasopressor Agent from Daily Food. **Drug Metabolism Letters**, v. 5, n. 3, p. 216–219, 2011.

NODA, M. et al. Recombinant human serotonin 5A receptors stably expressed in C6 glioma cells couple to multiple signal transduction pathways. **Journal of Neurochemistry**, v. 84, n. 2, p. 222–232, 2003.

OHTA, H. et al. Tyramine and β -phenylethylamine, from fermented food products, as agonists for the human trace amine-associated receptor 1 (hTAAR1) in the stomach. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v. 81, n. 5, p. 1002–1006, 2017.

OZAKI, H. et al. Simultaneous measurement of membrane potential, cytosolic Ca²⁺, and tension in intact smooth muscles. **American Journal of Physiology - Cell Physiology**, v. 260, n. 5 29-5, 1991.

PALAMAR, J. How ephedrine escaped regulation in the United States: A historical review of misuse and associated policy. **Health Policy**, v. 99, n. 1, p. 1–9, 2011.

PAWAR, R. S. et al. Determination of selected biogenic amines in *Acacia rigidula* plant materials and dietary supplements using LC-MS/MS methods. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 88, p. 457–466, 2014.

PAWAR, R. S.; GRUNDEL, E. Overview of regulation of dietary supplements in the USA and issues of adulteration with phenethylamines (PEAs). **Drug Testing and Analysis**, v. 9, n. 3, p. 500–517, 2017.

PEI, Y. et al. Trace amines and the trace amine-associated receptor 1: Pharmacology, neurochemistry, and clinical implications. **Frontiers in Neuroscience**, v. 10, n. APR, p. 1–17, 2016.

PELLATI, F.; BENVENUTI, S. Chromatographic and electrophoretic methods for the analysis of phenethylamine alkaloids in *Citrus aurantium*. **Journal of Chromatography A**, v. 1161, n. 1–2, p. 71–88, 2007.

RAAB, S. et al. Incretin-like effects of small molecule trace amine-associated receptor 1 agonists. **Molecular Metabolism**, v. 5, n. 1, p. 47–56, 2016.

RASMUSSEN, N.; KEIZERS, P. H. J. History full circle: “Novel” sympathomimetics in supplements. **Drug Testing and Analysis**, v. 8, n. 3–4, p. 283–286, 2016.

REESE, E. A. et al. Trace amine-associated receptor 1 displays species-dependent stereoselectivity for isomers of methamphetamine, amphetamine, and Para-hydroxyamphetamine. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 321, n. 1, p. 178–186, 2007.

REVEL, F. G. et al. A new perspective for schizophrenia: TAAR1 agonists reveal antipsychotic- and antidepressant-like activity, improve cognition and control body weight. **Molecular Psychiatry**, v. 18, n. 5, p. 543–556, 2013.

REYNOLDS, G. P. Phenethylamine - a role in mental illness? n. October, 1979.
RICKLI, A.; HOENER, M. C.; LIECHTI, M. E. Pharmacological profiles of compounds in preworkout supplements (“boosters”). **European Journal of Pharmacology**, v. 859, n. June, p. 172515, 2019.

SAAVEDRA, J. M. Enzymatic Isotopic Assay for and Presence of B-Phenylethylamine in Brain. **Journal of Neurochemistry**, v. 22, n. 2, p. 211–216, 1974.

SÁNCHEZ, M. et al. Modulatory effect of intestinal polyamines and trace amines on the spontaneous phasic contractions of the isolated ileum and colon rings of mice. **Food and Nutrition Research**, v. 61, n. 1, 2017.

- SANDERS, K. M. et al. Regulation of gastrointestinal motility-insights from smooth muscle biology. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, v. 9, n. 11, p. 633–645, 2012.
- SANDERS, K. M.; KOH, S. D.; WARD, S. M. Interstitial Cells of Cajal As Pacemakers in the Gastrointestinal Tract. **Annual Review of Physiology**, v. 68, n. 1, p. 307–343, 2006.
- SANTORU, M. L. et al. Cross sectional evaluation of the gut-microbiome metabolome axis in an Italian cohort of IBD patients. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1–14, 2017.
- SCHINDLER, C. W. et al. The supplement adulterant b-methylphenethylamine increases blood pressure by acting at peripheral norepinephrine transporters. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 369, n. 3, p. 328–336, 2019.
- SKERRITT, J. H. et al. Development of immunoassays for tyramine and tryptamine toxins of *Phalaris aquatica* L. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 1, p. 27–32, 2000.
- SMITH, T. A. Phenethylamines and related compounds in plants. **Phytochemistry**, v. 16, p. 9–18, 1977.
- SOMLYO, A.P.; SOMLYO, A. V. Signal transduction and regulation in smooth muscle. **Nature**, n. 372, p. 231 – 236, 1994.
- STOHS, S. J. Physiological functions and pharmacological and toxicological effects of p-octopamine. **Drug and Chemical Toxicology**, v. 38, n. 1, p. 106–112, 2015.
- STOHS, S. J.; SHARA, M.; RAY, S. D. p-Synephrine, ephedrine, p-octopamine and m-synephrine: Comparative mechanistic, physiological and pharmacological properties. **Phytotherapy Research**, v. 34, n. 8, p. 1838–1846, 2020.
- SZABO, A. et al. Phenylethylamine, a possible link to the antidepressant effects of exercise? **British Journal of Sports Medicine**, v. 35, n. 5, p. 342–343, 2001.
- VACCARI, A.; VERTUA, R. 14C-5-hydroxytryptamine and 3H-d-amphetamine: Uptake and contraction by the rat stomach fundus in vitro. **Biochemical Pharmacology**, v. 19, n. 6, p. 2105–2115, 1970.
- VACLAVIK, L.; KRYNITSKY, A. J.; RADER, J. I. Mass spectrometric analysis of pharmaceutical adulterants in products labeled as botanical dietary supplements or herbal remedies: A review. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 406, n. 27, p. 6767–6790, 2014.
- VENHUIS, B. et al. A cocktail of synthetic stimulants found in a dietary supplement associated with serious adverse events. **Drug Testing and Analysis**, v. 6, n. 6, p. 578–581, 2014.
- WAINSCOTT, D. B. et al. Pharmacological characteristics of the newly cloned rat 5-hydroxytryptamine_{2F} receptor. **Molecular Pharmacology**, v. 43, n. 3, p. 419–426, 1993.
- WANG, X. Y.; PATERSON, C.; HUIZINGA, J. D. Cholinergic and nitrenergic innervation of

ICC-DMP and ICC-IM in the human small intestine. **Neurogastroenterology and Motility**, v. 15, n. 5, p. 531–543, 2003.

WILLIAMS, B. B. et al. Discovery and characterization of gut microbiota decarboxylases that can produce the neurotransmitter tryptamine. **Cell Host and Microbe**, v. 16, n. 4, p. 495–503, 2014.

WINTER, J. C. et al. Synthesis of some 3-indenealkylamines. Comparison of the biological activity of 3-indenealkylamines and 3-benzo[b]thiophenealkylamines with their tryptamine isosteres. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 10, n. 5, p.856-858, 1967.

WOLF, M. E.; MOSNAIM, A. D. Phenylethylamine in neuropsychiatric disorders. **General Pharmacology**, v. 14, n. 4, p. 385–390, 1983.

WU, P. H; BOULTON, A. A. Distribution and Metabolism of Tryptamine in Rat Brain. **Canadian Journal of Biochemistry**, v. 51, n. 7, p. 1104-1112, 1973.

XU, Z.; LI, Q. TAAR Agonists. **Cellular and Molecular Neurobiology**, v. 40, n. 2, p. 257–272, 2020.

YANG, Y. et al. Bromochloromethane , a methane analogue, affects the microbiota and metabolic profiles of the rat gastrointestinal tract. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 82, n. 3, p. 778–787, 2016.

YANG, H.Y.; NEFF, N. H. Beta-phenylethylamine: a specific substrate for type B monoamine oxidase of brain. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 187, n. 2, p. 365-371, 1973.

YIN, J. et al. Prokinetic effects of a new 5-HT₄ agonist, YKP10811, on gastric motility in dogs. **Journal of Gastroenterology and Hepatology (Australia)**, v. 32, n. 3, p. 625–630, 2017.

YU, A. M. et al. The relative contribution of monoamine oxidase and cytochrome P450 isozymes to the metabolic deamination of the trace amine tryptamine. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 304, n. 2, p. 539–546, 2003.

ZHANG, J. Y. et al. Characterization of the 5-HT₆ receptor coupled to Ca²⁺ signaling using an enabling chimeric G-protein. **European Journal of Pharmacology**, v. 472, n. 1–2, p. 33–38, 2003.

ZHENG, X. et al. The footprints of gut microbial-mammalian co-metabolism. **Journal of Proteome Research**, v. 10, n. 12, p. 5512–5522, 2011.

ZHU, M. H. et al. A Ca²⁺-activated Cl⁻ conductance in interstitial cells of Cajal linked to slow wave currents and pacemaker activity. **Journal of Physiology**, v. 587, n. 20, p. 4905–4918, 2009.

ZUCCHI, R. et al. Trace amine-associated receptors and their ligands. **British Journal of Pharmacology**, v. 149, n. 8, p. 967–978, 2006.

