

ALTERAÇÕES FUNCIONAIS DA JUNÇÃO NEUROMUSCULAR PROVOCADAS EM RATOS PELA ADMINISTRAÇÃO DIÁRIA E PROLONGADA DE UM AGENTE CURARIZANTE

ANTONIO CARLOS ZANINI *

Hipersensibilidade à acetilcolina desenvolve-se na membrana do músculo estriado, seja como efeito da desnervação^{3, 22}, seja pela administração repetida e prolongada de drogas que bloqueiam a transmissão do influxo nervoso ao nível da junção neuromuscular¹⁰.

Alterações funcionais da placa terminal são também encontradas na miastenia grave, afecção na qual ocorre diminuição da resposta muscular ao estímulo nervoso normal e maior sensibilidade à ação dos agentes curarizantes^{2, 4, 6, 7, 8, 12, 13}, com características morfofisiológicas já entrevistas^{11, 16, 27}. Embora tenha sido demonstrada a presença de substâncias com atividade curarizante no sêro de pacientes miastênicos^{14, 18, 20, 21, 25}, ainda não se conseguiu esclarecer o papel desempenhado por estas substâncias¹⁷.

No presente trabalho tentou-se reproduzir, em ratos, um quadro semelhante ao da miastenia grave, administrando diariamente o dimetiléter da d-tubocurarina, em doses pequenas, a fim de se verificar se o bloqueio parcial e repetido da placa motora poderia induzir alterações funcionais persistentes. Procurou-se, outrossim, averiguar se ocorreria, com êste método, um aumento da suscetibilidade dos animais à ação do mesmo bloqueador da junção neuromuscular.

MATERIAL E MÉTODOS

A ratos adultos, machos, com pêso médio de 180 g, foi administrado durante 8 semanas, uma vez por dia, o iodeto do dimetiléter da d-tubocurarina (DMT)**, pela via intraperitoneal (i.p.). Foram utilizados 30 animais, divididos em 3 lotes. Os ratos do primeiro lote foram submetidos à dose de 5,5 gama/kg/dia; no segundo lote, foi utilizada a dose de 16,6 gama/kg/dia; ao último lote, contrôle, foi administrado sêro fisiológico. O volume injetado foi sempre 1 ml. Tais doses foram escolhidas após testes preliminares comportando variação mais ampla da posologia (5,5 a 22,2 gama/kg i.p.) e do esquema de administração.

A fim de se avaliar o grau de bloqueio da junção neuromuscular, estabeleceu-se uma série de provas de força muscular. O método baseou-se na capacidade do animal suportar o seu próprio pêso em condições diversas, que receberam graus variá-

Trabalho realizado no Departamento de Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (Prof. Charles E. Corbett): * Professor Assistente.

** Metubine Iodide, "Lilly".

Nota do autor — Agradecemos o auxilio prestado pela técnica Maria José Costa.

veis de 0 a 5 (fig. 1): *grau 0* — o rato sobe num bastão colocado qual barra fixa, conseguindo elevar o seu pêso com as patas dianteiras; *grau 1* — o rato não consegue subir no bastão, mas nêle se mantém seguro no máximo por um minuto; *grau 2* — o animal cai do bastão antes de decorridos 5 segundos, não conseguindo suportar o seu pêso com as patas dianteiras; *grau 3* — o rato cai de uma grade colocada em posição vertical, condição em que utiliza as 4 patas para sustentar todo o seu pêso; *grau 4* — o animal cai da grade em inclinação de 46° , apenas suportando, nesta posição, uma parte do seu pêso; *grau 5* — o rato permanece deitado, não conseguindo locomover-se no plano horizontal.

Os graus de força acima descritos foram também estabelecidos nos testes preliminares, nos quais as medidas de força muscular eram feitas diariamente antes da injeção e entre 10 a 30 minutos após a administração do agente curarizante. Mediante êstes ensaios iniciais, verificou-se que o melhor período para a avaliação da força muscular dos animais era entre 15 e 20 minutos após a injeção da droga e que tais determinações de força poderiam ser feitas apenas uma vez por semana, ao invés de diariamente.

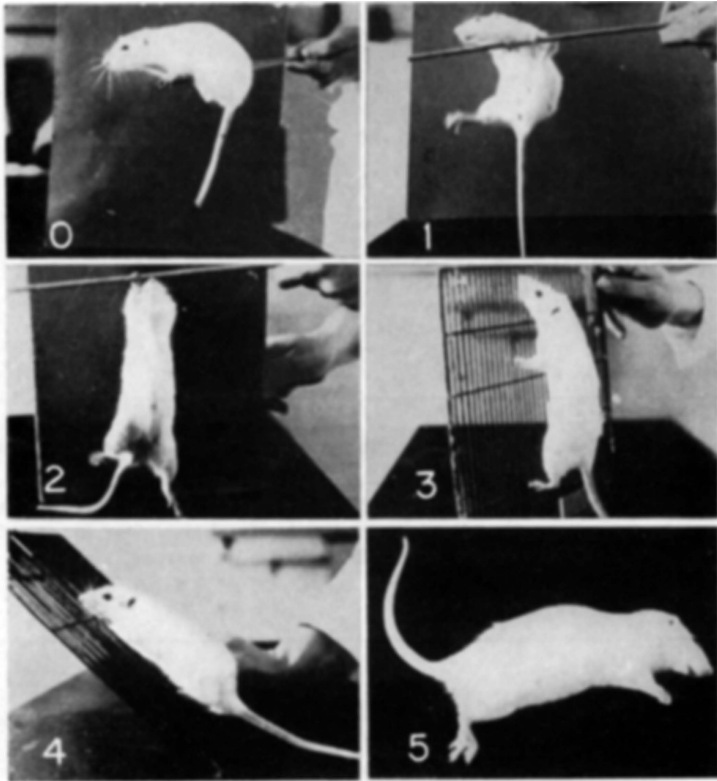


Fig. 1 — Avaliação em graus, da força muscular de ratos submetidos à administração do iodeto do dimetiléter da d-tubocurarina (i.p.): 0 — o rato sobe no bastão; 1 — o animal não consegue subir no bastão, a êle se mantendo seguro no máximo por 1 minuto; 2 — o rato cai do bastão antes de decorridos 5 segundos; 3 — o rato cai de uma grade colocada em posição vertical; 4 — o animal cai da grade em ângulo de 45° ; 5 — o rato não consegue locomover-se no plano horizontal.

Todos os resultados foram submetidos à análise de variância e ao teste de contraste de Tukey²³.

RESULTADOS

Os resultados da administração diária e prolongada do DMT foram avaliados de acordo com o método descrito, pelo confronto da força muscular antes e após a injeção intraperitoneal da referida substância.

Animais	S e m a n a s								
	0	1º	2º	3º	4º	5º	6º	7º	8º
1	0	0	0	0	0	0	0	1	1
2	0	0	0	0	0	0	0	1	0
3	0	1	0	0	1	0	0	1	1
4	0	1	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	1	1
6	0	0	0	0	0	0	1	0	1
7	0	0	0	0	0	1	1	1	1
8	0	0	0	0	0	0	0	1	1
9	0	0	0	0	0	0	0	0	1
10	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Médias	0	0,2	0,1	0	0,1	0,1	0,2	0,6	0,7

Quadro 1 — Medida da força muscular de ratos submetidos à administração diária e prolongada de 5,5 gama /kg/dia i.p. do iodeto do dimetiléter da d-tubocurarina, determinada antes da injeção da droga.

Fonte de variação	S.Q.	G.L.	Q.M.	F	p
Entre tempos	6,162	8	0,770	6,26	0,01
Entre animais	0,556	9	0,062	0,50	—
Resíduo	8,838	72	0,123		
Total	15,556	89			

Tabela 1 — Análise da variância dos resultados expressos no quadro 1. Legenda: S.Q. = soma dos quadrados; G.L. = grau de liberdade; Q.M. = quadrado médio.

Animais	S e m a n a s								
	0	1 ^o	2 ^o	3 ^o	4 ^o	5 ^o	6 ^o	7 ^o	8 ^o
1	0	0	1	0	1	0	0	1	1
2	0	0	0	1	1	0	1	1	0
3	0	1	1	1	1	1	1	1	1
4	0	1	1	0	0	1	1	1	1
5	0	0	1	0	1	0	0	1	1
6	0	0	0	0	0	0	1	1	1
7	0	0	0	1	0	1	1	1	1
8	0	0	0	0	0	0	1	1	1
9	0	0	0	0	0	0	1	0	1
10	0	0	1	1	1	0	1	0	1
Médias	0	0,2	0,5	0,4	0,5	0,3	0,8	0,8	0,9

Quadro 2 — Medida do bloqueio da junção neuromuscular provocado pelo iodeto do dimetiléter da d-tubocurarina, na dose de 5,5 gama/kg. i.p., a avaliação sendo feita 15 minutos após a injeção da droga.

Fonte de variação	S.Q.	G.L.	Q.M.	F	p.
Entre tempos	10,489	8	1,311	8,19	0,01
Entre animais	0,489	9	0,050	0,31	—
Resíduo	11,511	72	0,160		
Total	22,489	89			

Tabela 2 — Análise da variância dos resultados expressos no quadro 2.

As medidas de força muscular antes da injeção da droga, indicaram (quadro 1 e 3 e tabelas 1 e 3) diminuição progressiva e significativa da força muscular ($p = 0,01$). É de se notar, entretanto, que nos ratos submetidos à dose maior, isto é de 16,6 gama/kg/dia, a fraqueza muscular manifestou-se mais precocemente do que nos sob influência de 5,5 gama/kg/dia, além de ser mais acentuada a hipotonia. Em correspondência com o efeito mais intenso, observou-se, em alguns casos, diminuição permanente da fenda palpebral.

A medida da força muscular, 15 minutos após a injeção do DMT (i.p.), mostrou que a dose de 5,5 gama/kg/dia não causa alteração apreciável nas determinações iniciais. Com o decorrer da experiência, entretanto, essa mesma dose passa a produzir bloqueio mensurável (quadro 2 e tabela 2), sendo $p = 0,01$. A dose de 16,6 gama/kg, porém, causou bloqueio de intensidade variável já às primeiras determinações. Em média, esse bloqueio aumentou significativamente nas semanas seguintes (quadro 4 e tabela 4), sendo $p = 0,05$. Comportamento peculiar teve um animal que, submetido à dose de 16,6 gama/kg, não apresentou bloqueio apreciável após a primeira administração do curare; na segunda semana, contudo, essa mesma dose causou bloqueio neuromuscular completo, com morte por parada respiratória.

Animais	S e m a n a s								
	0	1ª	2ª	3ª	4ª	5ª	6ª	7ª	8ª
1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
2	0	1	1	0	1	1	1	1	1
3	0	0	0	0	1	1	0	1	1
4	0	0	0	0	1	0	0	0	1
5	0	1	1	0	1	1	1	1	1
6	0	1	0	1	0	1	1	1	1
7	0	0	0	0	1	1	1	1	1
8	0	0	0	1	1	1	1	1	1
9	0	0	0	0	1	1	1	1	1
Médias	0	0,3	0,2	0,2	0,8	0,8	0,7	0,8	1

Quadro 3 — Medida da força muscular de ratos submetidos à administração diária e prolongada de 16,6 gama /kg/dia i.p. do iodeto do dimetiléter da d-tubocurarina, determinada antes da injeção da droga.

Fonte de variação	S.Q.	G.L.	Q.M.	F.	p.
Entre tempos	8,395	8	1,049	8,59	0,01
Entre animais	3,950	8	0,494	4,04	0,05
Resíduo	7,828	64	0,122		
Total	20,173	80			

Tabela 3 — Análise da variância dos resultados expressos no quadro 3.

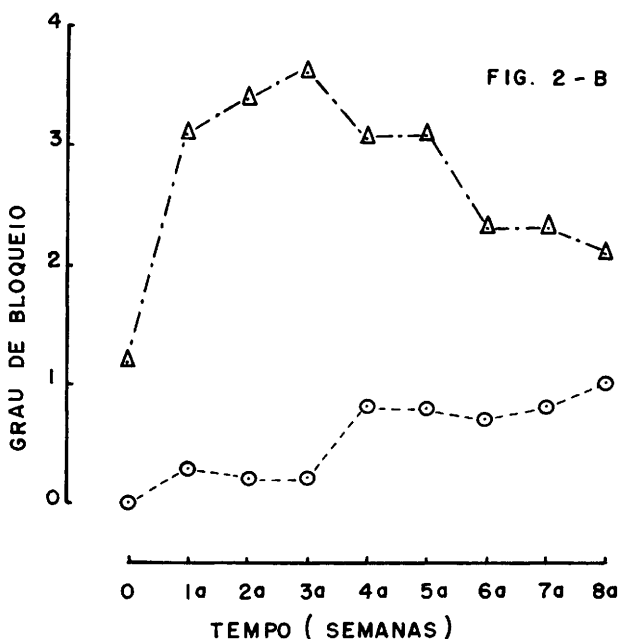
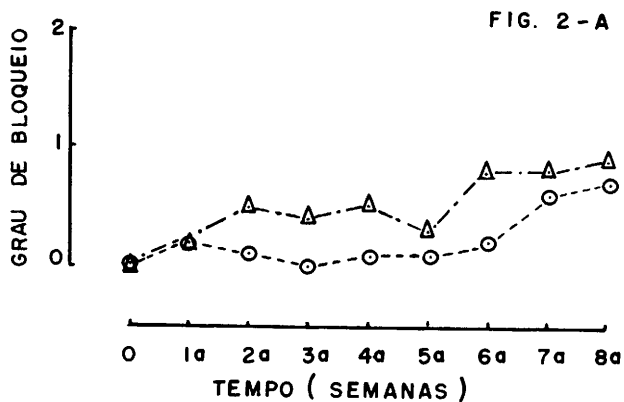


Fig. 2 — Medida da fôrça muscular de ratos submetidos à administração do iodeto do dimetiléter da *d*-tubocurarina (*i.p.*). Em A, ratos submetidos à dose de 5,5 gama/kg/dia; em B, ratos submetidos à dose de 16,6 gama/kg/dia. As linhas inferiores correspondem às medidas antes da injeção do DMT, ao passo que as superiores indicam as medidas obtidas 15 minutos após a injeção do DMT.

Com o prosseguimento da experimentação, observou-se uma diferença entre os dois lotes de animais submetidos à ação do DMT. Enquanto os ratos que recebiam 5,5 gama/kg/dia apresentaram um aumento significativo, embora discreto, da intensidade do bloqueio neuromuscular (fig. 2-A, quadros 1 e 2), os que recebiam 16,6 gama/kg/dia apresentaram, a partir da 5ª semana, uma diminuição progressiva e significativa do efeito inibidor da droga (fig. 2-B, quadros 3 e 4).

Animais	S e m a n a s								
	0	1ª	2ª	3ª	4ª	5ª	6ª	7ª	8ª
1	0	4	4	4	4	0	3	0	2
2	1	4	4	5	3	4	1	3	3
3	1	4	5	4	4	4	4	1	3
4	3	3	4	1	4	0	3	3	2
5	3	3	4	5	1	4	3	3	3
6	1	4	4	4	0	4	3	3	1
7	0	2	4	1	4	4	1	3	1
8	1	1	3	4	4	4	1	3	1
9	1	3	1	4	4	4	2	2	3
Médias	1,2	3,1	3,4	3,6	3,1	3,1	2,3	2,3	2,1

Quadro 4 — Medida do bloqueio da junção neuromuscular provocado pelo iodeto do dimetiléter da d-tubocurarina, na dose de 16,6 gama/kg i.p., a avaliação sendo feita 15 minutos após a injeção da droga.

Fonte de variação	S.Q.	G.L.	Q.M.	F.	p.
Entre tempos	44,691	8	5,586	3,38	0,05
Entre animais	11,580	8	1,447	0,87	—
Resíduo	105,724	64	1,652	—	—
Total	162,025	80	—	—	—

Tabela 4 — Análise da variância dos resultados expressos no quadro 4.

No lote-contrôle de animais recebendo diariamente 1 ml de solução cloretada isotônica não se observou alteração do comportamento, salvo alguns raros casos em que a força muscular baixou para o grau 1 (quadro 5 e tabela 5).

Animais	S e m a n a s								
	0	1ª	2ª	3ª	4ª	5ª	6ª	7ª	8ª
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	1	1	0	0	0	0	0	0	1
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	1	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	1	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	1	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	1	1	0	0	0
Médias	0,1	0,1	0	0	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1

Quadro 5 — Medida da força muscular de ratos submetidos à administração prolongada e diária de 1 ml/dia i.p. da solução isotônica de cloreto de sódio, determinada antes da injeção da solução. Os resultados obtidos 15 minutos após a injeção da solução isotônica de cloreto de sódio foram idênticos aos observados antes da administração dessa solução.

Fonte de variação	S.Q.	G.L.	Q.M.	F.	p.
Entre tempos	0,400	8	0,050	0,60	—
Entre animais	0,889	9	0,099	1,12	—
Resíduo	6,000	72	0,083		
Total	7,289	89			

Tabela 5 — Análise da variância dos resultados expressos no quadro 5.

COMENTARIOS

A diminuição da força muscular apresentada por ratos submetidos à administração prolongada e diária do DMT, avaliada quando já cessou a atividade curarizante dessa droga, e a maior sensibilidade que os animais desenvolvem à ação bloqueadora do DMT podem ser relacionadas com o aparecimento de alterações funcionais provocadas pela ação repetida dessa substância sobre a junção neuromuscular.

Os resultados obtidos com a administração das doses de 5,5 gama/kg/dia e 16,6 gama/kg/dia foram semelhantes nos dois lotes de animais, no que concerne à diminuição da força muscular, avaliada 24 horas após a injeção i.p. do DMT. Entretanto, a suscetibilidade à ação curarizante do DMT, determinada logo após a injeção, mostrou um comportamento diverso desses dois lotes: enquanto a dose de 5,5 gama/kg causou um aumento progressivo do bloqueio neuromuscular nas 8 semanas de experimentação (fig. 2-A), o efeito inibidor provocado pela dose de 16,6 gama/kg aumentou no início, mas diminuiu significativamente após a 5ª semana (fig. 2-B).

Numa tentativa para explicação desses resultados, pelo menos dois fenômenos devem ser considerados: a) alterações pré-juncionais envolvendo a formação e o mecanismo de liberação do mediador químico^{9, 23}; b) alterações da sensibilidade da placa terminal à acetilcolina^{10, 22}.

Assim, numa fase inicial, a ação repetida do DMT sobre a placa terminal, impedindo a atividade normal do mediador químico, provocaria diminuição da sensibilidade da placa terminal à acetilcolina e alterações pré-juncionais ao nível da terminação nervosa, o que explicaria a fraqueza muscular progressiva e a maior sensibilidade à ação curarizante do DMT observada nos dois lotes de animais (fig. 2-A e 2-B).

Numa fase ulterior, observada somente no lote submetido à dose de 16,6 gama/kg quando os ratos apresentam bloqueio intenso da junção neuromuscular (quadro 4 e fig. 2-B), desenvolver-se-ia uma hipersensibilidade do músculo à acetilcolina por um fenômeno semelhante ao da "desnervação farmacológica"¹⁰, diminuindo em conseqüência a sensibilidade dos animais à ação curarizante do DMT. Apesar desta menor suscetibilidade ao DMT, os animais continuam a apresentar fraqueza muscular, muito embora se pudesse esperar uma melhora deste quadro, condicionada à hipersensibilidade da placa motora à acetilcolina. Para explicar os resultados obtidos nesta fase da experimentação, pode-se admitir que as alterações pré-juncionais na terminação nervosa são persistentes e independem da sensibilidade da placa à acetilcolina.

O acúmulo do DMT no organismo¹⁵ pode ter influído nos resultados. Entretanto, a diminuição do bloqueio neuromuscular causado pela dose de 16,6 gama/kg numa fase em que era bastante acentuada a fraqueza dos animais (fig. 2-B), sugere que, ao menos em parte, a administração repetida do DMT provoca alterações funcionais da junção neuromuscular que independem da presença do agente curarizante.

Baseado nos resultados obtidos em condições experimentais, pode-se supor que o aparecimento da sintomatologia da miastenia grave esteja relacionado com a presença de substâncias curarizantes no sangue. Estas substâncias produziriam bloqueio neuromuscular discreto, porém constante, que levaria a graus diversos de alterações morfofisiológicas, variáveis com a suscetibilidade individual. A propósito já se demonstrou²⁶, em ratos, que essa suscetibilidade individual varia com a idade e o sexo.

Por outro lado, a melhora clínica obtida em miastênicos com a terapêutica pela curarização prolongada^{1, 5, 18} seria explicada pela hipersensibilidade da placa terminal à acetilcolina, em virtude da "desnervação farmacológica".

RESUMO

A ratos adultos, machos, foi administrado durante 8 semanas, uma vez ao dia, o iodeto do dimetiléter da d-tubocurarina (DMT), pela via intraperitoneal. Os animais foram distribuídos em 3 lotes: os do 1.º, receberam 5,5 gama de DMT/kg/dia; os do 2.º, 16,6 gama/kg/dia; os do 3.º (contrôle), 1 ml da solução isotônica de cloreto de sódio. A força muscular dos animais foi avaliada uma vez por semana, de acôrdo com o método descrito no texto, antes e após a injeção intraperitoneal da referida substância.

Com o decorrer da experimentação, observou-se que: *a*) houve diminuição significativa da força muscular dos animais, avaliada após esvaecimento da atividade curarizante do DMT; *b*) a determinação da força muscular, feita logo após a injeção, mostrou que a dose de 5,5 gama/kg/dia provoca um aumento da suscetibilidade dos animais à ação curarizante do DMT; *c*) o efeito inibidor provocado pela dose de 16,6 gama/kg/dia de DMT aumentou no início mas diminuiu significativamente após a 5ª semana, muito embora houvesse uma progressiva diminuição da força muscular, sugerindo independência entre os dois efeitos. Com base nesses resultados, são discutidos alguns fenômenos que podem ocorrer na instalação e tratamento da miastenia grave.

SUMMARY

Functional changes of the neuromuscular junction induced in rats by a daily and prolonged ministration of a curare agent

Dimethylether of d-tubocurarine iodide (DMT) was administered daily, by intraperitoneal route, to adult male rats during 8 weeks. The animals were divided in three groups: the animals of the first group were given 5.5 gama/kg/day of DMT; those of the second group were given 16.6 gama/kg/day; the rats of the 3rd (the control group), received 1 cm³ of isotonic saline solution. The animals muscular force was evaluated once a week right before and after intraperitoneal injection of the drug.

During the course of the trial, it was noted: *a*) a significant reduction of the animals muscular force, evaluated after disappearance of the DMT curarizing effect; *b*) measurements of muscular force, performed straight

after the injection, showed that a 5.5 gama/kg/daily dose induced an increase of the animals susceptibility to the blocking action of DMT; c) the inhibitory effect induced by DMT 16.6 gama/kg daily dose increased at the beginning but decreased significantly after the 5th week of the trial, despite a progressive decrease in muscular force suggest independence of the two effects. Based on these results, some of the phenomena that may occur at the beginning and during treatment of myasthenia gravis are discussed.

REFERÊNCIAS

1. ASSIS, L. M. & SARAIVA, P. A. P. — Miastenia grave. Tratamento das crises pelo repouso da placa motora. Trabalho apresentado na Academia Brasileira de Neurologia, julho de 1966. Resultados não publicados.
2. BOTELHO, S. Y. — Comparison of simultaneously recorded electrical and mechanical activity in Myasthenia gravis patients and in partially curarized normal humans. *Amer. J. Med.* 19:693, 696, 1955.
3. CANNON, W. B. & ROSEMBLUETH, A. — The supersensitivity of denervated structures. Macmillan Co., New York, 1949.
4. CHURCHILL-DAVIDSON, H. C. — Discussion on myasthenia. *Proc. roy. Soc. Med.* 49:793-795, 1956.
5. CHURCHILL-DAVIDSON, H. C. — Myasthenic crisis. Therapeutic use of d-tubocurarine. *Lancet* 273:1221-1224, 1957.
6. CHURCHILL-DAVIDSON, H. C. & RICHARDSON, A. T. — The action of decamethonium iodide in myasthenia gravis. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* 15: 129-133, 1952.
7. CHURCHILL-DAVIDSON, H. C. & RICHARDSON, A. T. — Neuromuscular transmission in myasthenia gravis. *J. Physiol. Lond.* 122:252-263, 1953.
8. CHURCHILL-DAVIDSON, H. C. & RICHARDSON, A. T. — Neuromuscular transmission in myasthenia gravis. *Amer. J. Med.* 19:691-692, 1955.
9. DAHLBACK, O.; ELMQVIST, D.; JOHNS, T. R.; RADNER, S. & THERSLEFF, S. — An electrophysiologic study of the neuromuscular junction in myasthenia gravis. *J. Physiol. (London)* 156:336-340, 1961.
10. EMMELIN, N. — Supersensitivity following "pharmacological denervation". *Pharmacological Rev.* 13:17-37, 1961.
11. FENICHEL, G. M. — Muscle lesions in myasthenia gravis. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 135:35-59, 1966.
12. GROB, D.; JOHN, R. J. & HARVEY, A. M. — Alteration in neuromuscular transmission in myasthenia gravis as determined by studies of drug action. *Amer. J. Med.* 19:684-690, 1955.
13. GROB, D.; NAMBA, T. & FELDMAN, O. S. — Alterations in reactivity to acetylcholine in myasthenia gravis and carcinomatous myopathy. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 135:247-275, 1966.

14. HOSEIN, B. A.; OTTOLENGHI, B. & DROFMAN, S. — Myasthenia gravis. Second International Symposium. *Apud* GROB, D. — Neuromuscular pharmacology. *Ann. Rev. Pharmacol.* 1:250, 1961.
15. KALOW, W. — The distribution and elimination of muscle relaxants. *In* Symposium on Muscle Relaxants. *Anesthesiology* 20:505-518, 1959.
16. NASTUK, W. L. — Fundamental aspects of neuromuscular transmission. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 135:110-135, 1966.
17. NASTUK, W. L. & PLESCIA, O. J. — Current status of research on myasthenia gravis. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 135:664-677, 1966.
18. NOWELL, P. T. & WILSON, A. — Myasthenia gravis. Second International Symposium. *Apud* GROB, D. — Neuromuscular pharmacology. *Ann. Rev. Pharmac.* 1:250, 1961.
19. OSSERMAN, K. E. — Studies in myasthenia gravis: reduction in mortality rate after crisis. *J. Amer. med. Ass.* 183:97-101, 1963.
20. PARKES, J. D. & MCKINNA, J. A. — Neuromuscular blocking activity in the blood of patients with myasthenia gravis. *Lancet* (1):388-391, 1966.
21. RAMOS, A. O. — Ação curarizante do plasma e do extrato de timo de paciente portador de miastenia grave. *Rev. Bras. Biol.* 18:93-100, 1958.
22. SHARPLESS, S. K. — Reorganization of function in the nervous system: use and disuse. *Ann. Rev. Physiol.* 26:357-388, 1964.
23. THESLEFF, S. — Acetylcholine utilization in myasthenia gravis. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 135:195-206, 1966.
24. TUKEY, J. W. — The problem of multiple comparisons. Princeton University, 1953. *In* STEEL, R. G. D. & TORRIE, J. H. — Principles and Procedures in Statistics. McGraw-Hill, New York, 1960, págs. 109-110.
25. WILSON, A. & STONER, H. B. — Myasthenia gravis: a consideration of its causation in a study of fourteen cases. *Quart. J. Med.* 13:1-18, 1944.
26. WOLFE, S. M.; SIMONS, R. L. & NASTUK, W. L. — Effect of age and sex on sensitivity to d-tubocurarine in rat. *Proc. Soc. Exper. Biol. N.Y.* 117:1-3, 1964.
27. ZACKS, S. I. — The Motor Endplate. W. B. Saunders Co., Philadelphia, 1964.

Departamento de Farmacologia — Faculdade de Medicina da USP — Caixa Postal 2921 — São Paulo, SP — Brasil.