

AUTOREGULAÇÃO COLINÉRGICA DA TRANSMISSÃO NEUROMUSCULAR

Juliana Silveira do Valle*
Heraldo Echeverria Borges**
Wilson Alves-do-Prado***

VALLE, J. S; BORGES, H. E; ALVES-DO-PRADA, W. Auto-regulação colinérgica da transmissão neuromuscular. *Arq. Ciênc. Saúde Unipar*, 6(2): 181-185, 2002.

RESUMO: Auto regulação colinérgica é o nome dado à capacidade da acetilcolina de regular sua própria liberação neuronal. A acetilcolina atua sobre receptores nicotínicos e muscarínicos presentes nos terminais nervosos motores. Tais receptores, em conjunto com outros não colinérgicos, permitem que os terminais colinérgicos sejam regulados por agentes liberados próximos ou distantes dos nervos motores. O acionamento dos receptores nicotínicos e muscarínicos pré-sinápticos determinam, respectivamente, aumento e redução da quantidade de acetilcolina liberada para a fenda sináptica. Estudos farmacológicos sugerem que os receptores nicotínicos pré-sinápticos do terminal nervoso motor sejam do subtipo ganglionar N_n , por se comportarem de forma semelhante àqueles presentes nos gânglios autonômicos. Os muscarínicos, por outro lado, comportam-se farmacologicamente como receptores cardíacos do subtipo M_2 .

PALAVRAS-CHAVE: receptores nicotínicos, receptores muscarínicos, acetilcolina, músculo esquelético.

CHOLINERGIC AUTOREGULATION OF NEUROMUSCULAR TRANSMISSION

VALLE, J. S; BORGES, H. E; ALVES-DO-PRADA, W. Cholinergic autoregulation of neuromuscular transmission. *Arq. Ciênc. Saúde Unipar*, 6(2): 181-185, 2002.

ABSTRACT: The acetylcholine released from different types of nerve is able to regulate its own output acting on cholinergic receptors found at presynaptic level. Such mechanism of regulation is named cholinergic autoregulation. Nicotinic and muscarinic receptors are found on motor nerve ending. The activation of nicotinic and muscarinic presynaptic receptors induces, respectively, increase and reduction on acetylcholine output. The release of acetylcholine is also regulate by others agents released close or distant of terminal. Pharmacological evidences suggest that the presynaptic nicotinic receptors is similar to ganglionic N_n receptors, while the muscarinic presynaptic receptors is like the M_2 cardiac.

KEY WORDS: nicotinic receptors, muscarinic receptors, acetylcholine, skeletal muscle.

Introdução

A acetilcolina (ACh) é o mediador químico de vários sistemas neuronais aparecendo em todas as fibras pós-ganglionares parassimpáticas, algumas fibras pós-ganglionares simpáticas (fibras simpático colinérgicas) e nas fibras pré-ganglionares do sistema nervoso autônomo simpático e parassimpático.

Uma fibra motora, ao alcançar a fibra muscular esquelética, perde sua bainha de mielina e cada ramo de sua terminação faz contato com a célula muscular em invaginações da membrana que contêm os receptores nicotínicos pós-sinápticos. Essa associação forma a junção neuromuscular, ou placa motora, e está isolada do meio circundante por uma ou mais células de Schwann. A junção neuromuscular é uma estrutura com organização geométrica e funcional, que sincronicamente libera ACh em regiões de membranas estrategicamente importantes. Tal organização permite uma transmissão eficiente com menos de 0,7 ms de retardo (WESSLER, 1996).

A ACh é sintetizada no citoplasma do terminal nervoso motor pela colina acetiltransferase. Tal enzima tem como substrato o acetil-coenzima A (acetil-CoA) que

oferecerá o grupo acetato à molécula de colina. A colina utilizada na síntese de ACh pode ser obtida pela alimentação, pela síntese hepática, pela quebra da fosfatidilcolina de membrana ou pela hidrólise da própria molécula de ACh. A colina pode, ainda, ser captada por todas as células as quais, utilizando um sistema transportador de alta afinidade Na^+ dependente, podem capturar tais moléculas. Por outro lado, o acetil-CoA se origina do complexo enzimático da piruvato desidrogenase mitocondrial (POTTER, 1970).

As moléculas de ACh recém sintetizadas no terminal nervoso motor são captadas para as vesículas através de um transporte que utiliza um mecanismo de contra-transporte de H^+ (DE ROBERTIS & BENNETT, 1955). As vesículas distribuem-se pelo terminal em dois compartimentos funcionalmente distintos (HUBBARD, 1963); um, denominado fração de depósito (FD), está disperso pelo citoplasma e não está diretamente relacionado com a liberação do neurotransmissor. O outro, chamado fração imediatamente utilizável (FIU), contém cerca de 1 - 10% das vesículas distribuídas próximo a face interna da membrana pré-sináptica e está diretamente relacionado com a liberação de ACh (MAENO, 1969). A medida que a ACh é liberada das

* Docente da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Paranaense. Especialista em farmacologia pela Universidade Paranaense, Mestre em Genética pela Universidade Estadual de Campinas

**Docente da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Paranaense

***Professor Titular do DFF/ UEM PhD em farmacologia pela Faculdade de Medicina de Riberão Preto

Endereço: Juliana Silveira do Valle - Av Pirapó, 5301 Centro, 87502-140 Umuama-PR

vesículas da FIU, vesículas da FD são mobilizadas para a periferia para repor o conteúdo gasto (THESLEFF, 1967).

Quando um potencial de ação propagado alcança o terminal nervoso motor, canais de Ca^{+2} voltagem dependente são ativados e, dessa forma, elevam os níveis intracelulares deste íon no terminal. Tais íons ativam mecanismos que envolvem a participação de proteínas da membrana vesicular (sinaptofisina, sinaptotagmina, sinaptobrevina) e plasmáticas (neurexinas, sintaxinas, SNAP-25) as quais, participarão do processo de fusão das vesículas da FIU com a membrana pré-sináptica. Tal processo determinará a liberação sincrônica de várias vesículas de ACh para a fenda sináptica (JAHN & SUDHOF, 1994).

Estudos eletrofisiológicos com preparações neuromusculares indiretamente estimuladas demonstram que estímulos elétricos induzem pequenos potenciais, de cerca de 10mV, na região da placa motora. Tais potenciais são denominados potenciais de placa terminal (ppt) (FATT & KATZ, 1952). Por outro lado, quando preparações neuromusculares são mantidas em repouso, microeletrodos colocados na região da placa registraram potenciais espontâneos de pequena magnitude (0,1 a 0,5mV), denominados potenciais em miniatura da placa terminal (pmpt) (FATT & KATZ, 1952).

Após ser liberada para a fenda sináptica, a ACh, antes de ser hidrolisada pela acetilcolinesterase (AChE) a acetato e colina, poderá interagir com sítios pré- e/ou pós- sinápticos. Ao interagir com os receptores nicotínicos pós-sinápticos a ACh determina alterações imediatas das condutâncias aos íons Na^+ / K^+ que, alcançando determinado nível, deflagra o ppt o qual, por sua vez, deflagrará o potencial de ação muscular e induzirá a contração (GALINDO, 1972). Quando o nervo é estimulado com frequências fisiológicas (30 a 80 Hz), o músculo normalmente responde com contrações bem sustentadas. Por outro lado, pode-se observar fadiga de transmissão (FT) quando as estimulações são efetuadas com frequências superiores a 100 Hz. A FT aparece como uma queda progressiva dos ppt quando os sinais são captados por registros eletrofisiológicos. Esta queda progressiva dos ppt corresponderia ao período durante o qual a mobilização de vesículas da FD seria insuficiente para repor a quantidade de ACh liberada da FIU (ELMQVIST & QUASTEL, 1965).

Além de interagir com os receptores pós-sinápticos, a ACh pode, interagindo com receptores localizados na membrana do TNM, regular sua própria liberação (BOWMAN, 1980).

Desenvolvimento

Receptores Pré-Sinápticos Colinérgicos

O termo "receptor pré-sináptico" refere-se a estruturas químicas bem definidas e localizadas nos terminais nervosos. Quando estimuladas pelo próprio neurotransmissor, cotransmissor, hormônios ou por autácóides, tais estruturas modulam a liberação do neurotransmissor (VAN DER KLOOT & MOLGÓ, 1994). Quando os receptores pré-sinápticos são estimulados pelo próprio neurotransmissor liberado do terminal, estaremos diante de um processo de autoregulação, por outro lado, quando tais receptores forem sensíveis a outros neurotransmissores, estaremos diante de um processo regulador conhecido como heteroregulação neuronal (BOWMAN *et al.*, 1990).

Receptores Pré-Sinápticos Nicotínicos

Os músculos esqueléticos são incapazes de sustentar estimulações elétricas tetanizantes e fisiológicas quando estão na presença de d- tubocurarina, ou outros bloqueadores nicotínicos, (BOWMAN, 1980; 1989). Alguns autores admitem que a fadiga tetânica seria determinada por um decaimento espontâneo da liberação da acetilcolina o qual, por sua vez, originar-se-ia de fatores de segurança da transmissão. Os fatores de segurança poderiam ser a liberação de ACh ou o número de receptores pós-sinápticos, em quantidades superiores às necessárias para a transmissão. Assim, sob este modelo, a fadiga tetânica decorreria da redução, por agentes colinolíticos nicotínicos, dos fatores de segurança. Tal modelo considera que FT e redução da tensão tetânica máxima teriam o mesmo mecanismo básico; o bloqueio dos receptores pós-juncionais (BOWMAN, 1980; BOWMAN *et al.*, 1988). Entretanto, verificou-se que a redução na resposta muscular é um efeito separado do fenômeno de fadiga. A redução da tensão tetânica máxima induzida por antagonista nicotínicos, ao contrário da fadiga tetânica, parece depender do bloqueio dos receptores nicotínicos pós-sinápticos. Dessa forma, existiriam dois eventos distintos ocorrendo durante a fadiga e a redução da tensão tetânica máxima (BOWMAN, 1980).

Estudos funcionais com bloqueadores neuromusculares (d-tubocurarina, hexametônio, pancurônio, vencurônio) indicam que tais agentes induzem fadiga tetânica por reduzirem a mobilização de ACh da FD para a FIU. Tal mecanismo determinaria uma redução da liberação de acetilcolina durante estimulações tetanizantes. Dessa forma, obteve-se evidências da presença de receptores colinérgicos nicotínicos estimulatórios no TNM. Tais receptores, ao serem acionados pelo neurotransmissor, aumentariam a liberação da ACh. Ao contrário, ocorreria fadiga tetânica quando estes receptores estivessem bloqueados por agentes curarizantes (BOWMAN, 1980, BOWMAN *et al.*, 1988 e 1990). O mesmo tipo de modelo é fortalecido quando os dados são obtidos a partir de estudos bioquímicos que quantificam a liberação de neurotransmissor marcado radioativamente (acetilcolina tritiada - $[^3H]$ -ACh) (BOWMAN *et al.*, 1990; WESSLER & KILBINGER, 1986; WESSLER, 1989; VIZI & SOMOGYI, 1988). Tais estudos demonstraram que antagonistas nicotínicos (tubocurarina, hexametônio e pancurônio) reduzem a liberação de $[^3H]$ -ACh enquanto agonistas, como DMPP (1,1-dimetil-4-fenilpiperazina) e nicotina, aumentam a liberação do neurotransmissor (WESSLER, 1989; VIZI & SOMOGYI, 1989). O efeito inibitório dos antagonistas dependeria de interações com os autoreceptores nicotínicos os quais, quando ativados, participariam de um mecanismo de *feedback* positivo (autofacilitação). A autofacilitação parece depender de uma quantidade mínima de ACh para ser iniciada. Isso foi verificado quando observou-se que somente estímulos com frequência entre 5 e 50 Hz seriam capazes de evidenciar o efeito inibitório da tubocurarina. Do mesmo modo, trabalhos efetuados com DMPP demonstram que tal agente provoca aumento da liberação de ACh quando frequências de 50 Hz são aplicadas ao nervo frênico (SINGH & PRIOR, 1998).

Os receptores nicotínicos pré- e pós- sinápticos da junção neuromuscular pertencem a famílias distintas por apresentarem afinidades diferentes a diferentes fármacos. Os

receptores nicotínicos pré- sinápticos são formados por cinco subunidades e pertencem à família de receptores ligados a canais iônicos regulados por ligante e proteínas (TAYLOR, 1996).

Os receptores nicotínicos pré- sinápticos podem ser desativados quando são expostos a altas concentrações de agonistas (DMPP e nicotina) ou a longos períodos (minutos) de estimulações (WESSLER, 1989). Adicionalmente, dados comparativos sobre a dessensibilização de receptores nicotínicos pré- e pós-sinápticos parecem diferir. Enquanto DMPP ou nicotina abolem a autofacilitação nicotínica com concentrações de 1-10 mM, concentrações maiores são necessárias para impedir a contração muscular. Isto sugere que os receptores nicotínicos pré-sinápticos são mais facilmente dessensibilizados que os pós-sinápticos (WESSLER, 1989).

Diante dos dados apresentados, há fortes evidências para a existência de um mecanismo fisiológico de controle da secreção de ACh. Ele envolveria os autoreceptores nicotínicos através de um mecanismo de *feedback* positivo. Por outro lado, muitos fisiologistas acreditam que os mecanismos desse tipo poderiam desencadear um ciclo vicioso que determinaria uma exacerbada liberação de ACh, com conseqüente super estimulação do órgão efector (WESSLER, 1989; BOWMAN *et al.*, 1988). Quando a transmissão é exigida ao extremo (estimulação tetânica), o neurotransmissor liberado ativa os receptores nicotínicos pré- sinápticos para facilitar sua mobilização e atender aos níveis de exigência da transmissão (BOWMAN *et al.*, 1988). Por outro lado, a dessensibilização e a interação da autofacilitação nicotínica com outros mecanismos pré- sinápticos (autoinibição muscarínica) serviriam como fatores de segurança que preveniriam os efeitos da exacerbção do mecanismo de *feedback* positivo (WESSLER, 1989).

Receptores Pré-Sinápticos Muscarínicos

Atualmente sabe-se que receptores muscarínicos pré-sinápticos estão também envolvidos com a modulação da liberação de ACh para a fenda sináptica. Em alguns casos, tais receptores parecem estar envolvidos com a redução da liberação de ACh (ABBS & JOSEPH, 1981), em outros, parecem determinar aumentos na liberação de neurotransmissor (GANGULY & DAS, 1979) e, controversamente, poderiam, até mesmo, produzir os dois efeitos (WESSLER *et al.*, 1987).

Um dos primeiros trabalhos a demonstrar a existência de um mecanismo de *feedback* negativo envolvendo receptores muscarínicos pré-sinápticos foi conduzido por ABBS & JOSEPH (1981). Os autores analisaram os efeitos da atropina e da oxotremorina em preparações nervo frênico-diafragma isolado de ratos. Eles verificaram que a atropina (10^{-5} M) aumentava a liberação de [3 H]- ACh enquanto agonistas muscarínicos, como a oxotremorina (10^{-5} M), não alteravam tal parâmetro. Por outro lado, eles observaram que a oxotremorina impedia o efeito facilitatório da atropina. Tais resultados experimentais contrapõem-se aos de GANGULY & DAS (1979) que observaram aumento e diminuição da liberação de ACh quando as preparações eram, respectivamente, tratadas com oxotremorina e atropina. Tais resultados sugeriam um mecanismo de *feedback* positivo envolvendo os receptores muscarínicos pré-sinápticos.

Posteriormente, demonstrou-se que a oxotremorina (1mM) inibia a liberação de [3 H]-ACh em preparações de nervo frênico diafragma isolado de ratos. Tal inibição mostrou-se reversível quando atropina ou escopolamina foram adicionadas às preparações. Também foi possível verificar que os antagonistas muscarínicos administrados isoladamente aumentavam a liberação evocada de [3 H]-ACh (VIZI & SOMOGYI, 1989; WESSLER, 1989). Favorável a estes resultados, surgiram estudos eletrofisiológicos que demonstraram que atropina, mas não d-tubocurarina, antagonizava os efeitos inibitórios do carbacol, oxotremorina e agentes anti-AChE sobre a frequência dos pmpmt em preparações neuromusculares de sapos (BOWMAN *et al.*, 1990). ALVES-DO-PRADO *et al.* (1987) também obtiveram resultados favoráveis a presença de sítios muscarínicos inibitórios no terminal nervoso motor, aos verificarem que a FT induzida pela administração intra-arterial de neostigmina era antagonizada por atropina em preparações nervo músculo tibial anterior de gatos.

Dessa forma, a coexistência de receptores muscarínicos facilitatórios e inibitórios presentes no TNM passou a receber maior atenção (WESSLER, 1989). O grupo de WESSLER afirmou que a autofacilitação e a autoinibição muscarínica poderiam ocorrer, dependendo das circunstâncias. O grupo analisou a liberação de [3 H]-ACh em preparações nervo frênico- diafragma isolado de rato e observou que, em baixas concentrações (10nM), a oxotremorina aumentava a liberação de neurotransmissor para, em concentrações maiores (10 μ M), reduzir a liberação do neurotransmissor. Estes efeitos eram antagonizados por hioscina que, isoladamente, aumentava a liberação de [3 H]-ACh quando o nervo era submetido a 100 pulsos de 5 Hz. Opostamente, o mesmo agente reduzia a liberação quando 1500 pulsos de 5 ou 25 Hz eram aplicados ao nervo frênico. Assim, dois mecanismos opostos envolveriam os receptores muscarínicos pré-sinápticos; um, inibitório, que seria ativado durante curtos períodos de estimulações e outro, estimulatório, que seria ativado durante longos períodos de estimulações (WESSLER *et al.*, 1987, 1999). A liberação de ACh produzida por curtos períodos de estimulações parece ser regulada por uma autofacilitação nicotínica acompanhada de uma autoinibição muscarínica. Neste modelo, a autoinibição muscarínica, acoplada à dessensibilização dos receptores nicotínicos, atuariam como elementos reguladores que evitariam a excessiva liberação de ACh. O mesmo modelo admite ainda que a autofacilitação muscarínica seria ativada durante longos períodos de estimulações para compensar a perda de autofacilitação nicotínica induzida pela dessensibilização (VIZI & SOMOGYI, 1989; WESSLER, 1989, 1996).

Há cinco subtipos de receptores muscarínicos descritos na literatura (M1, M2, M3, M4 e M5) (CAULFIELD, 1993). Tais receptores, inicialmente detectados por estudos farmacológicos, tem sido atualmente também evidenciados por técnicas moleculares (CAULFIELD, 1993). ALVES-DO-PRADO & PRADO (1993) analisaram os efeitos de antagonistas seletivos e verificaram que a atropina, pirenzepina (M1) e AFDX-116 (M2) produziam facilitação da transmissão neuromuscular. Tais agentes também eram capazes de antagonizar os efeitos da oxotremorina a qual, isoladamente, reduzia a amplitude das contrações musculares em preparações nervo frênico- diafragma isolado de rato. Considerando que AFDX-116 mostrou maior afinidade que a

pirenzepina e o 4-DAMP (M3) para os receptores muscarínico inibitórios do TNM, tais receptores foram classificados como pertencentes ao subtipo M2. Por outro lado, estudos bioquímicos sugerem que a autofacilitação mediada por receptores muscarínicos depende da interação da acetilcolina com receptores muscarínicos do subtipo M1 (WESSLER *et al.*, 1987). SLUTSKY *et al.* (1999); trabalhando com junção neuromuscular de sapos, verificaram que na presença de metoctramina (1mM), um agente antagonista M2 seletivo, a muscarina (10mM) induzia aumento na liberação de ACh, mas na presença do antagonista M1 seletivo, pirenzepina (10mM), havia redução da liberação de ACh. Tais resultados levaram à proposição de que os dois subtipos de receptores muscarínicos poderiam coexistir no terminal nervoso motor. Os do subtipo M2 participariam da autoinibição da liberação de ACh enquanto os M1, participariam da autofacilitação. Dessa forma, admite-se a coexistência de receptores muscarínicos M1 e M2 no TNM com funções opostas que dependeriam do estado funcional da AChE (MINIC *et al.*, 2002).

Considerações Finais

Vários trabalhos científicos compartilham a idéia de coexistência de sítios nicotínicos e muscarínicos no Terminal Nervoso Motor (TNM). Tais receptores teriam papéis fisiológicos importantes para garantir a transmissão neuromuscular. Assim, se considerarmos que tais receptores são sensíveis a vários grupos de drogas e que tais processos autoreguladores também existem em outras sinapses colinérgicas periféricas e centrais; negligenciá-los, durante uma terapia, seria apenas um ato de ignorância e não uma atitude segura. Alguns trabalhos admitem que as autoregulações neuronais facilitatórias e inibitórias poderiam ser mediadas, respectivamente, por receptores nicotínicos do subtipo neuronais e muscarínicos do subtipo M2 enquanto outros, controversamente, acrescentam que receptores M1 estimulatórios pré-sinápticos também participariam dos processos autoreguladores do TNM.

Referências

ABBS, E.T.; JOSEPH, D.N. The effects of atropine and oxotremorine on acetylcholine release in rat phrenic nerve-diaphragm preparations. *British Journal of Pharmacology*. 73: 481-483, 1981.

ALVES-DO-PRADO, W.; CORRADO, A.P.; PRADO, W.A. Reversal by atropine of tetanic fade induced in cats by antinicotinic and anticholinesterase agents. *Anesthesia & Analgesia*. 66(6):492-496, 1987.

ALVES-DO-PRADO, W.; PRADO, W.A. Neuromuscular facilitation induced by muscarinic antagonists in the rat isolated diaphragm. *General Pharmacology*. 24(6): 1501-1504, 1993.

BOWMAN, W.C. Prejunctional and postjunctional cholinergic receptors at the neuromuscular junction. *Anesthesia & Analgesia*. 59(12): 935-943, 1980.

BOWMAN, W.C. *et al.* Feedback control of transmitter release at the neuromuscular junction. *Trends in Pharmacological Sciences*. 9: 16-20, 1988.

BOWMAN, W.C. Presynaptic nicotinic autoreceptors. *Trends in Pharmacological Sciences*. 10:136-137, 1989.

BOWMAN, W.C.; PRIOR, C.; MARSHALL, I.G. Presynaptic receptors in the neuromuscular junction. *Annals of the New York*

Academy of Sciences. 604: 69-81, 1990.

CAULFIELD, M.P. Muscarinic receptors - characterization, coupling and function. *Pharmacology and Therapeutics*. 59(3): 319-379, 1993.

DE ROBERTIS, E.D.; BENNETT, H.S. Some features of the submicroscopic morphology of synapses in frog and earthworm. *Journal of Biophysics, Biochemistry and Cytology*. 1:47-58, 1955.

ELMQVIST, D.; QUASTEL, D.M.J. A quantitative study of endplate potentials in isolated human muscle. *Journal of Physiology*. 115: 320-370, 1965.

FATT, P.; KATZ, B. Spontaneous subthreshold activity at motor nerve endings. *Journal of Physiology*. 117: 109-128, 1952.

GALINDO, A. The role of prejunctional effects in myoneural transmission. *Anesthesiology*. 36(6): 598-608, 1972.

GANGULY, D.K.; DAS, M. Effects of oxotremorine demonstrate presynaptic muscarinic and dopaminergic receptors on motor nerve terminals. *Nature*. 278: 645-646, 1979.

HUBBARD, J.I. Repetitive stimulation at the mammalian neuromuscular junction and the mobilization of transmitter. *Journal of Physiology*. 169: 641-662, 1963.

JAHN, R.; SUDHOF, T.C. Synaptic vesicles and exocytosis. *Annual Review of Neuroscience*. 17: 219-246, 1994.

MAENO, T. Analysis of mobilization and demobilization processes in neuromuscular transmission in the frog. *Journal of Neurophysiology*. 32(5): 793-800, 1969.

MINIC, J. *et al.* Regulation of acetylcholine release by muscarinic receptors at the mouse neuromuscular junction depends on the activity of acetylcholinesterase. *Journal of Physiology*. 15(3): 439-448, 2002.

POTTER, L.T. Synthesis, storage and release of [¹⁴C]-acetylcholine in isolated rat diaphragm muscles. *Journal of Physiology*. 206: 145-166, 1970.

SINGH, S.; PRIOR, C. Prejunctional effects of the nicotinic ACh receptor agonist dimethylphenylpiperazinium at the rat neuromuscular junction. *Journal of Physiology*. 511(2): 451-460, 1998.

SLUTSKY, I.; PARNAS, H.; PARNAS, I. Presynaptic effects of muscarine on ACh release at the frog neuromuscular junction. *Journal of Physiology*. 514(3): 769-782, 1999.

TAYLOR, P. *Agentes que atuam na junção neuromuscular e nos gânglios autônomos*. In: GOODMAN, L. S.; GILMAN, A. *As bases farmacológicas da terapêutica*. 9 ed. México: McGraw-Hill Interamericana, 1996. p. 131-145.

THESLEFF, S. The physiology of neuromuscular transmission. *Bulletin der Schweizerischen Akademie der Medizinischen Wissenschaften*. 22(5):443-449, 1967.

VAN DER KLOOT, W.; MOLGÓ, J. Quantal acetylcholine release at the vertebrate neuromuscular junction. *Physiological Reviews*. 74(4): 899-991, 1994.

VIZI, E.S.; SOMOGYI, G.T. Presynaptic modulation of signal transmission at neuromuscular junction: the effect of d-tubocurarine. *Pharmacological Research Communications*. 20: 49-50, 1988.

VIZI, E.S.; SOMOGYI, G.T. Prejunctional modulation of acetylcholine release from the skeletal neuromuscular junction: link be-

tween positive (nicotinic)- and negative (muscarinic)- feedback modulation. *British Journal of Pharmacology*. 97: 65-70, 1989.

WESSLER, I.; KILBINGER, H. Release of [3H]-acetylcholine from a modified rat phrenic nerve hemidiaphragm preparation. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 334: 357-364, 1986.

WESSLER, I. *et al.* Muscarinic receptors on the rat phrenic nerve, evidence for positive and negative muscarinic feedback mechanisms. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 335: 605-612, 1987.

WESSLER, I. Control of transmitter release from the motor nerve by presynaptic nicotinic and muscarinic autoreceptors. *Trends in Phar-*

macological Sciences. 10: 110-114, 1989.

WESSLER, I. Acetylcholine release at motor endplates and autonomic neuroeffector junctions: a comparison. *Pharmacological Research*. 33(2): 81-94, 1996.

WESSLER, I.; KIRKPATRICK, C.J.; RACKÉ, K. The cholinergic 'pitfall': acetylcholine, a universal cell molecule in biological systems, including humans. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. 26: 198-205, 1999.

Recebido em: 21/06/02

Aceito em: 27/01/03