

Influência do Lítio no Bloqueio Neuromuscular Produzido pelo Atracúrio e pelo Cisatracúrio. Estudo em Preparações Nervo Frênico-Diafragma de Rato*

Influence of Lithium on the Neuromuscular Blockade Produced by Atracurium and Cisatracurium. Study on Rat Phrenic Nerve-Diaphragm Preparations

Samanta Cristina Antoniassi Fernandes¹, Angélica de Fátima de Assunção Braga, TSA², Franklin Sarmiento da Silva Braga³, Yolanda Christina S. Loyola⁴, Silmara Rodrigues de Souza⁵, Caroline Coutinho de Barcelos¹

RESUMO

Fernandes SCA, Braga AFA, Braga FSS, Loyola YCS, Souza SR, Barcelos CC — Influência do Lítio no Bloqueio Neuromuscular Produzido pelo Atracúrio e pelo Cisatracúrio. Estudo em Preparações Nervo Frênico-Diafragma de Rato.

JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS: O lítio, fármaco amplamente utilizado nos distúrbios bipolares, pode interagir com os bloqueadores neuromusculares. Os mecanismos para explicar os seus efeitos na transmissão neuromuscular e a interação com bloqueadores neuromusculares são controversos. O objetivo deste trabalho foi avaliar, em diafragma de rato, os efeitos do lítio sobre a resposta muscular à estimulação indireta e a possível interação com os bloqueadores neuromusculares.

MÉTODO: Utilizaram-se ratos com peso entre 250g e 300g, sacrificados sob anestesia com uretana. A preparação nervo frênico-diafragma foi montada de acordo com a técnica descrita por Bulbring. O diafragma foi mantido sob tensão, ligado a um transdutor isométrico e submetido à estimulação indireta de 0,1 Hz de frequência. As contrações do diafragma foram registradas em fisiógrafo. Da análise da amplitude das respostas musculares avaliaram-se: os efeitos dos fármacos: lítio (1,5 mg.mL⁻¹); atracúrio (20 µg.mL⁻¹) e cisatracúrio (3 µg.mL⁻¹) empregados isoladamente; da associação lítio-bloqueadores neuromusculares; e do lítio no bloqueio neuromuscular produzido pelo atracúrio (35 µg.mL⁻¹) e cisatracúrio (5 µg.mL⁻¹). Os efeitos foram avaliados antes e 45 minutos após a adição dos fármacos. Também foram estudados os efeitos do lítio nos potenciais de membrana (PM) e potenciais de placa terminal em miniatura (PPTM).

RESULTADOS: O lítio isoladamente não alterou a amplitude das respostas musculares, mas diminuiu significativamente o bloqueio

neuromuscular produzido pelo atracúrio e cisatracúrio. Não alterou o PM e ocasionou aumento inicial da frequência dos PPTM.

CONCLUSÕES: O lítio empregado isoladamente não comprometeu a transmissão neuromuscular e aumentou a resistência ao efeito do atracúrio e cisatracúrio. Não mostrou ação sobre a fibra muscular, sendo que as alterações nos potenciais de placa terminal em miniatura evidenciaram ação pré-sináptica.

Unitermos: ANIMAIS: ratos; ESTABILIZADORES DO HUMOR: Lítio; BLOQUEADORES NEUROMUSCULARES, não despolarizantes: atracúrio, cisatracúrio.

SUMMARY

Fernandes SCA, Braga AFA, Braga FSS, Loyola YCS, Souza SR, Barcelos CC — Influence of Lithium on the Neuromuscular Blockade Produced by Atracurium and Cisatracurium. Study on Rat Phrenic Nerve-Diaphragm Preparations.

BACKGROUND AND OBJECTIVES: Lithium is widely used for the treatment of bipolar disorders and can interact with neuromuscular blockers. There is a controversy about the mechanisms by which it affects neuromuscular transmission and its interaction with neuromuscular blockers. The objective of this study was to evaluate, on the rat diaphragm, the effects of lithium on the muscular response and indirect stimulation, and the possible interaction with neuromuscular blockers.

METHODS: Rats weighing between 250 and 300 g were sacrificed under urethane anesthesia. The phrenic nerve-diaphragm preparation was assembled according to the Bulbring technique. The diaphragm was kept under tension, connected to an isometric transducer, and submitted to indirect stimulation with a frequency of 0.1 Hz. The contractions of the diaphragm were registered on a physiograph. The analysis of the amplitude of the muscular responses evaluated: the effects of the isolated drugs: lithium (1.5 mg.mL⁻¹); atracurium (20 µg.mL⁻¹), and cisatracurium (3 µg.mL⁻¹); the lithium-neuromuscular blockers association; and the effects of lithium on the neuromuscular blockade produced by atracurium (35 µg.mL⁻¹) and cisatracurium (5 µg.mL⁻¹). The effects were evaluated before and 45 minutes after the addition of the drugs. The effects of lithium on membrane potentials (MP) and miniature end-plate potentials (MEPP) were also evaluated.

RESULTS: Lithium by itself did not change the amplitude of the muscular responses, but it decreased significantly the neuromuscular blockade produced by atracurium and cisatracurium. It did not change MP and caused an initial increase in MEPP.

CONCLUSIONS: Lithium by itself did not compromise neuromuscular transmission and increased the resistance to the effects of atracurium and cisatracurium. It did not show any action on the muscle fiber, and the changes in miniature end-plate potentials indicated pre-synaptic action.

Key Words: ANIMALS: rats; MOOD STABILIZERS: Lithium; NEUROMUSCULAR BLOCKERS, Nondepolarizing: atracurium, cisatracurium.

*Recebido do (Received from) Departamento de Farmacologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas (FCM-UNICAMP), Campinas, São Paulo

1. Aluna do Curso de Pós-Graduação do Departamento de Farmacologia da FCM-UNICAMP
2. Professora Associada do Departamento de Anestesiologia da FCM-UNICAMP
3. Professor Doutor do Departamento de Anestesiologia da FCM-UNICAMP
4. Doutora em Farmacologia pelo Departamento de Farmacologia da FCM-UNICAMP
5. Mestre em Farmacologia pelo Departamento de Farmacologia da FCM-UNICAMP

Apresentado (Submitted) em 19 de junho de 2006

Aceito (Accepted) para publicação em 23 de fevereiro de 2007

Endereço para correspondência (Correspondence to):

Dra. Angélica de Fátima de Assunção Braga

Rua Luciano Venere Decourt, 245 — Cidade Universitária

13084-040 Campinas, SP

E-mail: franklinbraga@terra.com.br

© Sociedade Brasileira de Anestesiologia, 2007

INTRODUÇÃO

O carbonato de lítio, amplamente utilizado em pacientes com diagnóstico de transtorno bipolar, é o principal medicamento para prevenir as mudanças de humor¹. Embora muitos estudos tenham sido realizados para investigar os efeitos do lítio nas respostas musculares e sua interação com os bloqueadores neuromusculares (BNM), os resultados permanecem conflitantes^{2,3}. Estudos apontam para a interação entre o lítio e os bloqueadores neuromusculares, sendo observada potencialização ou mesmo nenhuma influência significativa nos efeitos desses agentes⁴⁻⁷. A influência do lítio na síntese e/ou liberação de acetilcolina (ACh), com comprometimento da transmissão neuromuscular e conseqüente potencialização na ação dos bloqueadores neuromusculares despolarizantes e não despolarizantes, pode ser esperada⁵. O objetivo deste estudo experimental foi avaliar o efeito do lítio na transmissão neuromuscular e a sua influência no bloqueio neuromuscular produzido pelo atracúrio e pelo cisatracúrio.

MÉTODO

Trata-se de um estudo experimental e os procedimentos usados estão de acordo com os princípios éticos na experimentação animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foram aprovados pela Comissão de Ética em Experimentação Animal do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

Foram utilizados ratos com peso entre 250g e 300g sacrificados sob anestesia com uretana. Após sangria por secção dos vasos do pescoço, a preparação foi montada de acordo com a técnica de Bulbring⁸. Os hemidiafragmas com os nervos frênicos correspondentes foram retirados e fixados em cuba contendo 40 mL de solução nutritiva de Tyrode com a seguinte composição em mM: NaCl 137; NaH₂PO₄ 0,3; CaCl₂ 1,8; KCl 2,7; glicose 11; MgCl₂ 0,25; e NaHCO₃ 11,9. A solução foi aerada constantemente com carbogênio (95% O₂ + 5% CO₂) e mantida a 37°C. O nervo foi colocado sobre eletrodos de platina ligados a um estimulador Grass S48.

O diafragma foi mantido por sua porção tendinosa sob tensão constante (5 g) através de um fio ligado a um transdutor isométrico Load Cell BG50 GMS, sendo submetido à estimulação indireta de 0,1 Hz de frequência e duração de 0,2 msec. As variações de tensão produzidas pelas contrações do diafragma foram registradas em fisiógrafo Gould RS 3400.

Para a avaliação dos efeitos do lítio na transmissão neuromuscular e sua influência no bloqueio neuromuscular produzido pelo atracúrio e pelo cisatracúrio, formaram-se grupos com 5 ratos cada e os experimentos foram realizados em 3 etapas distintas: 1) efeito do lítio (1,5 mg.mL⁻¹) e dos BNM — atracúrio (20 µg.mL⁻¹) e cisatracúrio (3 µg.mL⁻¹), administrados isoladamente; 2) lítio e BNM administrados simultaneamente; 3) administração do lítio após obtenção de bloqueio neuromuscular (≥ a 80%) com atracúrio (35 µg.mL⁻¹) e cisatracúrio (5 µg.mL⁻¹). A amplitude das respostas do músculo diafragma à estimulação indireta foi avaliada antes e 45 minutos após a adição dos fármacos isoladamente ou associados. Utilizou-se também a preparação nervo frênico-diafragma de rato (NFD) para o estudo dos potenciais de placa terminal em miniatura e dos potenciais de membrana, antes e após adição do lítio à preparação.

Os resultados foram expressos em médias e desvios padrão. Para análise estatística foram utilizados os testes *t* de Student, *t* de Student pareado e o teste do Sinal. Assumiu-se um nível de significância de 5% ($\alpha = 5\%$). O poder do teste foi calculado e obteve-se $\beta > 20\%$ (poder $> 80\%$).

RESULTADOS

O lítio, na concentração estudada (1,5 mg.mL⁻¹) e empregado isoladamente, não causou alteração na amplitude das respostas musculares (Figura 1). O bloqueio neuromuscular produzido pelo atracúrio (20 µg.mL⁻¹) e pelo cisatracúrio (3 µg.mL⁻¹), empregados isoladamente, foram respectivamente 41,28% ± 7,29% e 55,56% ± 9,10% (Figuras 2 e 3). Nas preparações expostas à associação lítio-atracúrio e lítio-cisatracúrio, obteve-se bloqueio neuromuscular de 17,74% ± 7,17% e de 12,58% ± 3,42%, respectivamente, que foram significativamente menores ($p < 0,05$) em relação aos observados nos experimentos nos quais os bloqueadores neuromusculares foram empregados isoladamente. Nas preparações expostas às doses maiores de bloqueadores neuromusculares (atracúrio — 35 µg.mL⁻¹ e cisatracúrio — 5 µg.mL⁻¹), os bloqueios foram de 86,44% ± 4,92% e 86,43% ± 3,65%, respectivamente. A adição de lítio (1,5 mg.mL⁻¹) à preparação promoveu recuperação significativa ($p < 0,05$) na amplitude das respostas musculares (Figura 4). O lítio não causou alteração nos potenciais de membrana. Os efeitos sobre os potenciais de placa terminal em miniatura caracterizaram-se inicialmente por um aumento na frequência, observado 10 minutos após a adição do lítio, seguido de bloqueio aos 90 minutos (Figura 5).

INFLUÊNCIA DO LÍCIO NO BLOQUEIO NEUROMUSCULAR PRODUZIDO PELO ATRACÚRIO E PELO CISATRACÚRIO.
ESTUDO EM PREPARAÇÕES NERVO FRÊNICO-DIAFRAGMA DE RATO

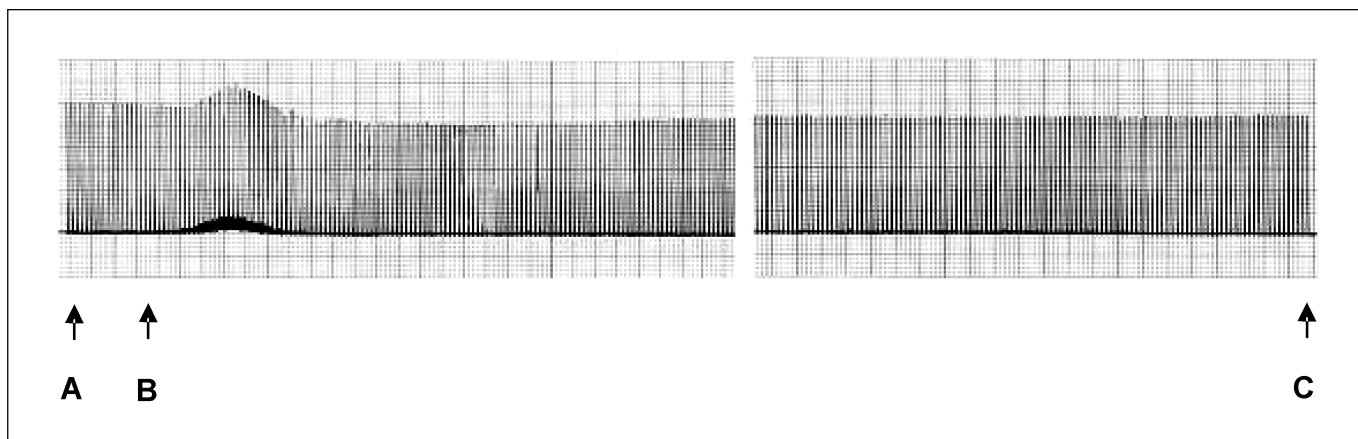


Figura 1 – Efeito do Lítio ($1,5 \text{ mg.mL}^{-1}$) nas Respostas Musculares à Estimulação Indireta em Preparação Nervo Frênico-Diafragma de Rato. A = controle; B = adição de lítio; C = 45 minutos após a adição de lítio

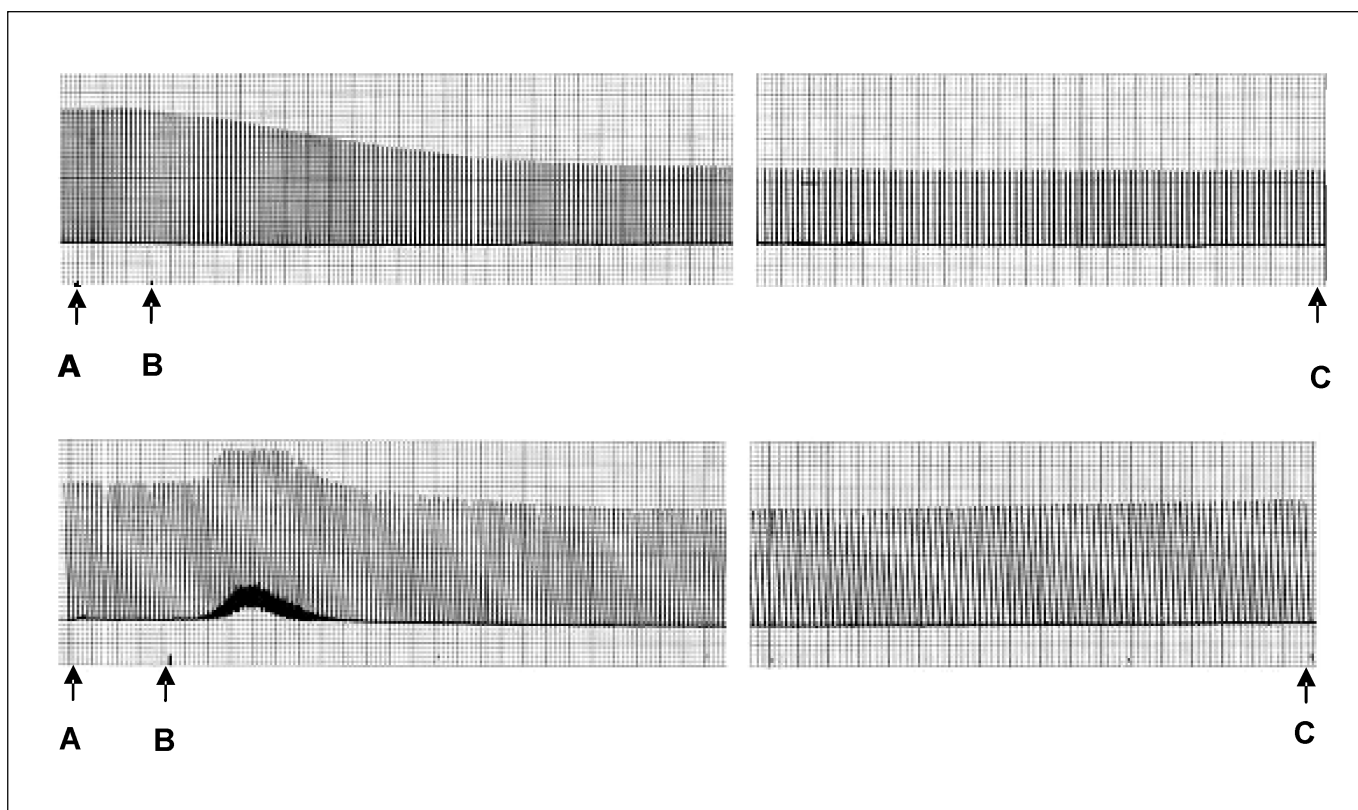


Figura 2 – Efeito do Atracúrio Isoladamente ($20 \text{ }\mu\text{g.mL}^{-1}$, superior) e de sua Associação ao Lítio ($1,5 \text{ mg.mL}^{-1}$, inferior) nas Respostas Musculares à Estimulação Indireta em Preparação Nervo Frênico-Diafragma de Rato. A = controle; B = adição do atracúrio ou associação atracúrio e lítio; C = 45 minutos após a adição do atracúrio ou associação atracúrio e lítio

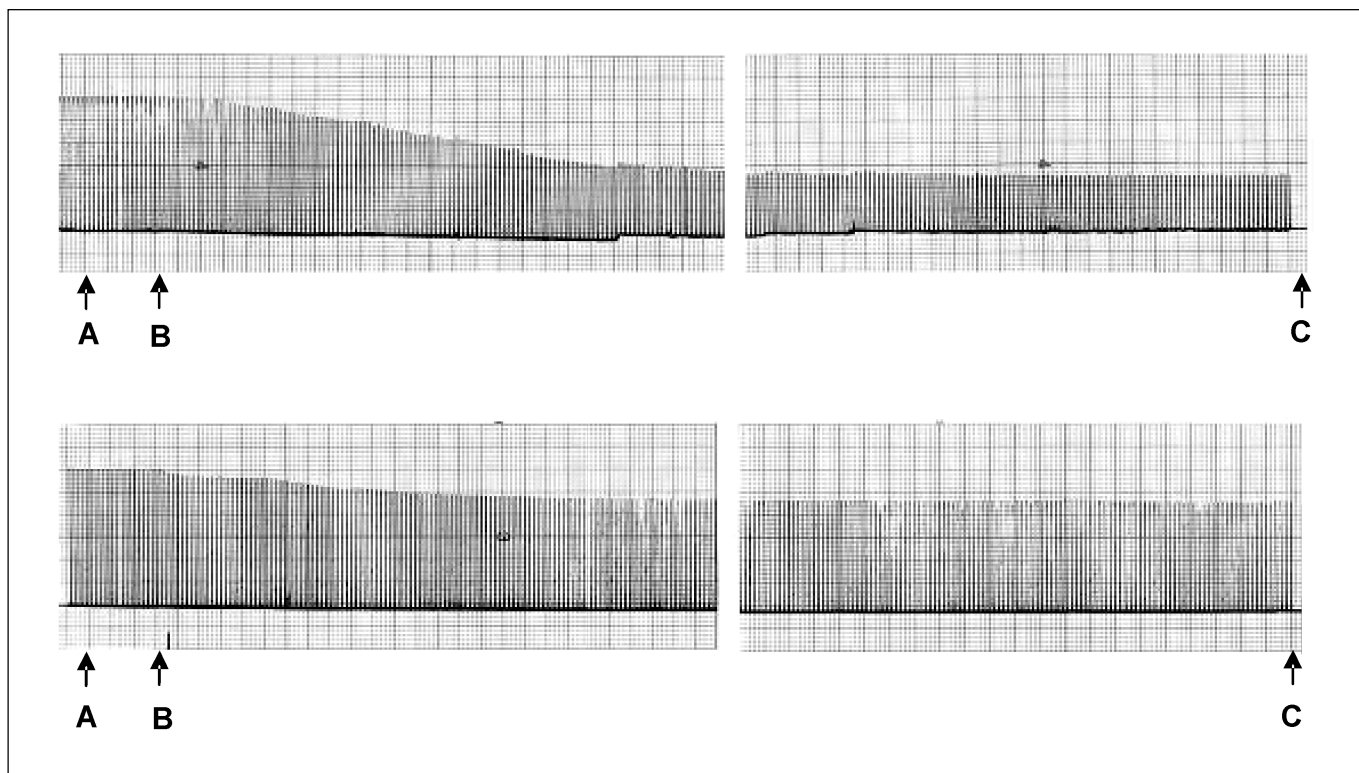


Figura 3 – Efeito do Cisatracúrio Isoladamente ($3 \mu\text{g.mL}^{-1}$, superior) e de sua Associação ao Lítio ($1,5 \text{ mg.mL}^{-1}$, inferior) nas Respostas Musculares à Estimulação Indireta em Preparação Nervo Frênico-Diafragma de Rato.
 A = controle; B = adição do cisatracúrio ou associação cisatracúrio e lítio; C = 45 minutos após a adição do cisatracúrio ou associação cisatracúrio e lítio

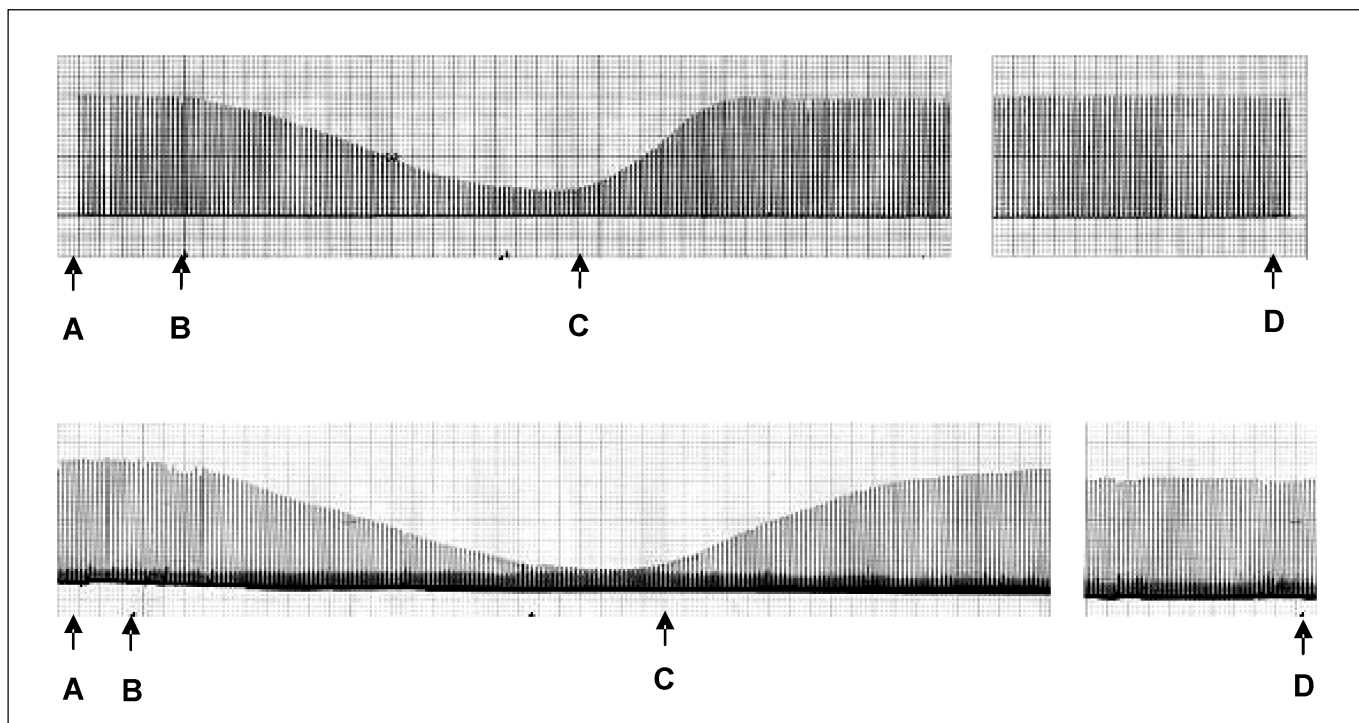


Figura 4 – Efeito do Lítio ($1,5 \text{ mg.mL}^{-1}$) no Bloqueio Neuromuscular Produzido pelo Atracúrio ($35 \mu\text{g.mL}^{-1}$, superior) e Cisatracúrio ($5 \mu\text{g.mL}^{-1}$, inferior).
 A = controle; B = adição do atracúrio ou do cisatracúrio; C = adição do Lítio; D = 45 minutos após a adição do Lítio

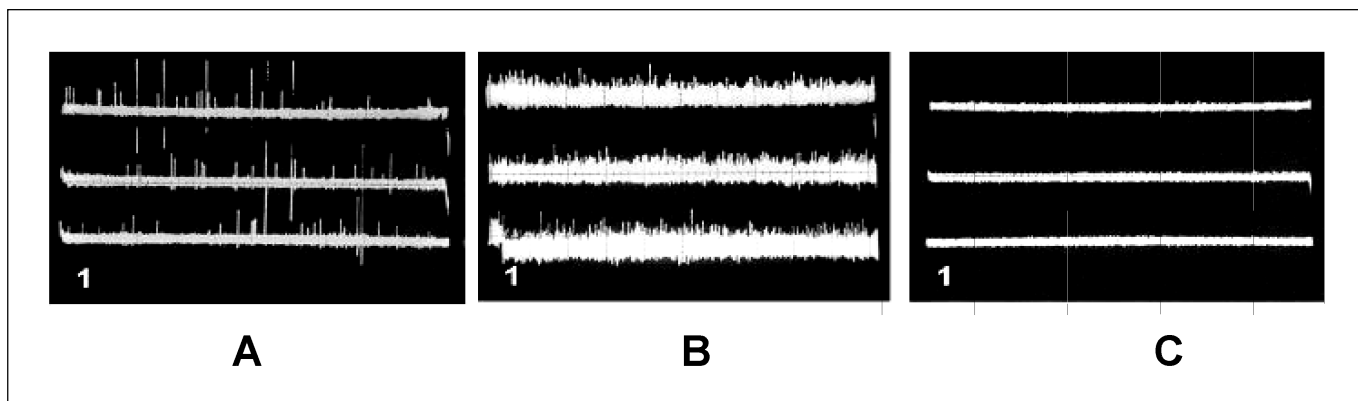


Figura 5 – Efeito do Lítio ($1,5 \text{ mg.mL}^{-1}$) nos Potenciais de Placa Terminal em Miniatura (PPTM) em Preparação Nervo Frênico-Diafragma de Rato. A = controle; B = 10 minutos após adição de lítio; C = 90 minutos após adição de lítio

DISCUSSÃO

Alguns fármacos podem, em concentrações elevadas, comprometer a transmissão neuromuscular ou, em baixas concentrações, por ocasionarem diminuição da margem de segurança da transmissão neuromuscular, potencializar os efeitos dos bloqueadores neuromusculares^{1,2,4-7,9-12}. São várias as hipóteses para esclarecer o mecanismo de ação do lítio e a possibilidade de comprometer a transmissão neuromuscular, assim como sua interação com os bloqueadores neuromusculares. Os dados encontrados da literatura são conflitantes, tendo sido observado em alguns estudos inibição da contração muscular, potencialização ou interação insignificante com os bloqueadores neuromusculares ou mesmo nenhum efeito na transmissão neuromuscular^{1,2,4,6,7,9-15}.

Diante de resultados controversos, a finalidade do presente trabalho foi avaliar os efeitos do lítio na junção neuromuscular do rato; a interação com os bloqueadores neuromusculares; e os prováveis mecanismos que possam elucidar esta interação. Foram realizados experimentos que avaliaram as respostas musculares e experimentos eletrofisiológicos. Na preparação neuromuscular isolada nervo frênico-diafragma de rato com estimulação indireta, após adição de lítio ($1,5 \text{ mg.mL}^{-1}$), observou-se inicialmente um discreto aumento das contrações musculares, correspondendo à facilitação da transmissão neuromuscular, seguido de retorno para valores próximos do basal. Essa ação facilitadora da transmissão neuromuscular pode dever-se ao aumento na liberação de acetilcolina e refletir a ação pré-juncional do lítio. Este efeito, à semelhança do relatado por outros autores, pôde ser comprovado nos estudos eletrofisiológicos nos quais se observou que o lítio, na concentração empregada, causou inicialmente aumento na frequência dos potenciais de placa terminal em miniatura (Figura 5), demonstrando aumento na liberação do neurotransmissor. Esses resultados indicaram que a liberação do neurotransmissor pode ser atribuída ao

acúmulo do lítio nas terminações nervosas, resultando em aumento no nível do cálcio intracelular¹⁰.

Por outro lado, outros estudos descreveram redução na síntese e liberação de acetilcolina como justificativa para o efeito potencializador do lítio sobre o grau e dificuldade de reversão do bloqueio produzido por diferentes bloqueadores neuromusculares^{1-3,7,11,13,14,16}. Os resultados controversos podem ser devidos às diferenças de método e modelos experimentais empregados e, até mesmo, estar relacionados às concentrações utilizadas e à forma de administração do lítio^{2,3,6}. A similaridade existente entre os pesos atômicos do lítio e do sódio pode ser a explicação para o transporte do lítio, juntamente com o sódio, para o interior da célula durante a despolarização celular. Na seqüência desse processo, ocorre uma saída mais lenta do lítio em relação à observada para o sódio; o lítio se acumula então no intracelular, causando redução mais positiva do potencial de membrana, com redução na altura do potencial de ação e na eficácia da bomba sódio-potássio^{13,14,16,17}.

Experimentos realizados *in vitro* e *in vivo* mostraram efeitos inibitórios do lítio sobre as contrações musculares por estimulação direta e indireta, com redução concentração-dependente das respostas musculares e potencialização dos efeitos de bloqueadores despolarizantes e não despolarizantes². O autor sugere que o efeito inibitório do lítio na transmissão neuromuscular e na contração muscular é mediado pela ativação dos canais de potássio sensíveis a adenosina trifosfato (K_{ATP}) nas membranas das terminações nervosas e musculares, efeito este já descrito anteriormente^{9,18}. A ativação de K_{ATP} nas membranas dos terminais nervosos encurta a duração do potencial de ação e inibe o influxo de cálcio através dos canais de cálcio voltagem-dependentes, essencial para a liberação de acetilcolina. Na membrana muscular, inibe a liberação do cálcio do retículo sarcoplasmático durante o potencial de ação, prejudicando o processo de excitação-contração^{2,19-21}.

Neste estudo, o lítio administrado isoladamente na concentração indicada não causou alteração significativa da

transmissão neuromuscular, mas influenciou no efeito dos bloqueadores neuromusculares. A redução na amplitude das respostas musculares nas preparações expostas à associação de lítio com atracúrio ou com o cisatracúrio foi significativamente menor em relação à observada nas preparações submetidas somente aos bloqueadores neuromusculares. Estes resultados podem sugerir que o lítio dificulta a ação de alguns bloqueadores neuromusculares e, como relatado por alguns autores, pode ser atribuído ao efeito deste íon o aumento da liberação de acetilcolina^{10,22,23}. A provável resistência à ação dos bloqueadores neuromusculares nas preparações expostas ao lítio foi também confirmada em outros experimentos, nos quais o lítio foi adicionado à preparação após a obtenção de aproximadamente 80% de bloqueio com os diferentes bloqueadores neuromusculares. Nesses experimentos, o lítio causou reversão do bloqueio neuromuscular com significativa recuperação na amplitude das respostas musculares, efeito similar ao observado quando do emprego de anticolinesterásicos para reversão de bloqueio produzido por fármacos não despolarizantes.

Os resultados desse experimento diferiram dos descritos por outros autores. Eles demonstraram em preparação exposta ao lítio, potencialização e aumento na duração do bloqueio, ou mesmo nenhuma alteração nos efeitos dos bloqueadores neuromusculares despolarizantes ou não despolarizantes^{2,5,6,24}. Em outros estudos o lítio isoladamente também não alterou a transmissão neuromuscular, mas foi capaz de potencializar o bloqueio produzido pelo pancurônio, galamina e vecurônio, sem no entanto alterar os efeitos da d-tubocurarina, succinilcolina e decametônio^{5,6}.

A interação lítio-bloqueadores neuromusculares também foi descrita em pacientes psiquiátricos, tendo sido observado aumento na duração do bloqueio neuromuscular produzido pela succinilcolina e pelo pancurônio^{4,24}. Adicionalmente, também foi observado em músculo esquelético de humanos, efeito negativo do lítio sobre o processo excitação-contracção¹⁵.

As diferentes respostas em relação à influência do lítio nos efeitos dos diferentes bloqueadores neuromusculares sugerem que o mecanismo de ação dos bloqueadores pode não ser idêntico. Esses resultados também podem refletir distintos locais de ação do lítio, pré- ou pós-sináptico, além de efeitos na síntese e liberação de acetilcolina e na redução no número de receptores para acetilcolina^{5,14,25}.

Nos estudos eletrofisiológicos, observou-se que o lítio, na concentração empregada, não produziu alterações nos potenciais de membrana das fibras musculares, mantendo-se entre 82 a 88 milivolts, ou seja, dentro dos limites da normalidade. É, portanto, difícil explicar por que o lítio potencializa, dificulta ou não influencia no efeito de alguns bloqueadores neuromusculares. Discute-se a possibilidade de que alguns desses agentes, dependendo de sua estrutura química, apresentem maior efeito na distribuição celular do sódio e do potássio. O pancurônio, devido à sua estrutura esteroide, exibe como muitos esteróides atividade mineralo-

corticóide, ocasionando na célula acúmulo de sódio e depleção de potássio, um efeito eletrofisiológico similar ao do lítio^{5,16,17,26}.

A probabilidade de interação clinicamente significativa com bloqueadores neuromusculares é aumentada em pacientes que estejam fazendo uso de diversos fármacos no período pré-operatório, com efeitos na transmissão neuromuscular e contração muscular. Com base nos resultados conflitantes da literatura, a importância da interação do lítio com os bloqueadores neuromusculares é pouco considerada na prática clínica. No entanto, devido à possibilidade real de interação, parece ser prudente cuidados no pré-operatório, como monitoração dos níveis séricos de lítio, ou até mesmo sua interrupção temporária. No intra-operatório, o uso cauteloso dos bloqueadores neuromusculares e a monitoração contínua do bloqueio neuromuscular e da recuperação da transmissão neuromuscular nos pacientes em terapia com lítio ou outros metais alcalinos também são recomendados.

Influence of Lithium on the Neuromuscular Blockade Produced by Atracurium and Cisatracurium. Study on Rat Phrenic Nerve-Diaphragm Preparations

Samanta Cristina Antoniassi Fernandes, M.D.; Angélica de Fátima de Assunção Braga, TSA, M.D.; Franklin Sarmiento da Silva Braga, M.D.; Yolanda Christina S. Loyola, M.D.; Silmara Rodrigues de Souza, Caroline Coutinho de Barcelos, M.D.

INTRODUCTION

Lithium, a drug widely used in patients with bipolar disorder, is the main drug to prevent mood changes¹. Although several studies have been conducted to determine the effects of lithium on muscle responses and its interaction with other neuromuscular blockers (NMB), the results are conflicting^{2,3}. These studies indicate that there is an interaction between lithium and neuromuscular blockers, potentiating its effects, or even no significant influence on those agents⁴⁻⁷. The influence of lithium on the synthesis and/or release of acetylcholine (Ach), interfering with the neuromuscular transmission and the consequent potentiation of depolarizing and non-depolarizing neuromuscular blockers, can be expected⁵. The objective of this study was to evaluate the effects of lithium on neuromuscular transmission and its influence on the neuromuscular blockade produced by atracurium and cisatracurium.

METHODS

Since this is an experimental study, the procedures followed the ethical principles on animal experiments adopted by the

Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) and were approved by the Ethics Committee on Animal Experiments of the Instituto de Biologia of Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

Rats weighing between 250 and 300 g were sacrificed under urethane anesthesia. After bleeding by sectioning the neck vessels, the preparation was assembled according to the technique of Bulbring⁸. The hemidiaphragms and corresponding phrenic nerves were removed and fixed in a container with 40 mL of nutrient Tyrode's solution with the following composition in mM: NaCl 137; NaH₂PO₄ 0.3; CaCl₂ 1.8; KCl 2.7; glucose 11; MgCl₂ 0.25; and NaHCO₃ 11.9. The solution was aerated constantly with carbogen (95% O₂ + 5% CO₂) and kept at 37°C. The nerve was placed over platinum electrodes connected to a Grass S48 stimulator.

The diaphragm was maintained under constant tension (5 g) by its tendinous portion through a wire connected to a Load Cell BG50 GMS isometric transducer, undergoing indirect stimulation of 0.1 Hz of frequency and 0.2 msec of duration. The tension variation produced by the contractions of the diaphragm was recorded by a Gould RS 3400 physiograph.

To evaluate the effects of lithium on neuromuscular transmission and its influence on the neuromuscular blockade produced by atracurium and cisatracurium, 5 groups of rats were used and the experiments were conducted in 3 distinct stages: 1) effects of lithium (1.5 mg.mL⁻¹) and NMB — atracurium (20 µg.mL⁻¹) and cisatracurium (3 µg.mL⁻¹) administered separately; 2) lithium and NMB administered simultaneously; and 3) lithium administered right after obtaining neuromuscular blockade (≥ 80%) with atracurium (35 µg.mL⁻¹) and cisatracurium (5 µg.mL⁻¹). The amplitude of the responses of the diaphragm to indirect stimulation were evaluated before and 45 minutes after the addition of the drugs sepa-

rately or in association. The rat phrenic nerve-diaphragm (PND) was also used to study miniature end-plate potentials and membrane potentials before and after the addition of lithium to the preparation.

Results were expressed as mean and standard deviation. The test *t* Student, paired test *t* Student, and Signal testing were used for the statistical analysis. A level of 5% ($\alpha = 5\%$) was considered significant. The power of the test was calculated, obtaining a $\beta > 20\%$ (power > 80%).

RESULTS

Lithium, in the concentration used in this study (1.5 mg.mL⁻¹) and used by itself, did not cause any changes in the amplitude of muscular responses (Figure 1). The neuromuscular blockade produced by atracurium (20 µg.mL⁻¹) and cisatracurium (3 µg.mL⁻¹), used isolatedly, was 41.28% ± 7.29% and 55.56% ± 9.10%, respectively (Figures 2 and 3). On the preparations exposed to the association lithium-atracurium and lithium-cisatracurium, a neuromuscular blockade of 17.74% ± 7.17% and 12.58% ± 3.42%, respectively, was produced, which was significantly smaller ($p < 0.05$) than what was observed in the experiments in which neuromuscular blockers were used by themselves.

In the preparations exposed to higher doses of neuromuscular blockers (atracurium — 35 µg.mL⁻¹ and cisatracurium — 5 µg.mL⁻¹), the blockades were 86.44% ± 4.92% and 86.43% ± 3.65%, respectively. The addition of lithium (1.5 mg.mL⁻¹) to the preparation promoted a significant recovery ($p < 0.05$) in the amplitude of muscular responses (Figure 4). Lithium did not change membrane potentials. Initially, it caused an increase in the frequency of miniature end-plate potentials, observed 10 minutes after the addition of lithium, followed by a blockade at 90 minutes (Figure 5).

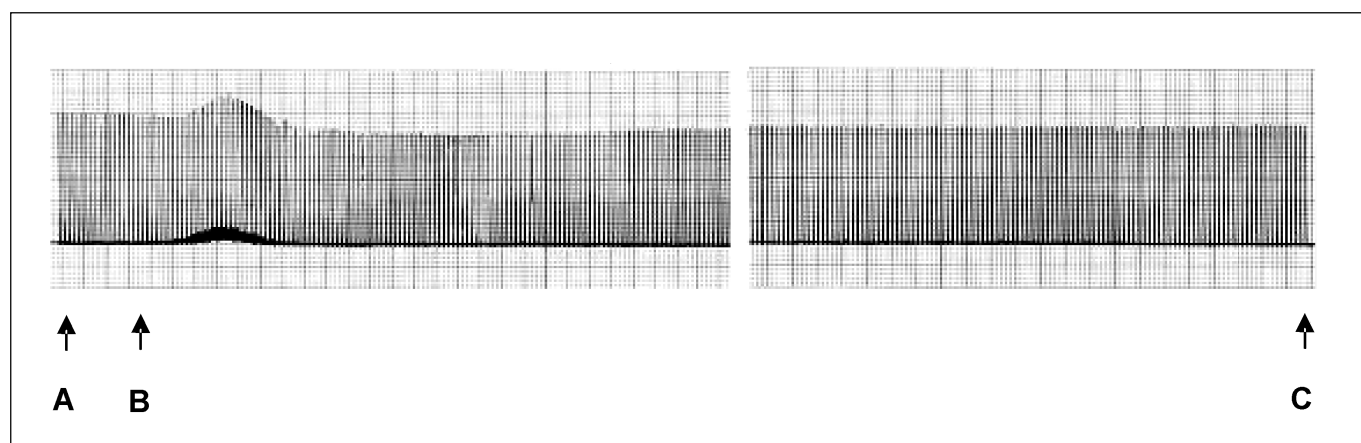


Figure 1 – Effects of Lithium (1.5 mg.mL⁻¹) on the Muscular Response to Indirect Stimulation in the Rat Phrenic Nerve-Diaphragm Preparation. A: control; B: addition of lithium; C: 45 minutes after the addition of lithium

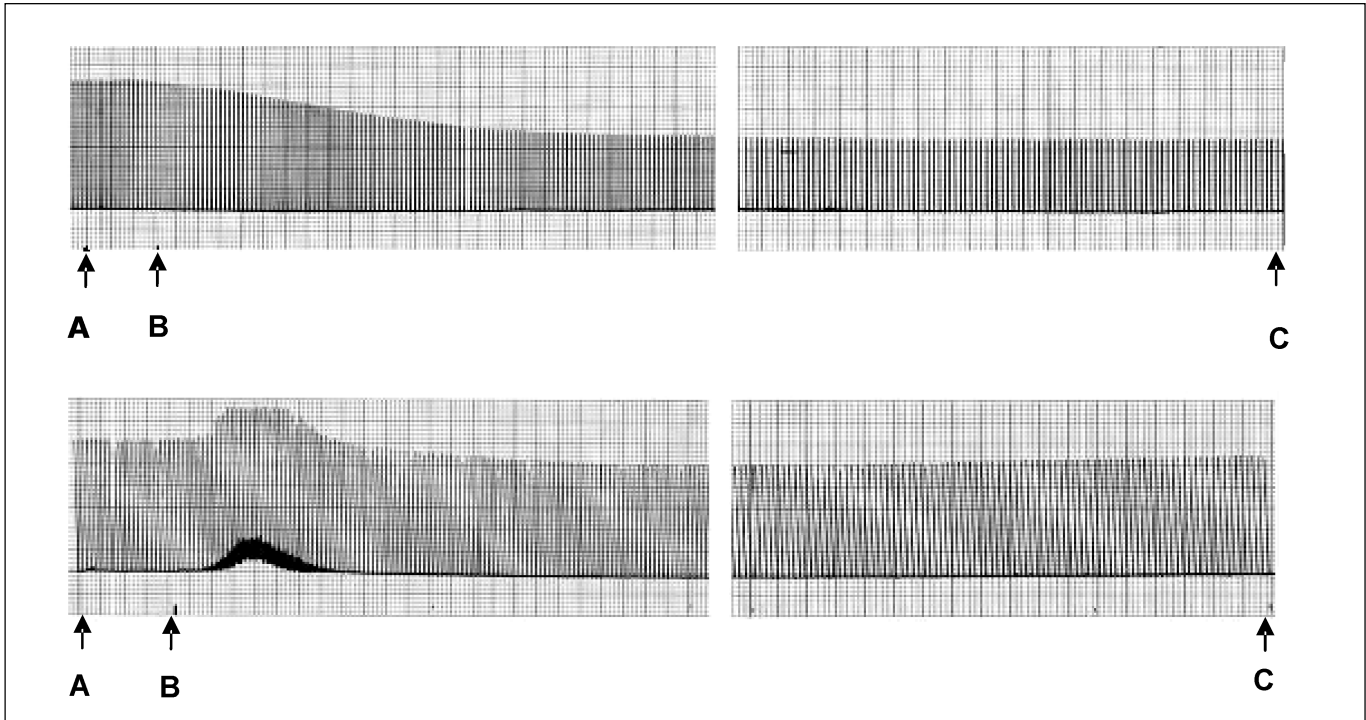


Figure 2 – Effects of Atracurium Alone ($20 \mu\text{g.mL}^{-1}$, upper tracing) and its Association With Lithium (1.5mg.mL^{-1} , lower tracing) on the Muscular Response to Indirect Stimulation in the Rat Phrenic Nerve-Diaphragm Preparation.
 A: control; B: addition of atracurium or the association of atracurium and lithium; C: 45 minutes after the addition of atracurium or its association with lithium

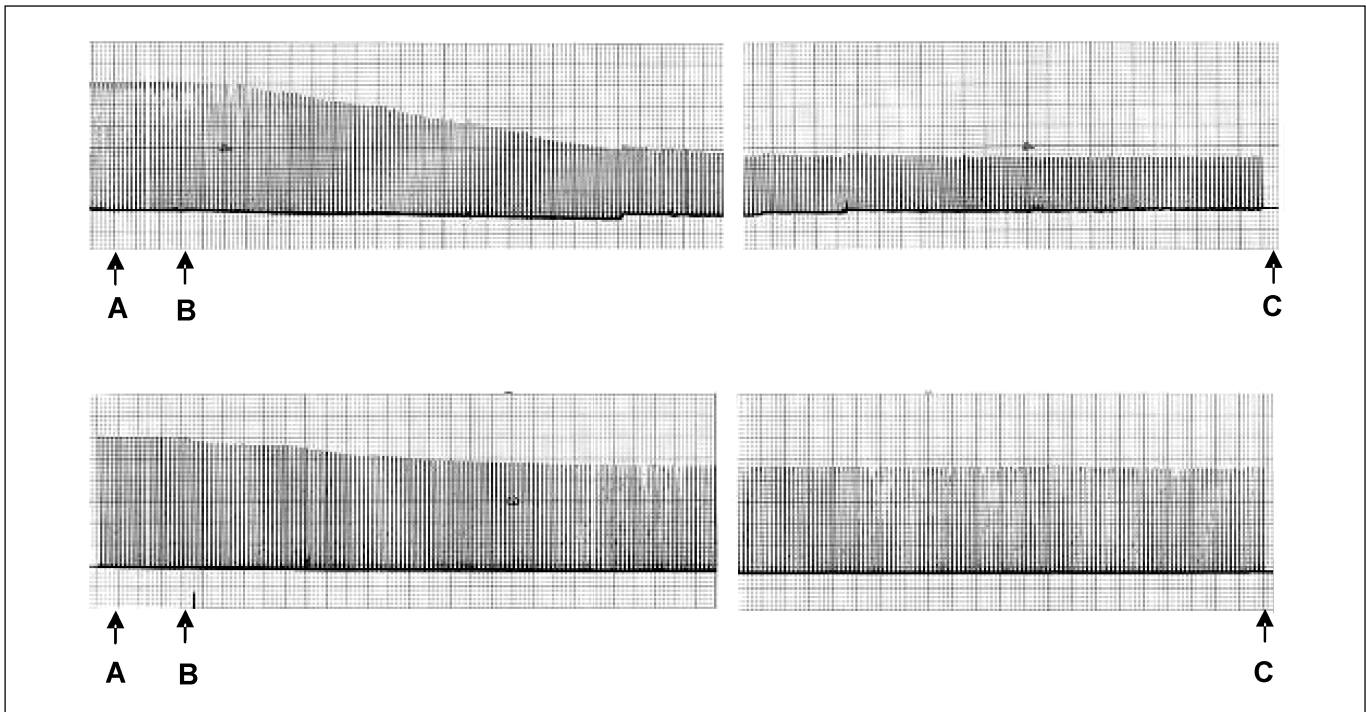


Figure 3 – Effects of Cisatracurium Alone ($3 \mu\text{g.mL}^{-1}$, upper tracing) and its Association With Lithium (1.5mg.mL^{-1} , lower tracing) on the Muscular Response to Indirect Stimulation in the Rat Phrenic Nerve-Diaphragm Preparation.
 A: control; B: addition of cisatracurium or its association with lithium; C: 45 minutes after the addition of cisatracurium or its association with lithium

INFLUENCE OF LITHIUM ON THE NEUROMUSCULAR BLOCKADE PRODUCED BY ATRACURIUM AND CISATRACURIUM.
STUDY ON RAT PHRENIC NERVE-DIAPHRAGM PREPARATIONS

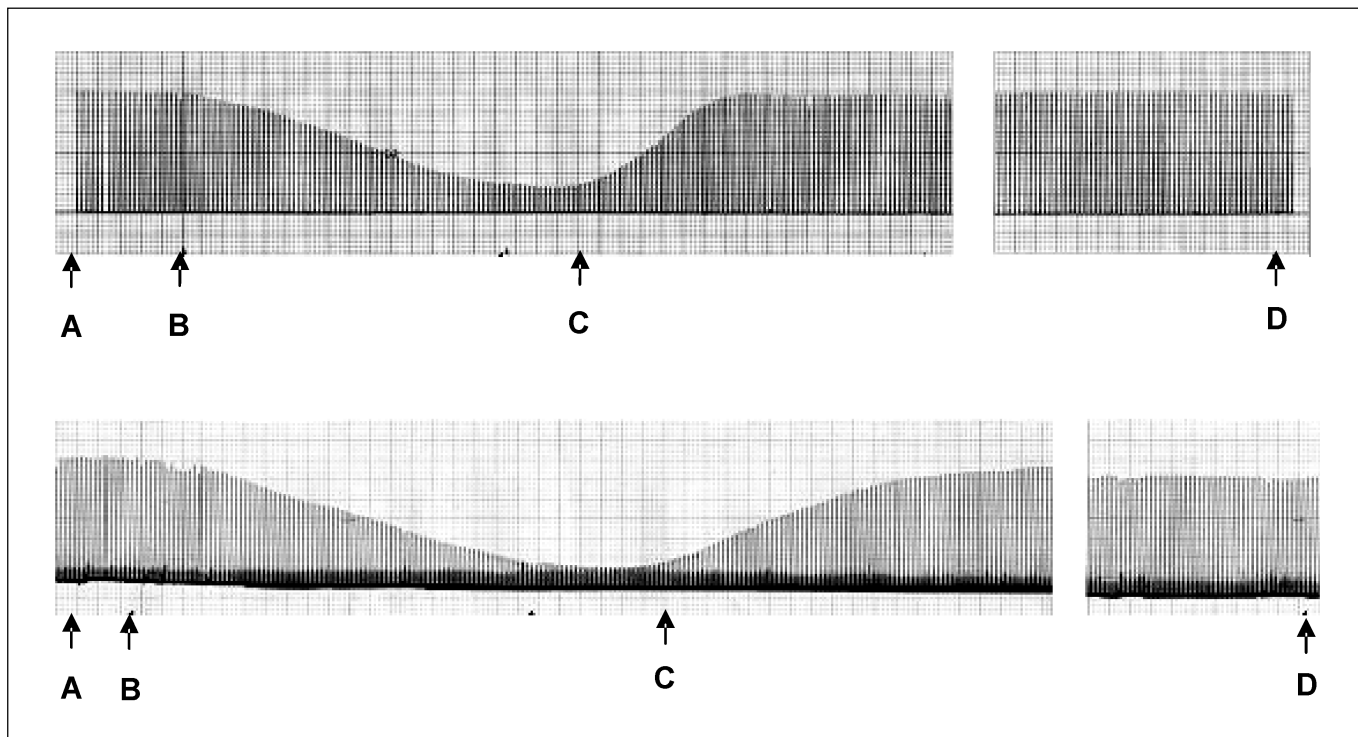


Figure 4 – Effects of Lithium (1.5 mg.mL^{-1}) on the Neuromuscular Blockade Produced by Atracurium ($35 \text{ }\mu\text{g.mL}^{-1}$, upper tracing) and Cisatracurium ($5 \text{ }\mu\text{g.mL}^{-1}$, lower tracing).

A: control; B: addition of atracurium or cisatracurium; C: addition of lithium; D: 45 minutes after the addition of lithium

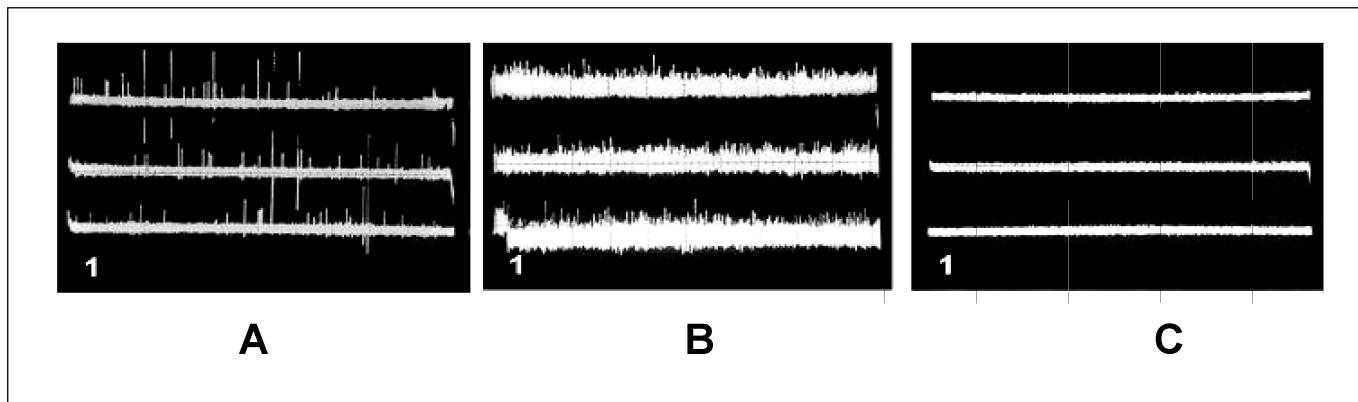


Figure 5 – Effects of Lithium (1.5 mg.mL^{-1}) on Miniature End-Plate Potentials (MEPP) in the Rat Phrenic Nerve-Diaphragm Preparation.

A: control; B: 10 minutes after the addition of lithium; C: 90 minutes after the addition of lithium

DISCUSSION

Some drugs, in high concentrations, may hinder neuromuscular transmission or, in low concentrations, potentiate the effects of neuromuscular blockers by decreasing the safety margin of muscular transmission^{1,2,4-7,9-12}. There are several hypotheses to explain the mechanism of action of lithium and the possibility to affect neuromuscular transmission, as well as its interaction with neuromuscular blockers. The literature

has conflicting data, with studies demonstrating inhibition of muscular contraction, potentiation or insignificant interaction with neuromuscular blockers, and even no effects on neuromuscular transmission^{1,2,4,6,7,9-15}.

In view of the controversial results, the objective of this work was to evaluate the effects of lithium on rat neuromuscular junction; its interaction with neuromuscular blockers, and the possible mechanisms that might elucidate this interaction. Experiments that evaluate the muscular responses and

electrophysiological experiments were conducted. In the isolated rat phrenic nerve-diaphragm preparation with indirect stimulation, after adding lithium ($1.5 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) we observed initially a discrete increase in muscular contractions, corresponding to the facilitation of the neuromuscular transmission, followed by a return to values close to baseline. This facilitation of the neuromuscular transmission might be due to the release of acetylcholine, reflecting a pre-junctional action of lithium. This effect, similar to what has been reported by other authors, could be corroborated by the electrophysiological studies, in which we observed that lithium, in the concentration used in this study, initially caused an increase in the frequency of miniature end-plate potentials (Figure 5), demonstrating an increase in the release of the neurotransmitter. These results indicate that the release of the neurotransmitter could be attributed to the accumulation of lithium in nerve endings, leading to an increase in intracellular calcium ¹⁰.

On the other hand, other studies described the reduction in the synthesis and release of acetylcholine to justify the potentiating effects of lithium on the degree and difficulty in reducing the blockade produced by several neuromuscular blockers ^{1-3,7,11,13,14,16}. The controversial results could be due to the differences in methodology and experimental models used, and even be related to the concentrations used and the route of lithium administration ^{2,3,6}.

The similarity between the atomic weights of lithium and sodium could explain the intracellular transport of lithium, along with sodium, during cellular depolarization. In the sequence of this process, the extracellular transport of lithium is slower than that of sodium; thus, lithium accumulates inside the cell, causing a more positive reduction in the membrane potential, in the height of the action potential, and in the efficacy of the sodium-potassium pump ^{13,14,16,17}.

In vitro and *in vivo* experiments demonstrated the inhibitory effects of lithium on muscular contraction resulting from direct and indirect stimulation, with a concentration-dependent reduction of the muscular responses and potentiation of the effects of depolarizing and non-depolarizing blockers ². The author suggests that the inhibitory effect of lithium on the neuromuscular transmission and muscular contraction is mediated by the activation of potassium channels sensitive to adenosine triphosphate (K_{ATP}) in the membranes of nerve endings and muscle cells, which has been previously described ^{9,18}. The activation of K_{ATP} in the membranes of nerve endings reduces the duration of the action potential and inhibits the influx of calcium through voltage-dependent calcium channels, essential for the release of acetylcholine. In the muscular membrane, it inhibits the release of calcium from the sarcoplasmic reticulum during the action potential, hindering the excitation-contraction process.

In this study, lithium administered by itself, in the concentration indicated, did not cause significant change in neuro-

muscular transmission, but it influenced the effects of neuromuscular blockers. The reduction in the amplitude of the muscular responses in the preparations exposed to the association of lithium and atracurium or cisatracurium was significantly smaller when compared with what was observed on the preparations exposed only to the neuromuscular blockers. These results might suggest that lithium hampers the action of some neuromuscular blockers and, as reported by some authors, it can be attributed to an increase in the release of acetylcholine by this ion ^{10,22,23}. The probable resistance to the action of neuromuscular blockers in the preparations exposed to lithium was also confirmed by other experiments in which lithium was added to the preparation after obtaining an 80% blockade with the different neuromuscular blockers. In those experiments, lithium reversed the neuromuscular blockade, with a significant recovery in the amplitude of the muscular responses, which was similar to the effect observed when anticholinesterase agents are used to revert the blockade produced by depolarizing drugs.

The results of these experiments do not agree with those reported by other authors. They demonstrated, in preparations exposed to lithium, potentiation and an increase in the duration of the blockade, or even no change at all on the effects of depolarizing or non-depolarizing neuromuscular blockers ^{2,5,6,24}. In other studies, lithium alone also did not cause any changes in the neuromuscular transmission, but it was capable of potentiating the blockade produced by pancuronium, gallamine, and vecuronium, but it did not change the effects of d-tubocurarine, succinylcholine, and decamethonium ^{5,6}.

The interaction lithium-neuromuscular blockers was also described in psychiatric patients, with an increase in the duration of the neuromuscular blockade produced by succinylcholine and pancuronium ^{4,24}. Besides, it was also observed, in human skeletal muscle, a negative effect of lithium on the excitation-contraction process ¹⁵.

The responses regarding the influence of lithium on different neuromuscular blockers suggest that the mechanism of action of those blockers might not be identical. These results could also reflect different sites of action of lithium, pre or postsynaptic, besides the effects on the synthesis and release of acetylcholine, and the reduction in the number of acetylcholine receptors ^{5,14,25}.

In the electrophysiological studies, we observed that lithium, in the concentration used in this study, did not change the membrane potential of muscle fibers, remaining between 82 and 88 millivolts, i.e., within normal limits. Therefore, it is difficult to explain why lithium potentiates, hampers, or does not influence the effects of some neuromuscular blockers. It is possible that, depending on their chemical structure, these agents could have a greater effect on the cellular distribution of sodium and potassium. Pancuronium, due to its steroidal structure, has mineralocorticoid activity similar to many steroids, causing accumulation of sodium and depletion of

potassium in the cell, and these effects are similar to those produced by lithium^{5,16,17,26}. The probability of clinically significant interaction with neuromuscular blockers is increased in patients taking several drugs in the preoperative period, which can affect neuromuscular transmission and muscular contraction. Based on the conflicting results found in the literature, the interaction of lithium with neuromuscular blockers is not given much importance in clinical practice. However, due to the possibility of an interaction, preoperative care, such as monitoring serum levels of lithium or even its temporary suspension, seems prudent. Intraoperatively, cautious use of neuromuscular blockers and continuous monitoring of the neuromuscular blockade and recovery of the neuromuscular transmission in patients treated with lithium or other alkaline metals are also recommended.

REFERÊNCIAS — REFERENCES

01. Stahl SM — Psicofarmacologia, Base Neurocientífica e Aplicações Práticas. 2ª Ed, Rio de Janeiro, Medsi, 2002:93-287.
02. Abdel-Zaher AO — The myoneural effects of lithium chloride on the nerve-muscle preparations of rats. Role of adenosine triphosphate-sensitive potassium channels. *Pharmacol Res*, 2000;41:163-178.
03. Vizi ES, Illes P, Ronai A et al. — Effect of lithium on acetylcholine release and synthesis. *Neuropharmacology*, 1972;11:521-530.
04. Borden H, Clarke MT, Katz H — The use of pancuronium bromide in patients receiving lithium carbonate. *Can Anaesth Soc J*, 1974;21:79-82.
05. Hill GE, Wong KC, Hodges MR — Lithium carbonate and neuromuscular blocking agents. *Anesthesiology*, 1977;46:122-126.
06. Saarnivaara L, Ertama P — Interactions between lithium/rubidium and six muscle relaxants. A study on the rat phrenic nerve-hemidiaphragm preparation. *Anaesthesist*, 1992;41:760-764.
07. Waud BE, Farrell L, Waud DR — Lithium and neuromuscular transmission. *Anesth Analg*, 1982;61:399-402.
08. Bulbring E — Observation on the isolated phrenic nerve-diaphragm preparation of the rat. *Br J Pharmacol*, 1946;1:38-61.
09. Amdisen A — Lithium and drug interactions. *Drugs*, 1982; 24:133-139.
10. Branisteanu DD, Volle RL — Modification by lithium of transmitter release at the neuromuscular junction of the frog. *J Pharmacol Exp Ther*, 1975;194:362-372.
11. Havdala HS, Borison RL, Diamond BI — Potential hazards and applications of lithium in anesthesiology. *Anesthesiology*, 1979;50:534-537.
12. Tardelli MA — Função Neuromuscular: Bloqueio, Antagonismo e Monitorização, em: Yamashita AM, Takaoka F, Auler Junior JOC et al. — Anestesiologia SAESP, 5ª Ed, São Paulo, Atheneu, 2001;217-244.
13. Kelly JS — Antagonism between Na⁺ and Ca²⁺ at the neuromuscular junction. *Nature*, 1965;205:296-297.
14. Kelly JS — The antagonism of Ca²⁺ by Na⁺ and other monovalent ions at the frog neuromuscular junction. *J Exp Physiol*, 1968; 53:239-249.
15. Tarnopolsky MA, Hicks A, Winegard K — The effects of lithium on muscle contractile function in humans. *Muscle Nerve*, 1996;19:311-318.
16. Post RL, Merritt CR, Kinsolving CR et al. — Membrane adenosine triphosphatase as a participant in the active transport of

- sodium and potassium in the human erythrocyte. *J Biol Chem*, 1960; 235:1796-1802.
17. Wespi H — Active transport and passive fluxes of K, Na and Li in mammalian non-myelinated nerve fibres. *Pfluegers Arch*, 1969;306:262-280.
 18. Reimherr FW, Hodges MR, Hill GE, Wong KC — Prolongation of muscle relaxant effects by lithium carbonate. *Am J Psychiatry*, 1977;134:205-206.
 19. Smith JS, Coronado R, Meissner G — Single channel measurements of the calcium release channel from skeletal muscle sarcoplasmic reticulum. Activation by Ca²⁺ and ATP and modulation by Mg²⁺. *J Gen Physiol*, 1986;88:573-588.
 20. Rudy B — Diversity and ubiquity of K channels. *Neuroscience*, 1988;25:729-749.
 21. Nichols CG, Lederer WJ — Adenosine triphosphate-sensitive potassium channels in the cardiovascular system. *Am J Physiol*, 1991;261:1675-1686.
 22. Carmody JJ, Gage PW — Lithium stimulates secretion of acetylcholine in the absence of extracellular calcium. *Brain Res*, 1973;50:476-479.
 23. Crawford AC — Lithium ions and the release of transmitter at the frog neuromuscular junction. *J Physiol*, 1975;246:109-142.
 24. Hill GE, Wong KC, Hodges MR — Potentiation of succinylcholine neuromuscular blockade by lithium carbonate. *Anesthesiology*, 1976;44:439-442.
 25. Pestronk A, Drachman DB — Mechanism of action of lithium on acetylcholine receptor metabolism in skeletal muscle. *Brain Res*, 1987;412:302-310.
 26. Dunham ET, Glynn IM — Adenosine triphosphatase activity and the active movements of alkali metal ions. *J Physiol*, 1961; 156:274-293.

RESUMEN

Fernandes SCA, Braga AFA, Braga FSS, Loyola YCS, Souza SR, Barcelos CC — Influencia del Litio en el Bloqueo Neuromuscular Producido por el Atracurio y por el Cisatracurio. Estudio en Preparo Nervio Frénico-Diafragma del Ratón.

JUSTIFICATIVA Y OBJETIVOS: El litio, fármaco ampliamente utilizado en los disturbios bipolares, puede interactuar con los bloqueadores neuromusculares. Los mecanismos para explicar sus efectos en la transmisión neuromuscular y en la interacción con bloqueadores neuromusculares son controvertidos. El objetivo de este trabajo fue evaluar, en diafragma de ratón, los efectos del litio sobre la respuesta muscular al estímulo indirecto y la posible interacción con los bloqueadores neuromusculares.

MÉTODO: Se utilizaron ratones con peso entre 250 y 300 g, sacrificados bajo anestesia con uretana. La preparación nervio frénico-diafragma se montó de acuerdo con la técnica de Bulbring. El diafragma se mantuvo bajo tensión, ligado a un transductor isométrico y sometido a la estimulación indirecta de 0,1 Hz de frecuencia. Las contracciones del diafragma fueron registradas en un fisiógrafo. Del análisis de la amplitud de las respuestas musculares se evaluaron los efectos de los fármacos: litio (1,5 mg.mL⁻¹); atracurio (20 µg.mL⁻¹) y cisatracurio (3 µg.mL⁻¹) empleados aisladamente; de la asociación litio-bloqueadores neuromusculares; y del litio en el bloqueo neuromuscular producido por el atracurio (35 µg.mL⁻¹) y cisatracurio (5 µg.mL⁻¹). Los efectos se evaluaron antes y 45 minutos después de la adición de los fármacos. También se estudiaron los efectos del litio en los potenciales de membrana (PM) y potenciales de placa terminal en miniatura (PPTM).

RESULTADOS: El litio aisladamente no alteró la amplitud de las respuestas musculares, pero sí que redujo significativamente el bloqueo neuromuscular producido por el atracurio y el cisatracurio. No alteró el PM y ocasionó un aumento inicial de la frecuencia de los PPTM.

CONCLUSIONES: El litio empleado aisladamente no comprometió la transmisión neuromuscular y aumentó la resistencia al efecto del atracurio y del cisatracurio. No mostró acción sobre la fibra muscular, siendo que las alteraciones en los potenciales de placa terminal en miniatura mostraron una acción presináptica.