

Bárbara Alcarde Gallo Kauchi

**Investigação da participação de
adrenoceptores α_1 no efeito antinociceptivo da
amitriptilina em um modelo de dor neuropática.**

Botucatu – SP

2012

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA
FILHO”**

**Investigação da participação de
adrenoceptores α_1 no efeito antinociceptivo da
amitriptilina em um modelo de dor neuropática.**

Autora: Bárbara Alcarde Gallo Kauchi

Orientador: André Sampaio Pupo

Co-orientador: Noeli Pereira Rocha

Monografia apresentada ao
Departamento de Farmacologia do
Instituto de Biociências – UNESP –
Campus de Botucatu, como requisito
para obtenção do título de
Bacharelado em Ciências Biomédicas.

Botucatu – SP

2012

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: **ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE**

Kauchi, Bárbara Alcarde Gallo.

Investigação da participação de adrenoceptores α_1 no efeito antinociceptivo da amitriptilina em um modelo de dor neuropática / Bárbara Alcarde Gallo Kauchi. – Botucatu : [s.n.], 2012

Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Ciências Biomédicas) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: André Sampaio Pupo

Orientador: Noeli Pereira Rocha

Capes: 21005001

1. Analgesia. 2. Dor. 3. Neuropatia. 4. Sistema nervoso – Doenças. 5. Inibidores químicos.

Palavras-chave: Amitriptilina; Analgesia; Antagonista seletivo; Dor neuropática; Adrenoceptores α_1 .

Agradecimentos

Aos professores Dr. André Sampaio Pupo e Noeli Pereira Rocha pelos ensinamentos e orientação concedida.

Aos colegas de laboratório Juliana, Vanessa, Fernanda, Enio e Carlos pela ajuda concedida ao longo da realização deste trabalho e as boas discussões realizadas. Principalmente ao Ricardo que além da ajuda e das discussões também me orientou em vários experimentos.

Aos funcionários do departamento de Farmacologia pelos serviços prestados. Sobretudo ao Paulo que me orientou no início das cirurgias de constrição de nervo ciático em ratos.

À minha família que me apoiou e me ajudou a chegar até aqui. Especialmente ao meu marido André Minoru que cuidou de mim durante todo o trabalho, me acompanhando, tendo paciência e me auxiliando durante os experimentos.

Sumário

Resumo	6
Abstract	7
Introdução	8
Objetivo	13
Material e Métodos.....	14
1. Animais.....	14
2. Experimento de contração da próstata de rato <i>in vivo</i>	14
3. Cirurgia de constrição do nervo ciático	15
4. Teste de hiperalgesia mecânica	16
5. Análise estatística.....	16
6. Drogas.....	17
Resultados	18
<i>Efeito dos antagonistas seletivos na contração da próstata in vivo</i>	18
<i>Efeito de antagonistas de α_1-ARs no teste de hiperalgesia em um modelo de dor neuropática</i>	21
Discussão.....	23
Conclusões.....	25
Bibliografia.....	26

Resumo

Os antidepressivos tricíclicos, como a amitriptilina, são inibidores da recaptação de serotonina e noradrenalina, causando uma mudança no limiar da dor, sendo usados no tratamento de dores neuropáticas. Embora saibamos que os adrenocetores α_1 estejam envolvidos na antinocicepção da amitriptilina, não é claro que subtipo desse receptor é alvo do aumento de noradrenalina na fenda sináptica resultante da inibição da recaptação neuronal. Paradoxalmente, a amitriptilina também se comporta como antagonista competitivo de adrenocetores α_1 , com afinidades diferentes pelos seus subtipos, sendo de 10 a 100 vezes mais elevadas nos adrenocetores α_{1A} do que para α_{1B} e α_{1D} . Este trabalho investigou o envolvimento dos subtipos de adrenocetores α_1 no efeito antinociceptivo da amitriptilina na constrição do nervo ciático em ratos, determinando os efeitos de antagonistas seletivos dos subtipos de adrenocetores α_1 , e comparou estes efeitos com a potência destas drogas na inibição da contração da próstata de rato em resposta à fenilefrina, um modelo de efeito mediado por adrenocetores α_{1A} . Quinze dias após a cirurgia de constrição do nervo ciático, a hiperalgesia mecânica foi analisada no teste Randall-Selitto. O antagonista seletivo de α_{1A} RS100329 foi o mais potente antagonista no experimento de contração da próstata de rato *in vivo*, ao passo que o antagonista seletivo α_{1D} BMY 7378 não foi capaz de afetar as contrações causadas pela fenilefrina. O antagonista prazosin, BMY 7378 e 5-metilurapidil inibiram o efeito antinociceptivo da amitriptilina. No entanto, o antagonista altamente seletivo de α_{1A} RS100329 não foi capaz de afetar a antinocicepção induzida pela amitriptilina. Tais resultados apontam que adrenocetores α_{1B} e/ou α_{1D} , mas não α_{1A} , estão envolvidos nos efeitos antinociceptivos da amitriptilina.

Abstract

Tricyclic antidepressants, such as amitriptyline, are inhibitors of serotonin and norepinephrine neuronal reuptake and this action has been implied in changes in pain threshold supporting its use to alleviate neuropathic pain. Although it is known that α_1 adrenoceptors participate in the antinociceptive effect of amitriptyline it is unclear which receptor subtype is the target for the increased synaptic levels of norepinephrine resultant from the inhibition of neuronal uptake. Paradoxically, several tricyclic antidepressants including amitriptyline also behave as antagonists of α_1 adrenoceptors with different affinities for its subtypes: these drugs have 10 to 100-fold higher affinities for α_{1A} than for α_{1B} and α_{1D} adrenoceptors. This work investigated the involvement of α_1 adrenoceptor subtypes in the antinociceptive effect of the amitriptyline in a constriction of the sciatic nerve in rats by determining the effects of subtype selective α_1 adrenoceptor antagonists. Fifteen days later, mechanical hyperalgesia was analyzed in a Randall-Selitto test. The α_{1A} -selective antagonist RS100329 was the most potent antagonist of the contractions of the rat prostate, whereas the α_{1D} -selective antagonist BMY 7378 (up to 100 μ g/Kg) was unable to affect these contractions. The antagonist prazosin, BMY 7378 and 5-methyl urapidil inhibited the antinociceptive effect of the amitriptyline. However, the highly selective α_{1A} adrenoceptor antagonist RS100329 was unable to affect the antinociception induced by amitriptyline. These results point out that α_{1B} and/or α_{1D} adrenoceptors, but not α_{1A} , are involved in the antinociceptive effects of amitriptyline.

Introdução

A dor em tecidos periféricos é causada por um estímulo aos nociceptores levando a mudanças nos níveis de neurotransmissores, neuromoduladores, citocinas e outras substâncias. Consequentemente, o nervo fica sensibilizado e isto ocorre como forma de defesa do organismo para que este tecido fique em descanso e possa se regenerar (Irving, 2005). Entretanto, na dor neuropática o próprio nervo sensitivo que foi danificado pode ficar sensibilizado fazendo com que a dor se torne persistente. Neste caso, o limiar de dor é drasticamente diminuído levando a dor por estímulos inicialmente não dolorosos (Binder *et al.*, 2011).

A via nervosa da dor é composta pelo sistema ântero-lateral (trato-espinotalâmico) (von Hehn *et al.*, 2012) que está detalhado na Figura 01.

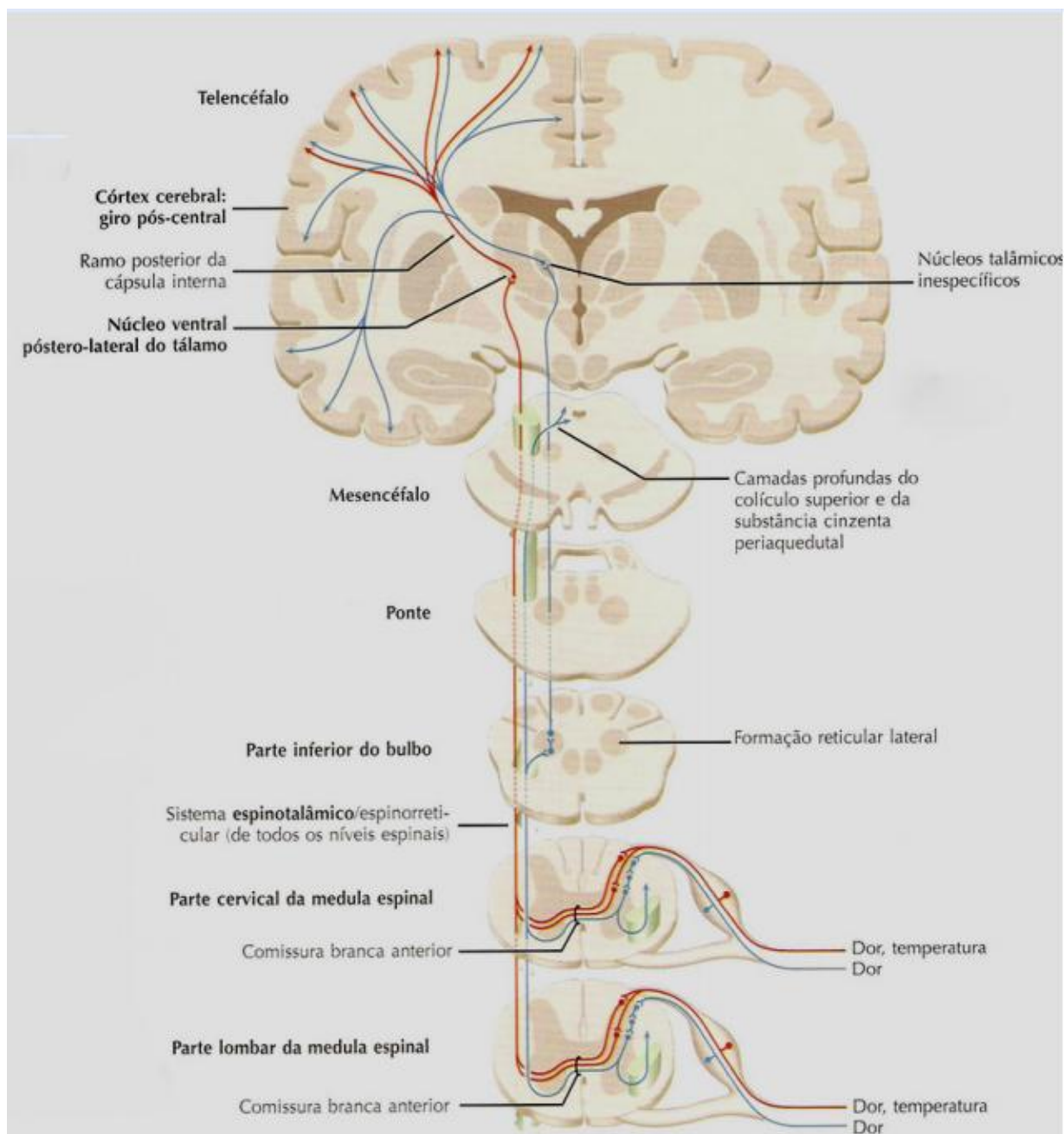


Figura 01: Desenho esquemático do trato espinotalâmico, destacando a via da dor crônica (azul) e a via da dor (vermelho) (Modificado: Netter *et al.* (2004))

O antidepressivo tricíclico amitriptilina é útil no tratamento de dores neuropáticas (Gray *et al.*, 1999; Sindrup *et al.*, 1999). Os antidepressivos tricíclicos (ATCs) são inibidores da recaptação neuronal de serotonina e/ou noradrenalina (Richelson *et al.*, 1984). A recaptação neuronal é o principal mecanismo de remoção das monoaminas serotonina e noradrenalina da fenda sináptica e é mediada por transportadores presentes nas membranas plasmáticas de neurônios monoaminérgicos, denominados *norepinephrine transporter* (NET) e *serotonin transporter* (SERT) (Cheetham *et al.*, 1996); portanto, a inibição do NET e SERT aumenta a concentração de noradrenalina e serotonina na fenda sináptica alterando o limiar da dor (Korzeniewska-Rybicka *et al.*, 1998). Apesar de ser bem estabelecido que os níveis sinápticos aumentados desses dois neurotransmissores têm um papel no efeito antinociceptivo dos ATCs, os receptores que são os alvos dessas monoaminas ainda são desconhecidos (Yokogawa *et al.*, 2002).

Alguns estudos mostram o envolvimento de adrenoceptores α_1 (α_1 -ARs) na antinocicepção induzida pelos ATCs imipramina e desipramina. O antagonista seletivo de α_1 -ARs prazosin diminui os efeitos antinociceptivos da amitriptilina e imipramina, indicando que o acúmulo de noradrenalina na fenda sináptica causado pelo ATC resulta em ativação de α_1 -ARs (Otsuka *et al.*, 2001a). Paradoxalmente, os ATCs também se comportam como antagonistas competitivos de α_1 -ARs (Hall *et al.*, 1981a). Assim, a Figura 02 ilustra a neurotransmissão numa sinapse monoaminérgica na ausência (Figura 02a) e presença (Figura 02b) de um ATC onde as concentrações sinápticas do neurotransmissor são aumentadas na presença de um ATC resultando em maiores efeitos no neurônio pós-sináptico; no entanto, a Figura 02c ilustra o paradoxo farmacológico esperado numa sinapse noradrenérgica onde os níveis sinápticos de noradrenalina se encontram aumentados pelos ATCs, mas os α_1 -ARs se encontram antagonizados por estas drogas. Portanto, a ativação de α_1 -ARs pelos níveis aumentados de noradrenalina na fenda sináptica resultantes do bloqueio da recaptação neuronal poderia ser impedida pelo antagonismo destes receptores pelos ATCs.

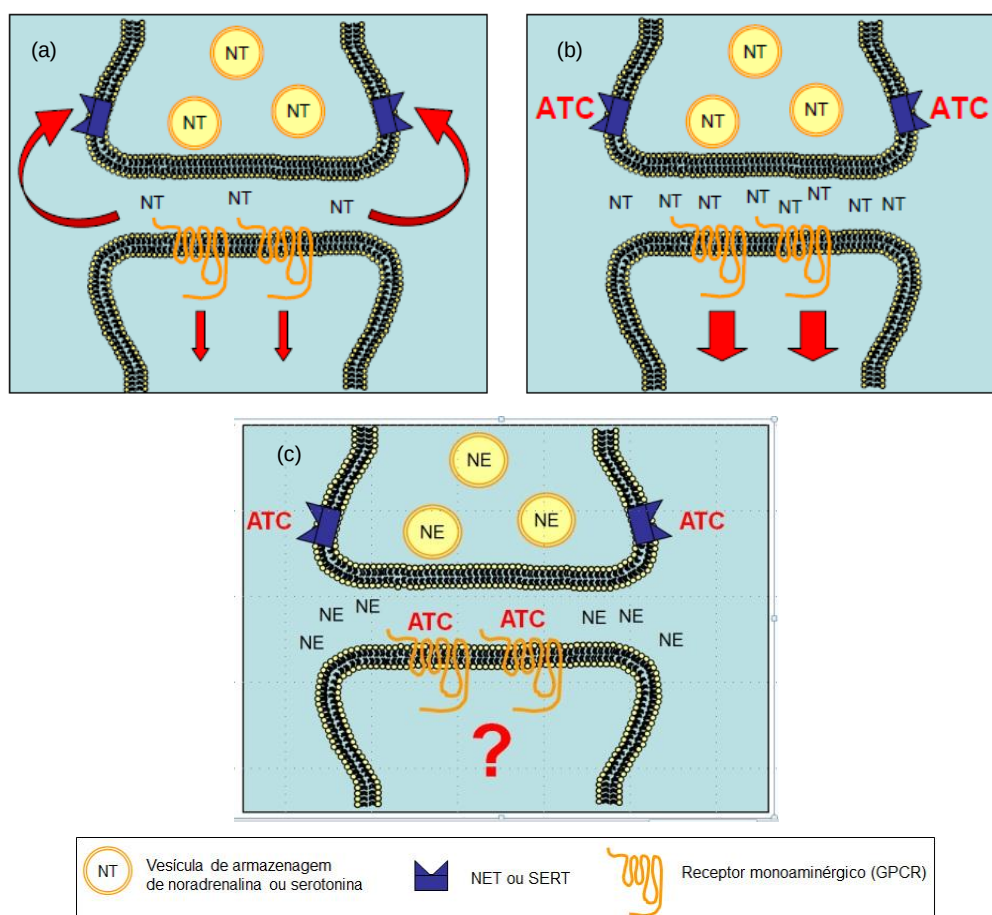


Figura 02: Esquema do mecanismo de ação dos antidepressivos tricíclicos na neurotransmissão de neurônios adrenérgicos.

É sabido que há três subtipos de α_1 -ARs (denominados α_{1A} , α_{1B} e α_{1D}) que são codificados por três genes diferentes (para revisão ver Zhong *et al.* (1999a) e Pupo *et al.* (2001)). Esses subtipos de receptores são cadeias polipeptídicas únicas com sete domínios transmembrana, pertencendo à família de receptores acoplados à proteína G. As catecolaminas endógenas adrenalina e noradrenalina interagem com esses adrenoceptores para regular funções biológicas, como: contrações da musculatura lisa vascular e não vascular, o controle do crescimento, diferenciação e divisão celular, o controle na secreção de várias glândulas e da excitabilidade neuronal (Zhong *et al.*, 1999b).

Foi recentemente demonstrado que os ATCs amitriptilina, imipramina e nortriptilina possuem afinidades cerca de 10 a 100 vezes maiores pelos α_{1A} -ARs humanos e do rato do que pelos α_{1B} -ARs (Nojimoto *et al.*, 2010). Desta maneira, o paradoxo farmacológico apresentado na Figura 02 poderia ser explicado se o(s)

subtipo(s) de α_1 -ARs envolvido(s) no efeito antinociceptivo dos ATCs fosse um dos receptores pelos quais os ATCs possuem menor afinidade.

Objetivo

Investigar os subtipos de α_1 -ARs envolvidos no efeito antinociceptivo da amitriptilina em um modelo de dor neuropática pela determinação de antagonistas seletivos para cada subtipo e comparar a potência dessas drogas no antagonismo das contrações da próstata de rato *in vivo*, um modelo de resposta mediado pela ativação de α_{1A} -ARs.

Material e Métodos

Os protocolos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEAA) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (número 377).

1. Animais

Foram usados ratos machos Wistar de 50 a 60 dias de idade, pesando entre 150g a 250g, fornecidos pelo Biotério Central da Universidade. Antes dos experimentos, estes animais foram mantidos por um período de pelo menos 7 dias, para aclimação, no Biotério do Departamento de Farmacologia IB/Botucatu. Os animais foram mantidos em grupos de cinco em cada gaiola, com livre acesso a água e alimento, mantidos em um ciclo claro/escuro de 12 horas, sendo as luzes ligadas às 6h da manhã e temperatura $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$.

2. Experimento de contração da próstata de rato *in vivo*

O procedimento utilizado foi baseado no método descrito por Kontani *et al.* (2002). Os ratos foram anestesiados com uretano 1.5 g/kg intraperitoneal (i.p.) e a veia jugular direita foi canulada com tubos de polietileno (PE10 conectados a PE50) para a administração intravenosa de drogas. Através de uma incisão no abdômen, a próstata foi cuidadosamente separada do colo da bexiga e do tecido conjuntivo e seus lobos ventrais foram amarrados com um fio de algodão conectado a um transdutor isométrico sob tensão inicial de 1g para medir as contrações através de polígrafo Ugo Basile. Após 30 minutos de estabilização foi construída uma curva dose-resposta cumulativa para fenilefrina, um agonista seletivo de α_1 -ARs, administrada pela cânula da veia jugular direita; essa curva foi considerada a curva “controle”. Curvas dose-resposta sucessivas foram construídas com intervalo de 30 minutos na presença dos diferentes antagonistas de α_1 -ARs:

- Prazosin 3, 10, 30 e 100 µg (antagonista seletivo de α_1 -ARs)
- 5-metilurapidil 10, 30 e 100 µg (antagonista seletivo de α_{1A} -ARs)
- RS100329 10, 30 e 100µg (antagonista seletivo de α_{1A} -ARs)
- BMY 7378 10, 30 e 100 µg (antagonista seletivo de α_{1D} -ARs).

Todo os antagonistas foram administrados intraventricular (i.v.) cerca de 15 min antes da construção da curva dose-resposta de fenilefrina. A potencia dos antagonistas foi calculada pelo parâmetro pA_2 , o qual expressa a dose do antagonista necessária para deslocar duas vezes à direita a curva dose-resposta de fenilefrina, através da fórmula:

$$pA_2 = -\log [B] + \log [DR-1],$$

onde $[B]$ é a dose do antagonista e DR é a razão das doses efetivas a 50% da fenilefrina na ausência e presença do antagonista.

3. Cirurgia de constrição do nervo ciático

A cirurgia de constrição do nervo ciático (CNC) foi feita como descrito por Bennett *et al.* (1988). Os animais foram anestesiados com ketamina e xilazina, na dose 8mg/Kg e 80mg/Kg respectivamente, administradas por via i.p. A superfície da região lateral da coxa direita foi depilada e limpa com álcool iodado a 1% e através de uma incisão no músculo bíceps femural o nervo cíatico e seus ramos terminais, o nervo sural, nervo peroneal comum e o nervo tibial (trifurcação do nervo cíatico) foram expostos. Em um sentido proximal à trifurcação do nervo cíatico, aproximadamente 7mm do nervo foi dissecado, retirando a aderência ao tecido muscular. Neste segmento do nervo foram feitas quatro ligaduras com fio de sutura cat-gut cromado 4-0 tipo C, frouxas para não interromper a vascularização epineural superficial. Após as ligaduras do nervo cíatico, as incisões foram suturadas em camada.

4. Teste de hiperalgesia mecânica

O teste de hiperalgesia mecânica (Randall *et al.*, 1957) foi realizado 15 dias após a cirurgia de constrição do nervo ciático e 3 dias antes da realização do teste a veia jugular direita dos ratos foi canulada para administração i.v. antagonistas de α_1 -ARs.

A intensidade de hiperalgesia mecânica foi quantificada pelo aparelho Basile Analgesymeter® em 2 instantes: antes da administração de qualquer droga (0 minuto) e 60 minutos após a administração de amitriptilina (10mg/kg) ou salina i.p. A intensidade da hiperalgesia mecânica foi quantificada como a diferença (Δ) do limiar nociceptivo antes (0 minuto) e depois (60 minutos) da administração de amitriptilina ou salina.

Após 30 minutos da administração i.p. de amitriptilina (10 mg/kg) os ratos foram tratados com os seguintes antagonistas de α_1 -ARs (i.v.):

- prazosin (10 μ g/Kg)
- 5-metilurapidil (10 μ g/Kg)
- RS100329 (10 μ g/Kg)
- BMY 7378 (10 μ g/Kg)

As doses dos antagonistas foram baseadas no experimento da contração da próstata de rato *in vivo*. Todas as drogas utilizadas foram diluídas em salina (0.09% NaCl).

5. Análise estatística

Os resultados foram analisados por Análise de Variância (ANOVA), sendo o teste *a posteriori* de comparação múltiplas de Tukey-Kramer. Os dados foram expressos como médias e erro padrão da média (EPM). O nível de significância estabelecido foi de 5% ($P < 0,05$).

6. Drogas

Fenilefrina (Phenylephrine Hydrochloride), Research Biochemicals International (USA) ; Prazosin (Prazosin Hydrochloride), Research Biochemicals International (USA); Amitriptilina (Amitriptyline hydrochloride), Fagron (India); 5-metilurapidil (Urapidil, 5-Methyl-), Research Biochemicals International (USA); RS 100329 (RS 100329 hydrochloride), Tocris Cookson (USA); BMY 7378 (BMY 7378 dihydrochloride), Tocris Cookson (USA).

Resultados

Efeito dos antagonistas seletivos na contração da próstata in vivo

A Figura 03 mostra curvas dose-resposta de fenilefrina na contração da próstata de ratos *in vivo* na ausência e presença de antagonistas seletivos de α_1 -ARs. Todos os antagonistas seletivos investigados, exceto o BMY 7378, antagonizaram as contrações da próstata em resposta à fenilefrina. A Tabela 01 mostra os respectivos valores de pA_2 calculados. A ordem de potência observada foi RS100329 > Prazosin = 5-metilurapidil ($p < 0.05$) condiz com a ordem de potência esperada Prazosin > RS100329 > 5-metilurapidil > BMY 7873 por α_{1A} -ARs (valores de pK_i na Tabela 1).

Tabela 01. Valor de pA_2 com base nos experimentos de contração da próstata *in vivo* e valores de pK_i para andrenoceptores α_{1A} .

Antagonistas	pA_2	pK_i
Prazosin	5.4 ± 0.1	$9.90 \pm 0.19^*$
5-metilurapidil	5.3 ± 0.1	$9.02 \pm 0.14^*$
RS100329	6.0 ± 0.3	$9.60 \pm 0.10^{\#}$
BMY7378	-	$7.04 \pm 0.11^*$

* Valores retirados do trabalho de Nojimoto *et al.* (2010) e [#] valores retirados do trabalho de Williams *et al.* (1999).

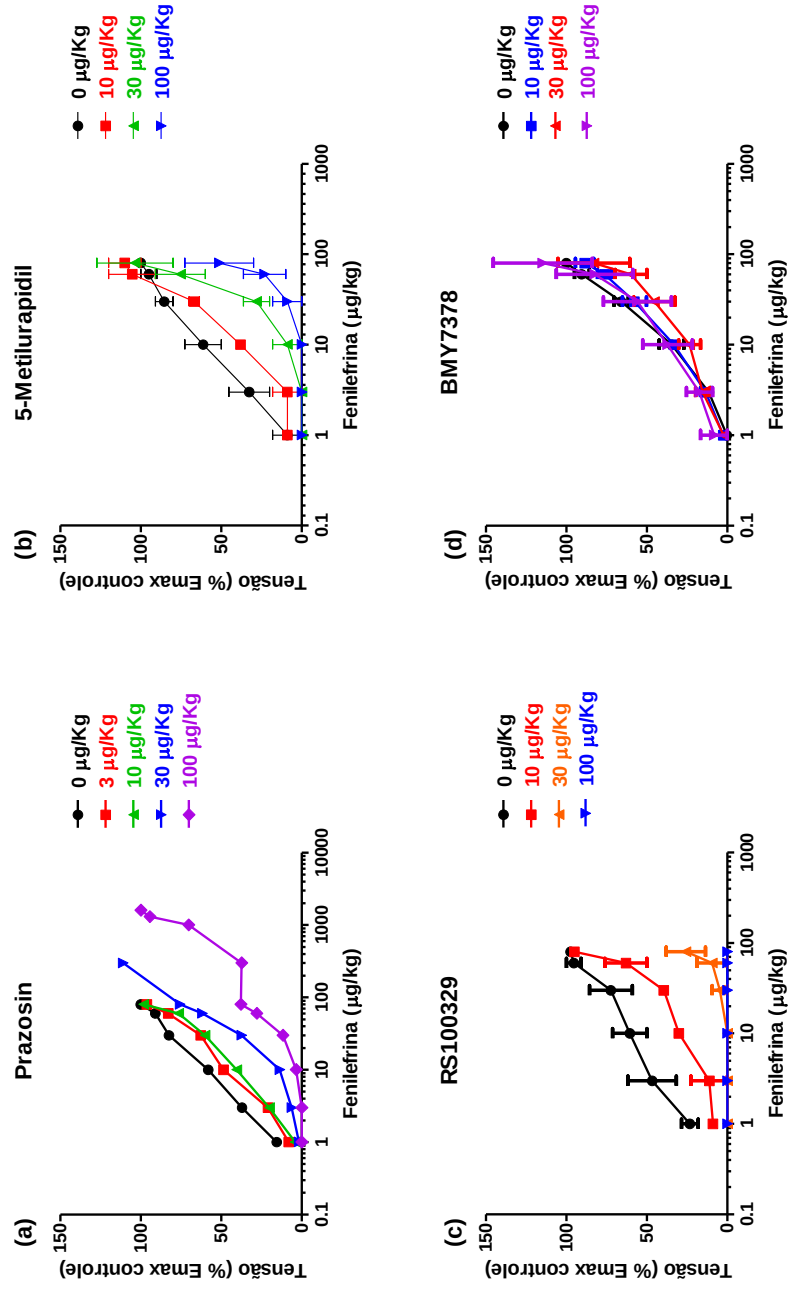


Figura 03: Curvas dose resposta da fenilefrina na próstata de rato *in vivo* na ausência e na presença de antagonistas. Valores apresentados como média $\pm$ SEM de 3 diferentes ratos.

Efeito de antagonistas de α_1 -ARs no teste de hiperalgesia em um modelo de dor neuropática

A Figura 04 mostra a intensidade de hiperalgesia suportada pelos ratos que sofreram a cirurgia de constrição do nervo ciático e foram tratados ou não com amitriptilina e/ou antagonistas de α_1 - ARs. A amitriptilina (10 mg/Kg, i.p) teve efeito antinociceptivo, como demonstrado pela diminuição da intensidade de hiperalgesia quando comparada com ratos tratados com veículo (Δg amitriptilina $1.50g \pm 1.50$ vs Δg veículo $10.25g \pm 0.63$; $p < 0.05$).

O efeito antinociceptivo da amitriptilina foi antagonizado pelo prazosin (Figura 5b), 5-metilurapidil (Figura 5a) e BMY 7378 (Figura 5d), enquanto que o RS100329 (Figura 5c) não alterou o efeito antinociceptivo da amitriptilina.

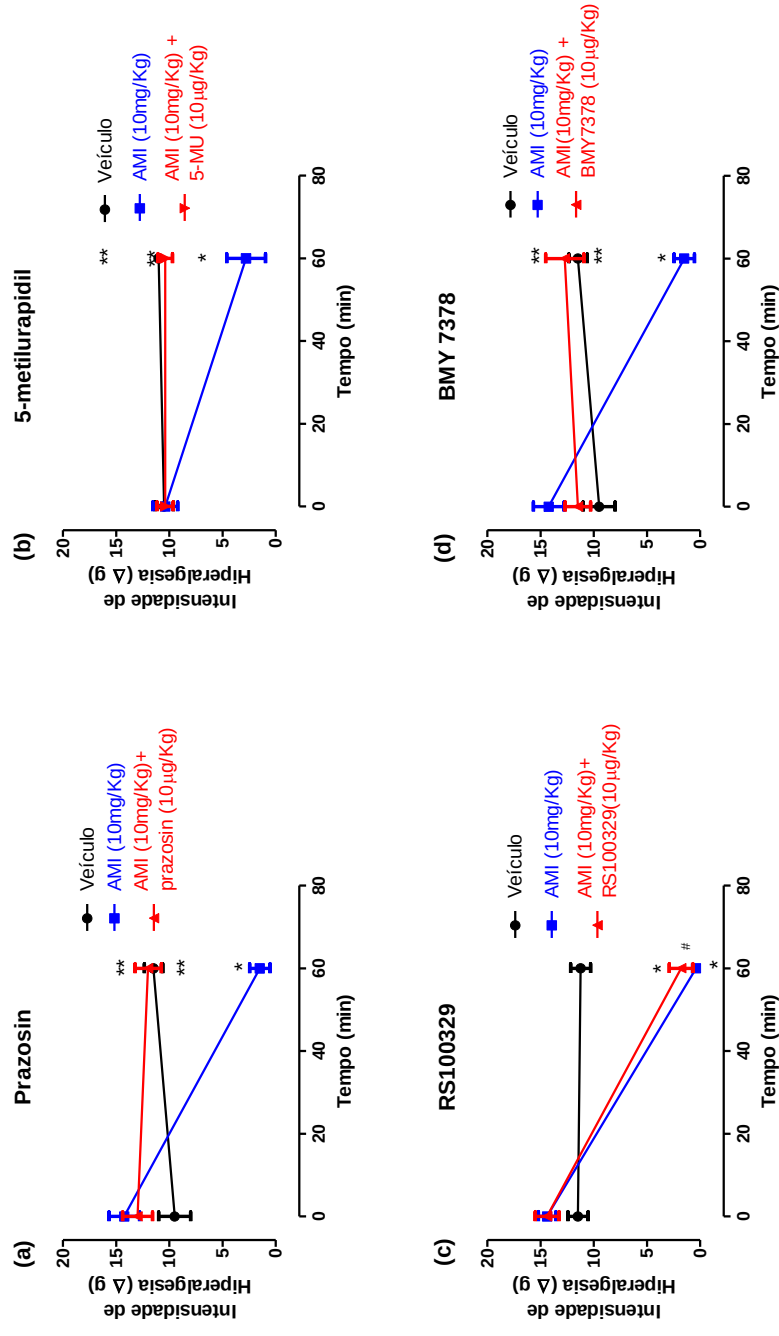


Figura 04. Efeito dos antagonistas de α_1 -ARs na antinociceção induzida por amitriptilina. Dados são a média $\pm$ SEM para 4 ratos. * $p < 0.05$ todos os tratados 60 min vs veículo 60 min, ** $p < 0.05$ todos os grupos 60 min vs amitriptilina 60 minutos e # $p > 0.05$ todos os grupos 60 min vs amitriptilina 60 min.

Discussão

A presente monografia investigou o envolvimento dos subtipos de α_1 -ARs na antinocicepção produzida pelo ATC amitriptilina em um modelo de dor neuropática com o uso de antagonistas seletivos de subtipos destes receptores.

A contração da próstata de rato *in vivo* foi usada como um modelo de resposta mediada pela ativação de α_{1A} -ARs (Maruyama *et al.*, 1998), para checar a seletividade *in vivo* destas drogas. No teste de contração da próstata *in vivo* a ordem de potência dos antagonistas investigados foi consistente com a ativação de α_{1A} -ARs (Nojimoto *et al.*, 2010) (Williams *et al.*, 1999).

É sabido que a amitriptilina tem efeito antinociceptivo na dor induzida pela constrição do nervo ciático (Esser *et al.*, 1999), e de fato, no presente estudo este ATC também mostrou efeito antinociceptivo. O envolvimento de α_1 -ARs na analgesia causada pelos ATC já foi demonstrado anteriormente pelo antagonismo do efeito antinociceptivo causado pelo prazosin (Otsuka *et al.*, 2001b; Yokogawa *et al.*, 2002). No entanto, a presente monografia buscou aprofundar esse conhecimento ao apontar o envolvimento de subtipos de α_1 -ARs.

Observamos que os antagonistas 5-metilurapidil e BMY 7378 inibiram os efeitos antinociceptivos da amitriptilina. O antagonista 5-metilurapidil tem afinidade pelo α_{1A} -ARs ($pK_i = 9.0$) cerca de vinte vezes maior que pelo α_{1D} -ARs ($pK_i = 7.7$) (Nojimoto *et al.*, 2010). Uma vez que a seletividade do 5-metilurapidil pelos α_{1A} -ARs pode ser considerada modesta, a inibição do efeito antinociceptivo da amitriptilina pelo 5-metilurapidil indica o envolvimento de α_{1A} -ARs e/ou α_{1D} -ARs. Entretanto o RS100329 um antagonista seletivo do subtipo α_{1A} (Williams *et al.*, 1999) não alterou o efeito antinociceptivo da amitriptilina sugerindo que o α_{1A} -ARs provavelmente não estão envolvidos nesse efeito. Adicionalmente, o BMY 7378 inibiu a antinocicepção causada pela amitriptilina sugerindo que o subtipo α_{1D} esteja envolvido no efeito antinociceptivo da amitriptilina.

Os α_{1D} -ARs podem estar envolvidos na via adrenérgica de modulação da dor, uma vez que mRNA codificando esses receptores já foram encontrados em neurônios da raiz dorsal do gânglio (Maruo *et al.*, 2006) e no núcleo reticular lateral na medula ventrolateral caudal (Day *et al.*, 1997).

A falta de drogas seletivas, impediu a investigação da participação de α_{1D} -ARs no efeito antinociceptivo da amitriptilina; porém, os resultados encontrados com o 5-metilurapidil e BMY7378 indicam, por exclusão, que os α_{1B} -ARs não são os alvos dos níveis sinápticos aumentados de noradrenalina.

O paradoxo farmacológico apresentado na Figura 2, no qual é esperado um auto-cancelamento nos efeitos dos ATCs uma vez que ao mesmo tempo em que há aumento das concentrações sinápticas de noradrenalina também há antagonismo de α_1 -ARs, pode ser explicado pelos resultados da presente monografia (Hall *et al.*, 1981b). Isto por que é previsto que os α_{1D} -ARs sejam menos antagonizados pelos ATCs do que os α_{1A} -ARs.

Os dados da presente monografia são importantes pois além de apontar um dos receptores alvos dos níveis sinápticos aumentados de noradrenalina resultante do bloqueio da NET pelos ATCs, também indicam que drogas que ativem de forma seletiva os α_{1D} -ARs têm potencial efeito antinociceptivo. Apesar da falta de ferramentas adequadas (drogas seletivas e anticorpos específicos) tal hipótese merece ser investigada.

Conclusões

- Os α_1 -ARs estão envolvidos na antinocicepção da amitriptilina, pois o prazosin antagonizou esse efeito;
- A inibição do efeito antinociceptivo da amitriptilina por 5-metilurapidil, sendo seu antagonismo nos α_{1A} -ARs e α_{1D} -ARs é semelhante, indica que pelo menos um desses subtipos estejam envolvidos no efeito da amitriptilina;
- Entretanto, o RS100329 não alterou o efeito antinociceptivo da amitriptilina, indicando que o α_{1A} -ARs não está envolvido;
- Além disso, o antagonista α_{1D} -ARs, BMY 7378 antagonizou o efeito antinociceptivo da amitriptilina, sugerindo um envolvimento de α_{1D} -ARs no efeito da amitriptilina.

Bibliografia

Bennett GJ, Xie YK (1988). A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain* **33**(1): 87-107.

Binder A, May D, Baron R, Maier C, Tolle TR, Treede RD, *et al.* (2011). Transient receptor potential channel polymorphisms are associated with the somatosensory function in neuropathic pain patients. *PLoS one* **6**(3): e17387.

Cheetham SC, Viggers JA, Butler SA, Prow MR, Heal DJ (1996). [3H]nisoxetine--a radioligand for noradrenaline reuptake sites: correlation with inhibition of [3H]noradrenaline uptake and effect of DSP-4 lesioning and antidepressant treatments. *Neuropharmacology* **35**(1): 63-70.

Day HE, Campeau S, Watson SJ, Jr., Akil H (1997). Distribution of alpha 1a-, alpha 1b- and alpha 1d-adrenergic receptor mRNA in the rat brain and spinal cord. *Journal of chemical neuroanatomy* **13**(2): 115-139.

Esser MJ, Sawynok J (1999). Acute amitriptyline in a rat model of neuropathic pain: differential symptom and route effects. *Pain* **80**(3): 643-653.

Gray AM, Pache DM, Sewell RD (1999). Do alpha2-adrenoceptors play an integral role in the antinociceptive mechanism of action of antidepressant compounds? *Eur J Pharmacol* **378**(2): 161-168.

Hall H, Ogren SO (1981a). Effects of antidepressant drugs on different receptors in the brain. *Eur J Pharmacol* **70**(3): 393-407.

Hall H, Ogren SO (1981b). Effects of antidepressant drugs on different receptors in the brain. *European journal of pharmacology* **70**(3): 393-407.

Irving GA (2005). Contemporary assessment and management of neuropathic pain. *Neurology* **64**(12 Suppl 3): S21-27.

Kontani H, Shiraoya C (2002). Method for simultaneous recording of the prostatic contractile and urethral pressure responses in anesthetized rats and the effects of tamsulosin. *Japanese journal of pharmacology* **90**(3): 281-290.

Korzeniewska-Rybicka I, Plaznik A (1998). Analgesic effect of antidepressant drugs. *Pharmacol Biochem Behav* **59**(2): 331-338.

Maruo K, Yamamoto H, Yamamoto S, Nagata T, Fujikawa H, Kanno T, *et al.* (2006). Modulation of P2X receptors via adrenergic pathways in rat dorsal root ganglion neurons after sciatic nerve injury. *Pain* **120**(1-2): 106-112.

Maruyama K, Suzuki M, Tsuchiya M, Makara Y, Hattori K, Ohnuki T, *et al.* (1998). Discrimination of alpha1-adrenoceptor subtypes in rat aorta and prostate. *Pharmacology* **57**(2): 88-95.

Netter FH, Jones HR (2004). *Netter's neurology*. edn. Icon Learning Systems: Teterboro, N.J.

Nojimoto FD, Mueller A, Hebeler-Barbosa F, Akinaga J, Lima V, Kiguti LR, *et al.* (2010). The tricyclic antidepressants amitriptyline, nortriptyline and imipramine are weak antagonists of human and rat alpha1B-adrenoceptors. *Neuropharmacology* **59**(1-2): 49-57.

Otsuka N, Kiuchi Y, Yokogawa F, Masuda Y, Oguchi K, Hosoyamada A (2001a). Antinociceptive efficacy of antidepressants: assessment of five antidepressants and four monoamine receptors in rats. *J Anesth* **15**(3): 154-158.

Otsuka N, Kiuchi Y, Yokogawa F, Masuda Y, Oguchi K, Hosoyamada A (2001b). Antinociceptive efficacy of antidepressants: assessment of five antidepressants and four monoamine receptors in rats. *Journal of anesthesia* **15**(3): 154-158.

Pupo AS, Minneman KP (2001). Adrenergic pharmacology: focus on the central nervous system. *CNS spectrums* **6**(8): 656-662.

Randall LO, Selitto JJ (1957). A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue. *Arch Int Pharmacodyn Ther* **111**(4): 409-419.

Richelson E, Pfenning M (1984). Blockade by antidepressants and related compounds of biogenic amine uptake into rat brain synaptosomes: most antidepressants selectively block norepinephrine uptake. *Eur J Pharmacol* **104**(3-4): 277-286.

Sindrup SH, Jensen TS (1999). Efficacy of pharmacological treatments of neuropathic pain: an update and effect related to mechanism of drug action. *Pain* **83**(3): 389-400.

von Hehn CA, Baron R, Woolf CJ (2012). Deconstructing the neuropathic pain phenotype to reveal neural mechanisms. *Neuron* **73**(4): 638-652.

Williams TJ, Blue DR, Daniels DV, Davis B, Elworthy T, Gever JR, *et al.* (1999). In vitro alpha1-adrenoceptor pharmacology of Ro 70-0004 and RS-100329, novel alpha1A-adrenoceptor selective antagonists. *British journal of pharmacology* **127**(1): 252-258.

Yokogawa F, Kiuchi Y, Ishikawa Y, Otsuka N, Masuda Y, Oguchi K, *et al.* (2002). An investigation of monoamine receptors involved in antinociceptive effects of antidepressants. *Anesthesia and analgesia* **95**(1): 163-168, table of contents.

Zhong H, Minneman KP (1999a). Alpha1-adrenoceptor subtypes. *European journal of pharmacology* **375**(1-3): 261-276.

Zhong H, Minneman KP (1999b). Alpha1-adrenoceptor subtypes. *Eur J Pharmacol* **375**(1-3): 261-276.