

GLÓRIA MARIA BRAGA POTÉRIO

"SOBRE O EMPREGO DA 4-AMINOPIRIDINA, 3.4-DIAMINOPIRIDINA E DA
NEOSTIGMINA COMO ANTAGONISTA DE CURARE - ESTUDO COMPARATIVO "

Orientador: Prof. Dr. OSWALDO VITAL BRAZIL

TESE DE DOUTORADO

Apresentada à

Faculdade de Ciências Médicas da

Universidade Estadual de Campinas

UNICAMP - Cursos de Pós-Graduação

1981

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

A única coisa que a gente deve cuidar
é de dar sempre um passo à frente,
um passo, por menor que seja.

" Steinbeck "

AGRADECIMENTOS

À todos que direta ou indiretamente colaboram na execução deste trabalho.

Em Especial:

- Ao Professor Doutor Oswaldo Vital Brazil, pelo constante incentivo e segura orientação.
- Ao Professor Aquiles Eugênio Piedrabuena, pela dedicação na orientação do planejamento estatístico.
- Ao Professor Doutor Álvaro G. B. Eugênio, aos Docentes e Residentes do Departamento de Anestesiologia, pela compreensão e colaboração.
- Aos componentes do Departamento de Farmacologia pela carinhosa acolhida.
- Ao Marcos Dias Fontana pela inestimável colaboração na fase experimental.
- Ao Gildo Bernardo Leite, técnico do Laboratório do Departamento de Farmacologia, pela incansável e eficiente colaboração.
- À Sra. Maria Alves de Paula Ravaschio, pela cuidadosa revisão das referências bibliográficas.
- Às Srtas, Odila M. Costa, Maria Otília Rodrigues e Sra. Madalena de Fátima G. Marques, pela datilografia e colaboração nas diferentes etapas deste trabalho.
- Ao Franklin e a Angélica por todo apoio recebido.
- Ao Roy E. Bruns pela eficiente colaboração.

Dedico

Aos meus pais.

Ao Potério e

aos meus filhos, Marisa, Cláudia, Eloisa
e Eduardo, que souberam entender minha
ausência, e com sua inocência e carinho
se tornaram o meu maior incentivo.

ÍNDICE

Página

RESUMO.....	84
SUMMARY	87
CAPÍTULO I	
Introdução	2
CAPÍTULO II	
Justificativas e Objetivos	12
CAPÍTULO III	
Material e Métodos	15
III-1. Experiências com preparações nervo frênico-diafragma de rato	15
III-1.1. Montagem da preparação	15
III-1.2. Estimulação	16
III-1.3. Drogas e Concentrações Empregadas	17
III-1.3.1. Preparações não curarizadas (Gru- po I).....	17
III-1.3.2. Preparações Curarizadas (Gru- po II).....	18
III-2. Experiências realizadas em cães	19
III-2.1. Técnica Anestésica	20
III-2.2. Preparação nervo ciático-poplíteo externo- músculo tibial anterior.....	21
III-2.3. Controle de parâmetros vitais	21
III-2.3.1. Pressão arterial média	21
III-2.3.2. Eletrocardiograma	21
III-2.4. Avaliação da função neuromuscular durante descurarização	22
III-2.5. Efeitos sobre o sistema nervoso central ..	22
III-3. Tratamento estatístico	23
CAPÍTULO IV	
Resultados	25
IV-1. Grupo I - Experiências com preparações nervo frênico diafragma de rato não curarizados	25

	Pagina
IV-1.1. Experiências com preparações não curarizadas e estimulação com pulsos de baixa frequência (0,1 Hz).....	25
IV-1.1.1. Estudo com a 4-aminopiridina.....	25
IV-1.1.1.1. 4-aminopiridina-1ug/ml	25
IV-1.1.1.2. 4-aminopiridina-5ug/ml	25
IV-1.1.1.3. 4-aminopiridina-25ug/ml	25
IV-1.1.2. Estudo com a 3.4-diaminopiridina..	26
IV-1.1.2.1. 3.4-diaminopiridina - 1 ug/ml.....	26
IV-1.1.2.2. 3.4-diaminopiridina - 5 ug/ml	27
IV-1.1.2.3. 3.4-diaminopiridina - 25 ug/ml.....	28
IV-1.1.3. Estudo com a neostigmina	28
IV-1.1.3.1. Neostigmina 0,02 ug/ml	28
IV-1.1.3.2. Neostigmina 0,1 ug/ml.	29
IV-1.1.3.3. Neostigmina 0,5 ug/ml.	29
IV-1.1.4. Estudo com a associação de 1 ug/ml de 4-aminopiridina com 0,02 ug/ml de neostigmina.....	30
IV-1.1.5. Estudo com a associação de 1 ug/ml de 4-aminopiridina com 0,1 ug/ml de neostigmina	30
IV-1.1.6. Estudo com a associação de 3.4-dia minopiridina 1 ug/ml com a neos tigmia 0,02 ug/ml	31
IV-1.1.7. Estudo com a associação de 1 ug/ml de 3.4-diaminopiridina com 0,1 ug / ml de neostigmina.....	31
IV-1.2. Experiências com preparações não curarizadas submetidas a estimulação de frequência eleva da.....	33
IV-1.2.1. Estudo com a 4-aminopiridina.....	33
IV-1.2.2. Estudo com a 3.4-diaminopiridina..	33
IV-1.2.3. Estudo com a neostigmina	34
IV-1.2.4. Estudo com a associação de 1 ug/ml de 4-aminopiridina com 0,02 ug/ml de neostigmina.....	35

	Página
IV-1.2.5. Estudo com a associação de 1 ug/ml de 4-aminopiridina com 0,1 ug/ml de neostigmina.....	35
IV-1.2.6. Estudo com a associação de 1 ug/ml de 3.4-diaminopiridina com 0,02ug/ml de neostigmina.....	36
IV-1.2.7. Estudo com a associação de 1 ug/ml de 3.4-diaminopiridina com 0,1 ug/ml de neostigmina.....	36
IV-1.3. Experiências com preparações curarizadas submetidas a estimulação de baixa frequência...	37
IV-1.3.1. Estudo com 4-aminopiridina	37
IV-1.3.2. Estudo com a 3.4-diaminopiridina..	37
IV-1.3.3. Estudo com a neostigmina	38
IV-1.4. Experiências com preparações curarizadas submetidas a estimulação de frequência elevada.	39
IV-1.4.1. Estudo com a 4-aminopiridina.....	39
IV-1.4.2. Estudo com a 3.4-diaminopiridina..	40
IV-1.4.3. Estudo com a neostigmina	41
IV-2. Experiências realizadas em cães	42
IV-2.1. Grupo A - 4-aminopiridina	42
IV-2.1.1. Pressão arterial e frequência cardíaca.....	42
IV-2.1.2. Junção neuromuscular	42
IV-2.2. Grupo B - 3.4-diaminopiridina	43
IV-2.2.1. Sub grupo 1 - 3.4-diaminopiridina 0,1 mg/Kg de peso.....	43
IV-2.2.1.1. Pressão arterial.....	43
IV-2.2.1.2. Frequência cardíaca...	44
IV-2.2.1.3. Junção neuromuscular..	44
IV-2.2.1.4. Efeitos sobre o sistema nervoso central....	45
IV-2.2.2. Sub grupo 2 - 3.4-diaminopiridina 0,2 mg/Kg de peso.....	45
IV-2.2.2.1. Pressão arterial.....	45
IV-2.2.2.2. Frequência cardíaca...	45
IV-2.2.2.3. Junção neuromuscular..	46

	Página
IV-2.2.2.4. Efeitos sobre o sistema nervoso central....	46
IV-2.3. Grupo C - Neostigmina	46
IV-2.3.1. Sub grupo 1 - neostigmina - 0,025 mg/Kg de peso	46
IV-2.3.1.1. Pressão arterial	46
IV-2.3.1.2. Frequência cardíaca...	47
IV-2.3.1.3. Junção neuromuscular..	47
IV-2.3.1.4. Efeitos sobre o sistema nervoso central....	48
IV-2.3.2. Sub grupo 2 - neostigmina 0,05 mg/Kg de peso.....	48
IV-2.3.2.1. Pressão arterial	48
IV-2.3.2.3. Junção neuromuscular..	48
IV-2.3.2.4. Efeitos sobre o sistema nervoso central e outros efeitos colaterais.....	49
IV-2.4. Grupo D - associação de 3.4-diaminopiridina 0,1 mg/Kg com neostigmina 0,025 mg/Kg de peso	49
IV-2.4.1. Pressão arterial.....	49
IV-2.4.2. Frequência cardíaca	50
IV-2.4.3. Junção neuromuscular	50
IV-2.4.4. Efeitos sobre o sistema nervoso central	51
CAPÍTULO V	
Discussão	53
V-1. Das experiências em preparações nervo frênico- diafragma de ratos.....	53
V-2. Das experiências realizadas em cães	63
V-2.1. Da técnica anestésica.....	63
V-2.2. Da avaliação do bloqueio neuromuscular	66
V-2.3. Pressão arterial	68
V-2.3.2. Frequência cardíaca.....	72
V-2.3.3. Junção neuromuscular	75
V-2.3.4. Sistema nervoso central	78
Tabela XXXIX	80

CAPÍTULO VI

Conclusões	82
------------------	----

CAPÍTULO IX

Referências Bibliográficas	90
----------------------------------	----

APÊNDICE - Tratamento estatístico

	100
Análise de variância - 4-aminopiridina	101
D.M.S. - 4-aminopiridina	102
Análise de variância - 3.4-diaminopiridina	103
D.M.S. - 3.4-diaminopiridina	104
Análise de variância - neostigmina	105
D.M.S. - Neostigmina	106
Análise de variância - 4-aminopiridina (1 ug/ml) + Neos-	
tigmina (0,02 ug/ml).....	107
D.M.S.- 4-aminopiridina (1ug/ml) + Neostigmina(0,02 ug/ml)	108
Análise de variância - 4-aminopiridina (1 ug/ml) + Neos-	
tigmina (0,1 ug/ml).....	109
D.M.S. - 4-aminopiridina (1 ug/ml) + Neostigmina(0,1 ug/ml)	110
Análise de variância- 3.4-diaminopiridina (1 ug/ml) + Neos	
tigmina (0,02 ug/ml)	111
D.M.S.- 3.4-diaminopiridina (1 ug/ml) + Neostigmina(0,02	
ug/ml)	112
Análise de variância - 3.4-diaminopiridina (1 ug/ml) +	
Neostigmina (0,1 ug/ml)	113
D.M.S. 3.4-diaminopiridina (1 ug/ml) + neostigmina(0,1ug/	
ml).....	114

Tabelas

Tabela I	115
Tabela II	116
Tabela III	117
Tabela IV	119
Tabela V	120
Tabela VI	121
Tabela VII	123
Tabela VIII	124
Tabela IX	125
Tabela X	127
Tabela XI	129
Tabela XII	131

	Página
Tabela XIII	133
Tabela XIV	135
Tabela XV	137
Tabela XVI	139
Tabela XVII	141
Tabela XVIII	143
Tabela XIX	145
Tabela XX	147
Tabela XXI	149
Tabela XXII	151
Tabela XXIII	153
Tabela XXIV	155
Tabela XXV	157
Tabela XXVI	159
Tabela XXVII	173
Tabela XXVIII.....	174
Tabela XXIX	176
Tabela XXX	177
Tabela XXXI	178
Tabela XXXII	179
Tabela XXXIII	181
Tabela XXXIV	182
Tabela XXXV	183
Tabela XXXVI	184
Tabela XXXVII	186
Tabela XXXVIII	187
Tabela XXXIX	80

Figuras

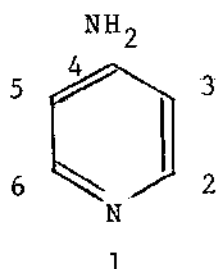
Figura 1	118
Figura 2	122
Figura 3	126
Figura 4	128
Figura 5	130
Figura 6	132
Figura 7	134
Figura 8	136
Figura 9	138
Figura 10	140

	Página
Figura 11	142
Figura 12	144
Figura 13	146
Figura 14	148
Figura 15	150
Figura 16	152
Figura 17	154
Figura 18	156
Figura 19	158
Figura 20	160
Figura 21	161
Figura 22	162
Figura 23	163
Figura 24	164
Figura 25	165
Figura 26	166
Figura 27	167
Figura 28	168
Figura 29	169
Figura 30	170
Figura 31	171
Figura 32	172
Figura 33	175
Figura 34	180
Figura 35	185
Figura 36	188

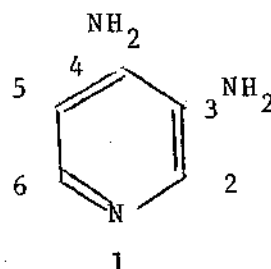
I - I N T R O D U Ç Ã O

I - INTRODUÇÃO

As monoaminopiridinas e diaminopiridinas são substâncias pertencentes ao grupo das piridinas. Entre elas, as mais estudadas por serem as mais potentes de cada grupo, são respectivamente a 4-aminopiridina e a 3,4-diaminopiridina que apresentam as seguintes fórmulas estruturais:



4 - aminopiridina



3,4-diaminopiridina

São facilmente solúveis em água formando soluções que não perdem sua atividade biológica na temperatura ambiente.

Estas substâncias são altamente lipossolúveis e por isso atravessam barreiras biológicas com facilidade, podendo produzir estimulação do sistema nervoso central. (FASTIER & McDOWALL, 1958; VOHRA & PRADHAN, 1964; STOYANOV & cols, 1976). Atuam também nas sinapses periféricas colinérgicas e adrenérgicas (FASTIER & McDOWALL, 1958; VOHRA & PRADHAN, 1964; VOHRA e cols, 1965; JOHNS e cols, 1976). A ação é muito acentuada na sinapse colinérgica da junção neuromuscular, onde produzem grande aumento dos quanta de acetilcolina liberados por impulso nervoso (MOLGÓ e col, 1977; DURANT & MARSHALL, 1978; JACOBS & BURLEY, 1978; AGOSTON, 1981).

A ação das aminopiridinas, de facilitação na junção neuromuscular foi inicialmente relatada por FASTIER & McDOWALL em 1958. Utilizando a preparação nervo frênico-diafragma de rato, estes autores, observaram que tanto a 2-aminopiridina co

mo a 4-aminopiridina quando em concentrações 0,05 M produziam aumento nas repostas do músculo aos estímulos isolados que variava entre 50 e 250 por cento.

Em 1967, LEMEIGNAN & LECHAT observaram que em gatos a 4-aminopiridina era capaz de antagonizar o bloqueio neuromuscular, por competição, produzido por drogas como a galamina e a d-tubocurarina e que por outro lado não era capaz de antagonizar o bloqueio neuromuscular, por despolarização, produzido por drogas como a succinilcolina. Verificaram também que a ação de facilitação na junção neuromuscular da 4-aminopiridina não poderia ser atribuída a uma ação anticolinesterásica ou acetilcolinomimética nem a uma ação direta sobre a fibra muscular.

Dando continuidade aos trabalhos de LEMEIGNAN & LECHAT, SOBEK e cols, (1968) verificaram que, em preparações isoladas, além de antagonizar o bloqueio por competição como havia sido descrito no animal íntegro, a 4-aminopiridina bem como a 2-aminopiridina eram também capazes de antagonizar o bloqueio produzido por drogas, que interferem com a condutância ao ion cálcio como o cloreto de magnésio e a neomicina. Mais recentemente, a 4-aminopiridina, foi utilizada para antagonizar o bloqueio produzido por outros antibióticos como a linkomicina (BOOIJ e cols, 1978) e a polimixina B (LEE e cols, 1978) enquanto a 3.4-diaminopiridina foi empregada para antagonizar, in vitro, a inibição da transmissão neuromuscular produzida pela amikacina (SINGH e cols, 1978) e também pela kanamicina (MOLGÓ e cols, 1979). Estes antibióticos aminoglicosídeos e polipeptídeos atuam ao nível da junção neuromuscular, alterando a condutância

ao cálcio e produzindo uma diminuição na liberação do neurotransmissor (VITAL BRAZIL & CORRADO, 1957; VITAL BRAZIL & PRADO FRANCESCHI, 1969; BURKETT e cols, 1979). Em razão de atuarem ao nível pré-sináptico restaurando a liberação de acetilcolina e não apresentarem nenhum efeito inibidor da atividade antibacteriana dos antibióticos, as amino e diaminopiridinas estão indicadas como antagonistas, não somente da inibição produzida pelos antibióticos, mas também daquela causada pela interação antibiótico-relaxantes musculares competitivos (BURKETT e cols, 1979; BOOIJ e cols, 1980).

A 4-aminopiridina é capaz de antagonizar em ratos, "in vivo" e "in vitro" o bloqueio produzido pela toxina botulínica. Esta toxina atua nas terminações nervosas motoras promovendo diminuição da sensibilidade aos ions cálcio no processo de liberação do neurotransmissor (LUNDH e cols, 1977). Também a 4-aminopiridina antagoniza o bloqueio causado pela crotoxina, a principal toxina da cascavel sulamericana (VITAL BRAZIL e cols, 1977).

Em relação ao bloqueio neuromuscular produzido pela ação conjunta de anestésicos locais e relaxantes competitivos, a 4-aminopiridina se mostrou capaz de antagonizar, in vitro, o bloqueio causado por concentrações de relaxantes musculares e anestésicos locais de magnitudes que podem ser encontradas em situações clínicas. Os estudos experimentais têm se mostrado tão promissores que indicam a 4-aminopiridina como a droga de escolha para antagonizar este tipo de bloqueio (MATSUO e cols, 1980).

Os efeitos da 4-aminopiridina na junção neuromuscular

decorrem de atividade pré-sináptica como SOBEK e colaboradores mostraram em 1968, os quais também enfatizaram a necessidade das terminações nervosas estarem íntegras para que estas drogas possam atuar. A ação pré-sináptica das aminopiridinas foi confirmada pelos trabalhos de MOLGÓ e cols (1977) e de LUNDH (1978), uma vez que, nas doses estudadas, a 4-aminopiridina não produziu nenhum efeito pós-sináptico ou seja, não alterou quer a amplitude, quer a duração dos potenciais de placa terminal em miniatura. As aminopiridinas provocam grande aumento dos quanta de acetilcolina liberados por impulso nervoso (MOLGÓ e cols, 1977; DURANT & MARSHALL, 1978; JACOBS & BURLEY, 1978), sendo esse aumento resultado de duas ações distintas na membrana das terminações nervosas: inibição dos canais de potássio (PELHATE & PICHON, 1974; YEH e cols, 1976), o que produz aumento na duração do potencial de ação (YEH e cols, 1976; ULBRITCH & WAGNER, 1976; SCHAUF e cols, 1976) e maior influxo de ions cálcio para as terminações nervosas motoras durante a despolarização da membrana do que aquele que ocorre normalmente (HARVEY & MARSHALL, 1977; ILLES & THESLEFF, 1978; LUNDH, 1978). A liberação do neurotransmissor depende do influxo de ions cálcio, sendo necessária a ação cooperativa de alguns destes ions para a liberação de um quantum de acetilcolina (DODGE & RAHAMINOFF, 1967; HUBBARD e cols, 1968). As aminopiridinas por atuarem aumentando o influxo de cálcio para as terminações nervosas, determinam em consequência, maior liberação do neurotransmissor pelo impulso nervoso (BOWMAN e cols, 1977; HARVEY & MARSHALL, 1977; LUNDH & THESLEFF, 1977; MOLGÓ e cols 1977). Há evidência de que o aumento da concentração de cálcio na terminação nervosa produzido pelas ami-

nopiridinas possa também ser ocasionado por uma ação intracelular de facilitação na liberação do cálcio dos seus sítios de ligação na membrana (LUNDH e cols, 1977; HARVEY & MARSHALL, 1977). No entanto, a explicação mais lógica é a de que este aumento ocorra em consequência do aumento na duração da despolarização da terminação nervosa (HARVEY & MARSHALL, 1977) e da maior eficácia no transporte de ions cálcio através da membrana durante a despolarização (ILLES & THESLEFF, 1978).

As aminopiridinas também aumentam a duração do potencial de ação do músculo (LUNDH e cols, 1977), prolongando consequentemente a despolarização dos túbulos transversos. Este efeito facilita a liberação do cálcio das cisternas terminais o que explica a capacidade das aminopiridinas de antagonizarem o bloqueio produzido por drogas como a dantrolene (- HARVEY & MARSHALL, 1977).

As diaminopiridinas atuam ao nível da junção neuromuscular de maneira semelhante às aminopiridinas, isto é, aumentando a liberação de acetilcolina por impulso nervoso (- HARVEY & MARSHALL, 1977; DURANT & MARSHALL, 1978; MOLGÓ e cols, 1980). Como as aminopiridinas, elas aumentam as respostas do músculo quando estimulado indiretamente, bem como, reverterem o bloqueio neuromuscular por competição (VOHRA & PRADHAN, 1964; HARVEY & MARSHALL, 1977). Entre as diaminopiridinas, a 3.4-diaminopiridina se mostrou a mais potente em relação aos efeitos na junção neuromuscular (HARVEY & MARSHALL, 1977). É cerca de 6 vezes mais potente do que a 4-aminopiridina quanto ao aumento na liberação da acetilcolina por impulso nervoso e no antagonismo do bloqueio produzido pela toxina botulínica em preparações isoladas (MOLGÓ e cols, 1980). A 3.4-diaminopiri-

dina também é mais potente do que a 4-aminopiridina no que diz respeito a inibição dos canais de potássio apresentando maior afinidade pelos canais em questão. Em concentração de 20 μ M a 3.4-diaminopiridina determina o mesmo grau de bloqueio produzido pela 4-aminopiridina em concentração de 1 mM (KIRSCH & NARASHI, 1978).

Ao lado destas ações periféricas as amino e diaminopiridinas ainda atuam ao nível do sistema nervoso central como substâncias estimulantes, podendo produzir hiperexcitabilidade, salivação, tremores, incoordenação motora, parada respiratória e cardíaca (FASTIER & McDOWALL, 1958; VOHRA & PRADHAN, 1964; VOHRA e cols, 1965; PASKOV e cols, 1973; HARVEY & MARSHALL, 1977). A toxicidade dessas substâncias é consequência de suas ações sobre o sistema nervoso central, e, é variável com a espécie animal. Nos cães a DL_{50} da 4-aminopiridina por via oral é de 3,7 mg/Kg de peso podendo ser considerada relativamente baixa (VOHRA e cols, 1965; SCHAFER e cols, 1973). A 3.4-diaminopiridina apresenta menor toxicidade em ratos quando comparada com a 4-aminopiridina, uma vez que a 3.4-diaminopiridina em dose igual a DL_{50} da 4-aminopiridina não é letal para esta espécie animal (HARVEY & MARSHALL, 1977). Entretanto a ação no sistema nervoso central não impede o uso das aminopiridinas no homem mesmo na ausência de anestésias. Ensaio clínico mostraram que a 4-aminopiridina pode ser usada com proveito em pacientes portadores de síndrome miastênica (LUNDH e cols, 1977) e em pacientes de miastenia grave (LUNDH e cols, 1979), ocasionando melhora na transmissão neuromuscular e, em consequência, da força muscular. A 4-aminopiridina ainda não está sendo produzida para o uso no homem durante anestésias nos países ocidentais, mas nos soviéticos esta droga tem sido

empregada na clínica desde 1973, sem que tenham sido relatados efeitos indesejáveis devidos às ações no sistema nervoso central ou autonômicos como os produzidos pela neostigmina (-PASKOV e cols, 1973; STOYANOV e cols, 1976).

A neostigmina é a droga classicamente utilizada pelos anesthesiologistas para reverter a curarização após o emprego dos relaxantes neuromusculares competitivos. Ao contrário das amino e diaminopiridinas que não apresentam nenhuma atividade anticolinesterásica (SOBEK e cols, 1968; BOWMAN e cols, 1977; HARVEY e MARSHALL, 1977; HORN e cols, 1979) a neostigmina atua produzindo inibição da acetilcolinesterase e, em decorrência, propiciando maior concentração da acetilcolina nas placas terminais após cada impulso nervoso.

O acúmulo da acetilcolina produzido pela neostigmina nas sinapses do sistema nervoso parassimpático, foi, no passado, responsável por vários acidentes com óbito durante anestésias mesmo em casos onde a neostigmina foi associada com a atropina (CLUTTON-BROCK, 1949; HILL, 1949; MACINTOSH, 1949; LAWSON 1956; POOLER, 1957). Para evitar esse tipo de acidentes, alguns cuidados foram recomendados, entre eles: hiperventilação, interrupção da administração de agentes inalatórios antes da descurarização, determinação do grau de bloqueio ou aguardar reinício da respiração espontânea; administração lenta e simultânea com a atropina (ROSNER e cols, 1971). Durante algum tempo houve discrepância de opiniões quanto à dose e ao tempo de administração desses agentes. Em 1971, ROSNER e cols, recomendaram o uso de 20 ug/Kg de peso de neostigmina associado com atropina na dose de 6 ug/kg de peso em injeção venosa única que durava 60 segundos, uma vez que a atropina usada

2 minutos antes da administração da neostigmina causava aparecimento de taquicardia nos pacientes por eles estudados. A ocorrência de taquicardia produzida pela associação de atropina-neostigmina já havia sido relatada por SALEM e cols (1970) em pacientes portadores de cardiopatia congênita. Estes autores utilizaram injeção de uma mistura de atropina (0,02mg/Kg de peso) e neostigmina (0,05 mg/Kg de peso) e observaram a ocorrência de taquicardia de intensidade inversamente proporcional, aos valores da frequência cardíaca antes da injeção. Por outro lado, em pacientes portadores de moléstias cardiovasculares que apresentam bradicardia é recomendável que se faça a injeção de atropina, alguns minutos antes da injeção de neostigmina (WYLIE & CHURCHILL-DAVIDSON, 1974). Embora haja evidências de que a injeção de misturas de atropina com a neostigmina é tão segura quanto à injeção das drogas em separado, alguns autores preferem este último modo de proceder, uma vez que esta técnica permite melhor controle da frequência cardíaca e evita sobredosagem do anticolinesterásico (KATZ, 1974; SAVARESE & KITZ, 1975).

Para KATZ, (1974) em dose única de 2,5 mg a neostigmina é capaz de antagonizar o bloqueio neuromuscular em 95% dos pacientes e esta dose deve sempre ser precedida segundo esse anestesista da injeção de 1 mg de atropina. Para SAVARESE & KITZ (1975) a dose usual seria 0,05 mg/Kg de peso precedida de 0,02 mg/Kg de peso de atropina. Como o início da ação da atropina se faz mais prontamente do que a da neostigmina, pode ocorrer taquicardia antes do aparecimento de bradicardia, mesmo quando as duas drogas forem injetadas simultaneamente (SALEM e col, 1970; ROSNER e cols, 1971).

A administração de atropina e neostigmina expõe os pacientes aos efeitos cardíacos das duas drogas, o que pode ser potencialmente perigoso, principalmente nos cardiopatas. (WYLIE & CHURCHILL-DAVIDSON, 1977; OWENS e cols, 1978).

II - J U S T I F I C A T I V A S E O B J E T I V O S

II - JUSTIFICATIVAS E OBJETIVOS

Desde a introdução do uso do curare em anestesia , muitas pesquisas têm sido desenvolvidas no sentido de se obterem novos tipos de relaxantes musculares competitivos que apresentem vantagens como por exemplo, menor incidência de ações sobre o sistema nervoso autônomo e liberação de histamina. Assim é que alguns relaxantes musculares, já foram substituídos por outros e o número destas drogas em disponibilidade para uso clínico, é sempre crescente. No entanto, o número de drogas antagonistas de curare é restrito, e a descurarização vem sendo obtida com as drogas anticolinesterásicos, a neostigmina ou a piridostigmina de acordo com a preferência pessoal sem que haja nenhuma vantagem no uso de uma dessas duas drogas sobre a outra. O uso dos anticolinesterásicos, como já foi exposto na introdução, apresenta algumas desvantagens e entre elas figura o fato de serem drogas potencialmente perigosas, quando aplicadas a pacientes portadores de moléstias cardiovasculares, uma vez que podem ocasionar bradicardia e/ou arritmias cardíacas. Por outro lado a associação dos anticolinesterásicos com a atropina pode ocasionar o aparecimento de taquicardia, o que é indesejável em algumas circunstâncias. Soma-se a estes, o fato das anticolinesterásicos não antagonizarem eficazmente o bloqueio neuromuscular produzido por alguns antibióticos ou pela associação dos relaxantes musculares com os antibióticos ou com os anestésicos locais. Justifica-se portanto, a procura de uma nova técnica de descurarização, utilizando-se a 4-aminopiridina ou a 3,4-diaminopiridina que se mostraram eficientes na reversão daque-

les tipos de bloqueio neuromusculares que não são bem antagonizados pelas drogas anticolinesterásicas.

Um dos objetivos da presente pesquisa é a de contribuir para esclarecer se há vantagens reais no emprego da 4-aminopiridina ou da 3.4-diaminopiridina como substitutos da neostigmina como anticurare. Considerando que as aminopiridinas atuam de uma maneira diferente das drogas anticolinesterásicas visamos também, verificar se há vantagens no uso da associação das aminopiridinas com a neostigmina quanto à capacidade de antagonizar o bloqueio competitivo e quanto à ausência de efeitos indesejáveis das duas drogas.

No presente trabalho procuramos esclarecer:

1 - os efeitos da 4-aminopiridina, 3.4-diaminopiridina e da neostigmina sobre a contração muscular em preparações isoladas, não curarizadas e curarizadas, submetidas à estimulação indireta com pulsos de baixa frequência e de frequências elevadas;

2 - os efeitos da associação da 4-aminopiridina e da 3.4-diaminopiridina com a neostigmina sobre a contração muscular em preparações isoladas, não curarizadas e curarizadas, submetidas à estimulação com pulsos de baixa frequência e de frequências elevadas;

3 - a eficiência da 4-aminopiridina, da 3.4-diaminopiridina, da neostigmina e das associações dessas drogas como antagonísticos de curare em cães anestesiados;

4 - os efeitos da 4-aminopiridina, da 3.4-diaminopiridina, da neostigmina e das associações das drogas sobre: frequência e ritmo cardíacos, a pressão arterial e o sistema nervoso central, em cães anestesiados.

III - MATERIAL E MÉTODOS

III - MATERIAL E MÉTODOS

O estudo comparativo da ação na junção neuromuscular da 4-aminopiridina, 3.4-diaminopiridina, da neostigmina e ainda da associação das drogas foi efetuado em preparações nervo frênico-diafragma de rato, não curarizadas (grupo I) e em preparações curarizadas (grupo II).

O estudo dos efeitos colaterais das diferentes drogas foi realizado em cães nos quais, foi também pesquisado o antagonismo entre o curare (pancurônio) e as diferentes drogas utilizando-se o registro das contrações do músculo tibial anterior produzidas pela estimulação elétrica do seu nervo motor.

III - 1. EXPERIÊNCIAS COM PREPARAÇÕES NERVO FRÊNICO-DIAFRAGMA DE RATO

III - 1.1 - Montagem da Preparação

Foram utilizados ratos de peso variando entre 200 e 250 g. que foram sacrificados sob anestesia com hidrato de cloral (240 mg/Kg) por via intra peritoneal.

A retirada do hemidiafragma esquerdo com o nervo frênico foi realizada segundo o método proposto por BÜLBRING (1946).

O músculo foi então colocado numa cuba contendo solução de TYRODE (Na Cl mM 137; KCl mM 2,7; Ca Cl₂ mM 1,8; Na HCO₃ mM 11,9; Mg Cl₂ mM 0,25; Na H₂ PO₄ mM 0,3 e glicose mM 11,0).

A oxigenação foi obtida por borbulhamento contínuo de carbogênio (95% oxigênio, 5% gás carbônico). A temperatura do banho foi mantida em 37° C.

O nervo foi colocado sobre eletrodos de platina ligados a um estimulador GRASS modelo S.4.

O diafragma estava mantido por sua porção tendinosa sob uma tensão constante (6 g) através de um fio ligado a um transdutor miográfico LINEAR CORE E & M F.50 que estava acoplado a um fisiógrafo E & M modelo P.M.P.- 4A. para registro das tensões produzidas pelas contrações do diafragma.

Em cada registro das experiências do grupo I as respostas do diafragma foram medidas nos seguintes tempos:

a) antes da adição de qualquer droga e após pelo menos , 20 minutos do início da estimulação; (T_1).

b) 5, (T_5); 10, (T_{10}) e 20, (T_{20}) minutos após a adição da droga em estudo.

Nos registros das experiências com preparações curarizadas (grupo II) as medidas foram tomadas nos seguintes tempos:

a) antes da adição de d-tubocurarina e, pelo menos, 20 minutos após o início da estimulação de baixa frequência (T_0),

b) no momento da adição da droga anticurare (T_1) ,

c) 5 (T_5); 10 (T_{10}) e 20 (T_{20}) minutos após a adição da droga em estudo.

III - 1.2 . Estimulação

Os estímulos aplicados no nervo foram supramaximais (2-4 volts) com a duração de 0,2 mseg e frequência de 0,1 Hz (preparações submetidas à estimulação de baixa frequência dos grupos I e II).

Noutra série de preparações foram aplicados estímulos de frequências mais elevadas. Nas preparações não curari-

zadas (grupo I) a freqüência utilizada foi de 50 Hz enquanto nas preparações crurarizadas (grupo II), após a adição de uma droga anticurare e de um período de estimulação de baixa freqüência (0,1 Hz), foram aplicados estímulos de freqüências variáveis por períodos de 3 segundos observando-se a seguinte ordem: 2,5; 5; 10; 15; 20... 50 Hz (guardando-se um intervalo de 3 minutos entre cada série de estímulos) até que aparecesse o bloqueio neuromuscular. Nestas preparações foi aplicada nova série de estímulos após a adição de uma segunda droga anticurare.

III - 1.3 . Drogas e Concentrações Empregadas

De cada droga foram utilizadas: uma concentração que produzisse o maior aumento da tensão das contrações do diafragma, uma cujo efeito fosse o menor possível e outra de efeito intermediário.

III - 1.3.1 . Preparações não Curarizadas (Grupo I)

O número de experiências para cada concentração testada foi de doze; sendo 6 experiências com o músculo submetido à estimulação de baixa freqüência (0,1 Hz) e 6 experiências com estimulação de freqüência elevada (50 Hz).

Neste grupo, de acordo com a droga utilizada, as experiências foram distribuídas nos seguintes sub grupos:

Sub grupo: A - 4-aminopiridina nas concentrações de 1; 5 e 25 ug/ml;

B - 3.4-diaminopiridina nas concentrações de 1; 5 e 25 ug/ml;

- C - neostigmina nas concentrações de 0,02; 0,1 e 0,5 ug/ml,
- D - associação de 1 ug/ml de 4-aminopiridina com 0,02ug/ml de neostigmina,
- E - associação de 1 ug/ml de 4-aminopiridina com 0,1 ug/ml de neostigmina,
- F - associação de 1 ug/ml de 3.4-diaminopiridina com 0,02 ug/ml de neostigmina,
- G - associação de 1 ug/ml de 3.4-diaminopiridina com 0,1 ug/ml de neostigmina.

III - 1.3.2 . Preparações Curarizadas (Grupo II)

Em cada experiência o bloqueio neuromuscular foi produzido pela d-tubocurarina 2 ug/ml.

A adição de uma primeira droga anticurare foi feita quando a amplitude das respostas do músculo a estímulos de baixa frequência (0,1 Hz) atingia 20% da amplitude inicial.

A reversão do bloqueio foi avaliada pela medida nos registros, da amplitude das respostas do músculo aos 5, 10 e 20 minutos após a adição da droga anticurare.

Após 20 minutos da adição foi feita estimulação com frequências mais elevadas. Essas frequências, foram aumentadas progressivamente até que reaparecesse o bloqueio neuromuscular.

Foi então adicionada ao banho uma segunda droga anticurare e 5 minutos após foi iniciada nova série de estímulos com frequências mais elevadas nos moldes já descritos.

As experiências foram distribuídas nos seguintes subgrupos de acordo com a droga usada inicialmente como anticu-

rare:

Sub grupo A - 4-aminopiridina nas concentrações - 1; 5 e 25 ug/ml;

B - 3.4-diaminopiridina nas concentrações de 1; 5 e 25 ug/ml;

C - neostigmina nas concentrações de 0,1 e 0,5 ug/ml.

A adição de uma segunda droga anticurare obedeceu ao seguinte esquema:

Sub grupo A - neostigmina 0,1 ug/ml;

B - neostigmina 0,1 ug/ml;

C - 4-aminopiridina 1 ug/ml ou 5 ug/ml e 3.4-diaminopiridina 1 ug/ml ou 5 ug/ml.

Para cada associação foram realizadas 4 experiências.

III - 2 . EXPERIÊNCIAS REALIZADAS EM CÃES

Foram utilizados cães de 7,0 a 10,0 Kg de peso, de ambos os sexos, sem nenhuma restrição quanto à raça, estado nutricional ou idade.

Os animais foram distribuídos de acordo com a droga administrada como antagonista de curare nos seguintes grupos e sub grupos:

Grupo A - 4-aminopiridina - em doses variáveis entre 0,5 mg/Kg e 0,05 mg/Kg de peso (0,5 mg/Kg; 0,25mg/Kg; 0,1 mg/Kg; 0,05 mg/kg de peso);

B - Sub_grupo_1 - 3.4-diaminopiridina na dose de 0,1 mg/Kg de peso;

Sub_grupo_2 - 3.4-diaminopiridina na dose de 0,2 mg/Kg de peso;

Grupo C - Sub_grupo 1 - neostigmina na dose de 0,025 mg/kg de peso;

Sub_grupo 2 - neostigmina na dose de 0,05 mg/Kg de peso;

D - Associação de 3.4-diaminopiridina 0,1 mg/Kg de peso com a neostigmina 0,025 mg/Kg de peso.

Foram realizadas 6 experiências para cada dose da 3.4-diaminopiridina, da neostigmina e da associação de 3.4-diaminopiridina com a neostigmina.

Com a 4-aminopiridina foi estudado maior número de doses na tentativa de se conseguir uma que não produzisse convulsão nos cães. Para cada dose foi realizada uma ou duas experiências.

III - 2.1 . Técnica Anestésica

Os cães foram anestesiados com tiopental 2,5% por via venosa (8 a 10 mg/Kg de peso) até perda do reflexo palpebral . A seguir foi feita dissecação da veia femural para administração das drogas.

Foi realizada traqueostomia para possibilitar o uso da ventilação controlada mecânica que foi mantida utilizando-se um respirador TAKAOKA modelo 600, regulado para manter um volume corrente de 15 ml/Kg de peso e frequência respiratória de 20 movimentos por minuto.

A mistura inalada foi sempre oxigênio com halotano em concentrações entre 1,5 e 2%. O halotano foi vaporizado em um vaporizador - OFTEC modelo 26. Interrompeu-se a administração antes do uso da droga anticurare.

O bloqueio neuromuscular foi obtido com 0,04 mg/Kg de peso de pancurônio.

III - 2.2 . Preparação Nervo Ciático-Poplíteo Externo-Músculo Tibial Anterior

Após dissecação e secção do tendão do músculo tibial anterior e do nervo ciático poplíteo externo foi realizada a trepanação da tibia para fixação do membro ao miógrafo. O tendão do músculo foi conectado à alavanca inscritora de um miógrafo isométrico de Brown-Schuster. Fez-se o registro das contrações no papel esfumado em quimógrafo PALMER.

A estimulação do coto distal do nervo ciático-poplíteo externo foi feita através de um estimulador GRASS modelo S.4. Utilizaram-se estímulos supra-maximais de 0,2 msec de duração e frequência de 0,5 Hz.

III - 2.3 . Controle de Parâmetros Vitais

III - 2.3.1 . Pressão Arterial Média

Após dissecação a artéria carótida foi canulizada com sonda de polietileno ligada a transdutor E & M 1000A para medida da pressão arterial média.

O registro contínuo da pressão arterial foi obtido em um fisiógrafo E & M modelo P.M.P. 4A.

III - 2.3.2 . Eletrocardiograma

Foi realizado registro contínuo da derivação D II. Em cada registro foi medida a frequência cardíaca e verificada

a presença ou não de alterações do ritmo cardíaco nos seguintes tempos:

- a) antes do início da administração do halotano;
- b) antes da administração do pancurônio;
- c) antes da administração da droga anticurare;
- d) 15, 30 e 40 minutos após a administração da droga anticurare.

III - 2.4 . Avaliação da Função Neuromuscular Durante Descurarização

A injeção da droga anticurare foi feita na ausência de respostas a estímulos de baixa frequência e quando havia aparecimento de facilitação pós-tetânica (após estimulação com 50 Hz durante 3 segundos do nervo ciático poplíteo externo).

A avaliação da função neuromuscular durante a descurarização foi realizada verificando-se os seguintes parâmetros:

- a) reinício das respostas aos estímulos isolados;
- b) amplitude das respostas aos estímulos isolados após 10 minutos da administração da droga anticurare;
- c) capacidade de manter o tétano 10 e 20 minutos após administração da droga anticurare;
- d) presença ou não de facilitação pós-tetânica após estimulação com 50 Hz.

III - 2.5 . Efeitos Sobre o Sistema Nervoso Central

Em todas as experiências foram anotados sinais de

estimulação do sistema nervoso central como abalos musculares e convulsões.

III - 3 . TRATAMENTO ESTATÍSTICO

A avaliação da significância real das diferenças dos resultados obtidos para cada parâmetro em cada grupo foi efetuada com auxílio, de provas estatísticas.

Foram escolhidos: a hipótese de nulidade de diferenças e o nível de significância de 5% para tomadas de decisões.

Os valores obtidos para os diferentes parâmetros foram comparados utilizando-se o método de análise de variância.

- Para análise dos resultados das experiências realizadas com diafragma de rato foi escolhido um modelo para experimentos com parcelas subdivididas (Split plot).

- Para análise dos resultados de cada parâmetro estudado nas experiências realizadas com cães foi escolhido um modelo com 5 tratamentos e 5 repetições (PIMENTEL GOMES, 1963).

- A hipótese de nulidade foi aceita sempre que o resultado estatístico obtido foi menor do que o valor crítico da tabela correspondente para os graus de liberdade e nível de significância adotados.

Quando a hipótese de nulidade foi rejeitada, foi aplicado o teste de Tukey.

IV - R E S U L T A D O S

IV - RESULTADOS

IV - 1. GRUPO I - EXPERIÊNCIAS COM PREPARAÇÕES NERVO FRÊNICO DIAFRAGMA DE RATO NÃO CURARIZADOSIV - 1.1 . Experiências com Preparações não Curarizadas e Estimulação com Pulsos de Baixa Frequência (0,1 Hz)IV - 1.1.1 . Estudo com a 4-aminopiridinaIV - 1.1.1.1 . 4-aminopiridina -1 ug/ml

Com esta concentração o aumento das respostas se instalou lenta e progressivamente; em algumas experiências o aumento máximo foi verificado após os 20 minutos de observação (0919, 0932). Os valores das medidas das tensões do diafragma produzidos pela 4-aminopiridina nesta concentração constam da Tabela I. As médias obtidas para cada tempo foram: 24,17 mm (T_1), 24,83 mm (T_5), 27,33 mm (T_{10}), e 31,67 mm (T_{20}). As variações percentuais dos valores das médias T_5 , T_{10} e T_{20} em relação a T_1 foram 2,83%; 13,06% e 31,67% respectivamente. (Figura 1).

IV - 1.1.1.2 . 4-aminopiridina 5 ug/ml

O aumento verificado nas respostas do diafragma foi mais precoce do que com a concentração de 1 ug/ml e aos 20 minutos de observação em todas as experiências já haviam sido alcançados os valores máximos. Os valores das medidas das tensões das contrações do diafragma, constam da Tabela II.

As médias obtidas para cada tempo foram: 24,83 mm (T_1), 27,67 mm (T_5), 34,50 mm (T_{10}) e 46,16 mm (T_{20}). As variações percentuais dos valores das médias T_5 , T_{10} e T_{20} em relação a T_0 foram 11,49%, 39,69% e 86,88% respectivamente (Figura 1).

IV - 1.1.1.3 . 4-aminopiridina 25 ug/ml

O aumento produzido nas respostas do diafragma pela concentração de 25 ug/ml é muito pronunciado já aos 5 minutos após a adição da droga, sendo muito próximo dos valores máximos observados aos 20 minutos. Os valores das medidas das tensões do diafragma nos diversos tempos constam da Tabela III.

As médias obtidas para cada tempo foram: 22,33 mm (T_1), 53,33 mm (T_5), 59,66 mm (T_{10}), e 60,83 mm (T_{20}). As variações percentuais dos valores das médias de T_5 , T_{10} , e T_{20} em relação a T_1 foram de: 139,13; 167,48; e 173,24 respectivamente (Figura 1).

IV - 1.1.2 . Estudo com a 3.4-diaminopiridina

IV - 1.1.2.1 . 3.4-diaminopiridina - 1 ug/ml

Com a menor concentração de 3.4-diaminopiridina, nos primeiros 5 minutos após a adição da droga se observou variação apenas nas experiências de números 9322(3) e 9532 (1). Nas demais o aumento da amplitude das respostas somente se verificou a partir dos 10 minutos de observação. Em todas as experiências a maior amplitude foi alcançada após os 20 minutos padronizados como tempo de observação. O tempo necessário pa-

ra que fosse alcançada a amplitude máxima variou entre 33 minutos (experiência número 9538 (3) e 50 minutos (experiência número 9532 (1)). Os valores das medidas das tensões do diafragma produzidos pela 3.4-diaminopiridina nesta concentração constam da Tabela IV. As médias obtidas para cada tempo foram: 24,16 mm (T_1); 24,60 mm (T_5); 26,00 mm (T_{10}) e 30,83 mm (T_{20}).

As variações percentuais dos valores das médias T_5 , T_{10} e T_{20} , em relação a T_1 foram: 1,93% ; 7,53% e 27,37% respectivamente (Figura 2).

IV - 1.1.2.2 . 3.4-diaminopiridina 5 ug/ml

A 3.4-diaminopiridina provocou aumento na amplitude das respostas do diafragma que foi evidente já aos 5 minutos após a adição da droga. Este aumento foi progressivo, mas aos 20 minutos de observação a amplitude das respostas ainda não havia atingido os seus valores máximos. Verificou-se que, embora ocorresse com o tempo tendência ao aumento da amplitude das respostas do diafragma, não houve aumento sempre crescente das respostas. Assim é que a uma resposta de amplitude maior sucedia-se resposta de amplitude menor. Este padrão de respostas foi diferente daquele obtido com a 4-aminopiridina que provocou respostas de amplitudes sempre crescentes. Os valores das medidas das tensões do diafragma produzidos pela 3.4-diaminopiridina nesta concentração constam da Tabela V . As médias obtidas para cada tempo foram: 20,83 mm (T_1); 36,33 mm (T_5); 44,00 mm (T_{10}) e 47,50 mm (T_{20}).

As variações percentuais dos valores das médias T_5 , T_{10} e T_{20} em relação a T_1 foram: 74,12% ; 110,75% e 127,85% respectivamente (Figura 2).

IV - 1.1.2.3 . 3.4-diaminopiridina 25 ug/ml

O aumento nas respostas do diafragma foi imediato e bem evidente já aos 5 minutos após a adição da droga; Também com o emprego dessa concentração, 20 minutos após a adição da droga ao banho ainda não havia sido atingida a amplitude máxima. O padrão de respostas já descrito para a dose anterior se repetiu com esta dose. Os valores das medidas das tensões do diafragma produzidos pela 3.4-diaminopiridina nesta concentração constam da Tabela VI. As médias obtidas para cada tempo foram: 21,66 mm (T_1); 52,16 mm (T_5); 58,33 mm (T_{10}) e 66,33 mm (T_{20}).

As variações percentuais dos valores das médias T_5 , T_{10} e T_{20} em relação a T_1 foram: 139,66%; 168,67% e 205,83% - respectivamente (Figura 2).

IV - 1.1.3 . Estudo com aNeostigmina

IV - 1.1.3.1 . Neostigmina 0,02 ug/ml

Com a menor concentração de neostigmina somente se observou variação nas tensões das respostas do diafragma 10 minutos após a adição da droga. A partir dos 10 minutos houve um aumento progressivo que atingiu em média 38% do valor inicial aos 20 minutos. Os valores das medidas das tensões do diafragma constam da Tabela VII. As médias obtidas para cada tempo foram: 20,50 mm (T_1); 20,50 mm (T_5); 20,83 mm (T_{10}) e 28,33 mm (T_{20}). As variações percentuais dos valores das médias T_5 , T_{10} e T_{20} em relação a T_1 foram respectivamente , 0,00%; 1,66% e 38,09% (Figura 3).

IV - 1.1.3.2 . Neostigmina 0,1 ug/ml

A neostigmina na concentração de 0,1 ug/ml produziu aumento na tensão das respostas do diafragma já aos 5 minutos. O aumento foi progressivo até os 10 minutos. Entre os 10 e os 20 minutos de observação não houve variação nas respostas do músculo. Os valores das medidas das tensões do diafragma produzidas pelo emprego desta concentração de neostigmina constam da Tabela VIII. As médias obtidas para cada tempo foram : 20,66 mm (T_1); 24,83 mm (T_5); 44,17 mm (T_{10}); e 42,50mm (T_{20}). As variações percentuais dos valores das médias T_5 , T_{10} e T_{20} em relação a T_1 foram de 19,98%; 112,89% e 106,06% respectivamente. (Figura 3).

IV - 1.1.3.3 . Neostigmina 0,5 ug/ml

Com a maior concentração de neostigmina o aumento produzido já era máximo aos 5 minutos de observação. Entre os 5 e 10 minutos de observação houve diminuição das tensões das respostas que permaneceu estável até os 20 minutos. Os valores das medidas das tensões do diafragma produzidos pela neostigmina na concentração de 0,5 ug/ml constam da Tabela IX . As médias obtidas para cada tempo foram: 20,00 mm (T_1); 51,50 mm (T_5); 44,16 mm (T_{10}) e 42,66 mm (T_{20}). As variações percentuais entre as médias dos tempos T_5 , T_{10} e T_{20} em relação a T_1 foram: 157,50%; 120,83%; e 113,33% respectivamente (Figura 3) .

IV - 1.1.4 . Estudo com a Associação de 1 ug/ml de 4-aminopiridina com 0,02 ug/ml de neostigmina

Esta associação provocou nos três tempos estudados valores médios maiores do que cada uma das duas drogas isoladamente nesta mesma dose. O aumento das respostas do diafragma ocorre também progressivamente, e, se torna acentuado a partir dos 10 minutos de observação. Os valores das medidas das tensões dos diafragma produzidos pelo uso desta associação constam da Tabela X. As médias obtidas para cada tempo foram: 20,00 mm (T_1); 21,67 mm (T_5); 29,17 mm (T_{10}) e 42,67 mm (T_{20}). As variações percentuais entre as médias dos tempos T_5 , T_{10} , e T_{20} e a média do tempo T_1 foram: 8,33%; 45,83% e 113,33% respectivamente. (Figura 4).

IV - 1.1.5 . Estudo com a Associação de 1 ug/ml de 4-aminopiridina com 0,1 ug/ml de neostigmina

A associação da 4-aminopiridina na menor concentração empregada, com a neostigmina na concentração intermediária também produziu aumento nas respostas do diafragma que é, para cada tempo, maior do que o aumento produzido pelas drogas empregadas isoladamente. De maneira semelhante à variação das respostas produzidas pela neostigmina na concentração de 0,1 ug/ml, ocorreu maior amplitude das respostas aos 10 minutos, havendo diminuição entre os 10 e 20 minutos. Os valores das medidas das tensões do diafragma produzidas por esta associação das duas drogas, constam da Tabela XI. As médias obtidas para cada tempo foram: 20,17 mm (T_1); 53,17 mm (T_5); 57,67 mm (T_{10}) e 48,17 mm (T_{20}).

As variações percentuais entre as médias dos tempos T_5 , T_{10} e T_{20} em relação à média T_1 foram: 164,12%; 186,26% e 138,96% respectivamente (Figura 5).

IV - 1.1.6 . Estudo com a Associação de 3.4-diaminopiridina 1 ug/ml com a neostigmina 0,02 ug/ml

Nos três tempos esta associação provocou um aumento na amplitude das respostas do diafragma maior do que o causado pelas drogas quando empregadas isoladamente.

A amplitude máxima das respostas ainda não havia sido alcançada aos 20 minutos de observação. Os valores das medidas das tensões do diafragma produzidos pela associação destas drogas nessas concentrações constam da Tabela XII. As médias obtidas para cada tempo foram: 20,00 mm (T_1); 20,67 mm (T_5); 30,00 mm (T_{10}) e 51,67 mm (T_{20}).

As variações percentuais entre as médias dos tempos T_5 , T_{10} e T_{20} e a média do tempo T_1 foram: 3,29%; 49,92% e 157,58% respectivamente (Figura 6).

IV - 1.1.7 . Estudo com a Associação de 1 ug/ml de 3.4-diaminopiridina com 0,1 ug/ml de Neostigmina

A associação da 3.4-diaminopiridina na menor concentração com a neostigmina na intermediária também produziu aumento de amplitude das respostas do diafragma nos três tempos estudados. Este aumento é para cada tempo maior do que aquele produzido pelas duas drogas (nestas concentrações) quando empregadas isoladamente. Do mesmo modo como ocorreu com a associação de 4-aminopiridina e neostigmina, nas mesmas concen

trações verificou-se maior amplitude das respostas aos 10 minutos havendo uma tendência à diminuição entre os 10 e os 20 minutos. Os valores das medidas das tensões do diafragma produzidos por esta associação constam da Tabela XIII. As médias obtidas para cada tempo foram respectivamente: 20,00 mm (T_1); 48,67 mm (T_5); 60,00 mm (T_{10}) e 53,0 (T_{20}).

As variações percentuais entre a média T_1 e as médias dos tempos T_5 , T_{10} e T_{20} foram: 143,30%; 200,00% e 165,00% respectivamente (Figura 7).

IV - 1.2 . Experiências com Preparações não Curarizadas Submetidas a Estimulação de Frequência Elevada

IV - 1.2.1 . Estudo com a 4-aminopiridina

Com o emprego das três concentrações de 4-aminopiridina a resposta do músculo manteve-se durante os 3 segundos de estimulação (50 Hz). Houve também aumento da tensão nos três tempos estudados. Este aumento foi mais acentuado com o uso de 25 ug/ml. Os valores das tensões do diafragma medidos no início (A) e após 3 segundos de estimulação (B), para as diferentes doses de 4-aminopiridina estão reunidos nas Tabelas XIV, XV e XVI. As figuras 8,9 e 10 são fotografias dos traçados obtidos com preparações submetidas a estimulação com pulsos de frequência elevada, onde se empregou a 4-aminopiridina.

IV - 1.2.2 . Estudo com a 3.4-diaminopiridina

Com a 3.4-diaminopiridina nas 3 doses as respostas do diafragma foram mantidas durante os 3 segundos de estimulação (50 Hz). Somente se verificou aumento na tensão com o das concentrações de 5 e 25 ug/ml. Os valores das tensões do diafragma medidos no início (A), após mais ou menos 200mseg. do início da estimulação (B) e ao final de 3 segundos da estimulação (C), para cada tempo e para as diferentes concentrações de 3.4-diaminopiridina constam das Tabelas XVII, XVIII e IX. As figuras 11, 12 e 13 são fotografias dos traçados obtidos com preparações submetidos a estimulação com pulsos de frequência elevada onde foi empregada a 3.4-diaminopiridina.

IV - 1.2.3 . Estudo com a Neostigmina

Com a menor concentração de neostigmina (0,02 ug/ml) não houve variação das respostas do diafragma a estimulação com pulsos de frequência elevada. Durante os três tempos de observação, a resposta do músculo foi semelhante à resposta padrão (com tétano mantido). A Figura 14 é a fotografia do traçado de uma experiência, em que se utilizou neostigmina na concentração de 0,02 ug/ml. Os valores das tensões do diafragma no início da estimulação (A), e ao final de 3 segundos de estimulação (B), nos diferentes tempos estudados (T_1 , T_5 , T_{10} e T_{20}) estão reunidos na Tabela XX.

Com a maior concentração (0,5 ug/ml) (Figura 15) e com a intermediária (Figura 16) (0,1 ug/ml) após uma contração inicial ocorreu inibição, tanto mais acentuada quanto maior espaço de tempo havia decorrido da adição da droga. Essa inibição que apareceu aproximadamente aos 200 mseg de estimulação estava na dependência da concentração da neostigmina e foi mais acentuada com a maior concentração empregada da droga anticolinesterásica.

Durante a estimulação em todas as experiências com o uso destas duas concentrações observou-se a partir dos 200 mseg e até os três segundos de estimulação uma facilitação na resposta do músculo, representada por um aumento na tensão da contração do diafragma (Figura 15 e 16). Os valores das tensões, no início da estimulação (A), após 200 mseg aproximadamente (B) e ao final de 3 segundos (C), nos tempos de observação já citados verificados nas experiências com emprego da neostigmina na concentração de 0,1 ug/ml, constam da Tabela XXI. A Tabela XXII contém os valores correspondentes

observados nas experiências com a neostigmina na concentração de 0,5 ug/ml.

IV - 1.2.4 . Estudo com a Associação de 1 ug/ml de 4-aminopiridina com 0,02 ug/ml de Neostigmina

Esta associação produziu, durante estimulação com pulsos de frequência elevada, respostas do músculo semelhantes às causadas pela 4-aminopiridina na concentração de 1 ug/ml. O tétano estava mantido, e houve um discreto aumento, progressivo com o tempo na tensão do tétano (Figura 17). Os valores das tensões dos diafragmas no início da estimulação (A) e ao final de três segundos de estimulação (B) nos tempos estudados constam da Tabela XXIII.

IV - 1.2.5 . Estudo com a Associação de 1 ug/ml de 4-aminopiridina com 0,1 ug/ml de neostigmina

A associação destas concentrações produziu, durante estimulação com pulsos de frequência elevada, respostas dos diafragmas semelhantes às causadas pela neostigmina na maior concentração.

A inibição foi observada nos três tempos estudados , sendo mais acentuada aos 20 minutos (Figura 18). Aos 5 minutos de observação, a tensão média após 200 mseg aproximadamente (B) era de 35 mm, aos 10 minutos seu valor médio era de 15 mm, enquanto aos 20 minutos era de 0,66 mm. Houve também facilitação na resposta do músculo a partir dos 200 mseg e até o final dos 3 segundos de estimulação.

Os valores das tensões produzidas pela associação de

1 ug/ml 4-aminopiridina com 0,1 ug/ml de neostigmina no início da estimulação (A) após 200 mseg aproximadamente (B) e ao final de 3 segundos de estimulação (C) nos três tempos observados estão reunidos na Tabela XXIV.

IV - 1.2.6 . Estudo com a Associação de 1 ug/ml de 3.4-diaminopiridina com 0,02 ug/ml de Neostigmina

Durante a estimulação compulsos de frequência elevada (50 Hz/3seg), a amplitude das respostas do diafragma aumentou discretamente após a adição da mistura das duas drogas. O aumento da amplitude observado foi progressivo com o tempo (Figura 19). O tétano estava bem mantido. Os valores das tensões dos diafragmas no início da estimulação (A) e ao final de 3 segundos de estimulação (B), nos três tempos estudados, produzidos por esta associação estão contidos na Tabela XXV.

IV - 1.2.7 . Estudo com a Associação de 1 ug/ml de 3.4-diaminopiridina com 0,1 ug/ml de Neostigmina

As respostas dos diafragmas para estímulos de frequência elevada igual ao superior (50 Hz-3 seg) obtidas após a adição desta associação foram semelhantes às aquelas obtidas após a neostigmina na concentração de 0,1 ug/ml. Nos três tempos estudados observou-se inibição, mais pronunciada aos 20 minutos. Aos 5 minutos a tensão média obtida, 200 mseg aproximadamente após o início da estimulação (B) foi de 31 mm; aos 10 minutos seu valor médio foi de 13,16 mm, enquanto aos 200 mseg. após o início da estimulação até o final de cada período de

estimulação ocorreu facilitação nas respostas dos músculos (Figura 20). Os valores das tensões produzidos pela associação no início da estimulação (A), após mais ou menos 200 msec. do início da estimulação (B) e ao final de 3 segundos de estimulação (C), constam da Tabela XXVI.

IV - 1.3 . Experiências em Preparações Curarizadas Submetidas a Estimulação de Baixa Frequência

IV - 1.3.1 . Estudo com 4-aminopiridina

Na concentração de 1 ug/ml a 4-aminopiridina não reverteu o bloqueio neuromuscular provocado pela d-tubocurarina (2 ug/ml) após 20 minutos de observação (Figura 21 A). Na de 5 ug/ml, no entanto, houve regressão total do bloqueio. Aos 10 minutos de observação, a amplitude das respostas aos estímulos de baixa frequência já havia atingido valor semelhante àqueles medidos antes da adição de d-tubocurarina. Aos 20 minutos as respostas já apresentavam amplitudes maiores que as iniciais (Figura 21 B). Na concentração de 25 ug/ml o início da regressão é imediato, e aos 5 minutos de observação já se verifica amplitude de respostas acima da amplitude inicial (antes da adição da d-tubocurarina). Ocorreu aumento progressivo das respostas que foram em média 60% maiores do que o valor inicial, 20 minutos após a adição da 4-aminopiridina (Figura 21 C).

IV - 1.3.2 . Estudo com a 3.4-diaminopiridina

Na concentração de 1 ug/ml a 3.4-diaminopiridina não impediu a progressão do bloqueio neuromuscular produzido pela

d-tubocurarina (2 ug/ml). A ausência de respostas permaneceu por 15 minutos ou mais. Naquelas experiências onde aos 20 minutos já havia respostas para estímulos de baixa frequência, a amplitude destas respostas permaneceu menor do que aquela medida no momento da adição da 3.4-diaminopiridina (1 ug/ml) ao banho (Figura 22 A).

Na concentração de 5 ug/ml, ocorreu antagonismo total para o mesmo grau de bloqueio produzido pela d-tubocurarina. Aos 10 minutos a amplitude das respostas já havia atingido níveis iguais aos medidos antes do bloqueio; aos 20 minutos estes valores foram em média 40% maiores do que os valores medidos antes do bloqueio (Figura 22 B). Na de 25 ug/ml, o aumento na amplitude das respostas foi imediato; aos 5 minutos após a adição de 3.4-diaminopiridina a amplitude das respostas atingiu níveis maiores do que os medidos antes do bloqueio. Aos 20 minutos este aumento foi ainda mais acentuado e, em algumas preparações, as respostas dos diafragmas atingiram amplitudes 100% maiores do que as medidas antes da curarização (Figura 22 C).

IV - 1.3.3 . Estudo com a Neostigmina

Nas concentrações de 0,1 ug/ml e 0,5 ug/ml houve reversão parcial do bloqueio. Na de 0,1 ug/ml a neostigmina produziu aumento das respostas a estímulos isolados até os 10 minutos de observação. Neste tempo a amplitude das respostas era de 50,00% em média do valor inicial. A partir de então e até os 20 minutos de observação não houve variação nas respostas (Figura 23 A). Na concentração de 0,5 ug/ml produziu aumento nas respostas do diafragma até os 5 minutos de

observação; a amplitude das respostas era em média 80,00% de valor inicial. A partir deste tempo e até os 20 minutos houve diminuição atingindo as respostas valores, em média, de 50,00% do inicial (Figura 23 B).

IV - 1.4 . Experiências com Preparações Curarizadas Submetidas à Estimulação de Freqüência Elevada

IV - 1.4.1 . Estudo com a 4-aminopiridina

Na concentração de 1 ug/ml a 4-aminopiridina, como para os estímulos de baixa freqüência, não reverteu o bloqueio produzido pela d-tubocurarina. Não houve resposta para estímulos de freqüência igual a 2,5 Hz e 5 Hz (Figura 24 A). A adição de neostigmina ao banho na concentração de 0,1 ug/ml provocou aumento na tensão das respostas. Reapareceu o bloqueio neuromuscular quando a freqüência empregada foi igual a 15 Hz, enquanto que, com os de estímulos de freqüência mais baixa, houve aparecimento de inibição de Wedensky (Figura 24B).

Na concentração de 5 ug/ml a 4-aminopiridina não antagonizou o bloqueio quando se estimulou o músculo com pulsos de 10 Hz de freqüência. Quando se utilizou as freqüências de 2,5 e 5 Hz, as respostas do músculo foram de amplitude menor do que as provocadas pelos estímulos de baixa freqüência, e ocorreu inibição de Wedensky (Figura 25 A). A posterior adição ao banho de neostigmina (0,1 ug/ml) ocasionou respostas de amplitudes maiores e a inibição só se tornou acentuada quando se empregou freqüência igual a 50 Hz (Figura 25B).

Na concentração de 25 ug/ml a 4-aminopiridina não

antagonizou totalmente o bloqueio para estímulos de frequência elevada. Com pulsos de 2,5 e 5 Hz de frequência ocorreu inibição de Wedensky; com frequência de 10 e 20 Hz a inibição se tornou muito acentuada (Figura 26 A). A adição de neostigmina (0,1 ug/ml) provocou um aumento na amplitude das respostas musculares e a inibição de Wedensky somente foi completa com frequências de 50 Hz (Figura 26 B).

IV - 1.4.2 . Estudo com a 3.4-diaminopiridina

Na concentração de 1 ug/ml a 3.4-diaminopiridina - não antagonizou o bloqueio produzido pela d-tubocurarina (2 ug/ml). Não houve respostas para estímulos de 2,5 Hz de frequência (Figura 27 A). A adição de neostigmina (0,1 ug/ml) determinou o aparecimento de respostas para estímulos de 2,5; 5 e 10 Hz de frequência. Com estímulos acima de 10 Hz apareceu acentuada inibição de Wedensky; com frequência de 50 Hz a inibição foi completa (Figura 27 B).

Na concentração de 5 ug/ml, a 3.4-diaminopirididina não antagonizou o bloqueio para frequências acima 10 Hz. Quando se estimulou com pulsos de 2,5 e 5 Kz as respostas foram de amplitudes menores do que aquelas produzidas por estímulos de baixa frequência aos 20 minutos (Figura 28 A). A inibição de Wedensky apareceu com estímulos de 2,5 Hz de frequência e foi acentuada com frequências mais elevadas.

A adição de neostigmina (0,1 ug/ml) ocasionou respostas de amplitude maiores para cada frequência de estímulos. A inibição de Wedensky foi muito acentuada com frequências acima de 10 Hz . A inibição foi completa com estímulos de 50 Hz (Figura 28 B). Na concentração de 25 ug/ml a inibi

ção de Wedensky também estava presente nas respostas a estímulos de 2,5 Hz e 5 Hz. A inibição foi total com o emprego de 20 Hz de frequência (Figura 29 A). A adição de neostigmina (0,1 ug/ml) aumentou a amplitude para todas as frequências. A inibição de Wedensky estava presente com estímulos de 10 Hz de frequência e foi total para estímulos de 50 Hz (Figura 29 B).

IV - 1.4.3 . Estudo com a Neostigmina

A neostigmina na concentração de 0,1 ug/ml não antagonizou o bloqueio neuromuscular produzido pela d-tubocurarina (2 ug/ml) a estímulos supramaxiais de 2,5 Hz e 5 Hz de frequências (Figuras 30 A e 31 A). A adição 1 ug/ml de 4-aminopiridina determinou apenas pequena facilitação nas respostas dos músculos (Figura 30 B). Nas experiências onde foi feita a adição de 4-aminopiridina 5 ug/ml o antagonismo foi completo para as frequências de 2,5 Hz e 5 Hz. Com estímulos cujas frequências foram 10 Hz e 20 Hz as respostas musculares apresentaram inibição de Wedensky; com 50 Hz de frequência a inibição foi completa (Figura 31 B).

Na concentração de 0,5 ug/ml a neostigmina também não antagonizou o bloqueio, produzido pela d-tubocurarina, para estímulos de frequência de 2,5 Hz e 5 Hz (Figura 32A). A adição posterior de 4-aminopiridina (1 ug/ml) aumentou a amplitude das respostas para estímulos de 2,5 Hz e 5 Hz. A inibição de Wedensky foi completa quando se empregaram pulsos de 10 Hz e de 20 Hz na estimulação do nervo.

IV - 2 . EXPERIÊNCIAS REALIZADAS EM CÃES

IV - 2.1 - Grupo A - 4-aminopiridina

Neste grupo foram realizadas experiências com as seguintes doses de 4-aminopiridina: 0,5 mg/Kg de peso (uma experiência) 0,25 mg/Kg de peso (uma experiência), 0,1 mg/Kg de peso (duas experiências) e 0,05 mg/Kg de peso (uma experiência).

Com todas as doses estudadas ocorreu aparecimento de sinais de estimulação do sistema nervoso central. Inicialmente os animais apresentaram tremores; na fase seguinte hiperextensão ou movimentos desordenados das patas. Apresentaram ainda hipotonia da mandíbula e a língua caída. O reflexo palpebral estava ausente.

Os abalos musculares cessaram com a administração de tiopental a 2,5% ou com o reinício da administração de halotano.

IV - 2.1.1 . Pressão Arterial e Frequência Cardíaca

As tabelas XXVII e XXVIII contêm os valores individuais da pressão arterial e da frequência cardíaca (medidos nos diversos tempos de observação) dos cães deste grupo. Estes valores não foram considerados como representativos de uma ação da 4-aminopiridina devido ao muito reduzido número de animais utilizados em cada dose e ao fato de ter sido necessária a administração do tiopental ou halotano

IV - 2.1.2 . Junção Neuromuscular

A 4-aminopiridina na dose de 0,1 mg/Kg de peso antagonizou parcialmente o bloqueio produzido pelo pancurônio (Figura 33). O reinício das respostas para estímulos de baixa frequência ocorreu aos 5 minutos após a injeção. A amplitude dessas respostas aos 10 minutos era inferior ao valor medido antes da curarização. O tétano não estava mantido. A relação pós-pré tetânica foi 16/4.

Com a dose de 0,25 mg/Kg de peso, o reinício das respostas para estímulos de baixa frequência foi imediato e a reversão do bloqueio para estes estímulos foi completa aos 10 minutos após a injeção; no entanto a resposta para estímulos de 50 Hz não estava mantida (Figura 33). Não ocorreu facilitação pós tetânica e a relação pós-pré tetânica foi 14/13.

Com as demais doses de 4-aminopiridina não foi realizado o estudo do antagonismo de curare, uma vez que não foi feita curarização prévia. Nas doses empregadas a 4-aminopiridina não aumentou a amplitude das respostas para estímulos de baixa frequência.

IV - 2.2 . Grupo B - 3.4-diaminopiridina

IV - 2.2.1 . Sub Grupo 1 - 3.4-diaminopiridina 0,1 mg/Kg de peso

IV - 2.2.1.1 . Pressão Arterial

Neste sub grupo a pressão arterial média mostrou tendência à elevação a partir da injeção de 3.4-diaminopiridina. Os valores individuais da pressão arterial medidos nos diversos tempos de observação constam da Tabela XXIX. Os va-

lores médios obtidos para cada tempo foram respectivamente :
 10,17 cmHg (T_0); 9,41 cmHg (T_1); 11,08 cmHg (T_{15}); -
 11,58 cmHg (T_{30}) e 12,17 cmHg (T_{40}).

O teste de Tukey mostrou uma diferença significativa entre as médias T_1 e T_{40} .

A comparação entre as demais médias não mostrou diferença significativa ao nível de 5%.

IV - 2.2.1.2 - Frequência Cardíaca

Neste sub grupo a frequência cardíaca mostrou uma tendência à elevação a partir do momento da injeção da 3.4-DAP. Os valores individuais deste parâmetro medidos nos diversos tempos de observação constam da Tabela XXX. Os valores médios obtidos para cada tempo foram respectivamente: 154 bat/min, (T_0); 110 bat/min, (T_1); 120,6 bat/min. (T_{15}); 149 bat/min. (T_{30}) e 148 bat/min. (T_{40}).

Os testes de Tukey mostrou uma diferença significativa ao nível de 5% entre as médias T_0 e T_1 . Entre as demais não houve diferença significativa para este nível. A variação individual foi significativa entre os cães deste grupo.

IV - 2.2.1.3 . Junção Neuromuscular

A 3.4-diaminopiridina na dose de 0,1 mg/Kg de peso antagonizou parcialmente o bloqueio neuromuscular produzido pelo pancurônio. O reinício das respostas para estímulos de baixa frequência foi observado em média 4 minutos após a injeção da droga. A amplitude das respostas para estes estímulos após 10 minutos da injeção da 3.4-DAP foi em média 32% da am-

plitude inicial. A resposta para estímulos de 50 Hz durante 5 seg., não estava mantida (Figura 34); ocorreu facilitação pós tetânica, sendo a relação de amplitude pós-pré tetânica de 15,5/6,3.

IV - 2.2.1.4 . Efeitos sobre o Sistema Nervoso Central

Nenhum dos cães deste sub grupo apresentou tremores ou convulsões.

IV - 2.2.2 . Sub Grupo 2 - 3.4-diaminopiridina- 0,2 mg/Kg de peso

IV - 2.2.2.1 . Pressão Arterial

Neste sub grupo a pressão arterial mostrou uma tendência a elevação nos primeiros 15 minutos após a injeção de 3.4-diaminopiridina. Entre os 15 e os 30 minutos houve tendência à diminuição aproximando-se dos valores medidos no início da anestesia. Os valores individuais medidos nos diversos tempos constam da Tabela XXXI. Os valores médios obtidos para cada tempo foram respectivamente: 12,0 cmHg (T_0); 11,0 cmHg (T_5); 14,5 cmHg (T_{10}); 12,87 cmHg (T_{30}) e 12,37 cmHg (T_{40}).

IV - 2.2.2.2 . Frequência Cardíaca

Nos cães deste sub grupo a frequência cardíaca apresentou tendência à elevação a partir da injeção de 3.4-diaminopiridina. O aumento máximo verificado ocorreu 30 minutos após a injeção da droga. A partir deste tempo observou-se tendência à diminuição. Os valores individuais da frequência car

díaca medidos nos diversos tempos constam da Tabela XXXII. Os valores médios obtidos para cada tempo foram respectivamente: 180 bat/min (T_0); 121,5 bat/min (T_1); 186 bat/min (T_{15}); 198 bat/min (T_{30}) e 174,75 bat/min (T_{40}).

IV - 2.2.2.3 . Junção Neuromuscular

A 3.4-diaminopiridina na dose de 0,2 mg/Kg de peso antagonizou o bloqueio neuromuscular para estímulos de baixa frequência. O reinício das respostas para estes estímulos ocorreu no primeiro minuto após a injeção da droga. A amplitude das respostas após 10 minutos atingiu níveis próximos aos níveis medidos antes da curarização. As respostas para estímulos de frequência elevada (50 Hz) não estavam mantidas aos 10 e 20 minutos após a injeção (Figura 34). Não ocorreu facilitação pós-tetânica. A relação pós-pré-tetânica foi 27,3/26,6.

IV - 2.2.2.4 . Efeitos sobre o Sistema Nervoso Central

Em nenhuma das experiências os cães apresentaram sinais de estimulação do sistema nervoso central.

IV - 2.3 . Grupo C - Neostigmina

IV - 2.3.1 . Sub Grupo 1 - Neostigmina - 0,025 mg/Kg de peso

IV - 2.3.1.1 . Pressão Arterial

Nos cães deste sub grupo a pressão arterial média

mostrou tendência à elevação a partir da injeção de neostigmina. Os valores individuais da pressão arterial medidos nos diversos tempos de observação constam da Tabela XXXIII. Os valores médios obtidos para cada tempo foram respectivamente: 11,17 cmHg (T_0); 8,75 cmHg (T_1); 11,08 cmHg (T_{15}); 12,0 cmHg (T_{30}) e 12,17 cmHg (T_{40}).

O teste de Tukey mostrou uma diferença significativa entre as médias T_1 e T_{40} . A comparação entre as demais médias não mostrou diferença significativa ao nível de 5%.

IV - 2.3.1.2 - Frequência Cardíaca

Neste sub grupo a frequência cardíaca mostrou uma tendência à elevação a partir do momento da injeção da neostigmina. Os valores individuais da frequência cardíaca medidos nos diversos tempos constam da Tabela XXXIV. Os valores médios obtidos para cada tempo foram respectivamente: 153 bat/min - (T_0), 97 bat/min (T_1), 122 bat/min (T_{15}), 130 bat/min - (T_{30}) e 133 bat/min (T_{40}).

O teste de Tukey mostrou uma diferença significativa entre T_0 e T_1 ; T_0 e T_{15} ; T_1 e T_{30} e T_1 e T_{40} . A variação individual foi significativa entre os cães deste grupo ao nível de 1%.

IV - 2.3.1.3 - Junção Neuromuscular

A neostigmina na dose de 0,025 mg/Kg de peso antagonizou parcialmente o bloqueio neuromuscular produzido pelo pancurônio. O reinício das respostas para estímulos de baixa frequência ocorreu em média 2 a 3 minutos após a injeção da droga. A amplitude das respostas 10 minutos após a injeção da neostigmina

na foi em média 81,04% da amplitude inicial.

A resposta para estímulos de 50 Hz durante 5 segundos estava parcialmente mantida (Figura 35); ocorreu facilitação pós tetânica sendo a relação pós-pré tetânica de 27/17,83.

IV - 2.3.1.4 . Efeitos sobre o Sistema Nervoso Central

Nenhum dos cães deste sub grupo apresentou tremores ou convulsões.

IV - 2.3.2 . Sub Grupo 2 - Neostigmina 0,05 mg/Kg de peso

IV - 2.3.2.1 . Pressão Arterial

Neste sub grupo não ocorreu alteração da pressão arterial após a injeção da neostigmina. Verificou-se no entanto, diminuição da frequência cardíaca nos primeiros quinze minutos. Esta diminuição foi corrigida com o uso de atropina (1 mg) (Tabelas XXXV e XXXVI). Neste período ocorreu arritmia cardíaca em dois cães (0821 e 0257).

IV - 2.3.2.3 . Junção Neuromuscular

A neostigmina nesta dose antagonizou totalmente o bloqueio neuromuscular produzido pelo pancurônio. O reinício das respostas para estímulos de baixa frequência ocorreu nos primeiros minutos após a injeção de neostigmina.

A amplitude das respostas para estes estímulos 10 minutos após a injeção, atingiu níveis iguais aos medidos antes da administração do pancurônio. A resposta para estímulos

de 50 Hz durante 5 segundo estava bem mantida já aos 10 minutos (Figura 35), não ocorreu facilitação pós tetânica, sendo a relação pós-pré tétano de 23/19.

IV - 2.3.2.4 . Efeitos sobre o Sistema Nervoso Central e outros Efeitos Colaterais

Nenhum dos cães deste sub grupo apresentou tremores ou convulsões. Nas experiências de números 0921, 0821 e 0257 os cães apresentaram salivação abundante e evacuaram.

IV - 2.4 . Grupo D - Associação de 3.4-diaminopiridina 0,1 mg/Kg com Neostigmina 0,025 mg/Kg de peso

IV - 2.4.1 . Pressão Arterial

Neste grupo a pressão arterial média mostrou uma tendência à elevação a partir da injeção da mistura de 3.4-diaminopiridina com a neostigmina. Os valores individuais da pressão arterial medidos nos diversos tempos de observação constam da Tabela XXXVII. Os valores médios obtidos para cada tempo foram respectivamente: 11,17 cmHg (T_0); 10,25 cmHg (T_1); 11,50 cmHg (T_{15}); 12,0 cmHg (T_{30}) e 12,0 cmHg (T_{40}).

O teste de Tukey mostrou uma diferença significativa entre as médias T_1 e T_{30} ; T_1 e T_{40} . A comparação entre as demais médias não mostrou diferença significativa ao nível de 5%.

A variação individual entre os cães deste grupo foi significativa ao nível de 1%.

IV - 2.4.2 . Frequência Cardíaca

Neste sub grupo a frequência cardíaca mostrou tendência à elevação a partir do momento da injeção da mistura da 3.4-diaminopiridina com a neostigmina. Os valores individuais da frequência cardíaca medidos nos diversos tempos de observação constam da Tabela XXXVIII. Os valores médios obtidos para cada tempo foram respectivamente: 148 bat/min (T_0); 110 bat/min (T_1); 144 bat/min (T_{15}); 154 bat/min (T_{30}) e 148 bat/min (T_{40}).

O teste de Tukey mostrou uma diferença significativa entre as médias T_1 e T_{30} ; T_1 e T_{40} . A comparação entre as demais médias não mostrou diferença significativa ao nível de 5%. A variação individual entre os cães deste sub grupo foi significativa ao nível de 1%.

IV - 2.4.3 . Junção Neuromuscular

A associação da 3.4-diaminopiridina (0,1 mg/Kg de peso) com a neostigmina (0,025 mg/Kg de peso) antagonizou totalmente o bloqueio neuromuscular produzido pelo pancurônio. O reinício das respostas para estímulos de baixa frequência ocorreu em média 1,5 minutos após a injeção da mistura. A amplitude das respostas para estímulos de baixa frequência 10 minutos após a injeção da mistura foi igual a amplitude antes do bloqueio. A resposta para estímulos de 50 Hz durante 5 segundos estava bem mantida (Figura 36), não ocorreu facilitação pós-tetânica sendo a relação da amplitude pós-pré tetânica de 21,3/16,5.

IV - 2.4.4 . Efeitos Sobre o Sistema Nervoso Central

Nenhum dos cães deste sub grupo apresentou tremores ou convulsões.

V - D I S C U S S Ã O

V - DISCUSSÃO

V - 1 . DAS EXPERIÊNCIAS EM PREPARAÇÕES NERVO FRÊNICO-DIAFRAGMA DE RATOS

A 4-aminopiridina nas três concentrações estudadas produziu aumento na tensão das respostas do diafragma a estímulos indiretos de baixa frequência. A análise de variância mostrou interação dose-tempo altamente significativa, confirmando que a ação de facilitação na junção neuromuscular é dependente do tempo e da concentração empregada. O estudo realizado com a 3.4-diaminopiridina também mostrou resultados semelhantes.

Os percentuais médios de aumento das tensões das respostas dos diafragmas, calculados nos diversos tempos para as duas drogas, revelaram valores muito próximos tanto para a menor como para a maior concentração. Somente a concentração intermediária de 3.4-diaminopiridina produziu aumentos maiores do que a mesma de 4-aminopiridina. Estes dados estão em desacordo com os da literatura que apresentam a 3.4-diaminopiridina como a mais potente entre os derivados piridínicos quanto à ação de facilitação na junção neuromuscular (HARVEY & MARSHALL, 1977).

Enquanto na maioria das experiências com 4-aminopiridina, aos 20 minutos de observação já haviam sido alcançadas as variações máximas das tensões dos diafragmas, nas experiências com a 3.4-diaminopiridina após este tempo as tensões ainda continuavam aumentando. Esta diferença talvez seja a explicação para o fato de que, nas nossas experiências, as duas drogas tenham apresentado variações semelhantes nos diversos tempos.

A revisão da literatura evidenciou alguma discrepância quando da comparação da atividade das duas drogas na junção neuromuscular. Em 1977, utilizando preparações nervo-músculo biventer cervicis de pintainhos, BOWMAN e cols, obtiveram aumentos de $169 \pm 32\%$ nas respostas dos músculos para estímulos indiretos quando a 4-aminopiridina foi adicionada ao banho até uma concentração final de 10^{-4} M ($\cong 10$ ug/ml). Maior variação seria esperada com a 3.4-diaminopiridina, mas o aumento provocado pela droga em questão nas mesmas condições e também na concentração de 10^{-4} M ($\cong 10$ ug/ml) foi de apenas 140% (HARVEY & MARSHALL, 1977). Ainda, nas mesmas condições experimentais, a 3.4-diaminopiridina numa concentração final de 10^{-3} M ($\cong 109$ ug/ml) produziu aumentos das respostas para estímulos indiretos de até 325 ± 48 enquanto o aumento produzido pela 4-aminopiridina na concentração de 10^{-3} M ($\cong 94,10$ ug/ml) estava em torno de 250% (BOWMAN e cols, 1977). Estes autores verificaram ainda que nas maiores concentrações empregadas as duas drogas provocaram contratura após atingirem o efeito máximo sobre as respostas a estímulos indiretos. Nas experiências com músculos de mamíferos, a contratura que pode ser fator limitante do estudo com maiores concentrações, não ocorre.

Nas nossas experiências em nenhuma das concentrações empregadas a 3.4-diaminopiridina produziu aumentos menores do que a 4-aminopiridina. Com a concentração de 1 ug/ml de 3.4-diaminopiridina, embora os valores percentuais médios calculados para os tempos T_5 , T_{10} e T_{20} tenham sido menores do que aqueles obtidos para a 4-aminopiridina, a variação máxima (verificada após o período estabelecido para o estudo) foi maior que a obtida com a 4-aminopiridina. A explicação novamente

está no aparecimento mais tardio do efeito da 3.4-diaminopiridina.

Não se computaram os valores máximos de variação produzidos pela 3.4-diaminopiridina porque, como já citado, foram obtidos além do tempo de observação. Este foi estipulado levando-se em consideração que, na maioria das experiências com a 4-aminopiridina e com a neostigmina, após 20 minutos as variações máximas já haviam sido alcançadas.

A associação da menor concentração de 4-aminopiridina com a neostigmina tanto na menor quanto na concentração intermediária provocou aumento das tensões das respostas dos diafragmas, maior do que aqueles obtidos com as duas drogas isoladamente (Figuras 4 e 5). O mesmo ocorreu com as associações da 3.4-diaminopiridina com a neostigmina (Figuras 6 e 7).

Uma potencialização de efeitos era de fato esperada, uma vez que as amino e diaminopiridinas aumentam a quantidade de acetilcolina liberada por impulso nervoso (MOLGÓ e cols, 1977 e 1980), e, por outro lado, a neostigmina, por inibir a acetilcolinesterase, impede a sua hidrólise.

Quando os diafragmas foram estimulados com pulsos de 50 Hz de frequência ocorreu inibição de Wedensky nas experiências onde foram adicionadas ao banho a neostigmina e as associações das aminopiridinas com a neostigmina na concentração de 0,5 ug/ml. São apontados como inibição de Wedensky na junção neuromuscular todas as respostas musculares que apresentam inibição decorrente do aumento da frequência dos estímulos aplicados no nervo motor ou seja inibição das respostas musculares à estímulos iterativos que se assemelha àquela descrita por Wedensky (RESONBLUETH & MORISON, 1937; KATZ, 1966; BOWMAN,

1972; VITAL BRAZIL, 1981).

O fenômeno de inibição de Wedensky juncional pode resultar quer da diminuição na liberação do medidor dependente do aumento da frequência dos influxos nervosos quer da presença da acetilcolina em maior quantidade na região das placas terminais.

No músculo curarizado a tensão da resposta, provocada pela excitação do nervo motor com estímulos maximais de frequências tetanizantes, não se mantém; o músculo inicialmente se contrai, mas logo a seguir se relaxa, apesar da persistência da estimulação, devido ao bloqueio que se estabelece. A inibição que ocorre na presença de drogas competitivas pode ser explicada por dois fatores: a) decréscimo das quantidades de acetilcolina liberadas pelos estímulos nervosos durante a estimulação tetânica devido ao reduzido número dos quanta de acetilcolina presente no "pool" do neurotransmissor disponível para pronta liberação; b) redução da margem de segurança na transmissão neuromuscular devido à ocupação de um certo número de receptores pela droga curarizante. (VITAL BRAZIL, 1981).

No músculo não curarizado em condições especiais como, por exemplo, na vigência da ação de drogas anticolinesterásicas, também ocorre interrupção da transmissão neuromuscular a impulsos nervosos iterativos de frequências elevadas. Inicialmente esse impulsos não são bloqueados e dão lugar a uma resposta muscular; em seguida, sobrevem o bloqueio e o músculo se relaxa (KATZ, 1966; VITAL BRAZIL, 1981). Uma possível explicação para esta inibição é aquela proposta por THESLEFF em 1955. Para este autor o acúmulo de acetilcolina na região das

placas terminais produzido pelas drogas anticolinesterásicas determina a dessensibilização dos receptores colinérgicos. A interação da acetilcolina com receptores em sua forma dessensibilizada não altera a permeabilidade da membrana de placa terminal. Outra possibilidade é a de que o excesso de acetilcolina dê lugar a bloqueio por despolarização. A esta fase de relaxamento se segue uma segunda facilitação na resposta neuromuscular que é decorrente da diminuição da liberação do mediador. Ainda de acordo com THESLEFF (1967) a liberação de acetilcolina durante estimulação iterativa pode ser regulada por, pelo menos, três fatores: a) a quantidade de acetilcolina na terminação nervosa disponível para liberação imediata; b) a fração desse depósito de acetilcolina liberada pelos impulsos nervosos e c) a capacidade de mobilização da acetilcolina armazenada no "pool" de reserva para o de liberação imediata.

Em virtude do grande aumento na liberação do mediador por impulso nervoso provocado pelas aminopiridinas (LUNDH, 1978) seria de se esperar quando feita estimulação indireta do diafragma com pulsos de 50 Hz, resposta com inibição de Wedensky.

Tal fenômeno não ocorreu nas nossas experiências, nem quando do uso das maiores concentrações das aminopiridinas. Este fato pode estar relacionado com a remoção do bloqueio dos canais de potássio produzido pelas aminopiridinas durante estimulação iterativa (ULBRICHT & WAGNER, 1976; YEH e cols, 1976; KIRSCH & NARASHI, 1978). Na ausência do bloqueio dos canais de potássio, a duração dos potenciais de ação nas terminações nervosas é normal e conseqüentemente, também a liberação do neurotransmissor.

A 4-aminopiridina e a 3.4-diaminopiridina provocaram aumento da amplitude das respostas a estímulos de 50 Hz que também foi progressivo com o tempo e mais pronunciado com as maiores concentrações das duas drogas. (Figuras 10 e 13). Este aumento pode ser decorrente da ação das aminopiridinas na fibra muscular. A 4-aminopiridina prolonga a duração do potencial de ação do músculo e em consequência permite maior liberação do cálcio ligado à membrana ou ao retículo sarcoplasmático determinando facilitação na resposta muscular (HARVEY & MARSHALL, 1977).

Tanto a 4-aminopiridina como a 3.4-diaminopiridina nas concentrações de 5 e 25 ug/ml foram capazes de antagonizar totalmente o bloqueio neuromuscular produzido pela d-tubocurarina (Figuras 21 B e C; 22 B e C). A 3.4-diaminopiridina nestas concentrações se mostrou mais eficaz do que a 4-aminopiridina. Com a concentração de 1ug/ml após a adição de 3.4-diaminopiridina o bloqueio neuromuscular ainda progrediu até tornar-se total e o reinício das respostas só ocorreu aproximadamente após 20 minutos. A 4-aminopiridina nesta mesma concentração impediu a progressão do bloqueio, mas não foi capaz de antagonizá-lo (Figura 21 A). Estes dados confirmam que os efeitos decorrentes da ação da 4-aminopiridina na junção neuromuscular se iniciam mais precocemente do que os da 3.4-diaminopiridina, fato que se tornou bem evidente quando se usou a menor concentração; com as outras a maior capacidade de aumentar a liberação de acetilcolina da 3.4-diamonipiridina se sobressai, encobrendo dessa maneira a diferença de início de ação das duas drogas.

Também em músculos de aves a 3.4-diaminopiridina se mostrou discretamente mais potente do que a 4-aminopiridina no antagonismo do bloqueio produzido pela d-tubocurarina (BOWMAN e cols, 1977; HARVEY & MARSHALL, 1977). Estes autores referem aumento de até 25% acima da amplitude de respostas medidos antes da curarização. (BOWMAN e cols, 1977).

O aumento das tensões das contrações do diafragma em relação a tensão medida antes da curarização também foi verificado em nossas experiências tanto para a 4-aminopiridina como para a 3.4-diaminopiridina. A maior potência da 3.4-diaminopiridina em relação a 4-aminopiridina quanto ao antagonismo do bloqueio produzidos por drogas que competem com a acetilcolina é facilmente explicável por ser a 3.4-diaminopiridina mais potente quanto a ação bloqueadora dos canais de potássio (KIRSCH & NARASHI, 1978).

Embora a 3,4-diaminopiridina tenha sido apontada como 6 vezes mais potente do que a 4-aminopiridina quanto ao aumento na liberação de acetilcolina (MOLGÓ e cols, 1978), surpreendentemente o seu efeito como antagonista de curare não se mostrou, nas nossas experiências, maior do que o da 4-aminopiridina.

Nossos dados estão de acordo com os dados da literatura para outras espécies animais como os retirados das experiências já citadas realizadas por HARVEY & MARSHALL, (1977) e BOWMAN e cols, (1977) com músculos de aves. Também para outros tipos de bloqueio não foi evidenciado grande diferença de potência entre as duas drogas, como podemos deduzir das experiências de SINGH e cols, (1978). Estes autores estuda-

ram em diafragmas de camundongos o antagonismo do bloqueio neuromuscular produzido pela amikacina, não fazendo nenhuma referência a uma possível diferença quanto à maior potência da 3.4-diaminopiridina. Vale salientar que as duas drogas foram utilizadas em concentrações de 0,01 mM/litro para reverter o mesmo grau de bloqueio.

A neostigmina não antagonizou totalmente o bloqueio produzido pela d-tubocurarina (2 ug/ml) nem quando empregada na maior concentração (Figura 23). A concentração de d-tubocurarina utilizada em nossas experiências foi relativamente alta e o bloqueio produzido não pôde ser antagonizado pela neostigmina nas concentrações empregadas no nosso estudo. No entanto, foi necessária a utilização de 2ug/ml de d-tubocurarina para tornar possível a verificação da potencialização das diferentes drogas quanto ao antagonismo do bloqueio a influxos de frequências elevadas.

O estudo com as associações de 4-aminopiridina ou 3.4-diaminopiridina com a neostigmina como antagonista de cura só foi efetuado quanto às respostas para influxos de frequências elevadas. O do antagonismo para estímulos de baixa frequência foi considerado dispensável por dois motivos:-1º) tanto a 4-aminopiridina como a 3.4-diaminopiridina - quando usadas isoladamente se mostraram eficazes em antagonizar o bloqueio a estímulos desta frequência; proporcionaram mesmo respostas de maior tensão do que a daquelas antes da curarização; 2º) as diversas associações sempre mostraram potencialização de efeitos em preparações não curarizadas, levando-nos a crer que o efeito em preparações curarizadas também seria potencializado.

Nossos resultados mostraram que, embora antagonizassem totalmente o bloqueio neuromuscular produzido pela d-tubocurarina (2 ug/ml) quando se empregaram estímulos de 0,1 Hz de frequência, tanto a 4-aminopiridina como a 3.4-diaminopiridina nas concentrações usadas não reverteram o bloqueio quando estímulos de frequências de 5 Hz ou maiores foram aplicados - no nervo.

A explicação para nossos achados pode estar relacionada com as experiências de LUNDH (1978). Este autor relatou que, em músculo de rato bloqueado pela d-tubocurarina, a 4-aminopiridina provoca aumento da amplitude do potencial de placa terminal, durante o primeiro impulso, quando se faz a estimulação do nervo com pulsos de 50 Hz. A partir do segundo estímulo, a amplitude dos potenciais diminui até se tornar igual à medida antes da adição de 4-aminopiridina. No entanto, quando foram utilizadas preparações bloqueadas pelo magnésio ou pela toxina botulínica, a diminuição da amplitude dos potenciais de placa terminal não ocorreu. Essa diminuição a partir do segundo impulso provocada por estímulos tetanizantes foi considerada como indicativa de depleção do "pool" de acetilcolina disponível para liberação imediata na terminação nervosa, em virtude da enorme liberação do medidor provocada pelo primeiro estímulo. (LUNDH, 1978). Estes dados podem justificar a incapacidade das aminopiridinas em antagonizarem o bloqueio a influxos de 5 Hz ou de maior frequência, verificada em nossas experiências.

Com a incapacidade de antagonizar o bloqueio a influxos de frequências elevadas é provavelmente consequência de uma diminuição da liberação do medidor durante a estimulação ;

seria de se esperar que a associação das aminopiridinas com uma droga anticolinesterásica fosse vantajosa. Realmente os nossos resultados confirmaram haver potencialização tanto quando a neostigmina foi adicionada após a 4-aminopiridina como quando após a 3.4-diaminopiridina.

A neostigmina quando empregada isoladamente também não antagonizou o bloqueio para influxos de frequências elevadas. Como já foi visto anteriormente, a neostigmina não antagonizou o bloqueio para influxos de baixa frequência, porque a d-tubocurarina foi empregada em concentrações suficiente para produzir um grau de bloqueio que não pudesse ser antagonizado pela neostigmina nas concentrações empregadas. Este fato nos permite afirmar que a facilitação observada com as associações de drogas é decorrente de uma potencialização de efeitos e não devida à ação única da neostigmina.

V - 2 . DAS EXPERIÊNCIAS REALIZADAS EM CÃES

V - 2.1 . Da Técnica Anestésica

Procurou-se utilizar um modelo que fosse em tudo semelhante àquele utilizado nas anestésias onde se faz necessário o uso de drogas para reverter o bloqueio neuromuscular.

Embora o enflurano apresente maior efeito sobre a transmissão neuromuscular, o halotano foi o anestésico escolhido, uma vez que este halogenado proporciona analgesia residual e despertar relativamente prolongado. Tal fato possibilitou a observação dos efeitos das drogas utilizadas como antagonistas de agentes curarizantes sobre a frequência cardíaca e a pressão arterial durante 40 minutos, sem que houvesse interferência de estímulos dolorosos ou que se fizesse necessário o uso de outros anestésicos para manter o cão imóvel. Por outro lado, o halotano por apresentar tendência em produzir bradicardia, é recomendado para evitar a ação taquicardizante do pancurônio (FOLDES e cols, 1971). No entanto, o efeito taquicardizante deste que é decorrente de ação sobre o sistema nervoso parassimpático, em gatos só se torna significativa com doses acima de 0,04 mg/Kg de peso (HUGGES & CHAPPLE, 1975).

Em quase todas as experiências por nós realizadas (excetuando-se o cão de registro nº 8331) verificou-se diminuição da frequência cardíaca (Tabela XXX) e os seus valores no momento da injeção da droga antagonista do curare foram sempre menores do que aquelas medidas antes da administração do halotano. Esta diminuição da frequência cardíaca po

de ainda ser explicada por um plano profundo de anestesia, uma vez que intencionalmente a concentração do halotano na mistura inalada foi mantida em 2% com o objetivo de se obter tempo mais prolongado de recuperação da anestesia.

Como o halotano por seu efeito vasodilatador periférico (WYLIE & CHURCHIL DAVIDSON, 1974) favorece o aparecimento de hipotermia, e esta modifica a duração da ação dos relaxantes competitivos (BIGLAND e cols, 1958; CANNARD & ZAIMIS, 1959; MILLER, 1975), alguns cuidados foram tomados para evitar que ocorresse diminuição da temperatura dos cães durante a anestesia.

A administração do halotano foi iniciada após um período de hiperventilação, quando o cão não mais apresentava esboço de movimentos respiratórios e a sua interrupção feita quando do aparecimento de facilitação pós-tetânica na junção neuromuscular em estudo. O tempo, portanto, de exposição ao halotano foi limitado pelo tempo necessário para o início da recuperação da transmissão neuromuscular.

O relaxante muscular foi utilizado em dose que produzisse bloqueio neuromuscular total, mas a facilitação pós-tetânica ocorresse em intervalo de tempo não muito dilatado. Determinou-se a dose do relaxante muscular em estudo piloto onde se verificou que o pancurônio na sua dose empregada no homem, 0,08 mg/Kg de peso, quando associado ao halotano, produzia bloqueio neuromuscular total que permanecia cerca de 90 minutos; na dose de 0,04 mg/kg de peso, nas mesmas condições, produzia bloqueio neuromuscular total mas o aparecimento de facilitação pós-tetânica (condição que foi padronizada para a descurarização) ocorria entre 25 e 60 minutos. A dose escolhida foi, portanto, 0,04 mg/Kg de

peso, dose comparável a DE_{95} do pancurônio para o homem ($0,05 \pm 0,001$ mg/kg de peso de acordo com DONLON e cols, 1974). Os anestésicos inalatórios desviam a curva dose-efeito e a curva dose-duração dos relaxantes musculares para a esquerda (- SAVARESE & KITZ, 1975) e provavelmente por isso foi obtido bloqueio neuromuscular total em todos os cães com esta dose de pancurônio. O tempo de recuperação do bloqueio é variável de indivíduo para indivíduo, para o mesmo grau de bloqueio (- DONLON e cols, 1974) e por isso em nossas experiências foi utilizado o critério de aparecimento de facilitação pós-tetânica para o momento da injeção da droga antagonista de curare. O grau de bloqueio neuromuscular no momento da administração da droga anticurare determina o tempo necessário para a reversão total do bloqueio, e parece ser fator mais importante do que a dose empregada de relaxante, para a avaliação da quantidade de neostigmina a ser administrada. Quando a amplitude das respostas para estímulos de baixa frequência atinge 5% do valor inicial, a dose de neostigmina necessária para antagonizar o bloqueio produzido pela d-tubocurarina, galamina ou pancurônio não depende da dose do relaxante que foi administrado (MILLER, 1976). Quando a amplitude das respostas à estímulos de baixa frequência alcança 20% da amplitude controle, o tempo de recuperação da transmissão neuromuscular varia entre 8 e 29 minutos (KATZ, 1971; KATZ, 1974). Nas nossas experiências o grau de bloqueio neuromuscular foi avaliado aos 10 e aos 20 minutos após a injeção da droga anticurare sendo possível portanto perceber os diferentes estágios de reversão que foram obtidos com as diferentes drogas estudadas.

V - 2.2 . Da Avaliação do Bloqueio Neuromuscular

Os métodos atualmente usados para avaliar o grau de bloqueio neuromuscular são baseados na observação de dados clínicos como a capacidade de levantar a cabeça, apertar firmemente a mão, inspirar profundamente, etc.. ou na avaliação das respostas a estímulos de baixa e elevada frequência (WILIE & CHURCHILL - DAVIDSON, 1974 e ALI & SAVARESE, 1976). Os testes que utilizam a observação clínica podem estar prejudicados em pacientes anestesiados, uma vez que o grau de consciência no momento da descurarização pode dificultar a avaliação de diferentes graus de bloqueio residual. No entanto, são mais eficientes do que a simples avaliação da recuperação das respostas a estímulos de baixa frequência, apresentando ainda, como vantagens, o fato de não provocarem dor ou desconforto nos pacientes e serem muito simples (WAUD & WAUD, 1972).

As respostas para estímulos de baixa frequência estão presentes quando o número de receptores livres é de apenas cerca de 20 a 25% do número total (WAUD & WAUD, 1972) e portanto não podem ser utilizadas com segurança como indicador de transmissão neuromuscular normal. Apresentam como dificuldade adicional a necessidade de que seja feita a comparação com a amplitude das respostas musculares antes da curarização (ALI e cols, 1970; ALI & SAVARESE, 1976). GISSEN & KATZ (1969) apontaram as respostas à estimulação com pulsos de frequências tetanizantes como indicador mais sensível de bloqueio do que as respostas a estímulo de baixa frequência e também do que a facilitação pós-tetânica. A recuperação da transmissão neuromuscular pode ser considerada a-

dequada quando a amplitude das respostas para estímulos de baixa frequência atingir a amplitude inicial e o tétano causado pela estimulação com pulsos de 50 Hz de frequência for bem mantido (KATZ, 1967 e 1974). Nestas condições o número de receptores livres está entre 25 e 50% do número total e a capacidade vital alcança valores de 90% dos níveis de controle (WALTS e cols, 1970). Embora, o tétano com frequência acima de 50 Hz tenha sido preconizado como indicador mais sensível da transmissão neuromuscular (WAUD & WAUD, 1972), há evidências de que a estimulação com frequência acima de 50 Hz, a menos que os estímulos sejam aplicados por períodos menores de que 2 segundos, possa produzir fadiga na ausência de relaxantes neuromusculares (GALINDO, A. 1972; STANEC e cols, 1978). Para estes autores, a resposta a estímulos de 50 Hz, aplicados durante 10 segundos, é um bom indicador da integridade da transmissão neuromuscular, uma vez que, na ausência de relaxantes neuromusculares, o tétano e a tensão pós-tetânica estão mantidos. Também, KATZ (1974, e 1975) vem utilizando tétanos obtidos com estímulos de 50 Hz para avaliação da função neuromuscular, com resultados satisfatórios.

Pelos motivos expostos foi utilizado como critério de avaliação da reversão do bloqueio neuromuscular pelas diferentes drogas em estudo a amplitude das respostas para estímulos de baixa frequência e a capacidade de manter o tétano provocado por estímulos de 50 Hz. Numa tentativa de quantificar o grau de bloqueio residual, empregou-se o cálculo da relação entre a amplitude das respostas para estímulos de baixa frequência antes e após o tétano (LEE e cols; SATANEC e cols, 1978). Embora possa ocorrer facilitação pós-tetânica na au-

sência de drogas bloqueadores neuromusculares (ALI e cols, 1970 ; ALI & SAVARESE, 1976; STANEC e cols, 1978), a presença de facilitação pós tetânica pode ser considerada como indicativa de bloqueio residual pelos curares (GISSEN & KATZ, 1969; ALI & SAVARESE, 1976). A relação entre a amplitude da primeira resposta a estímulo de baixa frequência após o tétano e a da que precede o tétano avalia o grau de bloqueio residual. Quanto menor esta relação, menor será portanto o bloqueio (de JONG & FREUND, 1967; GISSEN & KATZ, 1969). Como a facilitação pós tetânica depende da frequência e da duração do tétano e ainda do intervalo entre o tétano e o reinício dos estímulos de baixa frequência (GISSEN & KATZ, 1969; ALI & SAVARESE, 1976; STANEC e cols, 1978), foram utilizados em todas as experiências, tétanos de 50 Hz com duração de 5 segundos e o reinício da estimulação de baixa frequência após o tétano foi feita após 2,5 segundos.

V - 2.3. Pressão Arterial

Os resultados obtidos mostraram que, após a injeção de 3.4-diaminopiridina, houve elevação na pressão arterial média dos cães. A elevação da pressão arterial, verificada tanto para o sub-grupo da 3.4diaminopiridina 0,1 mg/Kg de peso como para o sub-grupo da 3.4-diaminopiridina 0,2 mg/Kg de peso, foi de intensidade variável; o tempo de instalação e a duração também foram variáveis (Tabelas XXIX e XXXI).

Nossos resultados estão de acordo com os dados de VOHRA & PRADHAN (1964). Utilizando gatos anestesiados com pentobarbital sódico, estes autores, verificaram que a 3.4-diaminopiri-

dina, em doses variando entre 0,2 mg e 2 mg/Kg de peso, produz elevação da pressão arterial de graus variáveis e dependente do nível pressórico antes da administração da droga. Pequenas doses (0,2 mg a 1 mg/kg de peso) determinam elevação pequena mas duradoura, enquanto o aumento provocado por doses maiores (1 mg a 1,75 mg/kg de peso) pode ser tanto de pequena como de grande duração. Doses de 1,75 mg a 2 mg/Kg de peso determinam sempre grande aumento de pressão arterial que, no entanto, é precedido por fase de diminuição.

O efeito sobre a pressão arterial da 3.4-diaminopiridina parece depender de mecanismos diversos. Um deles seria a liberação de catecolaminas da suprarrenal e das terminações dos nervos adrenérgicos, uma vez que a adrenalectomia bilateral não abole, mas diminui a intensidade e a duração do aumento da pressão. Também animais tratados com reserpina ou com bloqueadores adrenérgicos apresentam aumentos de pressão arterial de menor intensidade e duração em resposta a 3.4-diaminopiridina. Outro possível mecanismo seria ação vasoconstrictora direta sobre a musculatura lisa dos vasos sanguíneos, uma vez que o efeito pressórico da 3.4-diaminopiridina ainda persiste mesmo após o uso de reserpina ou de bloqueadores adrenergicos. Além destes mecanismos periféricos, que são predominantes, há ainda mecanismo central (VOHRA E PRADHAN 1964).

A 4-aminopiridina (0,4 mg a 1 mg/Kg de peso) eleva a pressão arterial de gatos anestesiados (FASTIER & McDOWALL, 1958; LEE e cols, 1978). Este efeito bastante prolongado parece resultar de ação vasoconstrictora da droga (FASTIER & McDOWALL, 1958). Também em cães a 4-aminopiridina provoca aumento de pressão arterial. De acordo com PASKOV e cols, (1973)

ocorre inicialmente diminuição para em seguida aparecer aumento de duração e intensidade variável com a dose. Em nosso estudo, embora todos os cães tivessem apresentado sinais de estimulação do sistema nervoso central, com as diferentes doses de 4-aminopiridina, não foram observadas alterações pronunciadas da pressão arterial. Tal fato nos faz admitir que o efeito da 4-aminopiridina sobre a pressão arterial seja devido principalmente ao mecanismo periférico.

Outros fatores podem ter se somado aos mecanismos citados como responsáveis pela alteração da pressão arterial observada em nossas experiências. O halotano produz diminuição da pressão arterial por atuar ao nível do coração determinando diminuição da força de contração do miocárdio, diminuição do volume sistólico, diminuição do débito cardíaco e ainda por produzir vasodilatação periférica. A depressão miocárdica está diretamente relacionada com o plano de anestesia atingido e portanto com a quantidade de anestésico que foi inalado (WYLIE & CHURCHILL-DAVIDSON, 1974).

No momento da injeção da droga anticurare a pressão arterial estava sempre em níveis mais baixos que os medidos antes do início da anestesia com halotano, demonstrando que, neste período, se faz presente a ação hipotensora do halotano. Como a injeção da droga anticurare é imediatamente precedida pela supressão do halotano, a ação da droga anticurare ocorre durante a superficialização da anestesia. Também o efeito analéptico da 3.4-diaminopiridina ou da 4-aminopiridina (- FASTIER & McDOWALL, 1958; VOHRA & PRADHAN, 1964), favorece a regressão da anestesia. A superficialização da anestesia pode, por si só, ser responsabilizada pela elevação da pressão arterial, verificada nas nossas experiências, uma vez que não foi

significativa a diferença entre as médias da pressão arterial medida antes do início da anestesia, com o halotano e 40 minutos depois da injeção de 3.4-diaminopiridina (0,1 mg/Kg de peso). Vale lembrar ainda, que tanto a 3.4-diaminopiridina como a 4-aminopiridina apresentam efeitos inotrópico e cronotrópico positivos (VOHRA E PRADHAN, 1964; MARTINEZ - AGUIRRE e cols, 1981) que podem antagonizar a depressão miocárdica produzida pelo halotano, permitindo uma elevação dos níveis pressóricos. Estes efeitos sobre o coração enquanto favorecem a indicação dessas drogas em condições onde haja depressão miocárdica provocada por anestésicos ou ainda em pacientes chocados, podem limitar seu uso em coronariopatas ou hipertensos (MARTINEZ - AGUIRRE e cols, 1981).

Os dados obtidos de experiências com diferentes espécies animais não têm sido confirmados na prática médica. Autores soviéticos que têm utilizado a 4-aminopiridina nos últimos 10 anos como principal agente de descurarização (PASKOV e cols, 1973; STOYANOV e cols, 1976) não referem alterações cardiovasculares produzidas pela droga quando usada na dose de aproximadamente 300 ug/Kg de peso. Recomendam-na como droga de escolha para reverter o bloqueio neuromuscular durante anestésias em pacientes portadores de moléstias cardiovasculares e/ou respiratórias (STOYANOV e cols, 1976).

Como já foi visto, nossos resultados mostraram no grupo da 3.4-diaminopiridina elevação da pressão arterial de pequena intensidade quanto ao aparecimento e duração; a associação da 3.4-diaminopiridina (0,1 mg/Kg de peso) com a neostigmina (0,025 mg/Kg de peso) não modificou este tipo de resposta. O teste de TUKEY mostrou que não há diferença signifi-

cativa entre os 2 sub-grupos. Por outro lado, a resposta individual apresentou variação altamente significativa nos dois grupos, o que nos leva a admitir padrão de variação de pressão arterial semelhante para os 2 sub-grupos.

No sub-grupo da neostigmina 0,025 mg/Kg de peso (Tabela XXXIII), a observação dos valores individuais medidos nos diversos tempos nos mostra um padrão de elevação de pressão arterial diferente dos sub-grupos anteriores. Ocorreu aumento progressivo a partir da supressão do halotano que, como já foi visto, coincide com a injeção da neostigmina. A variação individual não foi significativa.

Não serão discutidos os resultados do sub-grupo da neostigmina 0,05 mg/Kg de peso, uma vez que as repercussões da neostigmina nesta dose, quando não associada à atropina, sobre a pressão arterial e/ou frequência cardíaca são bastante conhecidas.

V - 2.3.2 . Frequência Cardíaca

Nossos resultados mostraram que, após a injeção de 3.4-diaminopiridina (0,1 mg/Kg de peso), ocorreu elevação da frequência cardíaca na maioria das experiências (Tabela XXX). Em apenas uma (9389), os valores aos 30 e 40 minutos de observação foram inferiores ao valor medido 15 minutos após a injeção da droga. Nas demais, o aumento verificado nos primeiros 15 minutos permaneceu durante o restante da experiência. No entanto, não podemos afirmar que a 3.4-diaminopiridina (0,1 mg/Kg de peso) tenha determinado elevação da frequên

cia cardíaca, porque embora em 2 experiências (8256 e 8331) os valores obtidos 40 minutos após a injeção da droga tenham sido superiores aos medidos antes do início da anestesia com halotano, o estudo estatístico demonstrou que não há diferença significativa entre as médias obtidas nesse dois tempos. Por outro lado, há diferença significativa entre o valor médio no momento da injeção da 3.4-diaminopiridina e o valor médio obtido após 30 minutos. Esta diferença é explicada pela superficialização da anestesia que, entre outros fatores, poderia estar sendo facilitada pelo efeito analéptico da 3.4-diaminopiridina (VOHRA & PRADHAN, 1964).

Quando se empregou a 3.4-diaminopiridina na dose de 0,2 mg/Kg de peso o efeito sobre a frequência cardíaca foi variável quanto à duração e a intensidade; após uma fase inicial de elevação ocorreu, em algumas experiências, diminuição e o valor médio obtido aos 40 minutos foi menor do que o obtido antes da anestesia com o halotano (Tabela XXXII).

A comparação dos nossos resultados com dados da literatura não foi possível, uma vez que não encontramos relato do efeito dessa droga sobre a frequência cardíaca em animais. Somente há, segundo parece, pesquisas sobre as ações da 3.4-diaminopiridina em coração isolado de cobaia. Nestas condições e em doses abaixo de 0,2 mg não ocorre nenhuma resposta do coração, mas, em doses entre 0,2 e 1 mg, verifica-se aumento da força de contração. A fase de cronotropismo positivo, algumas vezes, é seguida por outra de cronotropismo negativo (VOHRA E PRADHAN, 1964). O período de cronotropismo negativo pode ser a explicação para a diminuição da frequência por nós observada aos

40 minutos nas experiências do sub-grupo da 3.4-diaminopiridina 0,2 mg/Kg de peso (Tabela XXXII).

No sub grupo onde se empregou a neostigmina 0,025 mg/Kg de peso, em duas experiências, foi observada diminuição da frequência cardíaca, mas não é significativa a diferença entre os valores médios obtidos antes da anestesia com o halotano e aos 40 minutos após a injeção da neostigmina. Quando se associou esta dose de neostigmina com a 3.4-diaminopiridina (0,1 mg/Kg de peso) não houve diminuição da frequência cardíaca; ao contrário, os valores médios obtidos aos 30 e 40 minutos de observação foram superiores aos obtidos antes da anestesia. Isto nos leva a admitir que, embora quando empregada isoladamente na dose de 0,1 mg/Kg de peso não ocasione alterações significativas da frequência cardíaca, a 3.4-diaminopiridina, associada à neostigmina, pode evitar o aparecimento do efeito bradicardizante causado pela droga anticolinesterásica.

O aparecimento tardio de bradicardia neste grupo, consequente a uma possível maior duração de ação da neostigmina, não é esperado. Estudando a farmacocinética da 4-aminopiridina no homem, EVENHUIS e cols (1981) verificaram que, quando administrada por via endovenosa, após rápido declínio, ocorre elevação secundária dos níveis plasmáticos da droga. Esse pico secundário, coincidente com a diminuição da velocidade de eliminação, se verifica entre 20 e 60 minutos após a injeção. A partir de então, os níveis plasmáticos da 4-aminopiridina se mantêm estáveis durante aproximadamente 4 horas.

Não há pesquisas sobre a farmacocinética da 3.4-diaminopiridina, mas, segundo tudo indica, esta droga deve

comportar-se de maneira semelhante à 4-aminopiridina.

V - 2.3.3 . Junção Neuromuscular

A 3,4-diaminopiridina (0,2 mg/Kg de peso) antagonizou eficazmente o bloqueio neuromuscular quando se estimulou o nervo com pulsos de baixa frequência. Contudo a estimulação com pulsos de 50 Hz durante 5 segundos não estava mantida nem aos 20 minutos após a injeção da droga (Figura 34). Também a 4-aminopiridina quando empregada em dose suficiente para restaurar completamente a amplitude das respostas à estímulos de baixa frequência não foi capaz de reverter o bloqueio quando se empregaram estímulos de 50 Hz/5 seg. (Figura 33) na excitação indireta. Estes dados veem complementar os de VITAL BRAZIL (comunicação pessoal)resultantes de observações recentes onde foi constatado que, em cães não anestesiados, a 4-aminopiridina é incapaz de restituir a motricidade abolida pela administração do triiodetilato de galamina.

A 3,4-diaminopiridina e a 4-aminopiridina não antagonizam, pois, eficazmente o bloqueio a influxos de alta frequência. Isto nos levou a admitir que possam ocorrer problemas ventilatórios quando do uso de uma dessas drogas para reverter a curarização. No entanto, PASKOV e cols, (1973) e STOYANOV e cols (1976) mostram que os músculos da respiração se recuperam mais precocemente do que os esqueléticos. Relatam também que a 4-aminopiridina provoca aumento da frequência e da amplitude dos movimentos respiratórios. Embora não apresentassem nenhuma prova experimental, sugeriram que esses efeitos são devidos à ação central da droga.

Mais recentemente FOLGERING e cols (1979) tentaram

esclarecer este mecanismo. Em gatos anestesiados que haviam sido submetidos a vagotomia evidenciaram aumento nas descargas de potenciais do nervo frênico após administração da 4-aminopiridina. A explicação para esta verificação foi dada pelo aumento na liberação da acetilcolina provocada pela 4-aminopiridina ao nível de sinapses centrais.

STOYANOV e cols, (1976) relatam que a descurarização com a 4-aminopiridina traz desconforto para o paciente. Com efeito a capacidade de movimentar os braços ou manter a cabeça erguida durante alguns segundos só se restabelece 10 a 15 minutos após a administração da droga, enquanto, durante esse período, os pacientes recuperam a consciência, sendo capazes de obedecer a alguns comandos (PASKOV e cols, 1973; STOYANOV e cols, 1976).

Visando abolir estes inconvenientes e ainda evitar o aparecimento de efeitos estimulantes sobre o sistema nervoso central, estudamos a associação da 3.4-diaminopiridina em dose (0,1 mg/Kg de peso), que não se mostrou eficaz na reversão do bloqueio produzido pelo pancurônio, com a neostigmina (0,025 mg/Kg de peso) em dose menor do que aquela usada rotineiramente para descurarização. O uso de pequena dose de neostigmina teve ainda por finalidade como já citado anteriormente, evitar os inconvenientes do emprego prévio de atropina. Não nos foi possível efetuar o mesmo estudo com a associação de 4-aminopiridina e neostigmina, por que, em todas as experiências com as diferentes doses desta droga, os cães apresentaram sinais de estimulação central. Vale salientar que as doses de 4-aminopiridina por nós empregadas foram menores do que aquelas utilizadas por outros autores para di-

ferentes espécies animais (FASTIER & McDOWALL, 1958; PASKOV, 1973; LEE e cols, 1981).

O estudo do efeito antagonista de curare produzido pela associação de 4-aminopiridina com a neostigmina foi tentado por MILLER e cols (1978 e 1979). Estes autores entre-tanto apenas verificaram o efeito de potencialização das duas drogas quanto à regressão do bloqueio para influxos de baixa frequência que, sabidamente, é bem antagonizado pela 4-aminopiridina. Em nosso estudo, no sub-grupo onde a descurarização foi obtida com a associação de 3.4-diaminopiridina com a neostigmina, ao contrário do que havia sido verificado para os sub-grupos da 3.4-diaminopiridina isoladamente, o tétano (50 Hz durante 5 segundos) estava bem mantido já aos 10 minutos após a injeção da droga, demonstrando, portanto, uma potencialização do antagonismo também para influxos de frequência elevada. (Figura 36).

Também, a relação pós-pré tetânica foi menor para este sub-grupo quando comparado aos demais, confirmando potencialização dos efeitos na junção neuromuscular. Somente neste sub-grupo foi possível a retirada dos cães do ventilador . Nos sub-grupos da 4-aminopiridina 0,25 mg/kg de peso e da 3.4-diaminopiridina 0,2 mg/Kg de peso, embora os cães apresentassem esboço de movimentos respiratórios a ventilação controlada mecânica não pôde ser interrompida. Como já foi enfatizado, quando as respostas para estímulos de 50 Hz durante 5 segundos não estão bem mantidas, a capacidade vital está reduzida. Por isso preferimos manter os cães deste sub-grupo sob ventilação controlada mecânica para evitar possíveis repercussões de ventilação inadequada sobre a frequência cardíaca e

a pressão arterial. No sub-grupo da neostigmina 0,05 mg/Kg de peso, os cães apresentaram movimentos respiratórios de amplitude e frequência próximos dos níveis medidos antes da anestesia mas a ventilação controlada mecânica teve que ser reiniciada após o aparecimento das repercussões da neostigmina sobre o coração.

V - 2.3.4 . Sistema Nervoso Central

Embora a 3.4-diaminopiridina tenha ação estimulante sobre o sistema nervoso central, somente foram verificados sinais de estimulação central no sub-grupo da 4-aminopiridina . É importante lembrar que, em nossas experiências, a 4-aminopiridina foi utilizada em doses menores do que as empregadas por outros autores em experiências com diferentes espécies animais, ficando assim, comprovada maior sensibilidade dos cães quanto aos efeitos sobre o sistema nervoso central. O aparecimento de abalos musculares ou de convulsões como consequência dessa ação deve ser considerado como um sinal de alerta , porque a dose convulsivante da 4-aminopiridina é muito próxima da letal (FASTIER & McDOWALL, 1958).

A dose letal de 4-aminopiridina varia com a espécie animal e, entre os mamíferos, os cães, como já salientado, são os mais sensíveis. A Tabela XXXIX reúne valores da DL_{50} da 4-aminopiridina para alguns mamíferos e nela podemos observar que, quando utilizada sob a forma de sal (cloridrato), a 4-aminopiridina apresenta uma DL_{50} muito maior do que quando empregada sob a forma de base para a mesma via de administração. Também podemos observar que quando utilizada sob forma de base não há variações importantes da DL_{50} com a via de adminis-

tração para a mesma espécie animal. A Tabela XXXIX reúne ainda valores da DL_{50} da 3.4-diaminopiridina em camundongos. Não foram encontrados na literatura valores de DL_{50} desta droga em cães e por isso não nos foi possível relacioná-los.

Quando comparamos os valores da DL_{50} da 4-aminopiridina com os da 3.4-diaminopiridina em camundongos, verificamos que são aproximadamente duas vezes menores, mostrando o menor efeito sobre o sistema nervoso central da 3.4-diaminopiridina. Este fato aliado à sua maior capacidade de aumentar a liberação de acetilcolina na junção neuromuscular quando comparada com a 4-aminopiridina indica maior margem de segurança quanto a fenômenos tóxicos com o uso dessa droga (HARVEY & MARSHALL, 1977; MOLGÓ e cols, 1980).

TABELA - XXXIX

Valores da DL₅₀ da 4-aminopiridina e da 3.4-diaminopiridina, administradas por diferentes vias, em cães e camundongos

DROGA	ESPÉCIE	VIA	VEÍCULO	DL ₅₀ (mg/Kg)	FONTE
4-AP	cão	oral	pó	11,9 (HCl)	SCHAFER e cols,1973
4-AP	cão	oral	cápsula	4,0	SCHAFER e cols,1973
4-AP	cão	oral	água	3,7	SCHAFER e cols,1973
4-AP	cão	IM	água	3,5	SCHAFER e cols,1973
4-AP	camundongo	ip	-	10,0	VOHRA e cols,1965
4-AP	camundongo	sc	água	5,0	SCHAFER e cols,1973
3.4-DAP	camundongo	ip	-	20,0	VOHRA e cols, 1965
3.4-DAP	camundongo	sc	-	35,0	VOHRA e PRADHAN, 1964

IM = intra muscular

ip = intra peritonial

sc = sub cutânea

HCl= 4-aminopiridina sob forma de cloridrato

VI - C O N C L U S Õ E S

VI - CONCLUSÕES

- 1 - As aminopiridinas não são antagonistas satisfatórios das drogas curarizantes porquanto não revestem o bloqueio a in fluxos nervosos de frequências elevadas causando pelos com postos em questão.
- 2 - As aminopiridinas potencializam o efeito anticurare da neostigmina.
- 3 - É plenamente satisfatório em cães, o uso da associação da 3.4-diaminopiridina com a neostigmina, em doses que não produzem efeitos colaterais quer isoladamente, quer em associação, como antagonista do bloqueio causado pelas drogas curarizantes.
- 4 - Os resultados desta pesquisa sugerem o estudo no homem a associação de 3.4-diaminopiridina com a neostigmina, para re verter o bloqueio provocado pelos relaxantes musculares - que atuam por competição.

VII - R E S U M O

R E S U M O

Os efeitos sobre a junção neuromuscular da 4-aminopiridina (1; 5 e 25 ug/ml), da 3.4-diaminopiridina (1; 5 e 25 ug/ml) bem como das associações dessas drogas com a neostigmina, foram estudadas em preparações, nervo frênico-diafragma de ratos, não curarizadas (Grupo I) e em preparações curarizadas pela d-tubocurarina (2 ug/ml). (Grupo II)

Nos dois grupos as preparações foram submetidas a estimulação indireta com pulsos de baixa frequência (0,1Hz) ou frequências elevadas (2,5; 5 ... 50 Hz). Nas preparações não curarizadas submetidas à estímulos supramaximais de baixa frequência foi constatado que: 1) as aminopiridinas e a neostigmina determinam aumentos das respostas dos diafragmas na dependência da dose e do tempo; 2) as associações tanto da 4-aminopiridina como da 3.4-diaminopiridina com a neostigmina, produzem aumentos das tensões dos diafragmas maiores do que aqueles obtidos quando as drogas foram empregadas isoladamente, demonstrando potencialização dos efeitos sobre a junção neuromuscular.

As aminopiridinas antagonizaram totalmente o bloqueio produzido pela d-tubocurarina quando foram empregados estímulos de baixa frequência, mas não se mostraram eficazes quando foram usados impulsos de frequência acima de 5 Hz. A associação com a neostigmina sempre melhorou a transmissão neuromuscular a impulsos de frequências elevadas.

Os estudos dos efeitos sobre a pressão arterial, frequência cardíaca, sistema nervoso central e ainda do efeito antagonista de curare das diferentes drogas e associações foram

realizados em cães anestesiados com o halotano, naquais a curarização foi obtida com pancurônio (0,04 mg/Kg de peso).

A avaliação da função neuromuscular foi realizada aos 10 e aos 20 minutos após a injeção da droga anticurare utizando-se as respostas, do músculo tibial anterior, a estímulos indiretos de baixa frequência, a capacidade de manter o tétano obtido com pulsos de 50 Hz de frequência durante 5 segundos, a presença ou não de facilitação pós tetânica.

Observamos que nas doses estudadas: 1) somente a 4-aminopiridina ocasionou estimulação do sistema nervoso central; 2) as aminopiridinas não antagonizaram eficazmente o bloqueio a influxos de 50 Hz, embora, as maiores doses tivessem antagonizado totalmente o bloqueio a influxos de baixa frequência; 3) a associação da 3.4-diaminopiridina (0,1 mg/Kg de peso) com a neostigmina (0,025 mg/Kg de peso) antagonizou eficazmente o bloqueio a influxos de frequência elevada demonstrando uma potencialização de efeitos sobre a junção neuromuscular; 4) não foram observadas alterações da pressão arterial da frequência ou do ritmo cardíacos com uso desta associação. Os resultados desta pesquisa sugerem que o emprego da associação da 3.4-diaminopiridina com a neostigmina como antagonista de curare pode ser vantajoso naquelas condições clínicas onde devem ser evitados os efeitos da neostigmina e/ou da atropina sobre o coração.

VIII- S U M M A R Y

SUMMARY

The effects of 4-aminopyridine (1; 5 and 25 ug/ml), 3,4-diaminopyridine (1; 5 and 25 ug/ml) as well as the association of the drugs with neostigmine, were investigated using the noncurarized rat's phrenic nerve-hemidiaphragm preparations and d-tubocurarine-blocked preparations. The preparations were treated by two different procedures; indirect stimulation by low frequency (0.1 Hz) and stimulation at higher frequencies (2.5; 5; 10;50 Hz).

In the noncurarized preparations submitted to stimuli of low frequency it was found that: 1) the aminopyridines and neostigmine produced an augmentation of maximal twitch height which depends on concentration and time; 2) the association of both pyridines with neostigmine produce increases in the diaphragm twitch tension which were larger than those obtained when the drugs were used without neostigmine demonstrating a potentiation of effects.

The aminopyridines reversed a 80% d-tubocurarine block of twitches elicited by indirect stimulation, but they were not found to be effective when stimuli above 5 Hz of frequency were used. Association with neostigmine enhanced antagonism by aminopyridines in a dose-dependent manner.

Studies of the effects on arterial pressure, cardiac frequency, central nervous system and also the antagonist effect of pancuronium-induced neuromuscular blockade of different drugs and associations were carried out in halothane anesthetized dogs. Using the responses of the anterior tibial muscle to low frequency stimuli, the capacity to maintain the tetanus

obtained with stimuli of 50 Hz during 5 seconds and posttetanic facilitation, the evaluation of neuromuscular functions, was done at 10 and 20 minutes after the injection of anticurare drug.

It was observed that for the doses studied: 1) only 4-aminopyridine caused stimulation of the central nervous system; 2) the aminopyridines do not efficiently antagonize the blockade to the influxes created by 50 Hz although large doses have totally antagonized the blockade of low frequency influxes; 3) the association of 3,4-diaminopyridine (0.1 mg/Kg) - with neostigmine (0.025 mg/Kg) efficiently antagonized the neuromuscular block to influxes caused by elevated frequency stimulation demonstrating a potentiation of effects on neuromuscular junctions; 4) there were not observed alterations in arterial pressure, in cardiac frequency or with the use of this association. The results of this research suggest that the use of the 3,4-diaminopyridine - neostigmine association, as an antagonist of curare, can be advantageous in those clinical conditions where the effects of neostigmine and/or atropine on the heart must be avoided.

IX - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGOSTON, S. Basic pharmacology and possible therapeutics applications of 4-aminopyrine. INT. BOERKAAVE COURSE "DEVELOPMENTS IN DRUGS USED IN ANESTHESIA, May 7/8, 1981. Leiden, Netherlands. (15 p.)
- ALI, H. H. & SAVARESE, J. J. Monitoring of neuromuscular function. Anesthesiology, 45:216-45, 1976.
- _____; UTTING, J. E. & GRAY, C. Stimulus frequency in the detections of neuromuscular block in humans. Brit. J. Anaesth., 42:967-78, 1970.
- BIGLAND, B.; GOETZER, B.; MacLAGAN, J. & ZAIMIS, E. The effect of lowered muscle temperature on the action of neuromuscular blocking-drugs. J. Physiol (Lond.), 141:425-34, 1958.
- BOOIJ, L. H. D. J. ; MILLER, R. D. & CRUL, J. F. Neostigmine and 4-aminopyridine antagonism of lincomycin-pancuronium neuromuscular blockade in man. Anesth. Analg. (Cleveland), 57:316-21, 1978.
- _____; van der PLOEG, G. C. J.; CRUL, J. F. & MUYTJENS, H. L. Do neostigmine and 4-aminopyridine inhibit the antibacterial activity of antibiotics? Brit. J. Anaesth., 52:1097-100, 1980.
- BOWMAN, W.; RAND, M. J. & WEST, G. B. Properties of muscle. In: _____. Textbook of pharmacology. 5.ed. London, Blackwell, 1972. Cap. 7, p.190-203.
- _____; HARVEY, A. L. & MARSHALL, I. G. The actions of aminopyridines on avian muscle. Naunyn Schmiedberg's Arch. Pharmacol., 297:99-103, 1977.
- BULBRING, E. Observations on the isolated phrenic nerve diaphragm on the rat. Brit. J. Pharmacol., 1:38-40, 1946.

- BURKETT, L.; BIKHAZI, G. B.; THOMASK, C.; ROSENTHAL, D.A.; WIRTA, M. G. & FOLDES, F. F. Mutual potentiation of the neuromuscular effects of antibiotics and relaxants. Anesth. Analg. (Cleveland), 58:107-15, 1979.
- CANNARD, T. H. & ZAIMIS, E. The effect of lowered muscle temperature on the action of neuromuscular blocking-drugs in man. J. Physiol. (Lond.), 149:112-19, 1959.
- CLUTTON-BROCK, J. Death following neostigmine. Brit. Med. J., 1:1007, 1949.
- De JONG, R. H. & FREUND, F. G. Characteristics of the neuromuscular block with succinylcholine and decamethonium in man. Anesthesiology, 28:583-91, 1967.
- DODGE Jr., F. A. & RAHAMINOFF, R. Co-operative action of calcium ions in transmitter release at the neuromuscular junction. J. Physiol., 193:419-32, 1967.
- DOLON Jr., J. V.; ALI, H. H. & SAVARESE, J. J. A new approach to the study of four nondepolarizing relaxants in man. Anesth. Analg. (Cleveland), 53:934-39, 1974.
- DURANT, N. N. & MARSHALL, L. G. The effects of 3,4-diaminopyridines on spontaneous and evoked transmitter release at the frog neuromuscular junction. J. Physiol., 280:21P, 1978.
- EVENHUIS, J.; AGOSTON, S.; SALT, P. J.; de LANGE, A.R.; WOUTHUYZEN, W. & ERDMANN, W. Pharmacokinetics of 4-aminopyridine in human volunteers. A preliminary study using a new GLC method for its estimation. Brit. J. Anaesth., 53:567-70, 1981.
- FASTIER, F. V. & McDOWALL, M. A. A comparison of the pharmacological properties of the three isomeric aminopyridines. Aust. J. exp. Biol. med. Sci., 36:365-72, 1958.
- FOLDES, F. F.; KLONIMUS, D. H.; MAISEL, W.; SCIAMMAS, F. & PAN,

- T. Studies of pancuronium in conscious and anesthetized man. Anesthesiology, 35:496-503, 1971.
- FOLGERING, H.; RUTTEN, J. & AGOSTON, S. Stimulation of phrenic nerve activity by an acetylcholine releasing drug: 4-aminopyridine. Pflügers Arch., 379:181-85, 1979.
- GALINDO, A. The role of prejunctional effects in myoneural transmission. Anesthesiology, 36:598-608, 1972.
- GISSEN, A. J. & KATZ, R. L. Twitch, tetanus and posttetanic potentiation as indices of nerve-muscle block in man. Anesthesiology, 30:481-87, 1969.
- HARVEY, A. L. & MARSHALL, I. G. The facilitatory actions of aminopyridine and tetraethylammonium on neuromuscular transmission and muscle contractility in avian muscle. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 299:53-60, 1977.
- _____ & _____. The actions of three diaminopyridines on the chick biventer cervicis muscle. Europ. J. Pharmacol., 44:303-09, 1977.
- HILL, M. Death after neostigmine injection. Brit. Med. J., 2:601, 1949.
- HORN, A. S.; LAMBERT, J. J. & MARSHALL, I. G. A comparison of the facilitatory actions of 4-aminopyridine methiodide and 4-aminopyridine on neuromuscular transmission. Brit. J. Pharmacol., 65:53-62, 1979.
- HUBBARD, J. I.; JONES, S. F. & LANDAU, E. M. On the mechanism by which calcium and magnesium affect the release of transmitter by nerve impulses. J. Physiol., 196:75-86, 1968.
- HUGHES, R. & CHAPPLE, D. J. Effects of non depolarizing neuromuscular blocking agents on vagal and sympathetic mechanisms in cats. Brit. J. Anaesth., 47:633-34, 1975.

- ILLES, P. & THESLEFF, S. 4-aminopyridine and evoked transmitter release from motor nerve endings. Brit. J. Pharmacol., 64:623-29, 1978.
- JACOBS, R. S. & BURLEY, E. S. Nerve terminal facilitatory action of 4-aminopyridine: an analysis of the rising phase of the endplate potential. Neuropharmacology, 17:439, 1978.
- JOHNS, A.; GOLKO, D. S.; LAUZON, P. A. & PATON, D. M. The potentiating effects of 4-aminopyridine on adrenergic transmission in the rabbit vas deferens. Europ. J. Pharmacol., 38:71-8, 1976.
- KATZ, B. Transmission of signals across neuronal synapses. In: _____. Nerve, muscle and synapses. New York, McGraw-Hill, 1966. Cap.10, p.155-6.
- KATZ, R. L. Pyridostigmin (Mestinon) as an antagonist of d-tubocurarine. Anesthesiology, 28:528-34, 1967.
- _____. Modification of the action of pancuronium by succinylcholine and halothane. Anesthesiology, 35:602-6, 1971.
- _____. What's new and old but true in muscle relaxants. In: HERSHEY, S. G., ed. Refresher courses in anesthesiology. Philadelphia, J. B. Lippincott, 1974. v.2, cap.10, p.117-32.
- _____ & KATZ, G. J. Clinical considerations in the use of muscle relaxants. In: _____. Muscle relaxants. Amsterdam, Excerpta Medica, 1975. p.313-34. (Monographs in Anesthesiology, v.3).
- KIRSCH, G. E. & NARASHI, T. 3,4-diaminopyridine a potent new potassium channel blocker. Biophys. J., 22:507-12, 1978.
- LAWSON, J. I. Cardiac arrest following the administration of neostigmine. Brit. J. Anesth., 28:336, 1956.
- LEE, C.; CHEND, D. & KATZ, R. L. Characteristic of nondepolarizing neuromuscular block. I. Post junctional block alpha bungarotoxin. Canad. Anaesth. Soc. J., 24:212-47, 1977.

- LEE, C. ; De SILVA, A. J. C. & KATZ, R. L. Antagonism of polymyxin B-induced neuromuscular and cardiovascular depression by 4-aminopyridine in the anesthetized cat. Anesthesiology, 49:256-59, 1978.
- LEMEIGNAN, M. & LECHAT, P. Sur l'action anticurare des aminopyridines. C. R. Acad. Sci. Paris, 264:169-72, 1967.
- LUNDH, H. Effects of 4-aminopyridine on neuromuscular transmission. Brain Res., 153:307-18, 1978.
- _____ & THESLEFF, S. The mode of action of 4-aminopyridine and guanidine on transmitter release from motor nerve terminals. Europ. J. Pharmacol., 42:411-12, 1977.
- _____ ; LEANDER, S. & THESLEFF, S. Antagonism of the paralysis produced by botulinum toxin in the rat. J. Neurol. Sci., 32: 29-43, 1977.
- _____ ; NILSSON, O. & ROSEN, I. 4-aminopyridine a new drug tested in the treatment of Eaton-Lambert Syndrome. J. Neurol. Psychiat., 40:1109-12, 1977.
- _____ ; _____ & _____. Effects of 4-aminopyridine in myasthenia gravis. J. Neurol. Psychiat., 42:171-75, 1979.
- MACINTOSH, R. R. Death following injection of neostigmine. Brit. Med. J., 1:852, 1949.
- MARTINEZ-AGUIRRE, E.; WIKINSKI, J. A.; IZQUIERDO, J.; GARCIA, A. & VELARDE, H. Effect of 4-aminopyridine on cardiovascular functions in the dog. Canad. Anaesth. Soc. J., 28:114-20, 1981.
- MATSUO, S.; RAO, D. B. S.; CHAUDRY, I. & FOLDES, F. F. Interaction of muscle relaxants and local anesthetics at the neuromuscular junction. Anesth. Analg. (Cleveland), 57:580-87, 1978.

- MILLER, R. D. Factors affecting the muscle relaxants. In: KATZ, R. L., ed. Muscle relaxants. Amsterdam, Excerpta Medica, 1975. p.163-91. (Monographs in Anesthesiology, v.3).
- _____. Antagonism of neuromuscular blockade. Anesthesiology, 44:318-28, 1976.
- MILLER, R. D.; DENNISSEN, P.A.F.; van der POL, F.; AGOSTON, S.; BOOIJ, L. H. D. J. & CRUL, J. F. Potentiation of neostigmine and pyridostigmine by 4-aminopyridine in the rat. J.Pharm. Pharmacol., 30:699-702, 1978.
- MILLER, R. D.; BOOIJ, L. H. D. J.; AGOSTON, S. & CRUL, J. F. 4-aminopyridine potentiates neostigmine and pyridostigmine in man. Anesthesiology, 50:416-20, 1979.
- MOLGÓ, J.; LEMEIGNAN, M. & LECHAT, P. Effects of 4-aminopyridine at the frog neuromuscular junctions. J. Pharmacol., 203: 653-63, 1977.
- _____; _____; UCHIYAMA, T.; LECHAT, P. Inhibitory effect of kanamycin on evoked transmitter release reversal by 3,4-diaminopyridine. Europ. J. Pharmacol., 57:93-7, 1979.
- _____; LUNDH, H. & THESLEFF, S. Potency of 3,4-diaminopyridine and 4-aminopyridine on mammalian neuromuscular transmission and the effect of pH changes. Europ. J. Pharmacol., 61:25-34, 1980.
- NGAI, S. H. Action of general anesthetics in producing muscle relaxation: interaction of anesthetics with relaxants. In: KATZ, R. L., ed. Muscle relaxants. Amsterdam, Excerpta Medica, 1975. p.279-97. (Monographs in Anaesthesiology, v.3).
- OWENS, W. D.; WALDBAUM, L. S. & STEPHEN, C. R. Cardiac dysrhythmia following reversal of neuromuscular blocking agents in geriatric patients. Anesth. Analg. (Cleveland), 57:186-90, 1978.

- PASKOV, D. S.; STOYANOV, E. A. & MIROV, V. V. New anticurare and analeptic drug pimadin and its use in anesthesia. Elsp. Khir. Anesthesiol., 18:48-52, 1973.
- PELHATE, M. & PICHON, Y. Selective inhibition of potassium current in the giant axon of the cockroach. J. Physiol. (London), 90-1(P), 1974.
- PIMENTEL GOMES, F. Experimentos em parcelas sub divididas; experimentos em faixas. In: _____. Curso de Estatística experimental. 3.ed. Piracicaba, E.S.A.Luiz de Queiroz, 1963. Cap.9, p.198-229.
- POOLER, H. E. Atropine, neostigmine and sudden death. Anaesthesia, 12:198. 1957.
- ROSENBLUETH, A. & MORISON, R. S. Curarization, fatigue and Wedensky inhibition. Amer. J. Physiol., 119:236-56, 1937.
- ROSNER, V.; KEPES, E. R. & FOLDES, F. F. The effects of atropine and neostigmine on heart rate and rhythm. Brit. J. Anaesth., 43:1066-73, 1971.
- SALEM, M. R.; YLAGAN, L. B.; ANGEL, J. J.; VEDAM, V. S. & COLLINS, V.J. Reversal of curarization with atropine-neostigmine mixture in patients with congenital cardiac disease. Brit. J. Anaesth., 42:991-98, 1970.
- SAVARESE, J. J. & KITZ, R. J. Pharmacology of relaxants. In: HERSHEY, S. G., ed. Refresher courses in anesthesiology. Philadelphia, J. B. Lippincott, 1975. v.3, cap.14, p.153-70.
- SCHAFER Jr., E. W.; BRUNTON, R. B. & CUNNINGHAM, D. J. A summary of the acute toxicity of 4-aminopyridine to birds and mammals. Toxicol. appl. Pharmacol., 26:532-38, 1973.
- SCHAUF, C. L.; COLTON, C. A.; COLTON, J. S. & DAVIS, F. A. Aminopyridines and sparteine as inhibitors of membrane potassium

conductance: effects on Myxicola giants axons and the lobster neuromuscular junction. J. Pharmacol., 197:414-24, 1976.

SINGH, Y. N.; MARSHALL, I. G. & HARVEY, A. L. Reversal of antibiotic-induced muscle paralysis by 3,4-diaminopyridine. J. Pharm. Pharmacol., 30:249-50, 1978.

_____; _____ & _____. Some effects of the aminoglycoside antibiotic amikacin on neuromuscular and autonomic transmission. Brit. J. Anaesth., 50:109-17, 1978.

SOBEK, V.; LEMEIGNAN, M.; STREICHENBERGER, G.; BENOIST, J. M.; GOGUEL, A. & LECHAT, P. Étude sur le diaphragme isolé de rat de l'antagonisme entre substances curarizantes et aminopyridines. Arch. int. Pharmacodyn., 171:356-58, 1968.

STANEC, A.; HEYDUC, J.; STANEC, G. & ORKIN, L. R. Tetanic fade and post-tetanic tension in the absence of neuromuscular blocking agents in anesthetized man. Anesth. Analg. (Cleveland), 57:102-7, 1978.

STOYANOV, E.; VULCHEV, P.; SHTUBOVA, M. & MARINOVA, M. Clinical electromyomechanographic and electromyographic studies in decurarization with pymadine. Anaesth. Resus. Inter. Therap., 4:139-42, 1976.

THESLEFF, S. The mode of neuromuscular block caused by acetylcholine, nicotine, decamethonium and succinylcholine. Acta Physiol. Scand., 34:218-31, 1955.

_____. The physiology of neuromuscular transmission. In: SYMPOSIUM der SCHWEIZERISCHEN AKADEMIE der MEDIZINISCHEN WISSENSCHAFTEN, 24/25 Juni, Zurich, 1966. Curare. Basel, Schwabe, 1967. p.443-49.

ULBRICHT, W. & WAGNER, H. H. Block of potassium channels of the nodal membrane by 4-aminopyridine and its partial removal on depolarization. Pflügers Arch., 367:77-87, 1976.

VITAL BRAZIL, O. & CORRADO, A. P. The curariform action of streptomycin. J. Pharmacol. Exp. Ther., 120:452-59, 1957.

_____ & PRADO-FRANCESCHI, J. The nature of neuromuscular block produced by neomycin and gentamicin. Arch. Int. Pharmacodyn., 179:78-85, 1969.

_____; FONTANA, M. D. & HELVANY, N. F. Effect of 4-aminopyridine on the neuromuscular blockade produced by crotoxin. Toxicon, 17(Suppl. 1):16, 1979.

_____. Farmacologia da junção neuromuscular. In: CORBETT, C. E., ed. Farmacodinâmica. 6.ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan. [No prelo]

VOHRA, M. M. & PRADHAN, S. N. Pharmacology of 3,4-diaminopyridine. Arch. int. Pharmacodyn., 150:413-24, 1964.

_____; _____; CHATTERJEE, S. K. & ANAND, N. Synthesis and structure-activity relationships of some aminopyridines, imidazopyridines and triazolopyridines. J. Med. Chem., 8:296-304, 1965.

YEH, J. Z.; OXFORD, G. S.; WU, C. H. & NARASHI, T. Interactions of aminopyridines with potassium channels of squid axon membranes. Biophys. J., 16:77-81, 1976.

WALTS, L. F.; LEVIN, N. & DILTON, J. B. Assessment of recovery from curare. JAMA, 213:1894-96, 1970.

WAUD, B. E. & WAUD, D. R. The relation between the response to "train of four" stimulation and receptor occlusion during competitive neuromuscular block. Anesthesiology, 37:413-17, 1972.

WYLIE, W. D. & CHURCHILL-DAVIDSON, H. C. Colinesterases e anti-colinesterasicos. In: _____. Anestesiologia. 3.ed. Guanabara, Guanabara Koogan, 1974. Cap.32, p.602-3.

A P Ê N D I C E

- TRATAMENTO ESTATÍSTICO
- TABELAS, e
- FIGURAS

TRATAMENTO ESTATÍSTICOSÍMBOLOS E ABREVIATURAS EMPREGADAS

D.M.S = diferença mínima significativa

N.S = diferença não significativa

* = diferença significativa ao nível de 5%

* * = diferença significativa ao nível de 1%

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

(4-aminopiridina)

Causas de Variação	Graus de Liberdade	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F
CONCENTRAÇÃO	2	6187,86	3093,930	21,96
RESÍDUO A	15	2112,92	140,8613	
TOTAL	17	8300,78		
TEMPO	3	4929,446	1643,1489	245,22
CONCENTRAÇÃO x TEMPO	6	2802,806	467,1344	69,71
RESÍDUO B	45	301,5270	6,7006	
TOTAL	54	8033,780		
TOTAL GERAL	71	16333,78		

4-AMINOPIRIDINA

A - D.M.S. entre duas médias de concentrações diferentes

(aos 5')

CONCENTRAÇ.	5 ug/ml	25ug/ml
1 ug/ml	N.S.	* *
	5 ug/ml	* *

(aos 10')

CONCENTRAÇ.	5 ug/ml	25 ug/ml
1 ug/ml	N.S.	* *
	u ug/ml	* *

(aos 20')

CONCENTRAÇ.	5 ug/ml	25 ug/ml
1 ug/ml	* *	* *
	5 ug/ml	* *

B - D.M.S. entre tempos de uma mesma concentração

(1 ug/ml)

TEMPO	5'	10'	20'
0	N.S.	N.S.	N.S.
	5'	N.S.	N.S.
		10'	N.S.

(5 ug/ml)

TEMPO	5'	10'	20'
0	N.S.	N.S.	*
	5'	N.S.	N.S.
		10'	N.S.

(25 ug/ml)

TEMPO	5'	10'	20'
0	* *	* *	* *
	5'	N.S.	N.S.
		10'	N.S.

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

3.4-diaminopiridina

Causas de Variação	Graus de Liberdade	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F
CONCENTRAÇÃO	2	6475,20	3237,60	24,24
RESÍDUO A	15	2003,04	133,536	
TOTAL	17	8478,24		
TEMPO	3	6769,0456	2256,3485	136,66
CONCENTRAÇÃO x TEMPO	6	2782,2444	463,7074	33,63
RESÍDUO B	45	620,370	13,7860	
TOTAL	54	10171,660		
TOTAL GERAL	71	18649,90		

3.4 - DIAMINOPIRIDINA

A - D.M.S. entre duas médias de concentração diferentes

(aos 5')

CONCENTRAÇ.	5 ug/ml	25 ug/ml
1 ug/ml	* *	* *
	5 ug/ml	* *

(aos 10')

CONCENTRAÇ.	5 ug/ml	25 ug/ml
1 ug/ml	* *	* *
	5 ug/ml	* *

(aos 20')

CONCENTRAÇ.	5 ug/ml	25 ug/ml
1 ug/ml	* *	* *
	5 ug/ml	* *

B - D.M.S. entre tempos de uma mesma concentração

(1 ug/ml)

TEMPO	5'	10'	20'
0	N.S.	N.S.	N.S.
	5'	N.S.	N.S.
		10'	N.S.

(5 ug/ml)

TEMPO	5'	10'	20'
0	N.S.	*	* *
	5'	N.S.	N.S.
		10'	N.S.

(25 ug/ml)

TEMPO	5'	10'	20'
0	* *	* *	* *
	5'	N.S.	N.S.
		10'	N.S.

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

Neostigmina

Causas de Variação	Graus de Liberdade	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F
CONCENTRAÇÃO	2	3675,250	1837,6250	27,15
RESÍDUO A	15	1015,250	67,683	
TOTAL	17	4690,500		
TEMPO	3	3442,7777	1144,2592	49,06
CONCENTRAÇÃO x TEMPO	6	2899,3063	483,2177	20,72
RESÍDUO B	45	1049,4160	23,3204	
TOTAL	54	7381,5000		
TOTAL GERAL	71	12072,000		

NEOSTIGMINA

A - D.M.S. entre duas médias de concentrações diferentes

(aos 5')

CONCENTRAÇ.	0,1 ug/ml	0,5 ug/ml
0,02 ug/ml	N.S	* *
	0,1 ug/ml	* *

(aos 10')

CONCENTRAÇ.	0,1 ug/ml	0,5 ug/ml
0,02 ug/ml	* *	* *
	0,1 ug/ml	N.S:

(aos 20')

CONCENTRAÇ.	5 ug/ml	25 ug/ml
1 ug/ml	* *	* *
	5 ug/ml	N.S.

B - Diferença M.S. entre tempos de uma mesma concentração

(0,02 ug/ml)

TEMPO	5'	10'	20'
0	N.S.	N.S.	N.S.
	5'	N.S.	N.S.
		10'	N.S.

(0,1 ug/ml)

TEMPO	5'	10'	20'
0	N.S.	* *	* *
	5'	* *	* *
		10'	N.S.

(0,5 ug/ml)

TEMPO	5'	10'	20'
0	* *	* *	* *
	5'	N.S.	N.S.
		10'	N.S.

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

4-aminopiridina (1 ug/ml) +

Neostigmina (0,02 ug/ml)

Causas de Variação	Graus de Liberdade	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F
CONCENTRAÇÃO	2	446,361	223,180	6,92
RESÍDUO A	15	483,084	32,205	
TOTAL	17	929,450		
TEMPO	3	815,278	605,092	52,571
CONCENTRAÇÃO + TEMPO	6	581,306	96,884	8,417
RESÍDUO B	45	521,591	11,590	
TOTAL	54	2914,500		
TOTAL GERAL	71	3843,945		

4 - A.P. (1 ug/ml) + Neo (0,02 ug/ml)

A - D.M.S. entre duas médias de drogas diferentes

(aos 5')

DROGA	Neo	4-AP + Neo
4-A.P.	N.S.	N.S.
	Neo	N.S.

(aos 10')

DROGA	Neo	4-AP + Neo
4-A.P.	* *	N.S.
	Neo	* *

(aos 20')

DROGA	Neo	4-AP + Neo
4-A.P.	N.S.	* *
	Neo	* *

B - D.M.S. entre tempos

4-A.P. (1 ug/ml)

TEMPO	5'	10'	20'
0	N.S.	N.S.	N.S.
	5'	N.S.	N.S.
		10'	N.S.

Neo (0,02 ug/ml)

TEMPO	5'	10'	20'
0	N.S.	N.S.	N.S.
	5'	N.S.	N.S.
		10'	N.S.

4-A.P. + Neo

TEMPO	5'	10'	20'
0	N.S.	N.S.	* *
	5'	N.S.	* *
		10'	* *

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

4-aminopiridina (1 ug/ml) +

Neostigmina (0,1 ug/ml)

Causas de Variação	Graus de Liberdade	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F
CONCENTRAÇÃO	2	3928,8611	1964,4306	26,8630
RESÍDUO A	15	1096,9166	73,1278	
TOTAL	17	5025,7777		
TEMPO	3	4978,1111	1659,3704	79,1224
CONCENTRAÇÃO x TEMPO	6	2954,1389	492,3565	23,4766
RESÍDUO B	45	943,7500	20,9722	
TOTAL	54	8876,0000		
TOTAL GERAL	71	13901,7778		

4 - A.P. (1 ug/ml) + Neo (0,1 ug/ml)

A - D.M.S. entre duas médias de drogas diferentes

(aos 5')

DROGA	Neo	4-AP + Neo
4-A.P.	N.S.	* *
	Neo	* *

(aos 10')

DROGA	Neo	4-AP + Neo
4-D.P.	* *	* *
	Neo	* *

(aos 20')

DROGA	Neo	4-AP + Neo
4-AP.	* *	* *
	Neo	N.S.

B - D.M.S. entre tempos de uma mesma droga

4-A.P. (1 ug/ml)

TEMPO	5'	10'	20'
0	N.S.	N.S.	N.S.
	5'	N.S.	N.S.
		10'	N.S.

Neo (0,1 ug/ml

TEMPO	5'	10'	20'
0	N.S.	* *	* *
	5'	* *	* *
		10'	N.S.

4-A.P. + Neo

TEMPO	5'	10'	20'
0	* *	* *	* *
	5'	N.S.	N.S.
		10'	N.S.

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

3.4-diaminopiridina (1 ug/ml) +
Neostigmina (0,02 ug/ml)

Causas de Variação	Graus de Liberdade	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F
CONCENTRAÇÃO	2	776,361	388,181	11,95
RESÍDUO A	15	486,879	32,459	
TOTAL	17	1263,240		
TEMPO	3	2791,375	930,458	70,26
CONCENTRAÇÃO + TEMPO	6	1575,420	262,570	19,82
RESÍDUO B	45	595,951	13,243	
TOTAL	54	4962,746		
TOTAL GERAL	71	6225,986		

3.4- D.A.P. (1 ug/ml) + Neo (0,02 ug/ml)

A - D.M.S. entre duas médias de drogas diferentes

(aos 5')

DROGA	Neo	3.4-DAP +Neo
3.4-D.A.P.	N.S.	N.S.
	Neo	N.S.

(aos 10')

DROGA	Neo	3.4-DAP +Neo
3.4-D.A.P	N.S.	N.S.
	Neo	N.S.

(aos 20')

DROGA	Neo	3.4-DAP +Neo
3.4-D.A.P.	N.S.	* *
	Neo	* *

B - D.M.S. entre tempos

3.4-D.A.P. (1 ug/ml)

TEMPOS	5'	10'	20'
0	N.S.	N.S.	N.S.
	5'	N.S.	N.S.
		10'	N.S.

Neo (0,02 ug/ml)

TEMPOS	5'	10'	20'
0	N.S.	N.S.	N.S.
	5'	N.S.	N.S.
		10'	N.S.

3.4-D.A.P + Neo

TEMPOS	5'	10'	20'
0	N.S.	*	* *
	5'	N.S.	* *
		10'	* *

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

3.4-diaminopiridina (1 ug/ml) +

Neostigmina (0,1 ug/ml)

Causas de Variação	Graus de Liberdade	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F
CONCENTRAÇÃO	2	4464,25	2232,13	45,72
RESÍDUO A	15	732,37	48,82	
TOTAL	17	5196,62		
TEMPO	3	5496,93	1832,310	80,897
CONCENTRAÇÃO x TEMPO	6	2859,86	476,640	24,615
RESÍDUO B	45	1019,46	22,65	
TOTAL	54	9376,25		
TOTAL GERAL	71	14572,87		

3.4 - D.A.P. (1 ug/ml) + Neo (0,1 ug/ml)

A - D.M.S. entre duas médias de concentrações diferentes

(aos 5')

DROGA	Neo	3.4-DAP +Neo
3.4- D.A.P.	N.S.	* *
	Neo	* *

(aos 10')

DROGA	Neo	3.4-DAP +Neo
3.4-D.A.P.	* *	* *
	Neo	* *

(aos 20')

DROGAS	Neo	3.4-DAP+Neo
3.4-D.A.P.	* *	* *
	Neo	* *

B - D.M.S. entre tempos de uma mesma droga

3.4-D.A.P. (1 ug/ml)

TEMPOS	5'	10'	20'
0	N.S.	N.S.	N.S.
	5'	N.S.	N.S.
		10'	N.S.

Neo (0,1 ug/ml)

TEMPOS	5'	10'	20'
0	N.S.	* *	* *
	5'	* *	* *
		10'	N.S.

3.4-D.A.P. (1 ug/ml) + Neo (0,1 ug/ml)

TEMPOS	5	10'	20'
0	* *	* *	* *
	5'	N.S.	N.S.
		10'	N.S.

TABELA - I

Valores das tensões do diafragma, sob estimulação indireta de baixa frequência (0,1 Hz) medidos antes da adição, 5, 10 e 20 minutos após a adição de 4-aminopiridina 1 ug/ml.

Número do Registro	VALORES INICIAL	DAS 5 min APÓS	TENSÕES 10 min APÓS	DO DIAFRAGMA	MEDIDOS 20 min APÓS	EM	m m
0318	26	26	-	28	7,69 %	38	46,15 %
0919	21	22	4,76 %	24	14,29 %	24	14,29 %
0932	23	24	4,35 %	25	8,70 %	27	17,39 %
0884	24	24	-	27	12,50 %	31	29,17 %
0877	25	26	4,00 %	28	12,00 %	32	28,00 %
0860	26	27	3,85 %	32	23,08 %	28	46,15 %
M é d i a	24,17	24,83	2,83	27,33	13,03	31,67	30,02

TABELA - II

Valores das tensões do diafragma, sob estimulação indireta de baixa frequência (0,1 Hz) medidos antes da adição, 5, 10 e 20 minutos após a adição de 4-aminopiridina 5 ug/ml.

Número do Registro	VALORES INICIAL	DAS TENSÕES DO DIAFRAGMA	MEDIDOS EM	m m
	5 min APÓS VARIAÇÕES %	10 min APÓS VARIAÇÕES %	20 min APÓS VARIAÇÕES %	
0046	20	23	28	38
		15,00 %	40,00 %	90,00 %
0033	22	26	33	43
		18,18 %	50,00 %	95,45 %
0029	35	38	47	65
		8,57 %	34,29 %	85,71 %
0030	30	34	41	54
		13,33 %	36,67 %	80,00 %
0960	17	18	24	33
		5,88 %	41,18 %	94,12 %
0067	25	27	34	44
		8,00 %	36,00 %	76,00 %
M é d i a	24,83	27,67	34,50	46,16
		11,49	39,69	86,88

TABELA - III

Valores das tensões do diafragma, sob estimulação indireta de baixa frequência (0,1 Hz), medidos antes da adição, 5, 10 e 20 minutos após adição de 4-aminopiridina 25 ug/ml.

Número do	VALORES DAS	TENSÕES	DO	DIAFRAGAMA	MEDIDOS	EM	m m
Registro	INICIAL	5 min APÓS	VARIAÇÕES %	10 min APÓS	VARIAÇÕES %	20 min APÓS	VARIAÇÕES %
0067	25	52	108,00 %	62	148,00 %	62	148,00 %
0049	24	65	170,83 %	67	179,17 %	67	179,17 %
0016	20	47	135,00 %	52	160,00 %	58	190,00 %
0016	22	44	100,00 %	51	131,82 %	52	136,36 %
0033	21	55	161,90 %	61	190,48 %	61	190,48 %
0967	22	57	159,09 %	65	195,45 %	65	195,45 %
M é d i a	22,33	53,33	139,14	59,66	167,49	60,83	173,24

PREPARAÇÕES NÃO CURARIZADAS
estímulos de baixa frequência — 0.1 Hz

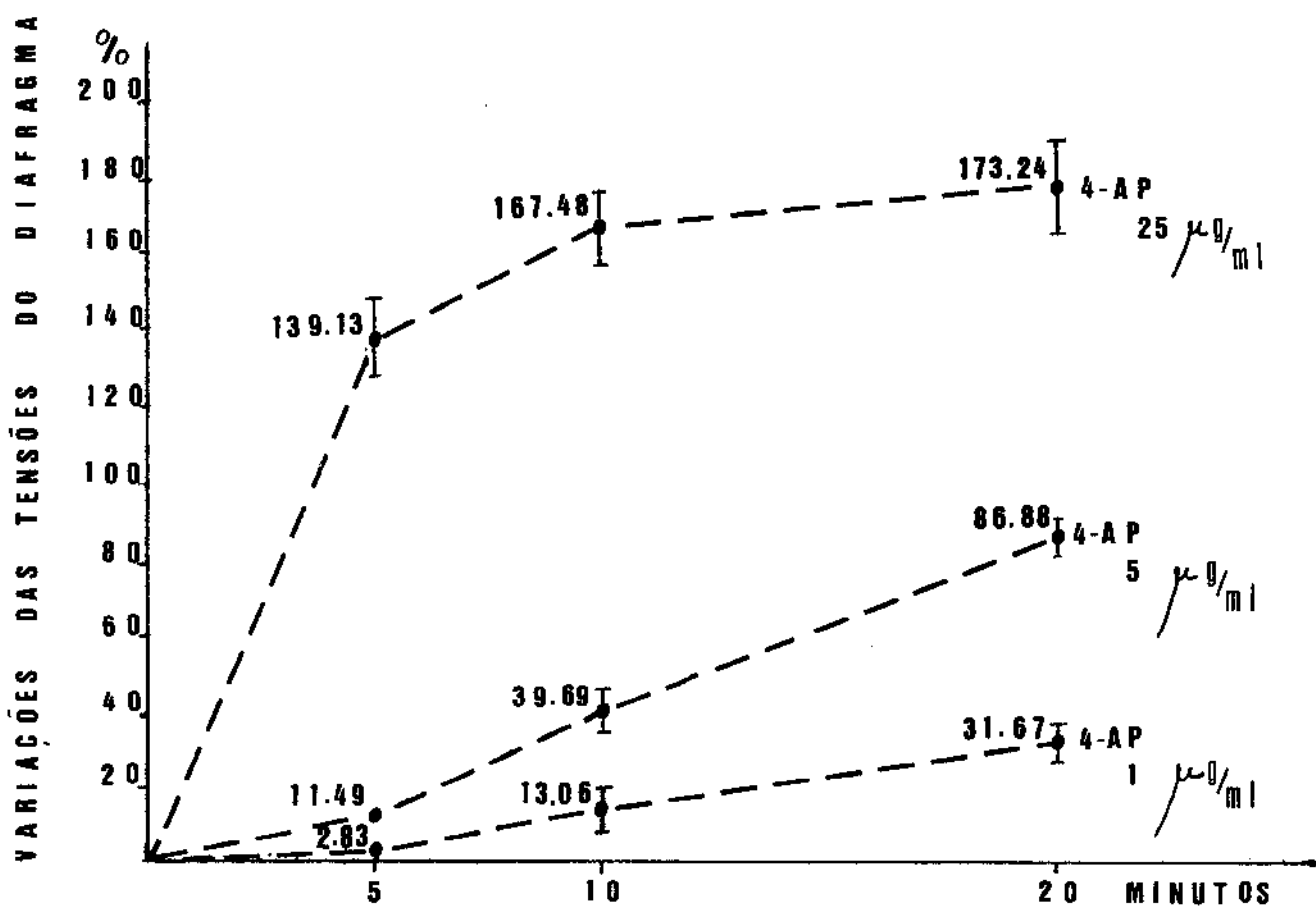


Figura - 1

Variações das respostas dos diafragmas produzidos pela 4-aminopiridina (4-A.P.) 5, 10 e 20 minutos após a adição da droga.

- Cada ponto representa a média de 6 experiências.
- As barras verticais representam o erro padrão da média.

TABELA - IV

Valores das tensões do diafragma, sob estimulação indireta de baixa frequência (0,1 Hz) medidos antes da adição, 5, 10 e 20 minutos após a adição de 3.4-diaminopiridina 1 ug/ml.

Número do Registro	VALORES	DAS	TENSÕES	DO	DIAFRAGMA	MEDIDOS	EM	m	m
	INICIAL	5 min APÓS	VARIAÇÕES %	10 min APÓS	VARIAÇÕES %	20 min APÓS	VARIAÇÕES %		
9322(1)	25	25	-	25	-	29	16,00 %		
9322(3)	26	28	7,69 %	28	7,69 %	29	11,53 %		
9532(1)	25	26	4,00 %	30	20,00 %	44	76,00 %		
9532(3)	25	25	-	27	8,00 %	30	20,00 %		
9538(1)	21	21	-	23	9,52 %	25	19,00 %		
9538(3)	23	23	-	23	-	28	21,73 %		
M é d i a	24,16	24,60	1.93	26,00	7,53	30,83	27,37		

TABELA - V

Valores das tensões dos diafragmas sob estimulação indireta de baixa frequência (0,1 Hz) medi-
dos antes da adição, 5, 10 e 20 minutos após a adição de 3.4-diaminopiridina 5 ug/ml.

Número do Registro	VALORES INICIAL	DAS 5 min APÓS	TENSÕES VARIAÇÕES % 10 min APÓS	DO VARIAÇÕES % 20 min APÓS	DIAFRAGMA VARIAÇÕES %	EM VARIAÇÕES %	m VARIAÇÕES %
9295(1)	22	47	113,63 %	55	150,00 %	56	154,54 %
9295(3)	20	33	65,00 %	38	90,00 %	43	115,00 %
9302(1)	20	38	90,00 %	43	115,00 %	50	150,00 %
9302(3)	21	35	66,60 %	45	114,28 %	45	114,28 %
9311(1)	21	40	90,47 %	47	123,80 %	48	128,57 %
9311(3)	21	25	19,04 %	36	71,42 %	43	104,76 %
M é d i a	20,83	36,33	74,12 %	44,00	110,75	47,50	127,85

TABELA - VI

Valores das tensões dos diafragmas sob estimulação indireta de baixa freqüência (0,1 Hz) medidos antes da adição, 5, 10 e 20 minutos após a adição de 3.4-diaminopiridina 25 ug/ml.

Número do Registro	VALORES DAS		TENSÕES	DO	DIAFRAGMA	MEDIDOS	EM	m m
	INICIAL	5 min APÓS	VARIações %	10 min APÓS	VARIações %	20 min APÓS	VARIações %	
9508(1)	25	62	148,00 %	69	178,00 %	74	196,00 %	
9508(3)	25	65	160,00 %	71	184,00 %	81	224,00 %	
9516(1)	20	48	140,00 %	60	200,00 %	69	245,00 %	
9516(3)	20	47	135,00 %	53	165,00 %	57	185,00 %	
9524(1)	20	51	155,00 %	57	185,00 %	64	220,00 %	
9524(3)	20	40	100,00 %	40	100,00 %	53	165,00 %	
M é d i a	21,66	52,16	139,66	58,33	168,67	66,33	205,83	

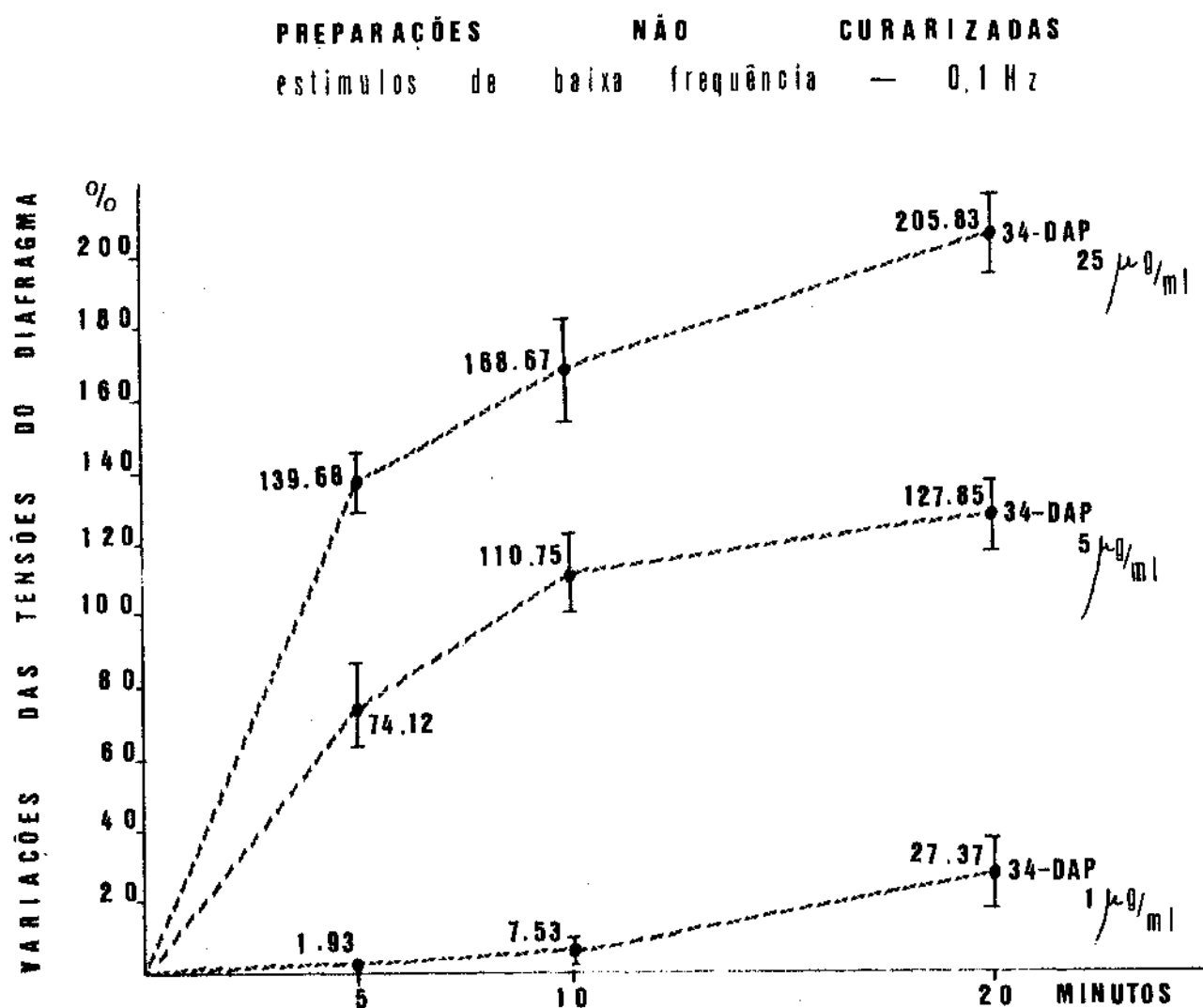


Figura - 2

Variações das respostas dos diafragmas produzidos pela 3,4-diaminopiridina (3,4-D.A.P.) 5, 10 e 20 minutos após a adição da droga.

- Cada ponto representa a média de 6 experiências.
- As barras verticais representam o erro padrão da média.

TABELA - VII

Valores das tensões dos diafragmas, sob estimulação indireta de baixa frequência (0,1 Hz) medi-
dos antes da adição, 5, 10 e 20 minutos após a adição da neostigmina 0,02 ug/ml.

Número do	VALORES		DAS	TENSÕES	DO	DIAFRAGMA	MEDIDOS	EM	m m
	INICIAL	5 min APÓS							
Registro	VARIAÇÕES %		VARIAÇÕES %		VARIAÇÕES %		20 min APÓS VARIAÇÕES %		
573	20	20	-	-	20	-	20	-	-
569	20	20	-	-	21	5,00 %	35	75,00 %	
563	20	20	-	-	20	-	20	-	-
558	20	20	-	-	21	5,00 %	36	80,00 %	
553	22	22	-	-	22	-	34	54,54 %	
548	21	21	-	-	21	-	25	19,04 %	
Média	20,50	20,50	-	-	20,83	1,67 %	28,33	38,10 %	

TABELA - VIII

Valores das tensões dos diafragmas, sob estimulação indireta de baixa frequência (0,1 Hz) medidos antes da adição, 5, 10 e 20 minutos após a adição da neostigmina 0,1 ug/ml.

Número do Registro	VALORES DAS		TENSÕES	DO	DIAFRAGAMA	MEDIDOS	EM	m m
	INICIAL	5 min APÓS						
VARIÇÕES % 10 min APÓS VARIÇÕES % 20 min APÓS VARIÇÕES %								
789	20	25	25,00 %	40	100,00 %	45		125,00 %
783	21	25	19,04 %	36	71,43 %	43		104,76 %
665	22	28	27,27 %	64	190,90 %	42		90,90 %
661	20	22	10,00 %	47	135,00 %	38		90,00 %
609	21	27	28,57 %	42	100,00 %	39		85,70 %
589	20	22	10,00 %	36	80,00 %	48		140,00 %
M é d i a	20,66	24,83	19,98	44,17	112,88 %	42,50		106,06

TABELA - IX

Valores das tensões dos diafragmas, sob estimulação indireta de baixa frequência (0,1 Hz)
medidos antes da adição, 5, 10 e 20 minutos após a adição da neostigmina 0,5 ug/ml.

Número do	VALORES		DAS	TENSÕES	DO	DIAFRAGMA	MEDIDOS		EM	m m
	INICIAL	5 min APÓS					VARIAÇÕES %	10 min APÓS		
Registro	INICIAL	5 min APÓS	VARIAÇÕES %	10 min APÓS	VARIAÇÕES %	20 min APÓS	VARIAÇÕES %			
484 (I)	20	54	170,00 %	54	170,00 %	50	150,00 %			
484 (II)	20	56	180,00 %	55	175,00 %	55	175,00 %			
480	20	40	100,00 %	30	50,00 %	28	40,00 %			
475	20	53	165,00 %	37	85,00 %	37	85,00 %			
470	20	55	175,00 %	45	125,00 %	44	120,00 %			
464	20	51	155,00 %	44	120,00 %	42	110,00 %			
M é d i a	20,00	51,80	157,50	44,20	120,83	42,80	113,33			

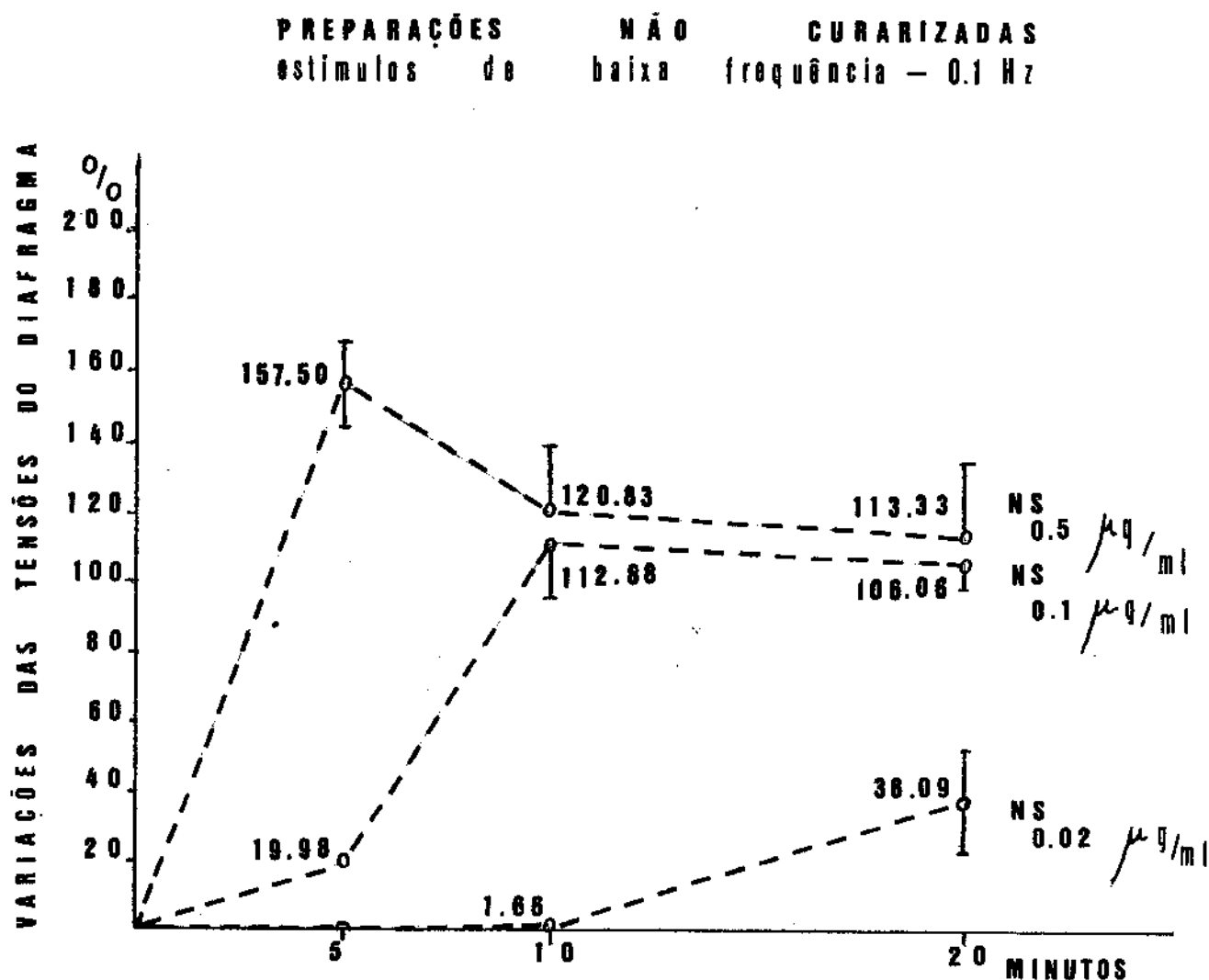


Figura - 3

Variações das respostas dos diafragmas produzidos pela neostigmina (N.S.) 5, 10 e 20 minutos após a adição da droga.

- Cada ponto representa a média de 6 experiências.
- As barras verticais representam o erro padrão da média.

TABELA · X

Valores das tensões do diafragma, sob estimulação indireta de baixa frequência (0,1 Hz) medidos antes da adição, 5, 10 e 20 minutos após adição de 4-aminopiridina 1 ug/ml + neostigmina 0,02 ug/ml.

Número do	VALORES		DAS	TENSÕES	DO	DIAFRAGMA	MEDIDOS		EM	m m
	INICIAL	5 min APÓS					VARIAÇÕES %	10 min APÓS		
Registro										
0282(1)	20	22		10,00 %	27		35,00 %	41		105,00 %
0278(1)	20	21		5,00 %	26		30,00 %	37		85,00 %
0278(3)	20	22		10,00 %	33		65,00 %	47		135,00 %
0278(1)	20	20		-	22		10,00 %	34		70,00 %
0273(3)	20	24		20,00 %	33		65,00 %	40		100,00 %
0269(3)	20	21		5,00 %	34		70,00 %	57		185,00 %
M é d i a	20,00	21,67		8,33	29,16		45,83	42,67		113,33

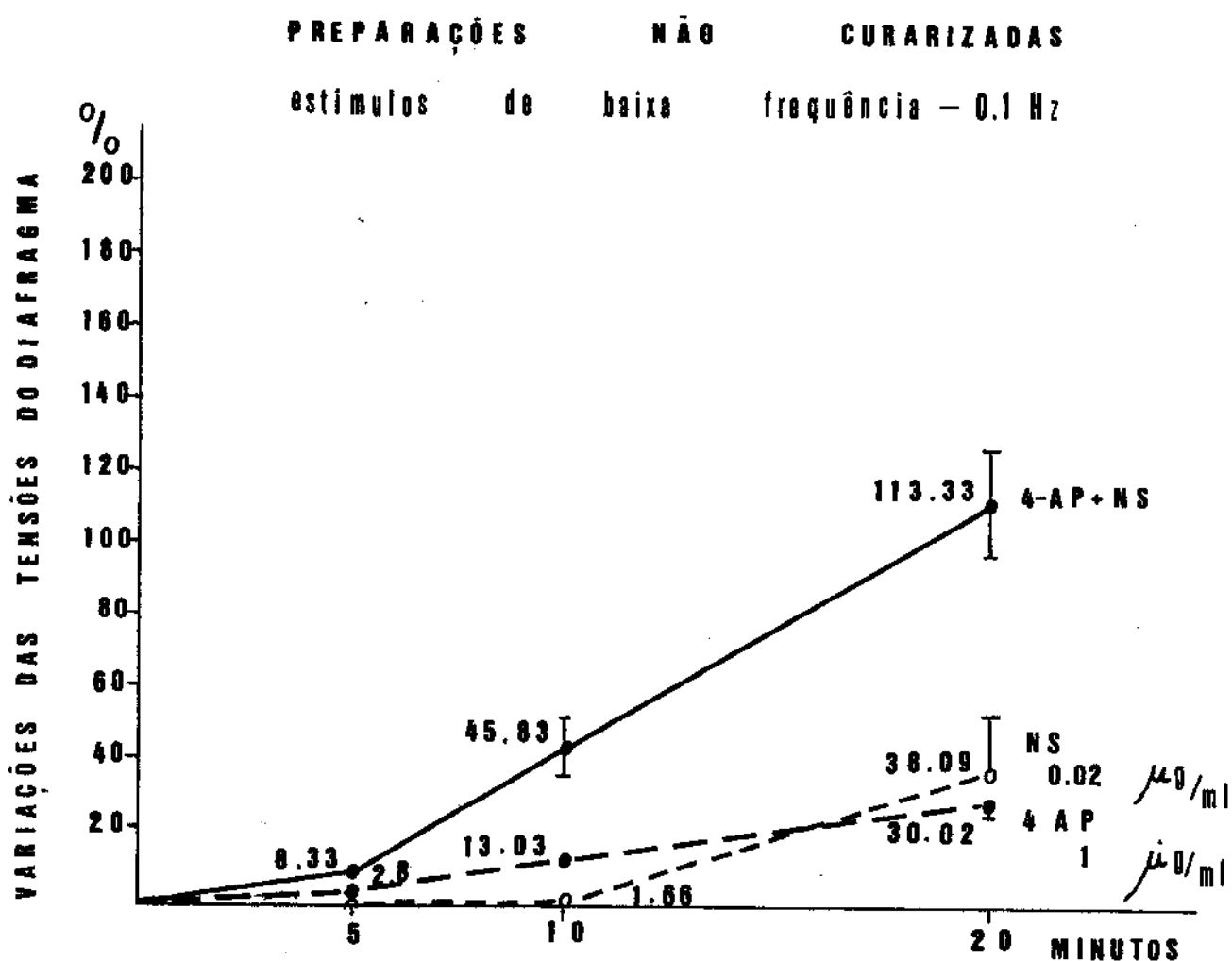


Figura - 4

Variações das respostas dos diafragmas produzidos pela associação e 4-aminopiridinas (4-A.P.) 1 $\mu\text{g/ml}$ com a neostigmina (N.S.) 0,02 $\mu\text{g/ml}$. 5, 10 e 20 minutos à adição das drogas.

- Cada ponto respresenta a média de 6 experiências.
- As barras verticais representam o erro padrão da média.

TABELA - XI

Valores das tensões dos diafragmas, (em mm), sob estimulação indireta de frequência elevada (50 Hz), medidos antes da adição, 5, 10 e 20 minutos após adição de 4-aminopiridina 1 ug/ml + neostigmina 0,1 ug/ml.

Número do Registro	VALORES INICIAL	DAS 5 min APÓS	TENSÕES 5 min APÓS	DO 10 min APÓS	DIAFRAGMA 10 min APÓS	MEDIDOS 10 min APÓS	EM 20 min APÓS	m m 20 min APÓS
0235(3)	20	60	200,00 %	64	220,00 %	60	200,00 %	
0223(1)	20	57	185,00 %	63	215,00 %	46	130,00 %	
0223(3)	20	57	185,00 %	62	210,00 %	49	145,00 %	
0216(1)	21	43	104,76 %	52	147,61 %	47	123,80 %	
0216(3)	20	40	100,00 %	41	105,00 %	37	123,90 %	
0212(3)	20	62	210,00 %	64	220,00 %	50	150,00 %	
M é d i a	20,17	53,16	164,13	57,67	186,27	48,16	138,96	

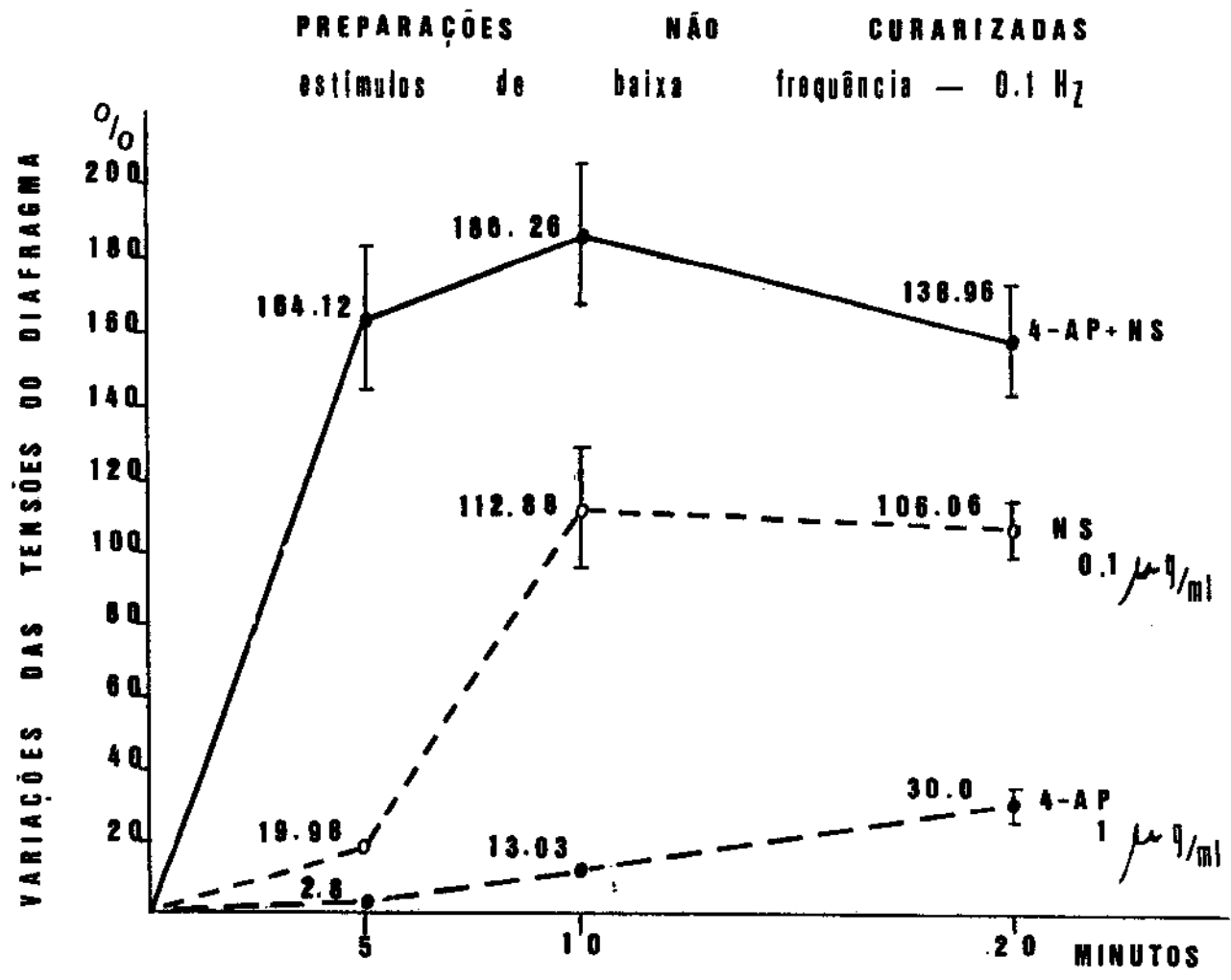


Figura - 5

Variações das respostas dos diafragmas produzidos pela associação de 4-aminopiridina (4-A.P.) 1 ug/ml com a neostigmina - (N.S.) 0,1 ug/ml. 5, 10 e 20 minutos após a adição das drogas

- Cada ponto representa a média de 6 experiências.
- As barras verticais representam o erro padrão da média.

TABELA - XII

Valores das tensões dos diafragmas sob estimulação indireta de baixa frequência (0,1 Hz) medidos antes da adição, 5, 10 e 20 minutos após a adição da associação de 3.4-diaminopiridina (1 ug/ml) com neostigmina (0,02 ug/ml).

Número do Registro	VALORES DAS TENSÕES		DO	DIAPRAGMA	MEDIDOS		EM	m m
	INICIAL	5 min APÓS	VARIAÇÕES %	10 min APÓS	VARIAÇÕES %	20 min APÓS	VARIAÇÕES %	
9617(1)	21	22	4,76 %	33	54,14 %	62	195,24 %	
9617(3)	20	20	-	28	40,00 %	43	115,00 %	
9624(1)	20	21	5,00 %	24	20,00 %	54	170,00 %	
9624(3)	20	21	5,00 %	33	65,00 %	54	170,00 %	
9632(1)	19	19	-	28	47,37 %	39	105,26 %	
9632(3)	20	21	5,00 %	34	70,00 %	58	190,00 %	
M é d i a	20,00	20,67	3,29	30,00	49,92	51,67	157,58	

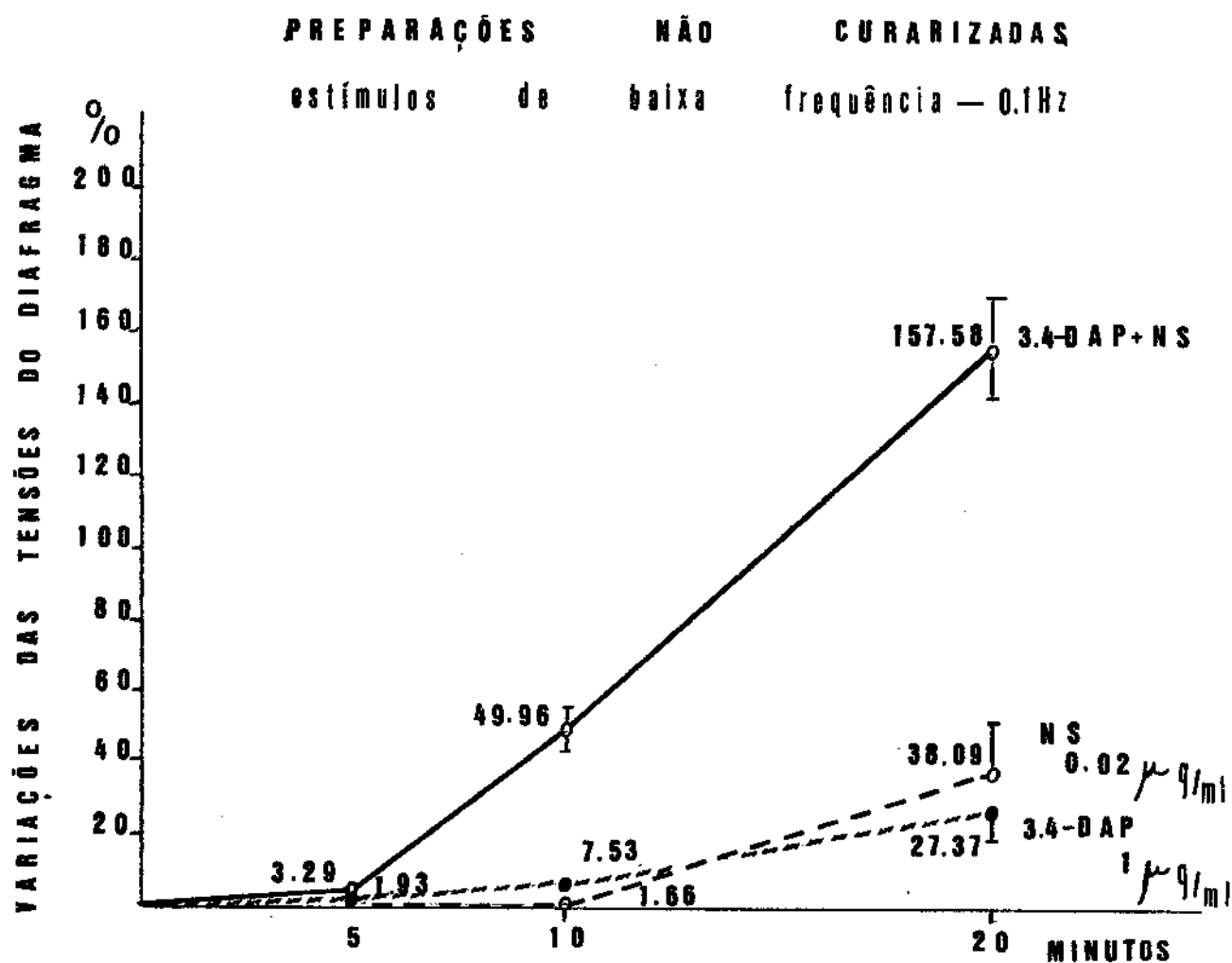


Figura - 6

Variações das respostas dos diafragmas produzidos pela associação de 3.4-diaminopiridina (3.4-D.A.P.) 1 $\mu\text{g/ml}$ com a neostigmina (N.S.) 0,02 $\mu\text{g/ml}$ 5, 10 e 20 minutos após a adição das drogas.

- Cada ponto representa a média de 6 experiências.

As barras verticais representam o erro padrão da média.

TABELA - XIII

Valores das tensões dos diafragmas sob estimulação indireta de baixa frequência (0,1 Hz), medidos antes da adição, 5, 10 e 20 minutos após a adição da associação de 3.4-dia-minopiridina 1 ug/ml com a neostigmina 0,1 ug/ml.									
Número do Registro	VALORES INICIAL	DAS 5 min	TENSÕES APÓS VARIAÇÕES % 10 min	DO APÓS VARIAÇÕES % 20 min	DIAFRAGMA MEDIDOS	EM	m m		
9593(1)	20	44	120,00 %	60	200,00 %	55	175,00 %		
9593(3)	20	40	100,00 %	58	190,00 %	58	190,00 %		
9602(1)	20	45	125,00 %	47	135,00 %	39	95,00 %		
9602(3)	20	55	175,00 %	62	210,00 %	56	180,00 %		
9609(1)	20	52	160,00 %	71	255,00 %	50	150,00 %		
9609(3)	20	56	180,00 %	62	210,00 %	60	200,00 %		
M é d i a	20,00	48,67	143,30	60,00	200,00	53,00	165,00		

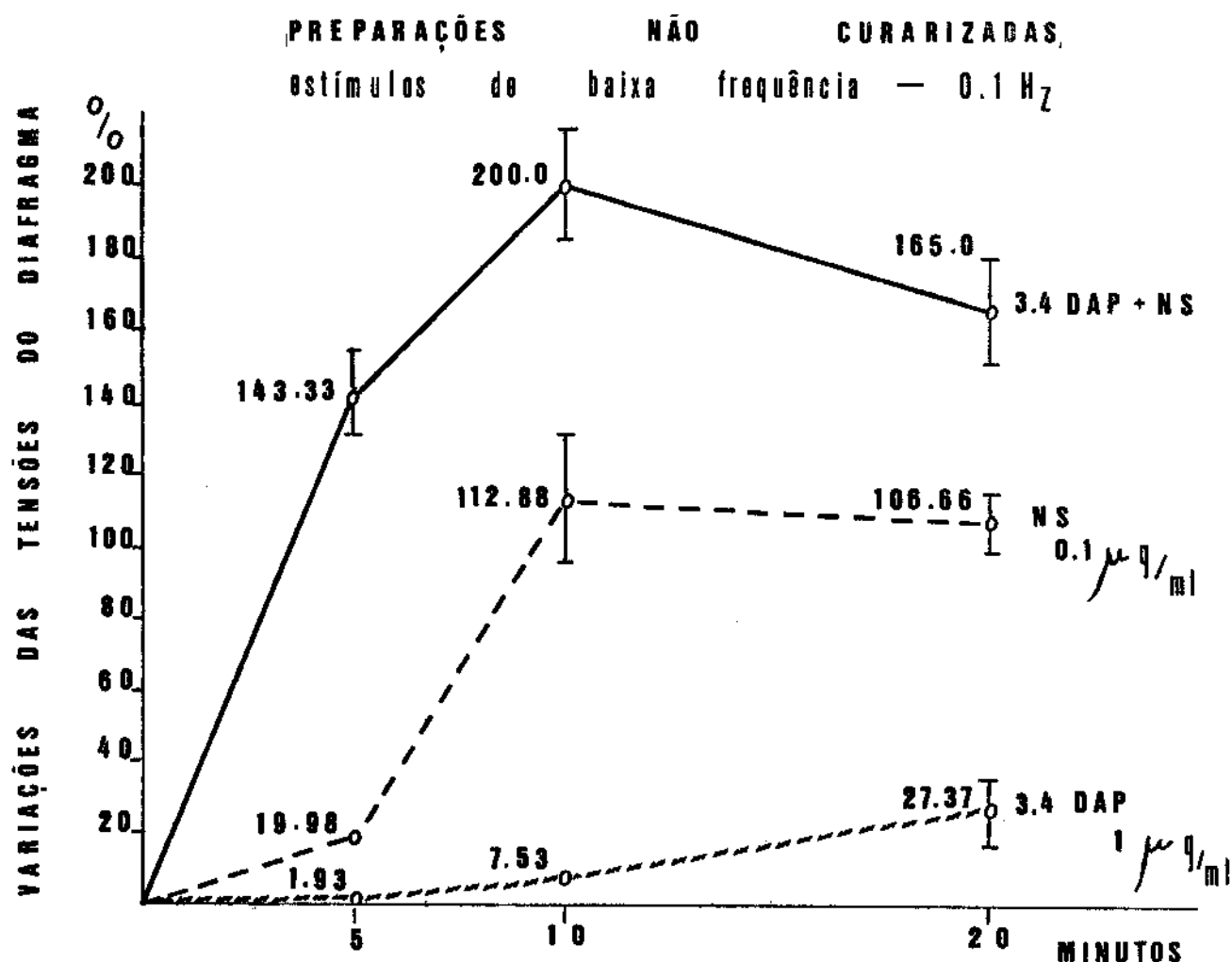


Figura - 7

Variações das respostas dos diafragmas produzidos pela associação de 3.4-diaminopiridinas (3.4- D.A.P.) 1 ug/ml com a neostigmina (N.S.) 0,1 ug/ml 5, 10 e 20 minutos após a adição das drogas.

- Cada ponto representa a média de 6 experiências.
- As barras verticais representam o erro padrão da média.

TABELA - XIV

Valores das tensões do diafragma, sob estimulação indireta de frequência elevada (50 Hz), medidos antes da adição, 5, 10 e 20 minutos após adição de 4 aminopiridina 1 ug/ml.

Número do Registro	VALORES DAS TENSÕES DO DIAFRAGMA		MEDIDOS EM		m m	
	PADRÃO		APÓS 5'		APÓS 10'	
	A	B	A	B	A	B
538(1)	28	47	28	50	32	55
538(3)	31	41	26	45	33	50
532(1)	35	45	35	50	40	53
532(3)	33	47	35	54	45	57
527(1)	33	47	35	52	40	58
527(3)	35	51	31	58	38	61
Média	32,55	46,33	31,66	51,50	38,00	53,50
					38,66	55,66

A = início da estimulação
B = após 3 segundos de estimulação

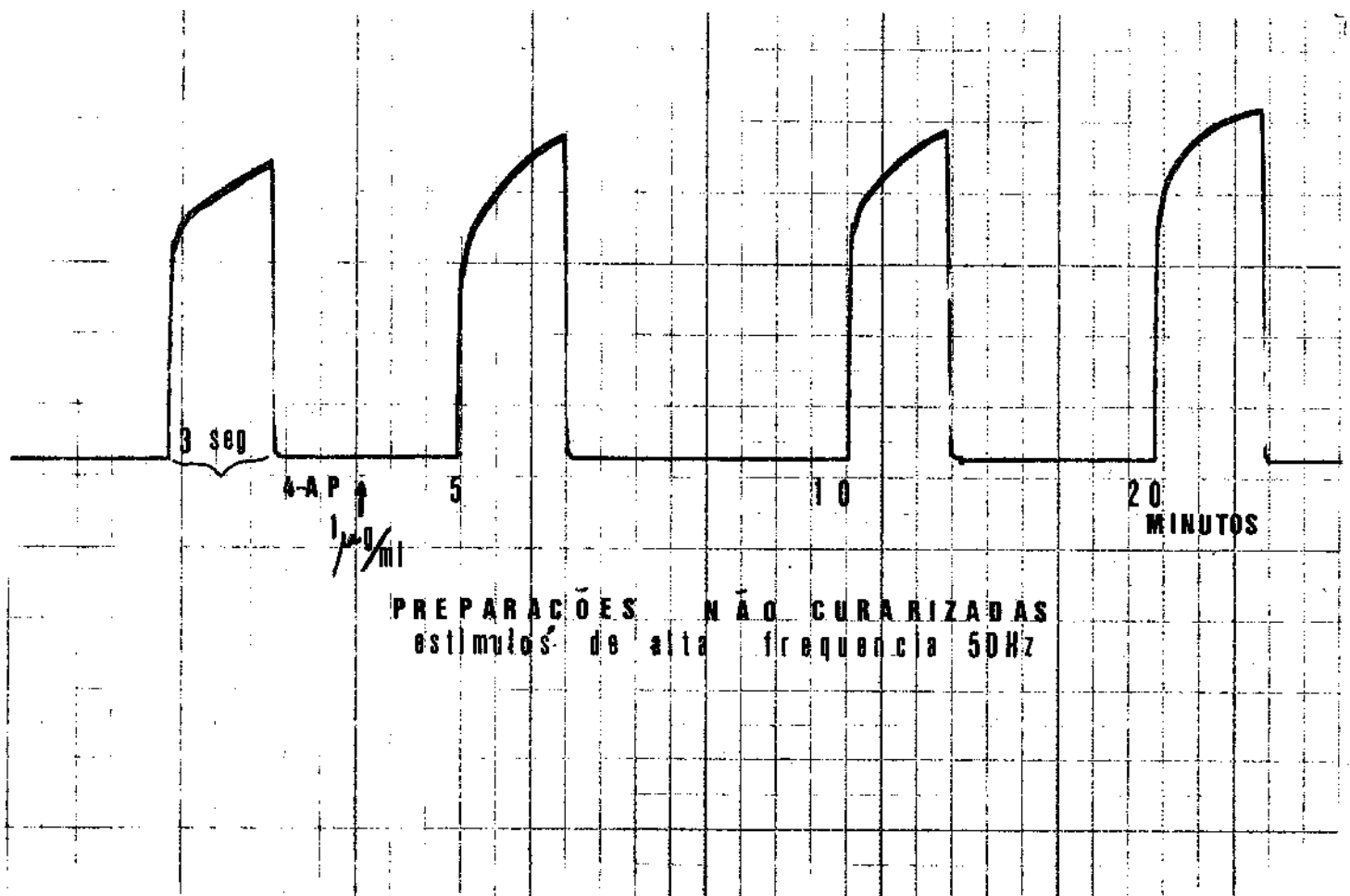


Figura - 8

Registro das contrações do diafragma, submetido à estimulação indireta de frequência elevada, (50 Hz) durante 3 segundos realizado antes da adição, 5, 10 e 20 minutos após a adição de 4-aminopiridina (4-A.P.) 1 ug/ml.

TABELA - XV

Valores das tensões do diafragma, sob estimulação indireta de frequência elevada (50 Hz), medidos antes da adição, 5, 10 e 20 minutos após a adição de 4-aminopiridina 5 ug/ml.

Número do Registro	VALORES DAS TENSÕES		DO DIAFRAGMA		MEDIDOS EM		m m	
	PADRÃO		APÓS 5'		APÓS 10'		APÓS 20'	
	A	B	A	B	A	B	A	B
523(1)	35	52	40	63	55	64	55	63
523(3)	38	51	46	60	60	60	60	60
547(1)	27	35	27	41	35	40	35	40
547(3)	24	34	21	32	35	37	37	37
541(1)	40	49	38	56	41	56	45	55
541(3)	30	43	30	45	30	45	45	45
M é d i a	32,33	44,00	33,66	49,50	42,66	50,33	46,16	50,00

A = início da estimulação
B = após 3 segundos de estimulação

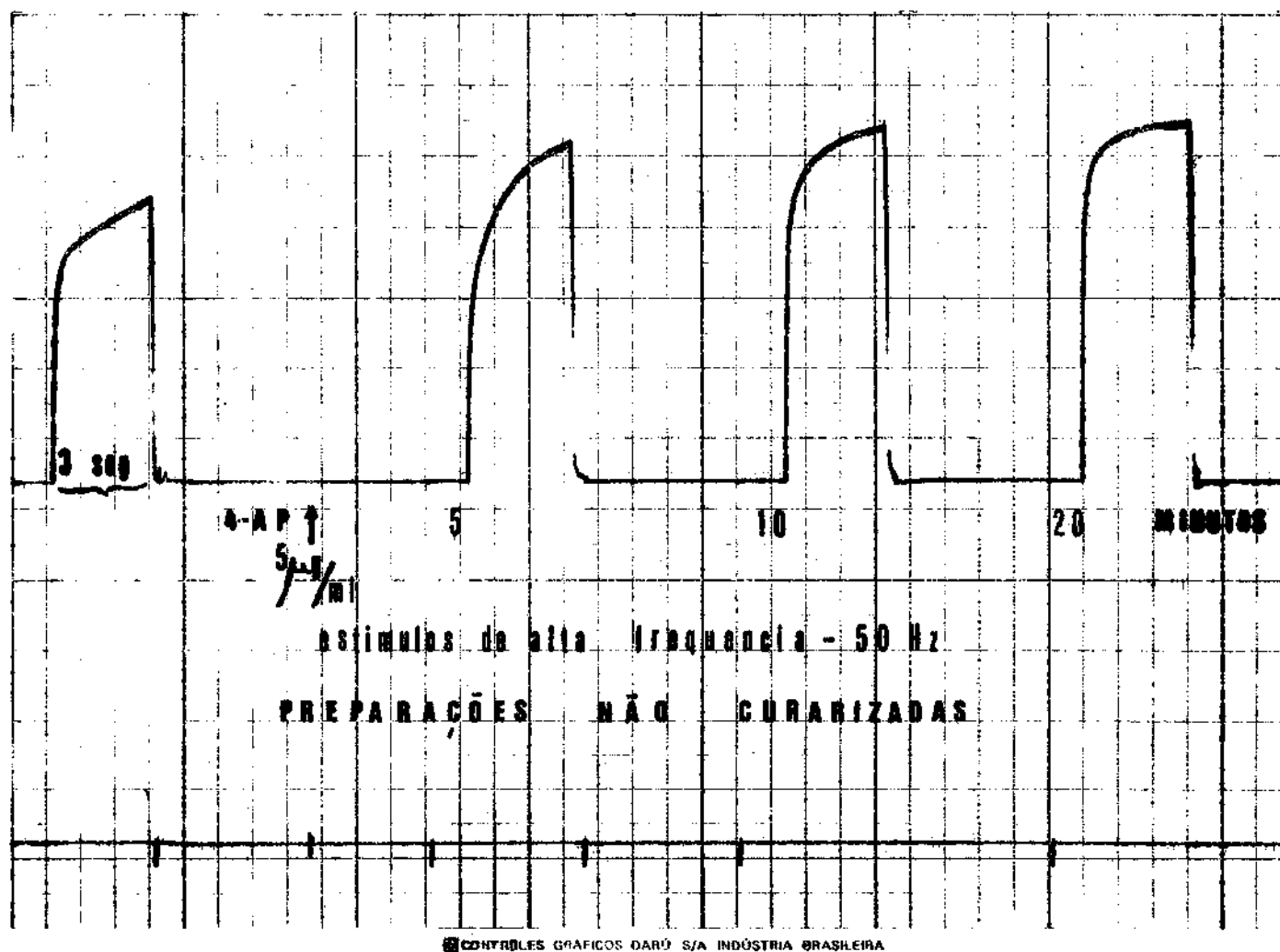


Figura - 9

Registro das contrações do diafragma, submetido à estimulação indireta de frequência elevada (50 Hz) durante 3 segundos, realizado antes da adição, 5, 10 e 20 minutos após a adição de 4-aminopiridina (4-A.P.) 5 ug/ml.

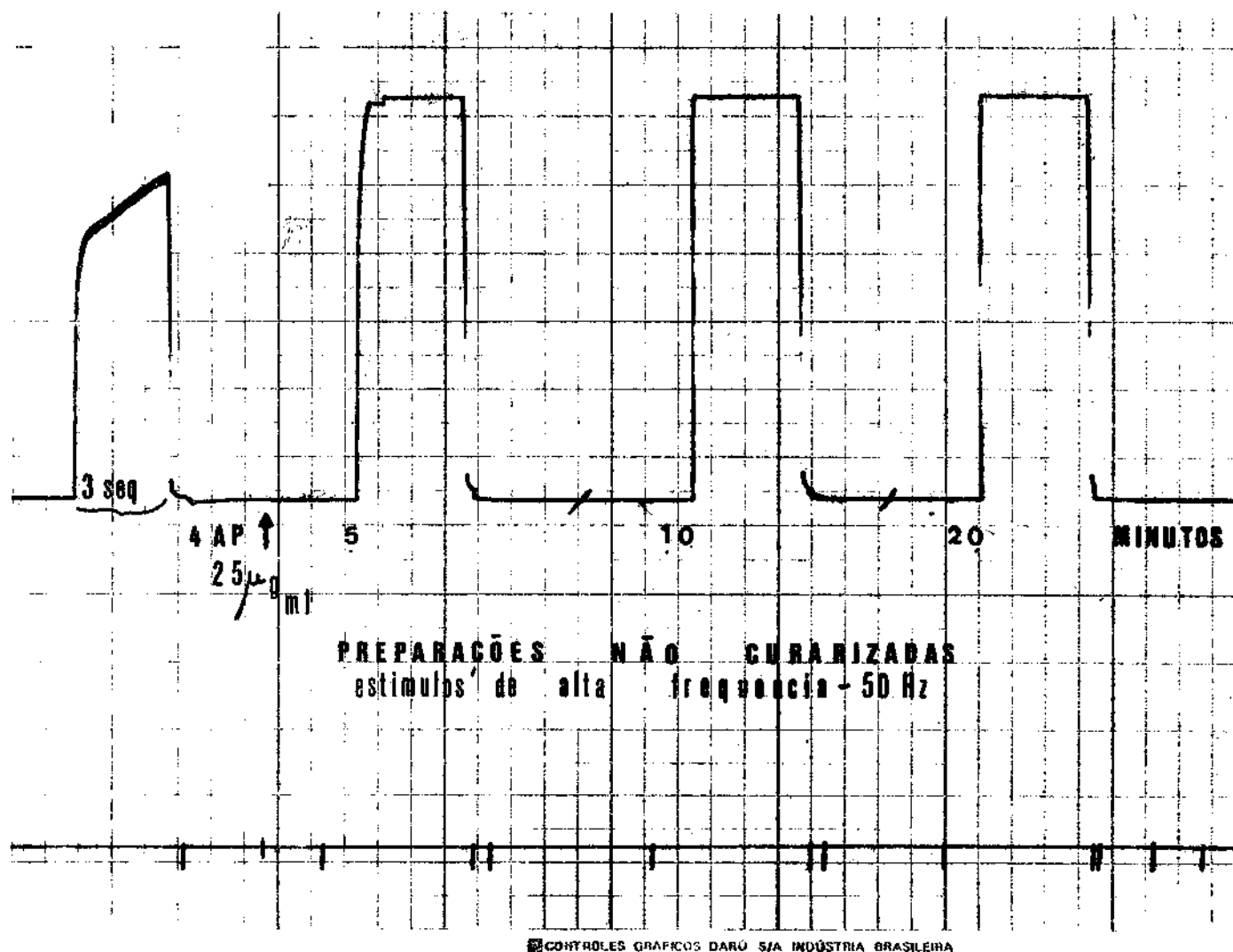


Figura - 10

Registro das contrações do diafragma, submetido à estimulação indireta de frequência elevada, (50 Hz) durante 3 segundos, - realizado antes da adição, 5, 10 e 20 minutos após a adição de 4-aminopiridina (4-A.P.) 25 μ g/ml.

TABELA - XVII

Valores das tensões dos diafragmas sob estimulação indireta de frequência elevada (50 Hz) medidos antes da adição, 5, 10 e 20 minutos após a adição de 3.4-diaminopiridina 1 ug/ml.

Número do Registro	VALORES DAS TENSÕES DO DIAFRAGMA MEDIDOS EM mm											
	PADRÃO			APÓS 5 min			APÓS 10 min			APÓS 20 min		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
9652(1)	41		53	41	41	57	45	41	57	47	47	60
9652(3)	40		54	32	32	54	34	32	54	33	33	56
9660(1)	40		52	37	36	51	37	36	51	33	33	55
9660(3)	40		41	39	39	44	39	39	44	38	39	45
9585(1)	45		57	42	41	56	42	41	56	38	38	60
9585(3)	35		34	34	34	39	34	34	39	34	34	40
Média	38,50		48,83	37,50	37,17	50,17	38,50	38,17	51,00	37,33	37,33	52,67

A = início da estimulação
 B = após $\pm$ 200 mseg do início da estimulação
 C = após 3 segundos do início da estimulação

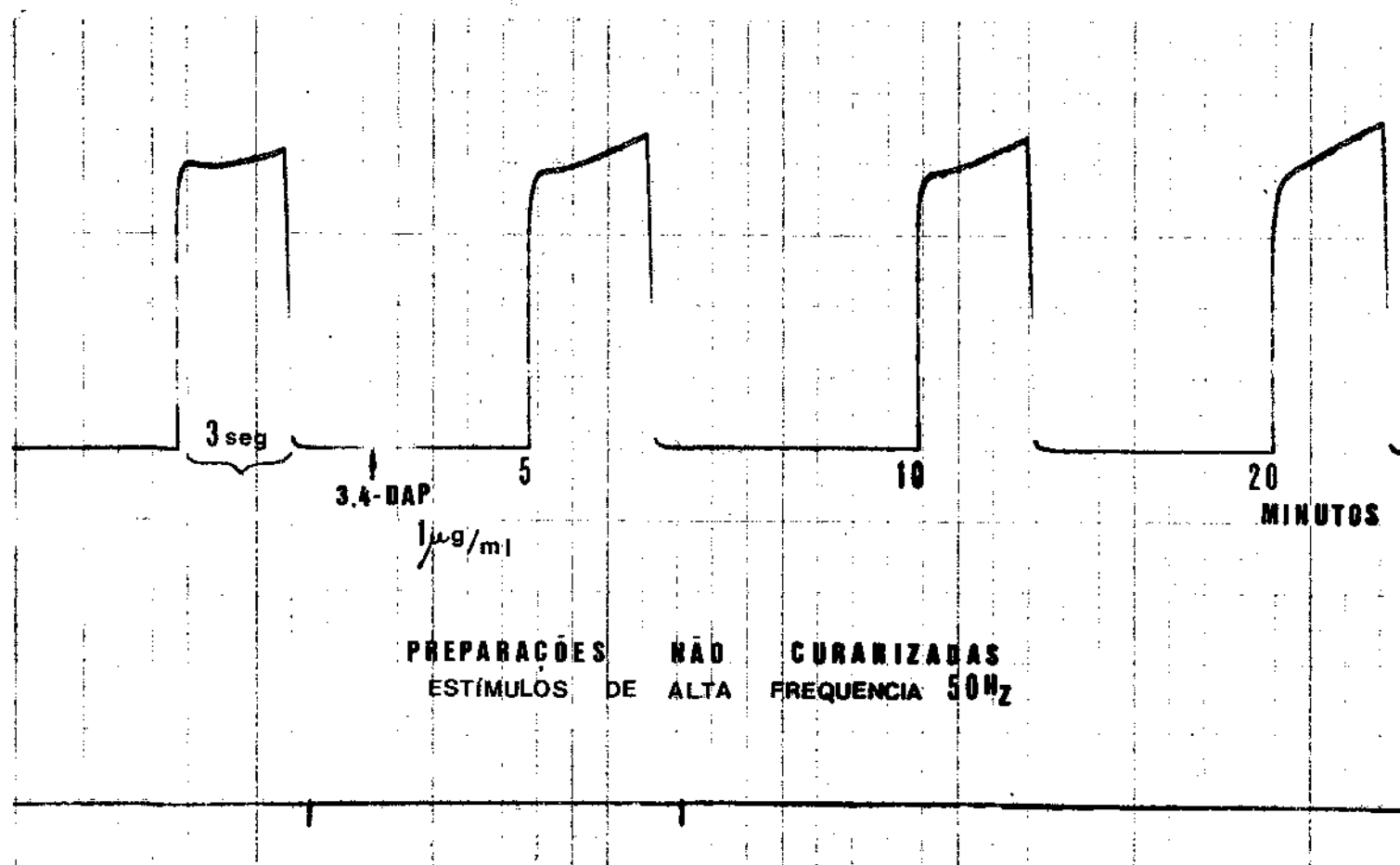


Figura - 11

Registro das contrações do diafragma, submetido à estimulação indireta de frequência elevada, (50 Hz) durante 3 segundos, realizado antes da adição, 5, 10 e 20 minutos após a adição de 3.4-diaminopiridina (3.4-D.A.P.) 1 ug/ml.

TABELA - XVIII

Valores das tensões dos diafragmas sob a estimulação indireta de frequência elevada (50 Hz) medidos antes da adição, 5, 10 e 20 minutos após a adição de 3.4-diaminopiridina 5 ug/ml.

Número do Registro	VALORES DAS TENSÕES DOS DIAFRAGMAS MEDIDOS EM mm											
	PADRAO			APÓS 5 min			APÓS 10 min			APÓS 20 min		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
9571(1)	40		51	34	34	58	48	48	52	53	53	53
9571(3)	32		43	26	27	48	30	32	48	31	32	50
9551(1)	30		39	26	27	44	30	21	49	40	41	50
9551(3)	36		40	30	31	44	30	31	46	40	41	46
9559(1)	32		43	28	24	54	37	33	60	42	42	60
9559(3)	38		42	38	38	47	40	40	45	42	42	42
M é d i a	34,67		43,00	30,33	30,17	49,17	35,83	35,83	50,00	41,33	41,67	50,17

A = início da estimulação
 B = após + 200 mseg do início da estimulação
 C = após 3 segundos do início da estimulação

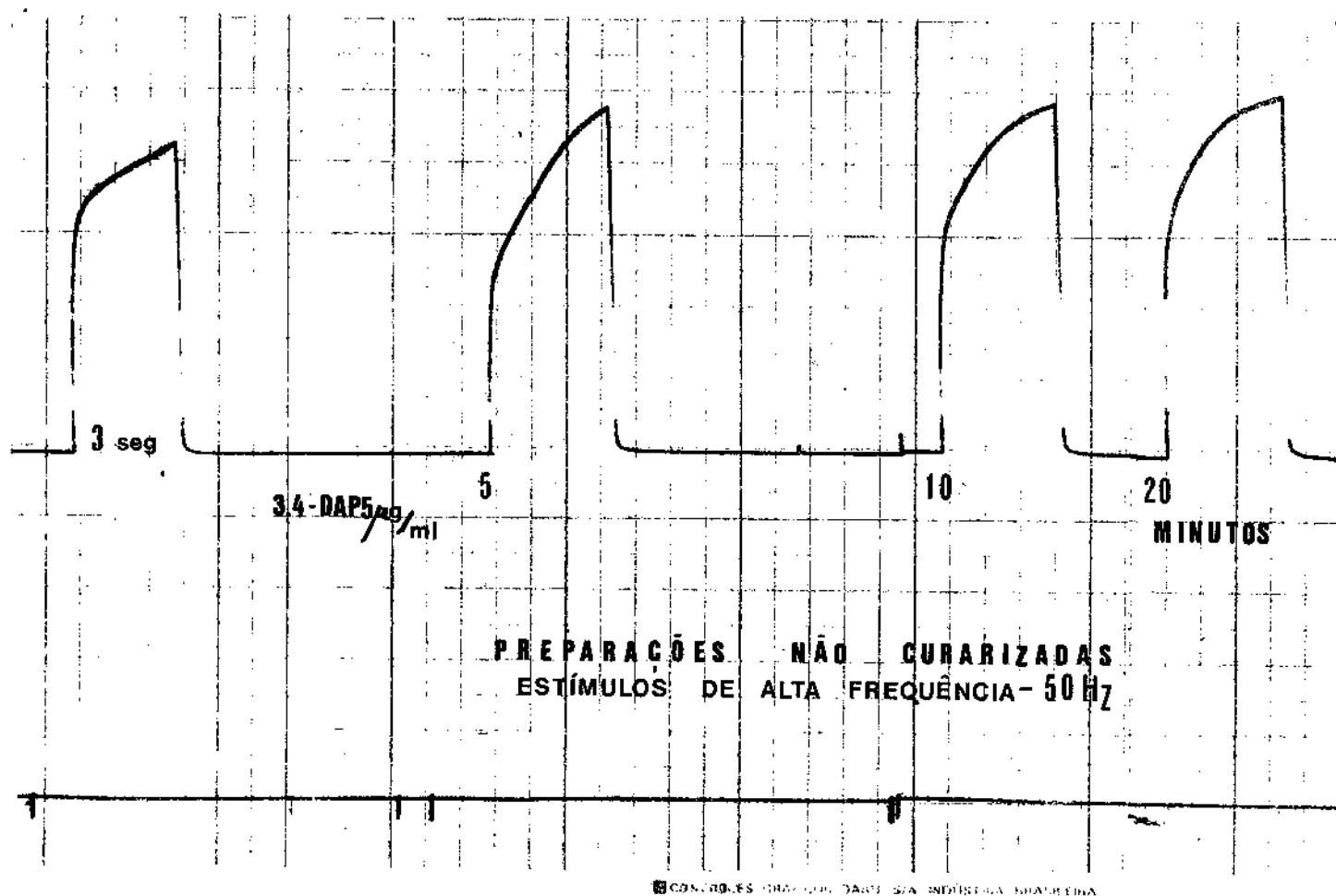


Figura - 12

Registro das contrações do diafragma, submetido à estimulação indireta de frequência elevada, (50 Hz) durante 3 segundos, realizado antes da adição, 5, 10 e 20 minutos após a adição de 3.4-diaminopiridina (3.4-D.A.P.) 5 ug/ml.

TABELA - XIX

Valores das tensões dos diafragmas sob estimulação indireta de frequência elevada (50 Hz) medidos antes da adição, 5, 10 e 20 minutos após a adição de 3.4-diaminopiridina 25 ug/ml.

Número do Registro	VALORES DAS TENSÕES DOS DIAFRAGMAS MEDIDOS EM mm									
	PADRÃO		APÓS 5 min		APÓS 10 min		APÓS 20 min			
	A	C	A	B	A	B	A	B	A	B
9666(1)	31	47	47	41	61	61	61	61	61	61
9666(3)	35	51	50	43	60	61	61	61	61	61
9641(1)	42	42	53	48	59	59	60	60	60	60
9641(3)	29	32	30	25	40	37	38	38	38	38
9582(1)	37	47	36	36	57	60	60	60	60	60
9582(3)	35	38	42	42	42	52	52	50	52	50
Média	34,83	42,83	43,00	39,17	53,17	55,00	54,67	55,33	55,00	55,00

A = início da estimulação
B = após + 200 mseg do início da estimulação
C = após 3 segundos do início da estimulação

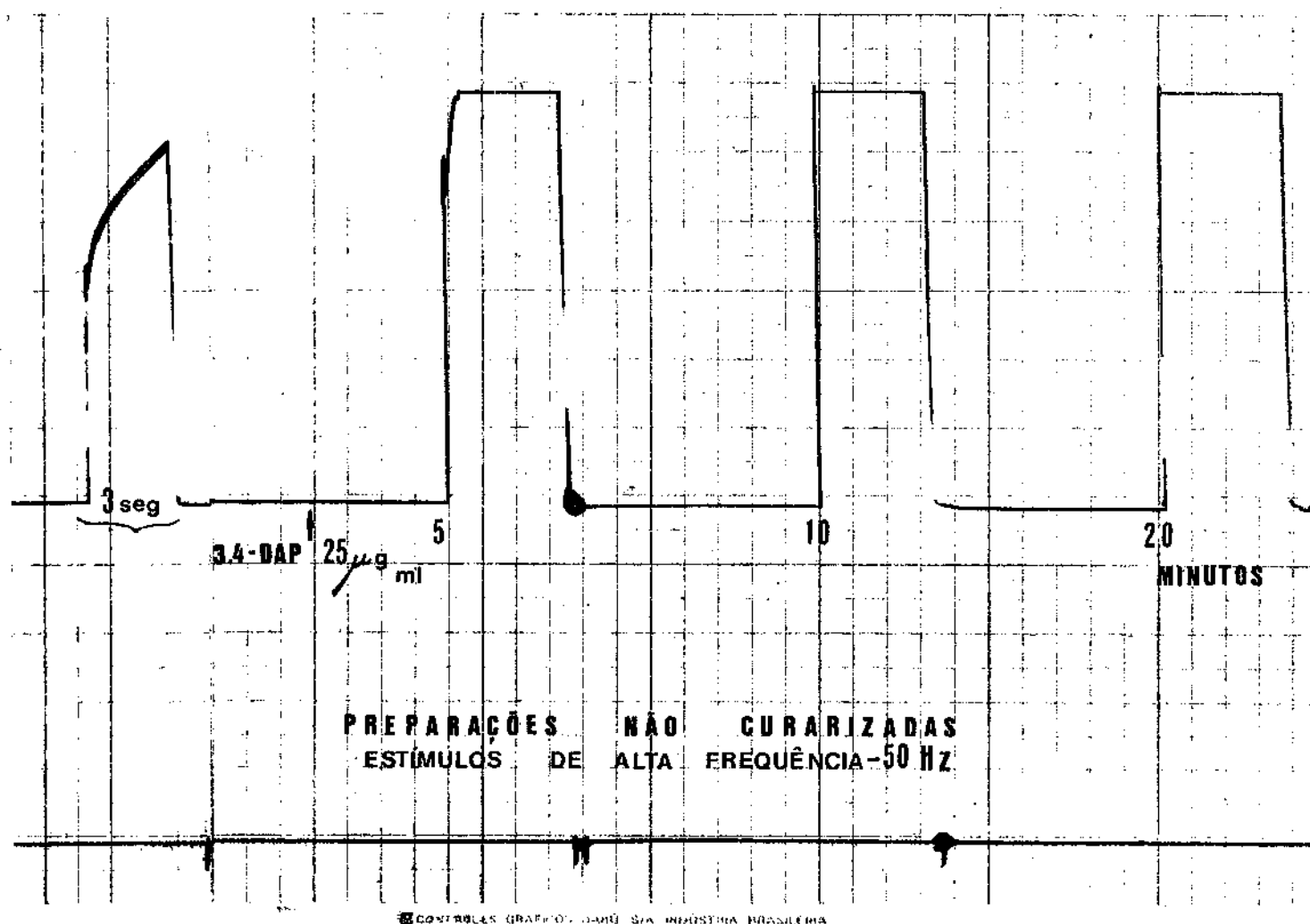


Figura - 13

Registro das contrações do diafragma, submetido à estimulação indireta de frequência elevada (50 Hz) durante 3 segundos, realizado antes da adição, 5, 10 e 20 minutos após a adição de 3.4-diaminopiridina (3.4- D.A.P.) 25 ug/ml.

TABELA - XX

Valores das tensões do diafragma (em mm) sob estimulação indireta com estímulos de frequência elevada (50 Hz) medidos antes da adição, 5, 10 e 20 minutos após a adição de neostigmina 0,02 ug/ml.

Número do Registro	VALORES DAS TENSÕES DO DIAFRAGMA MEDIDOS EM m m		APÓS 5'		APÓS 10'		APÓS 20'	
	A	B	A	B	A	B	A	B
297(1)	48	58	50	58	50	58	45	58
297(3)	40	48	41	50	40	49	38	48
291(1)	45	56	42	56	42	55	40	55
291(3)	51	57	51	57	51	57	48	56
287(1)	48	57	45	55	43	50	45	50
287(3)	48	58	48	55	46	55	45	55
M é d i a	46,67	55,67	46,17	55,17	45,33	54,00	41,83	54,67

A = início da estimulação

B = após 3 segundos de estimulação

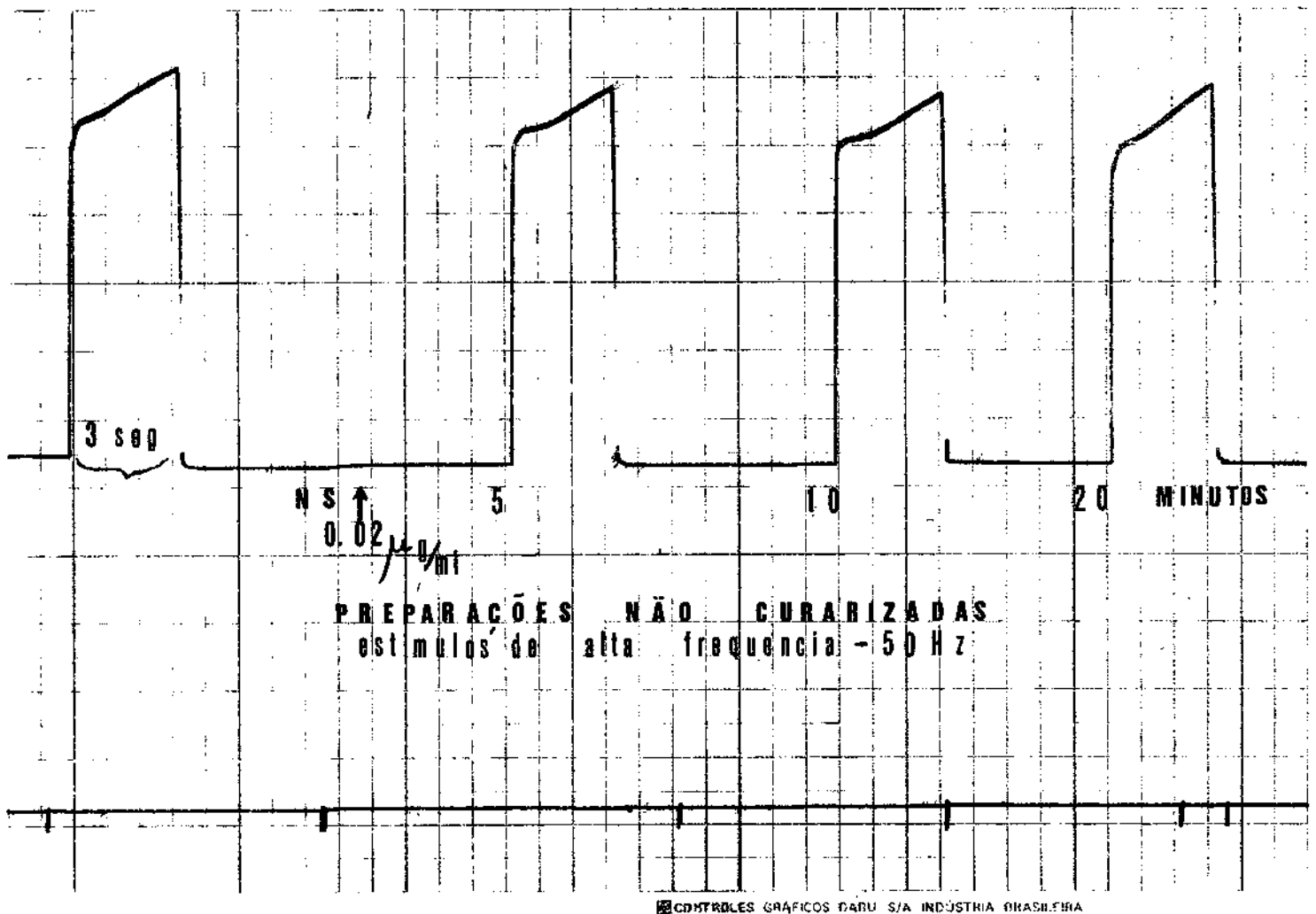


Figura - 14

Registro das contrações do diafragma, submetido à estimulação indireta de frequência elevada (50 Hz) durante 3 segundos, realizado antes da adição, 5, 10 e 20 minutos após a adição de neostigmina (N.S.) 0,02 μ g/ml.

TABELA - XXI

Valores das tensões do diafragma, sob estimulação indireta de frequência elevada, (50 Hz), medidos antes da adição, 5, 10 e 20 minutos após a adição da neostigmina 0,1 ug/ml

Número do Registro	VALORES DAS TENSÕES DO DIAFRAGMA			M E I D O S E M m							
	PADRÃO A	B	A	APÓS 5 min B	A	APÓS 10 min B	A	APÓS 20 min B	A		
240(1)	45	60	46	43	56	39	20	55	39	10	55
240(3)	50	52	49	40	52	47	18	52	43	17	51
233(1)	45	57	42	42	57	42	40	57	41	15	57
233(3)	50	50	30	25	48	36	22	45	34	4	45
223(1)	40	52	45	11	43	39	2	18	35	-	7
223(3)	35	45	55	30	45	55	7	35	55	2	24
M é d i a	44,17	52,66	44,50	31,83	50,17	43,00	18,17	46,66	41,16	8,00	39,83

A = início da estimulação
 B = após + 200 mseg do início de estimulação
 C = após 3 segundos de estimulação

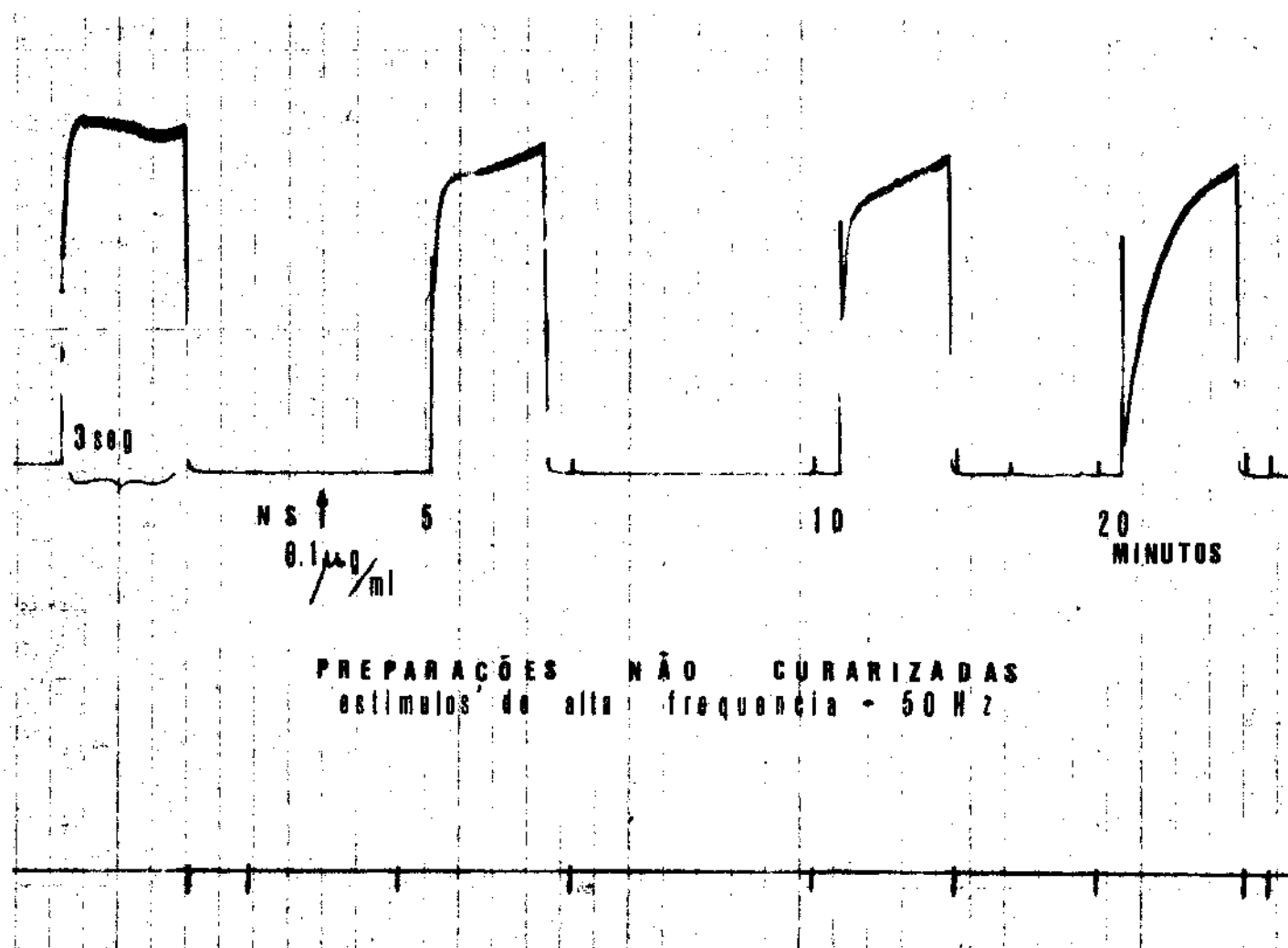


Figura - 15

Registro das contrações do diafragma, submetido à estimulação indireta de frequência elevada (50 Hz) durante 3 segundos, realizado antes da adição, 5, 10 e 20 minutos após a adição de neostigmina (N.S.) 0,1 µg/ml.

TABELA - XXII

Valores das tensões do diafragma, sob estimulação indireta de frequência elevada (50 Hz) medidos antes da adição, 5, 10 e 20 minutos após a adição de neostigmina 0,5 ug/ml.

Número do Registro	VALORES DAS TENSÕES DO DIAFRAGMA MEDIDOS EM mm													
	PADRÃO			APÓS 5 min			APÓS 10 min			APÓS 20 min				
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B
282	37	45		48	17	27	48	5	13	40	3	3		
275(1)	47	57		56	30	54	53	-	10	21	-	-		
275(3)	54	54		50	21	47	57	3	11	54	2	2		
248(1)	50	58		44	12	41	39	2	10	28	-	-		
248(3)	53	53		47	38	54	48	5	36	39	2	7		
244(3)	45	52		48	11	19	48	7	38	38	8	22		
M é d i a	47,66	53,16		48,86	21,50	40,33	49,00	3,66	19,86	36,66	2,55	5,66		

A = início da estimulação
 B = após + 200 mseg do início da estimulação
 C = após 3 segundos de estimulação

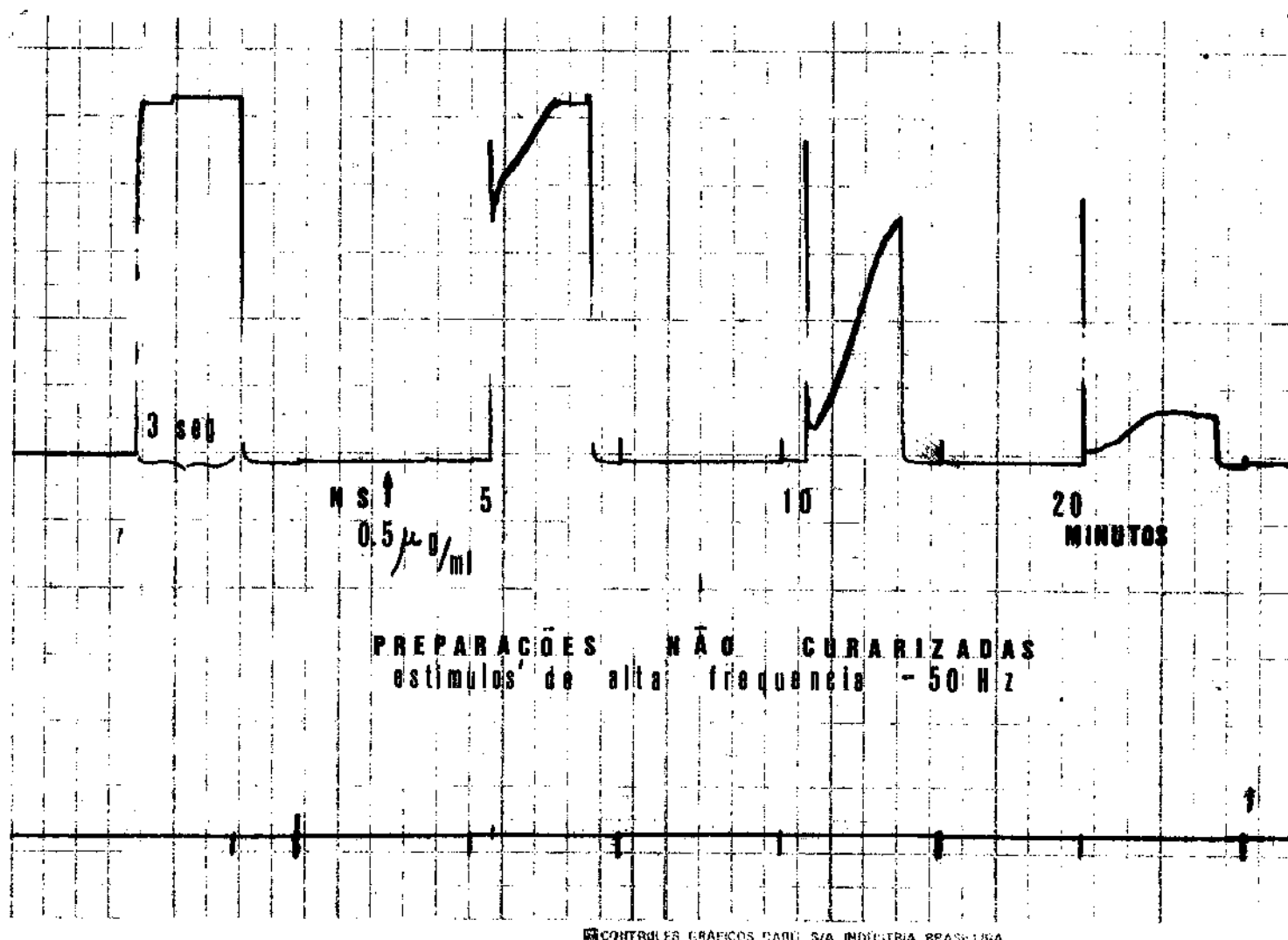


Figura - 16

Registro das contrações do diafragma, submetido à estimulação indireta de frequência elevada (50 Hz) durante 3 segundos realizado antes da adição, 5, 10 e 20 minutos após à adição de neostigmina (N.S.) 0,5 ug/ml.

TABELA - XXIII

Valores das tensões do diafragma (em mm), sob estimulação indireta de frequência elevada (50 Hz), medidos antes da adição, 5, 10 e 20 minutos após adição de 4-Ami-nopiridina 1 ug/ml + Neostigmina 0,02 ug/ml.

Número do Registro	VALORES		DAS TENSÕES		DO DIAFRAGMA		MEDIDOS		EM		m m	
	PADRÃO		APÓS 5'		APÓS 10'		APÓS 10'		APÓS 20'			
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B		
309(1)	37	44	37	47	39	50	41	50				
309(3)	34	41	34	43	36	45	37	46				
305(1)	36	48	36	52	36	53	38	54				
305(3)	34	45	30	48	33	59	33	50				
300(1)	35	40	32	45	35	45	35	47				
300(3)	29	45	33	47	32	50	33	54				
M é d i a	34,17	43,83	33,67	47,00	35,17	48,67	36,17	50,17				

A = início da estimulação

B = após 3 segundos de estimulação

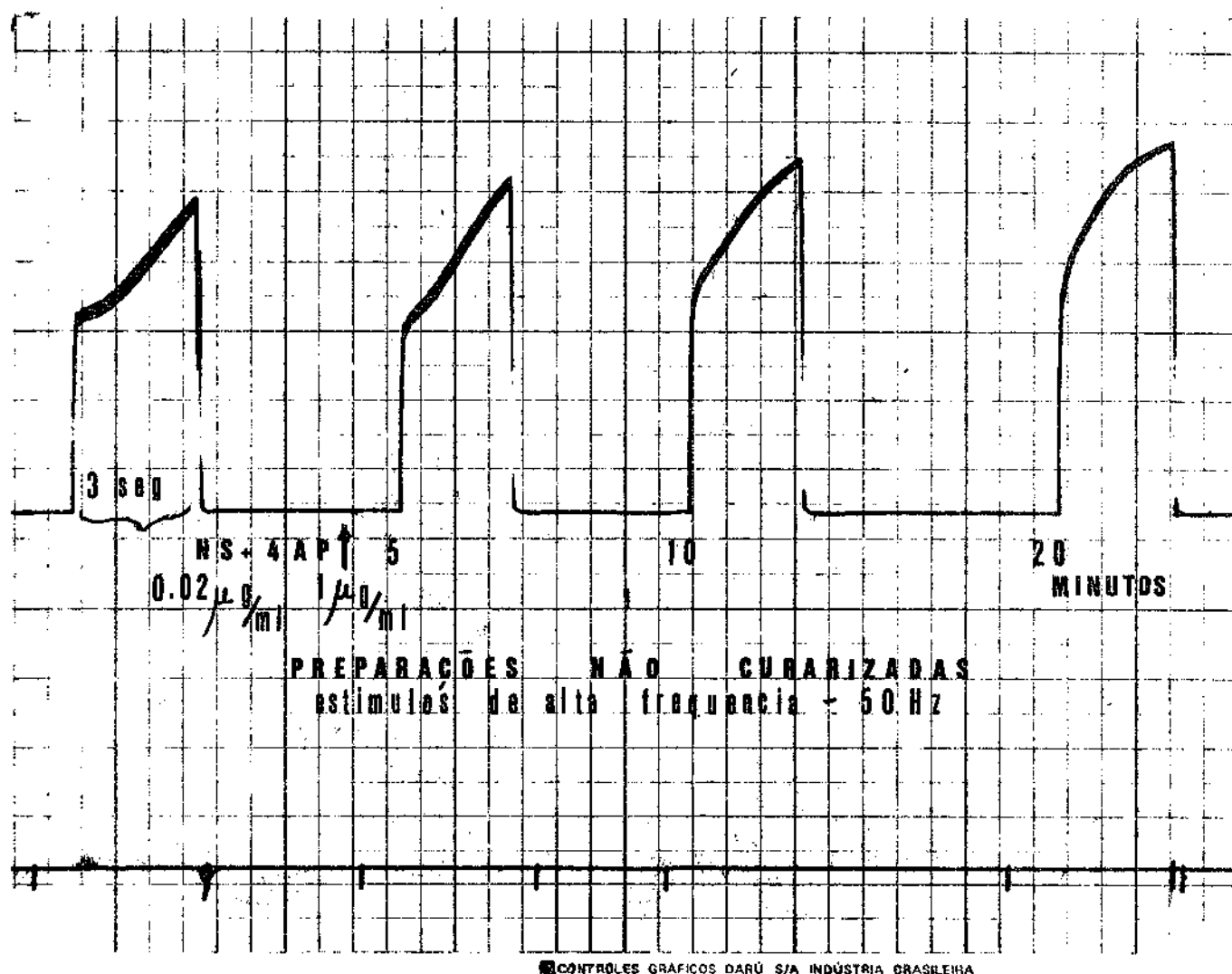


Figura - 17

Registro das contrações do diafragma, submetido à estimulação indireta de frequência elevada (50 Hz) durante 3 segundos, realizados antes da adição, 5, 10 e 20 minutos após à adição da associação de 4-aminopiridina (4-A.P.) 1 μ g/ml com a neostigmina (N.S.) 0,02 μ g/ml.

TABELA - XXIV

Valores das tensões do diafragma, sob estimulação indireta de frequência elevada (50 Hz) medidos antes da adição, 5, 10 e 20 minutos após a adição de 4-aminopiridina 1 ug/ml + neostigmina 0,1 ug/ml.

Número do Registro	VALORES DAS TENSÕES DO DIAFRAGMA MEDIDOS EM mm											
	PADRÃO			APÓS 5 min			APÓS 10 min			APÓS 20 min		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
0255(1)	47	52	54	44	38	54	44	25	56	40	-	47
0255(3)	39	39	39	34	2	39	31	14	39	28	2	39
0250(1)	55	58	59	47	45	59	42	14	56	29	-	33
0250(3)	40	50	51	42	35	51	41	13	50	35	-	48
0243(1)	56	58	58	50	58	58	43	16	57	37	-	43
0243(3)	44	47	55	58	32	55	53	8	54	51	2	48
Média	46,83	50,67	52,67	45,86	35,00	52,67	37,67	15,00	52,00	36,67	0,67	43,00

A = início da estimulação
B = após + 200 mseg do início da estimulação
C = após 3 seg de estimulação

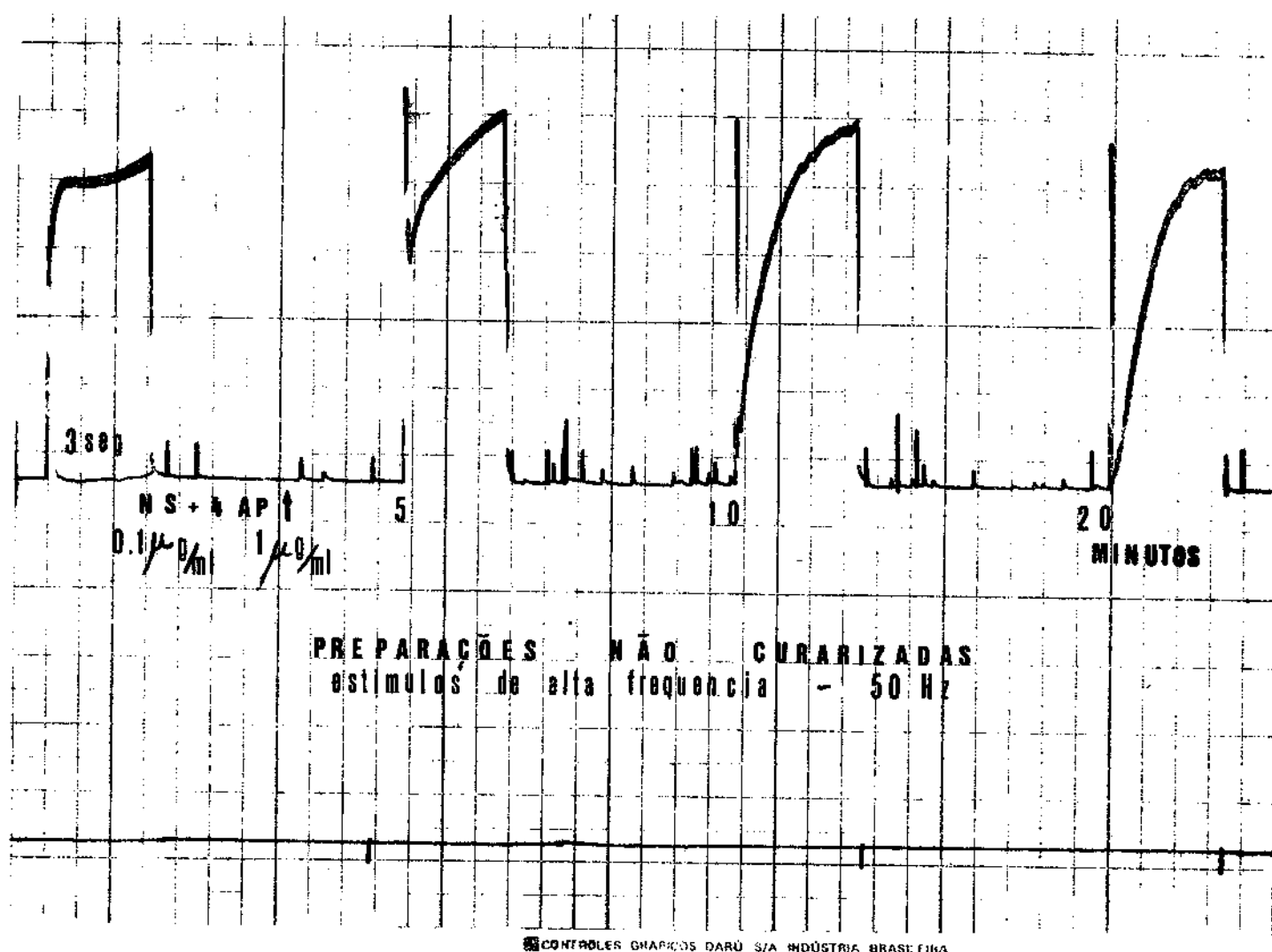


Figura - 18

Registros das contrações do diafragma, submetido à estimulação indireta de frequência elevada (50 Hz) durante 3 segundos, realizados antes da adição, 5, 10 e 20 minutos após a adição da associação de 4-aminopiridina (4-A.P.) 1 μ g/ml com a neostigmina (N.S.) 0,1 μ g/ml.

TABELA - XXV

Valores das tensões dos diafragmas sob estimulação indireta de frequência elevada (50 Hz) medidos antes da adição, 5, 10 e 20 minutos após a adição da associação de 3.4-diaminopiridina 1 ug/ml com a neostigmina 0,02 ug/ml.

Número do Registro	VALORES DO PADRÃO		DAS TENSÕES		DO DIAPHRAGMA		MEDIDOS EM		m m	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
	APÓS 5'		APÓS 10'		APÓS 20'					
9703(1)	48	54	48	54	48	57	50	60		
9703(3)	50	60	51	60	54	60	60	60		
9709(1)	38	45	32	50	36	51	39	54		
9709(3)	41	52	34	58	39	60	42	60		
9716(1)	49	59	50	59	53	59	59	59		
9716(3)	42	53	35	59	40	61	41	61		
M é d i a	44,67	53,83	41,67	56,67	45,00	58,00	48,83	59,00		

A = início da estimulação
B = 3 segundos após o início da estimulação

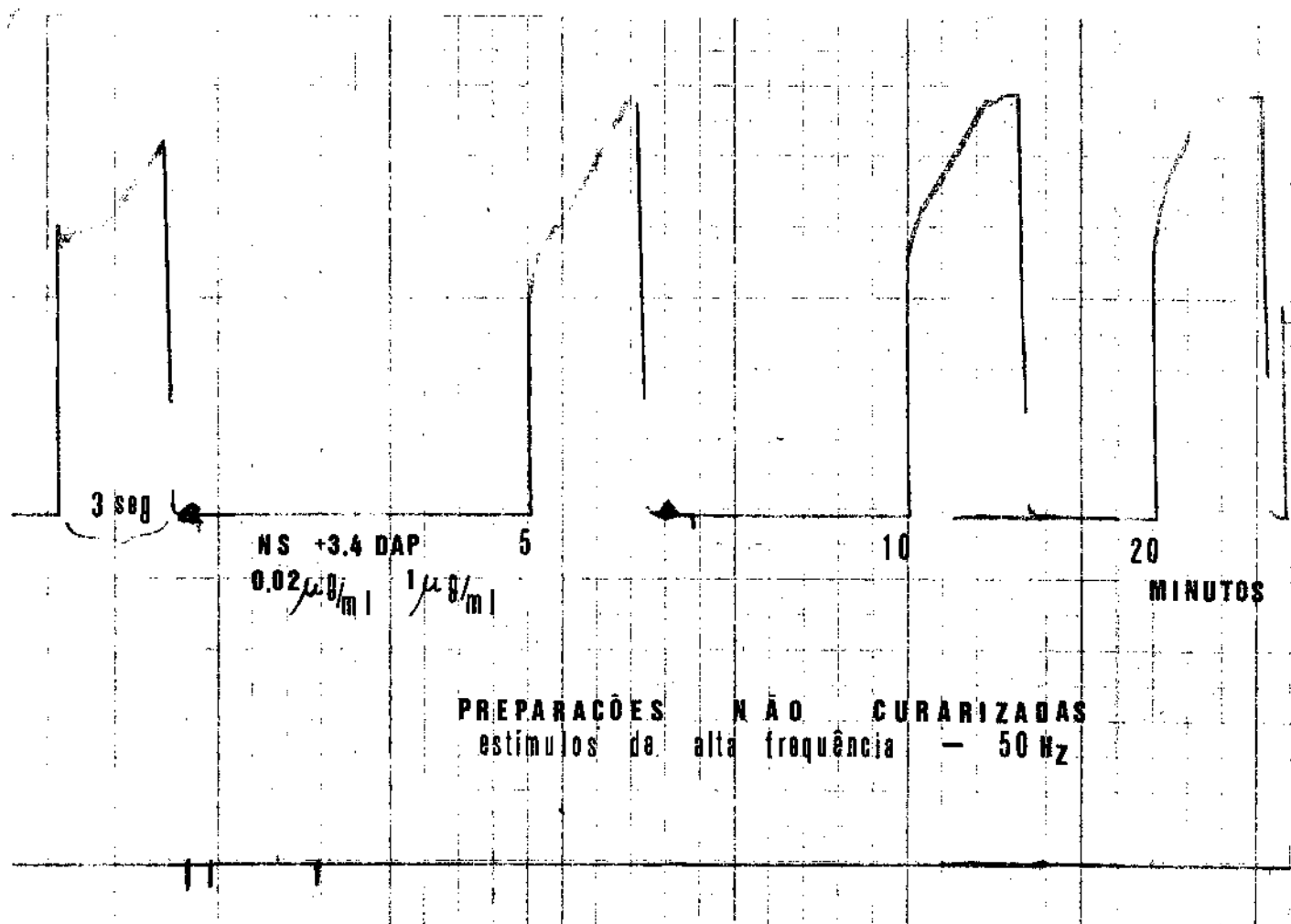


Figura - 19

Registro das contrações do diafragma, submetido à estimulação indireta de frequência elevada (50 Hz) durante 3 segundos , realizado antes da adição, 5, 10 e 20 minutos após a adição da associação de 3.4-diaminopiridina (3.4- D.A.P.) 1 $\mu\text{g/ml}$, com a neostigmina (N.S.) 0,02 $\mu\text{g/ml}$.

TABELA - XXVI

Valores das tensões dos diafragmas sob estimulação indireta de frequência elevada (50 Hz)
medidos antes da adição, 5, 10 e 20 minutos após a adição da associação de 3.4-diaminopiridina 1 ug/ml com a neostigmina 0,1 ug/ml.

Número do Registro	VALORES DAS TENSÕES DO DIAFRAGMA MEDIDOS EM mm									
	PADRÃO		APÓS 5 min		APÓS 10 min		APÓS 20 min			
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
9694(1)	36	39	44	33	47	8	42	48	40	-
9694(3)	36	39	30	28	40	8	32	40	32	-
9686(1)	45	55	51	40	60	30	48	61	35	-
9686(3)	40	42	37	37	43	15	31	43	30	-
9680(1)	32	40	32	30	43	18	31	42	30	-
9680(3)	30	40	31	18	42	-	29	39	20	-
Média	31,50	42,50	35,00	31,00	45,83	13,16	35,50	45,50	31,16	-
										37,83

A = início da estimulação
B = + 200mseg após o início da estimulação
C = após 3 segundos de início da estimulação

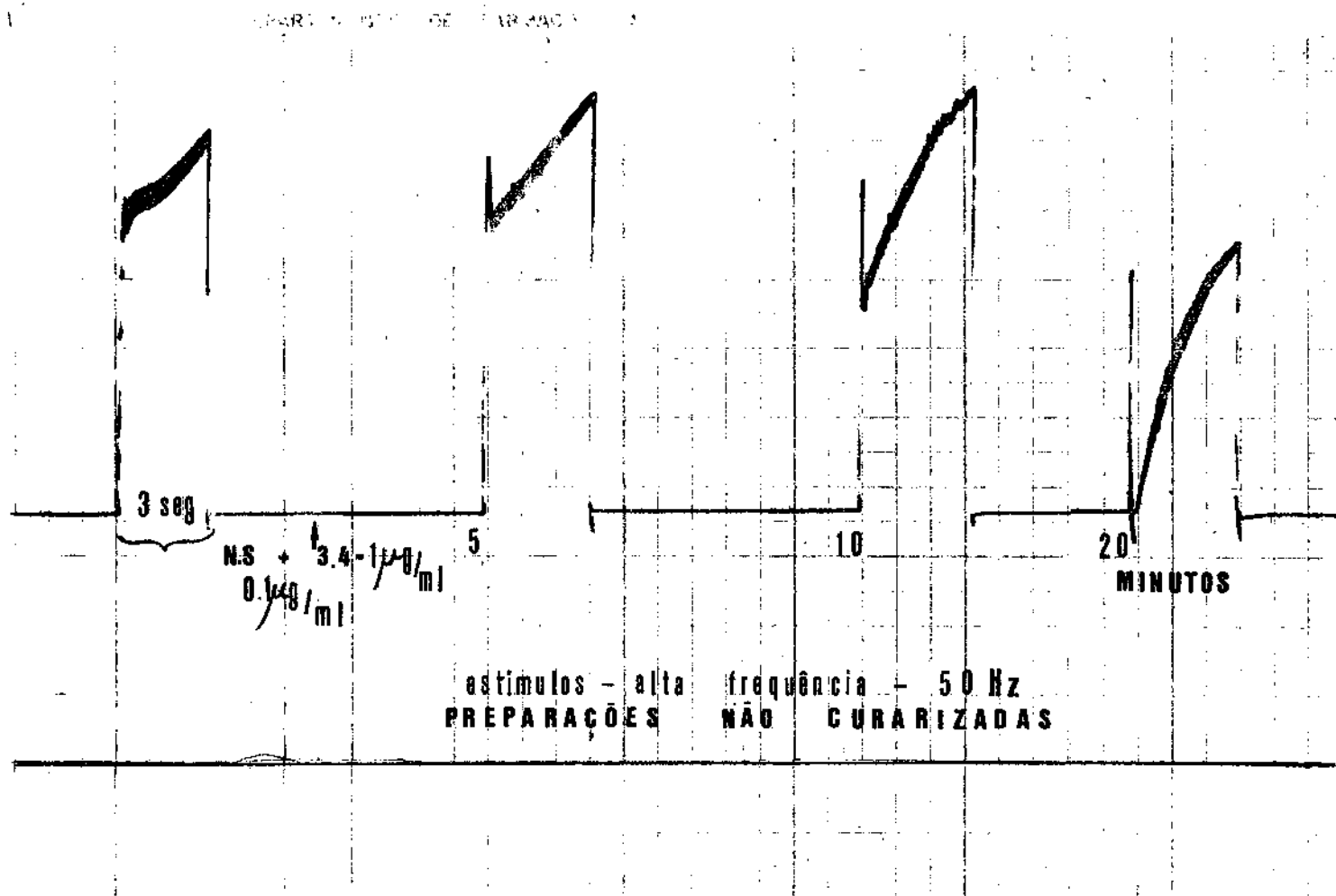


Figura - 20

Registros das contrações do diafragma, submetido à estimulação indireta de frequência elevada (50 Hz) durante 3 segundos, realizados antes da adição, 5, 10 e 20 minutos após a adição da associação de 3.4- diaminopiridina (3.4- D.A.P.) 1 ug/ml com a neostigmina (N.S.) 0,1 ug/ml.

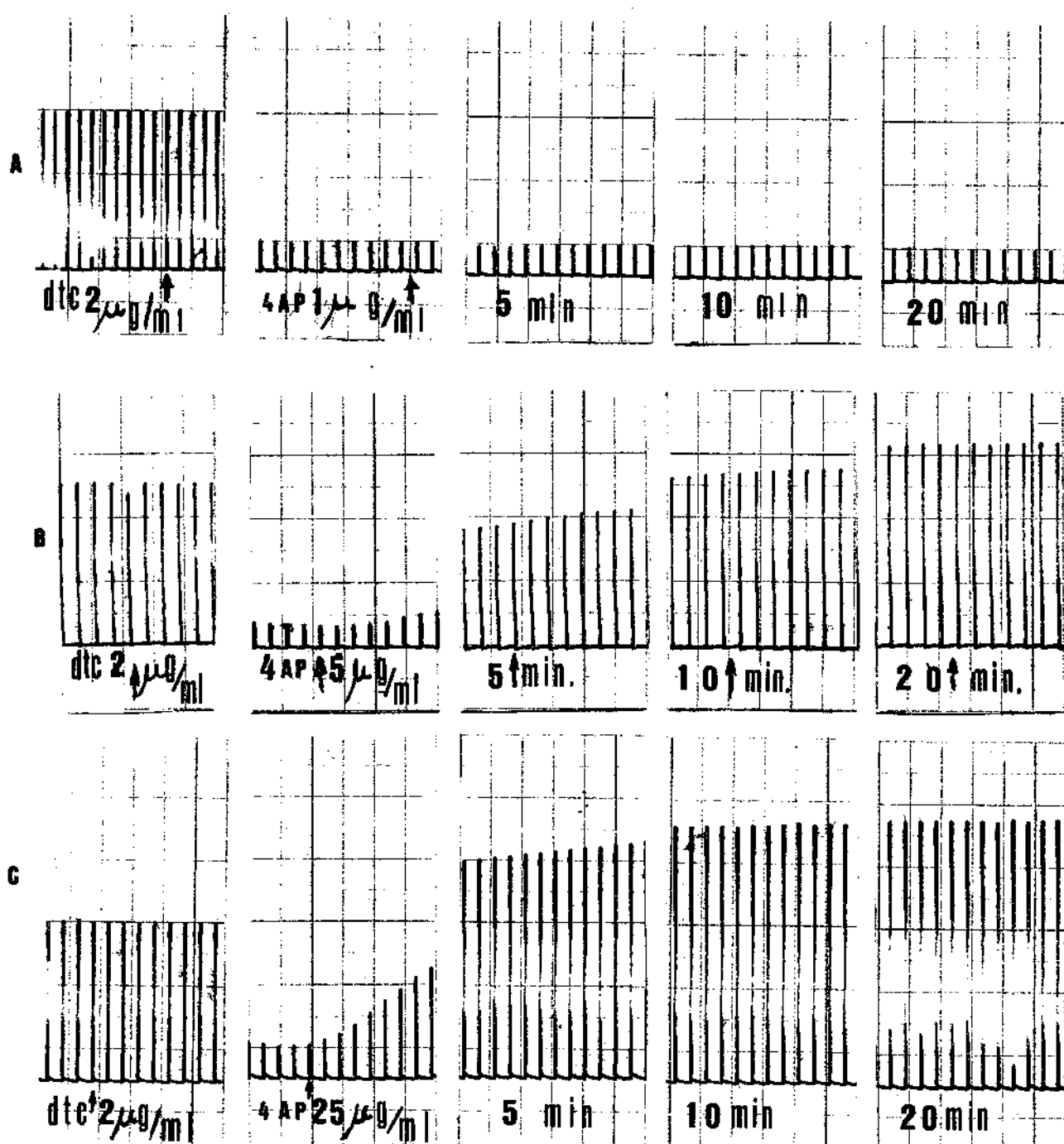


Figura - 21

Registros das tensões de diafragmas de ratos, submetidos à estimulação indireta de baixa frequência (0,1 Hz) realizados antes da curarização com d-tubocurarina (dte) 2 μ g/ml, no momento da adição e 5, 10 e 20 minutos após a adição de 4-aminopiridina (4-A.P.)

A = 4-A.P. - 1 μ g/ml

B = 4-A.P. - 5 μ g/ml

C = 4-A.P. - 25 μ g/ml

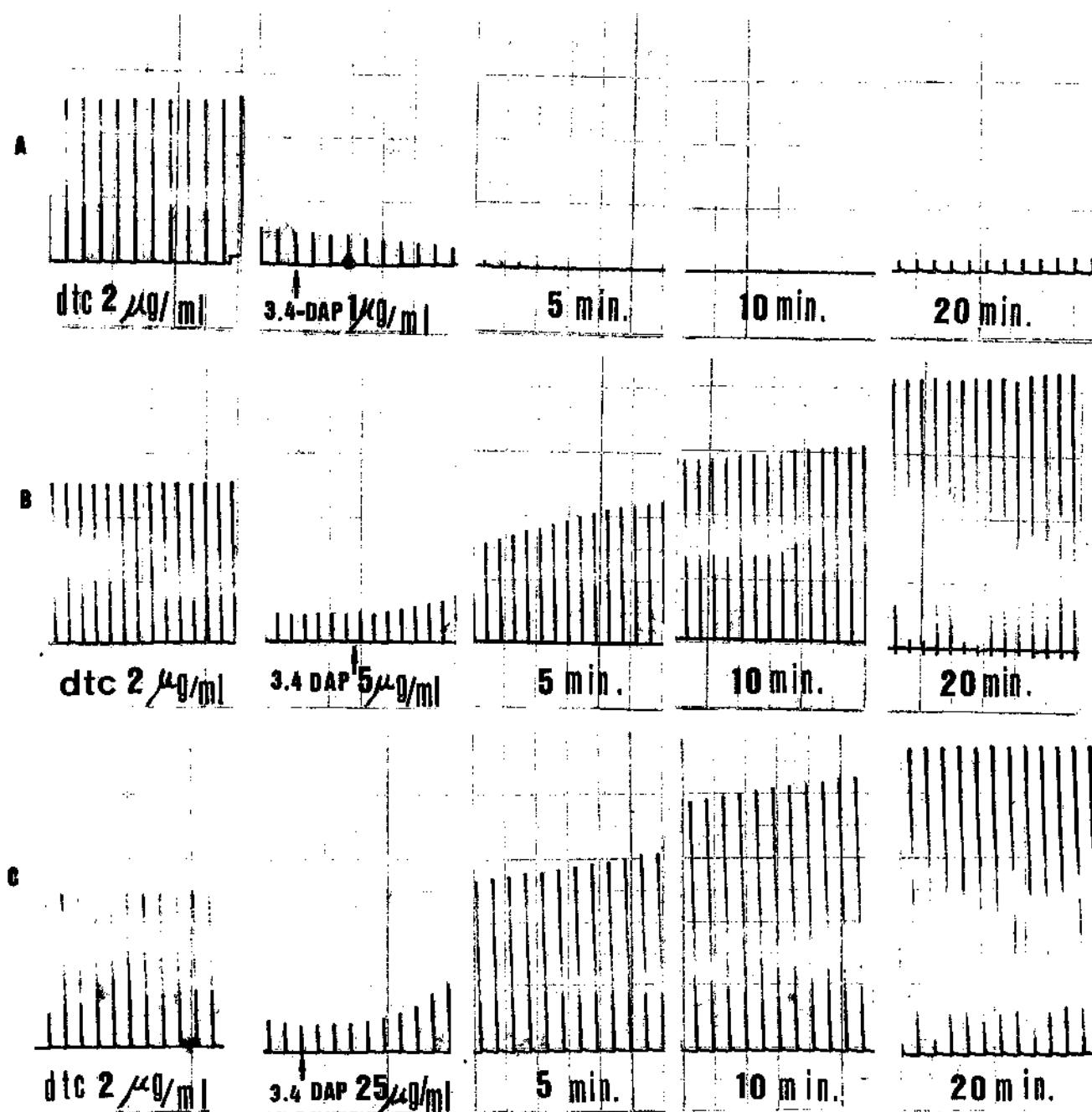


Figura - 22

Registros das tensões dos diafragmas de ratos, submetidos à estimulação indireta de baixa frequência (0,1 Hz) realizados antes da curarização com d-tubocurarina (dte) 2 $\mu\text{g/ml}$, no momento da adição e 5, 10 e 20 minutos após a adição de 3.4-diaminopiridina (3.4- D.A.P.)

A = 3.4-D.A.P. - 1 $\mu\text{g/ml}$

B = 3.4-D.A.P. - 5 $\mu\text{g/ml}$

C = 3.4-D.A.P. - 25 $\mu\text{g/ml}$

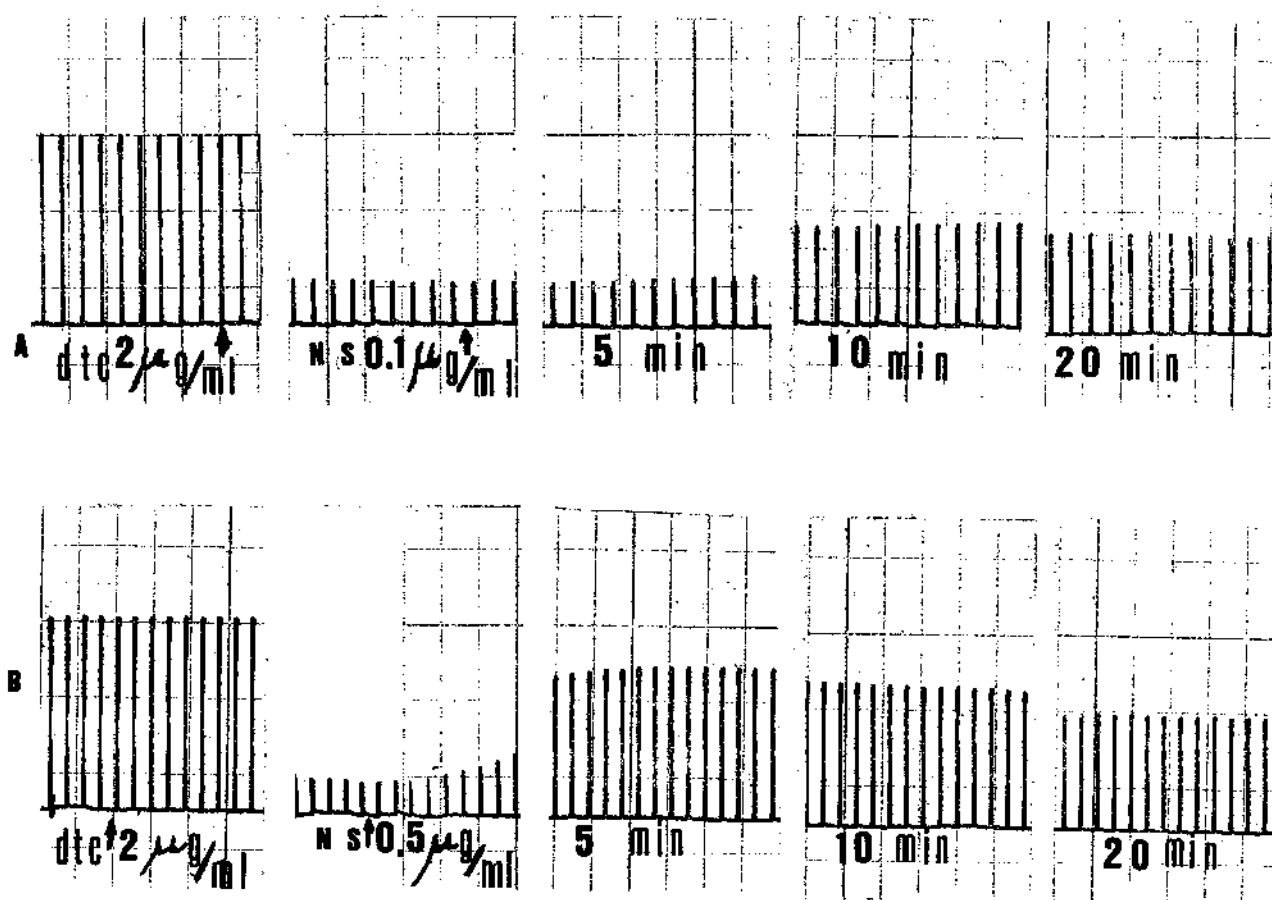


Figura - 23

Registros das tensões de diafragmas de ratos, submetidos à estimulação indireta de baixa frequência (0,1 Hz) realizados antes da curarização com d-tubocurarina (d.t.c.) 2 μ g/ml, no momento da adição e 5, 10 e 20 minutos após a adição de neostigmina (N.S.)

A = neostigmina - 0,1 μ g/ml

B = neostigmina - 0,5 μ g/ml

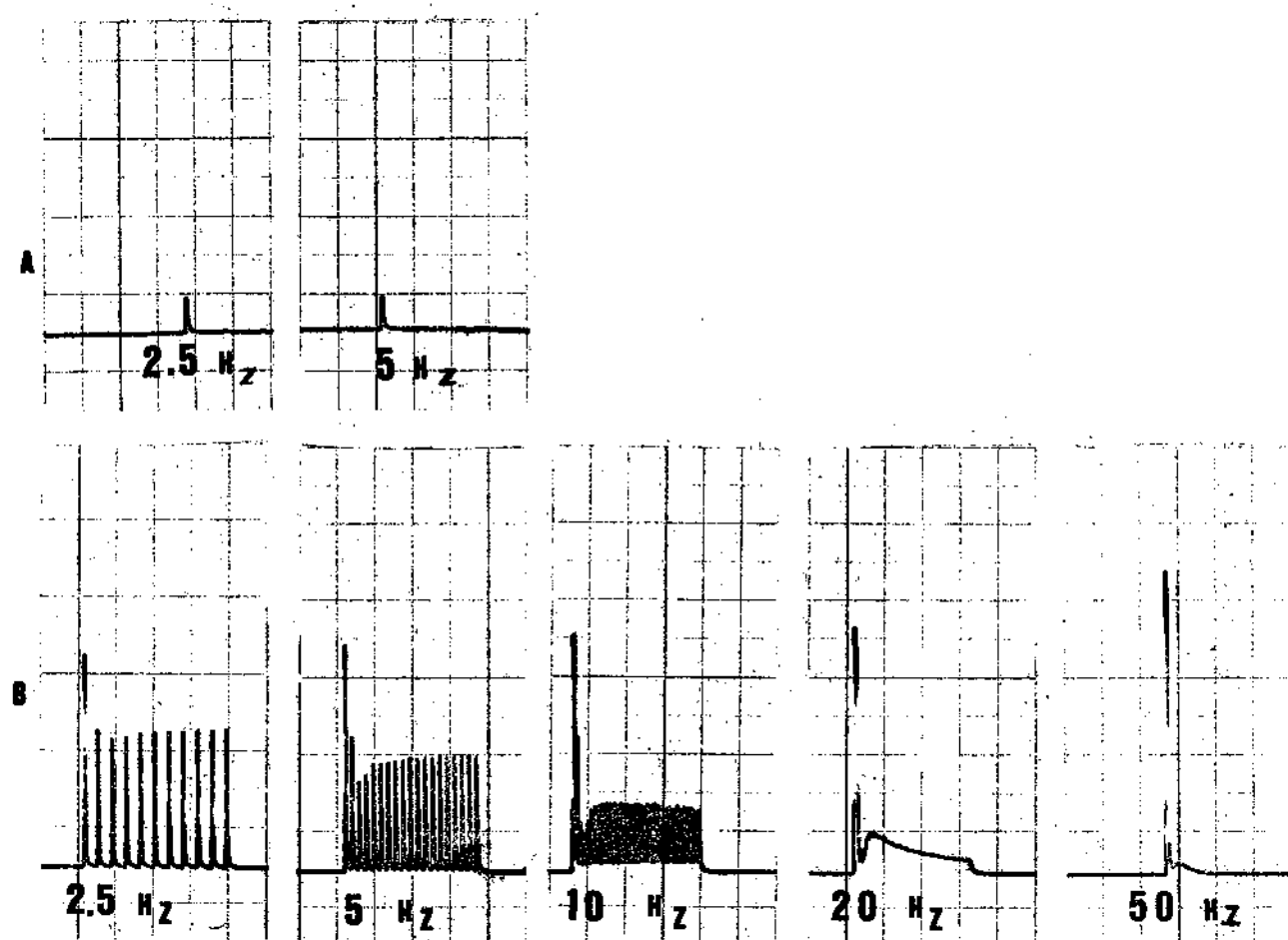


Figura - 24

- A - Registro das tensões de diafragma de rato, submetido à estimulação indireta de freqüência elevada, (2,5 Hz e 5 Hz) realizados após 20 minutos da adição de 4-aminopiridina (4-A.P.) 1 ug/ml, para antagonizar o bloqueio neuromuscular produzido pela d-tubocurarina (dtc) 2 ug/ml.
- B - Registro das tensões produzidas por nova série de estímulos de freqüência elevada, aplicados sobre a mesma preparação após a adição de neostigmina (N.S.) 0,1 ug/ml.

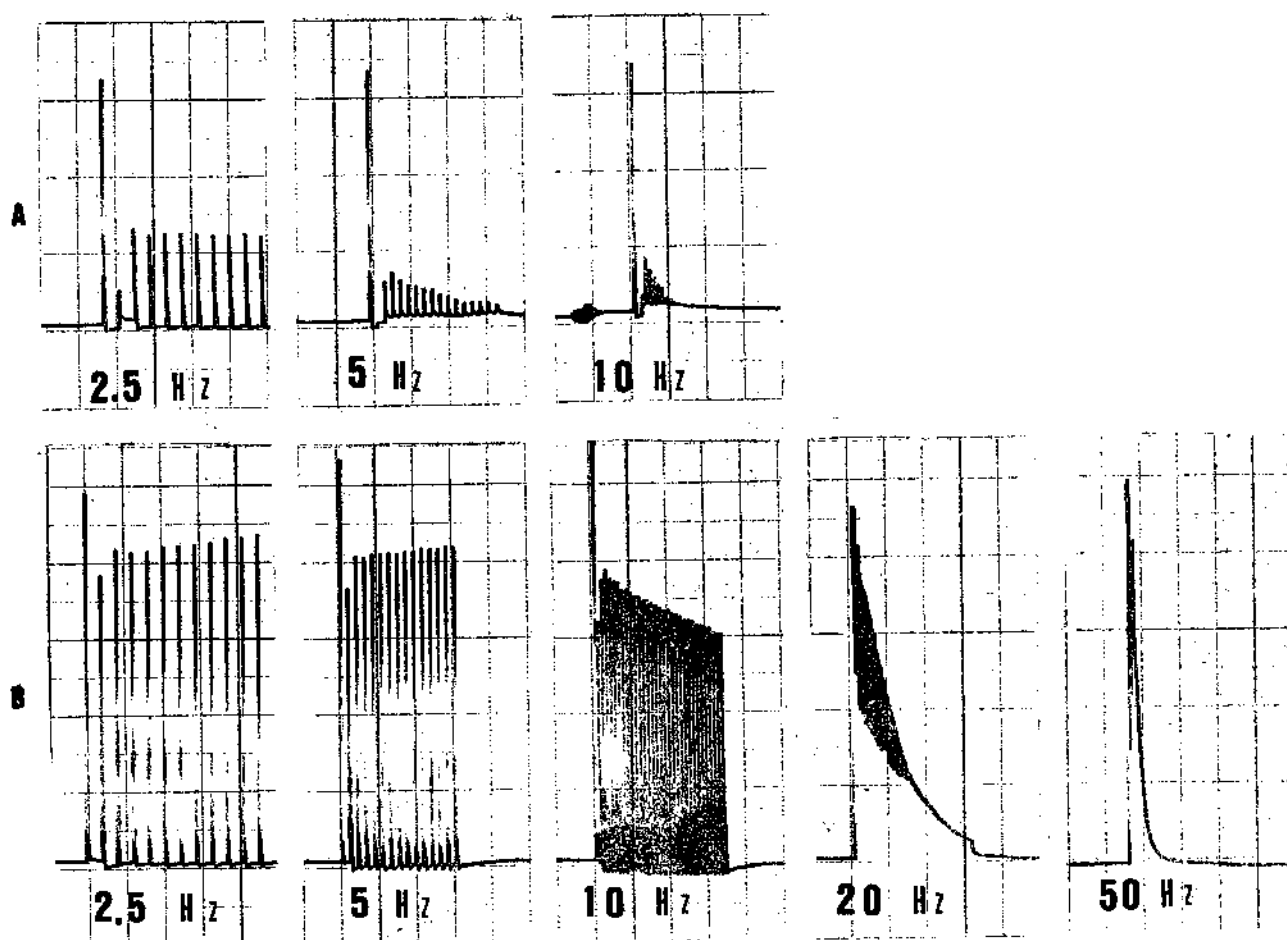


Figura - 25

A - Registro das tensões de diafragma de rato, submetido à estimulação indireta de frequência elevada (2,5 Hz, 5 Hz e 10 Hz) realizados após 20 minutos da adição de 4-aminopiridina (4- A.P.) 5 ug/ml para reverter o bloqueio neuromuscular produzido pela d-tubocurarina (dtc) 2 ug/ml.

B - Registro das tensões produzidas por nova série de estímulos de frequência elevada, aplicados sobre a mesma preparação após a adição de neostigmina (N.S.) 0,1 ug/ml.

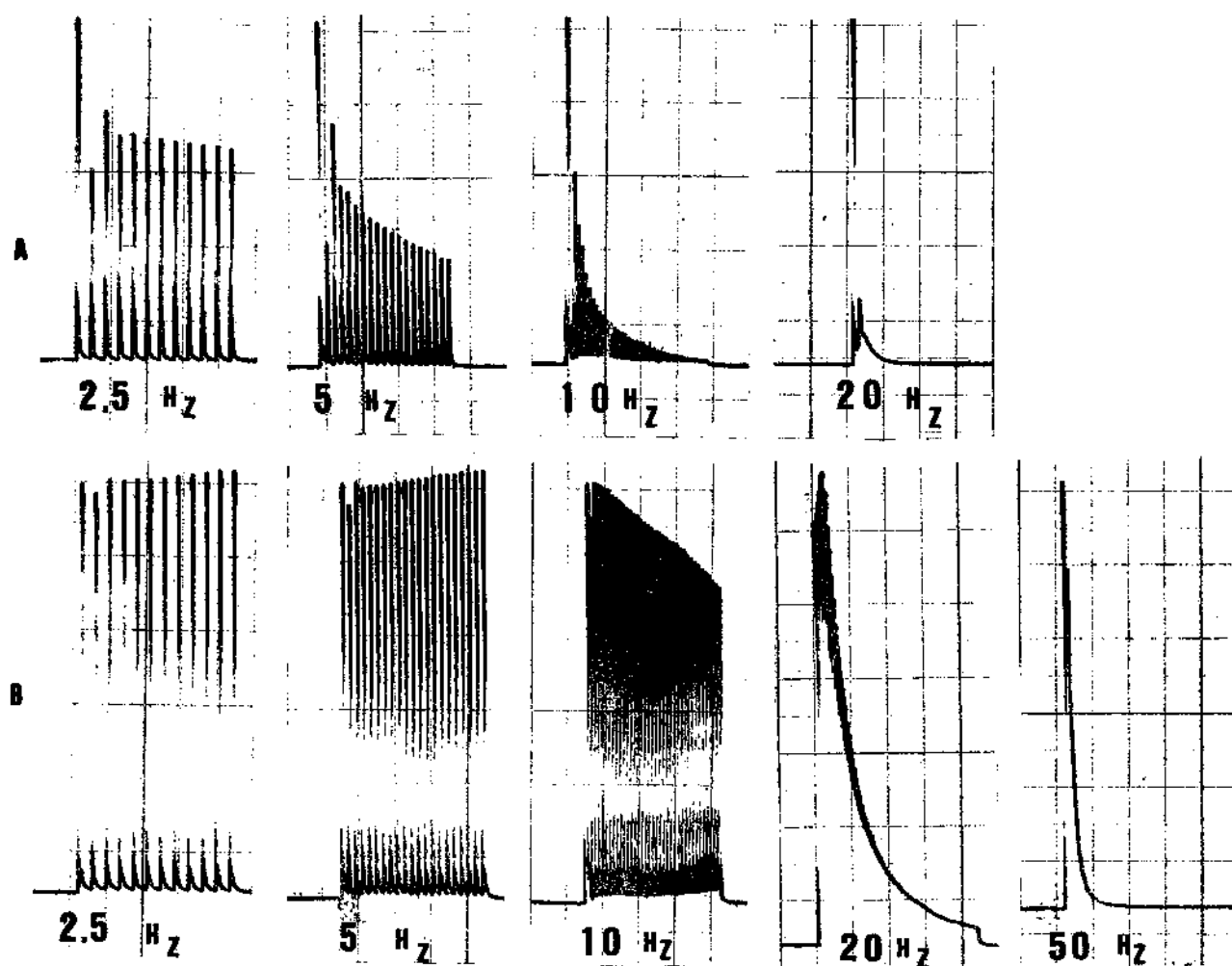


Figura - 26

A - Registros das tensões de diafragma de rato, submetido à estimulação indireta de frequência elevada, (2,5 Hz, 5 Hz , 10 Hz e 20 Hz) realizados 20 minutos após à adição de 4-ami
nopiridina (4-A.P.) 25 ug/ml para reverter o bloqueio neu-
romuscular produzido pela d-tubocurarina (dtc) 2 ug/ml.

B - Registro das tensões produzidas por nova série de estímulos de frequência elevada, aplicados sobre a mesma preparação - após à adição de neostigmina (N.S.) 0,1 ug/ml.

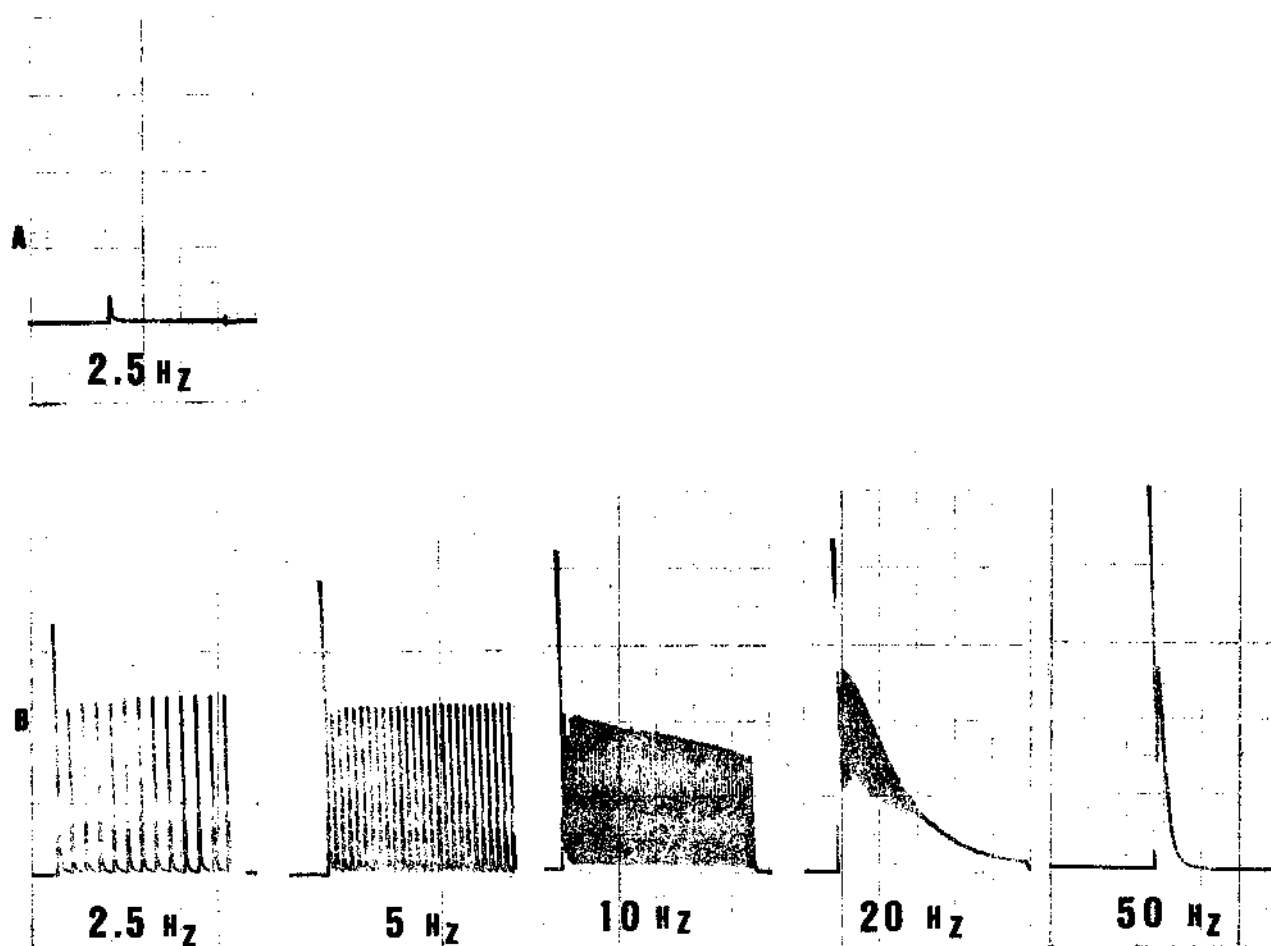


Figura - 27

A - Registros das tensões de diafragma de rato, submetido à estimulação indireta de frequência elevada (2,5 Hz, 5 Hz e 10 Hz) realizados 20 minutos após a adição de 3.4-diaminopiridina (3.4-D.A.P.) 1 ug/ml, para antagonizar o bloqueio neuromuscular produzido pela d-tubocurarina (dtc) 2 ug/ml.

B - Registro das tensões produzidas por nova série de estímulos de frequência elevada, aplicados sobre a mesma preparação após a adição de neostigmina (N.S.) 0,1 ug/ml.

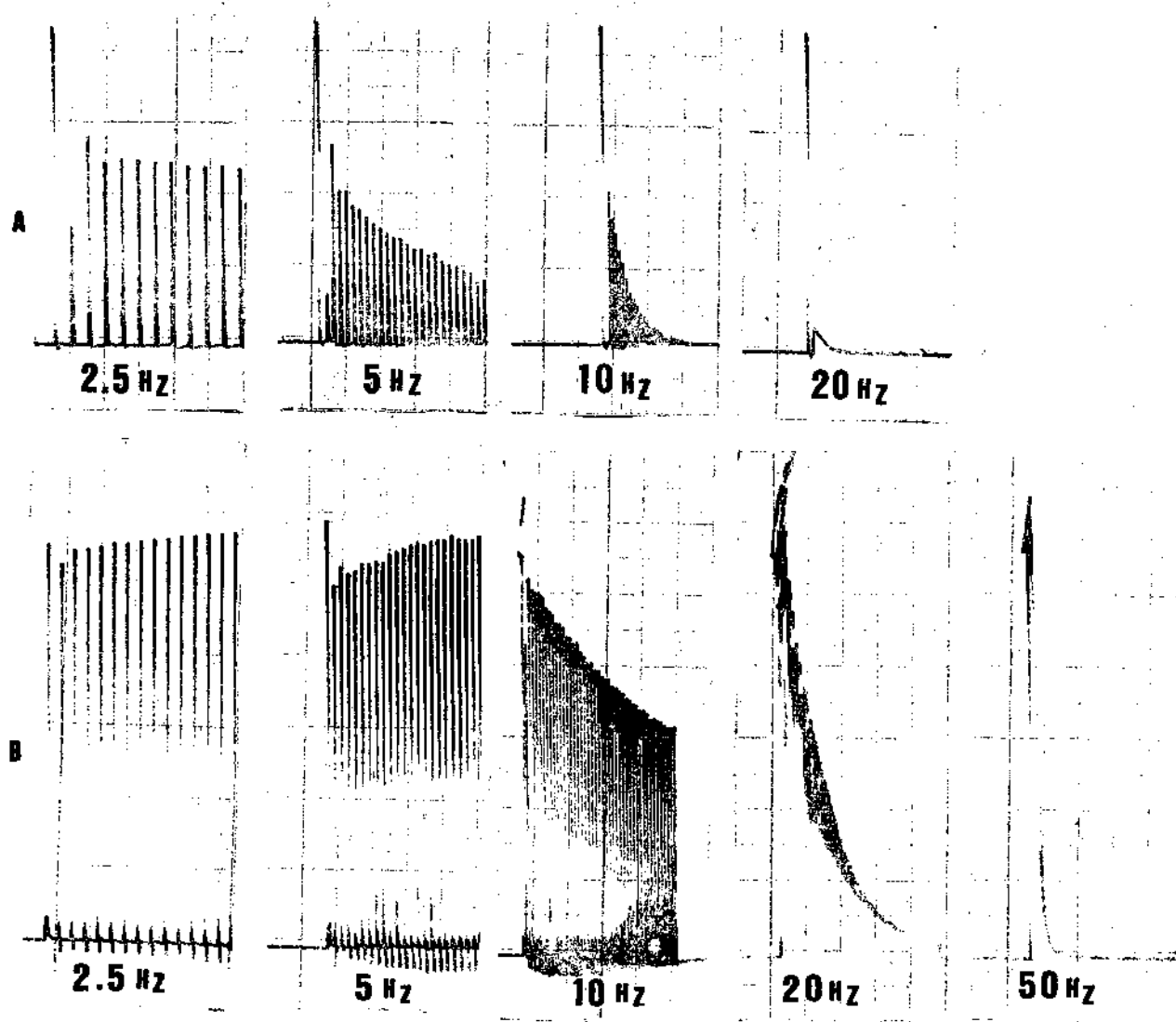


Figura - 28

- A - Registros da tensões de diafragma de rato, submetido à estimulação indireta de frequência elevada (2,5 Hz, 5 Hz e 10 Hz) realizados 20 minutos após à adição de 3.4-diaminopiridina (3.4-D.A.P.) 5 ug/ml para antagonizar o bloqueio neuromuscular produzido pela d-tubocurarina (dtc) 2 ug/ml.
- B - Registros das tensões produzidas por nova série de estímulos de frequência elevada, aplicados sobre a mesma preparação após à adição de neostigmina (N.S.) 0,1 ug/ml.

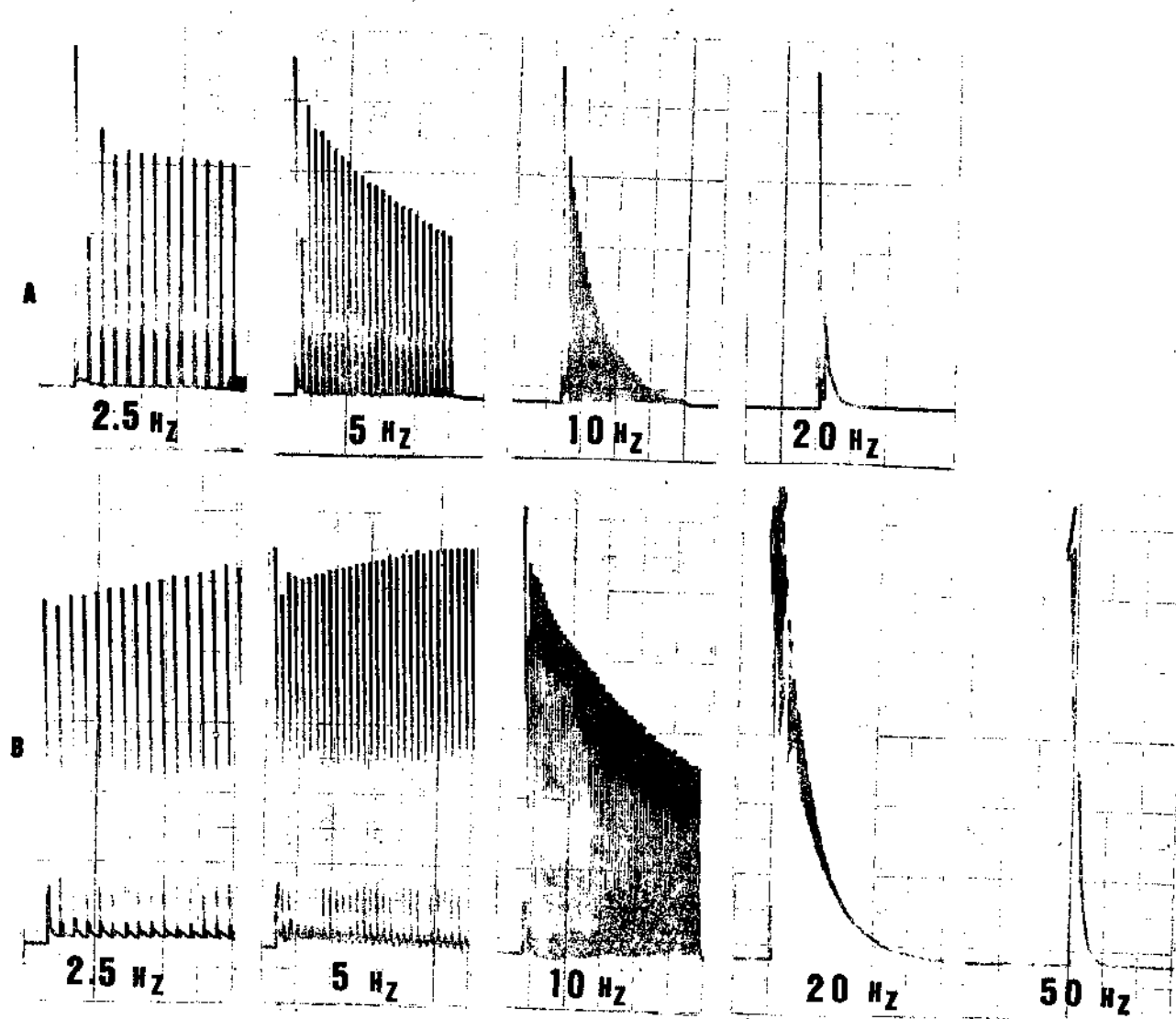


Figura - 29

- A - Registro das tensões de diafragma de rato, submetido à estimulação indireta de frequência elevada (2,5 Hz; 5 Hz e 10 Hz) realizados 20 minutos após à adição de 3.4-diaminopiridina (3.4-D.A.P.) 25 ug/ml para reverter o bloqueio neuromuscular produzido pela d-tubocurarina (dtc) 2 ug/ml.
- B - Registro das tensões produzidas por nova série de estímulos de frequência elevada, aplicados sobre a mesma preparação após à adição de neostigmina (N.S.) 0,1 ug/ml.

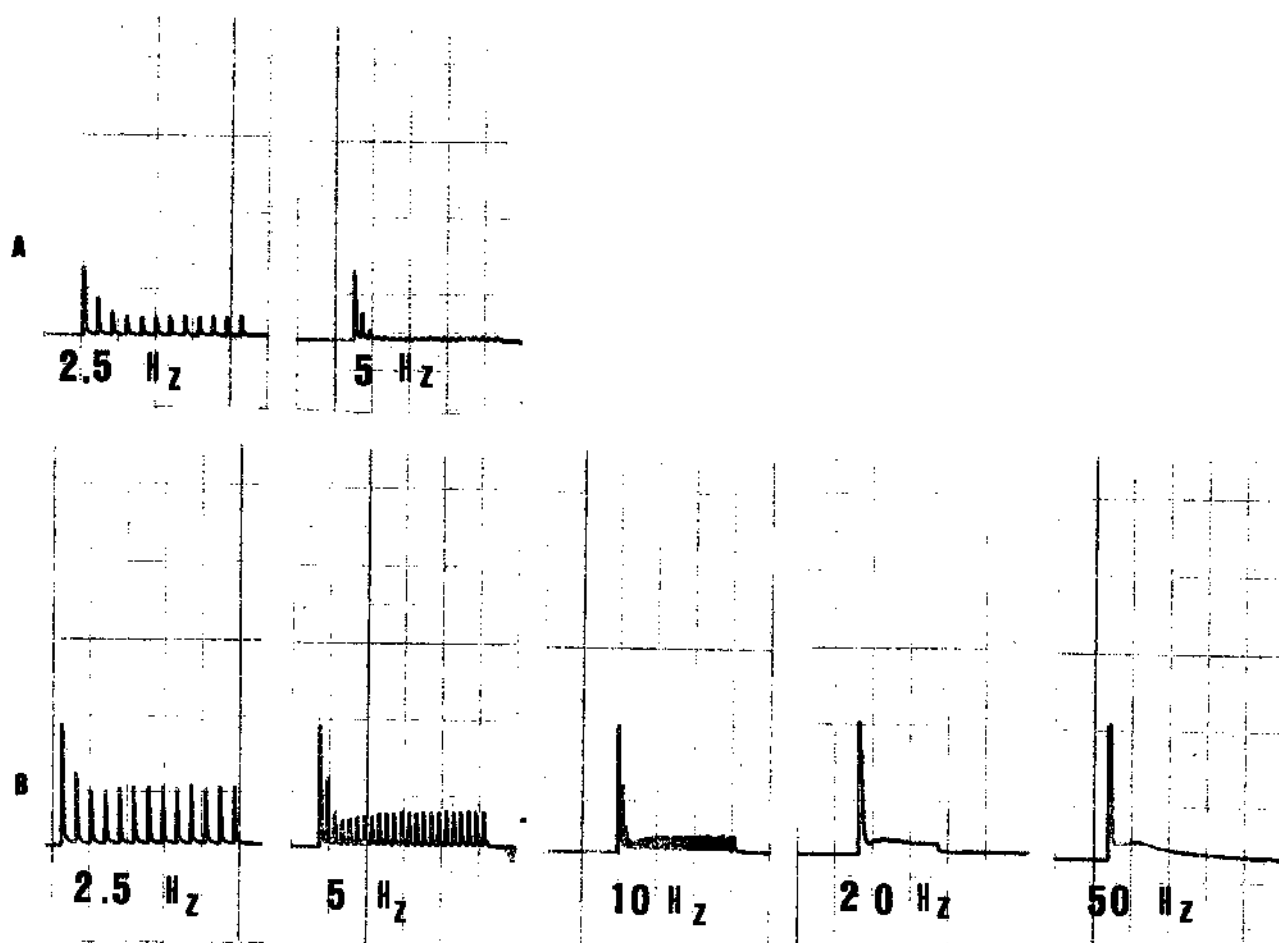


Figura - 30

A - Registro das tensões de diafragma de rato, submetido à estimulação indireta de frequência elevada (2,5 Hz; 5Hz e 10 Hz) realizados 20 minutos após à adição de neostigmina (N.S.) 0,1 ug/ml para reverter o bloqueio neuromuscular - produzido pela d-tubocurarina (dtc) 2 ug/ml.

B - Registro das tensões produzidas por nova série de estímulos de frequência elevada, aplicados sobre a mesma preparação após à adição de 4-aminopiridina (4-A.P.) 1 ug/ml.

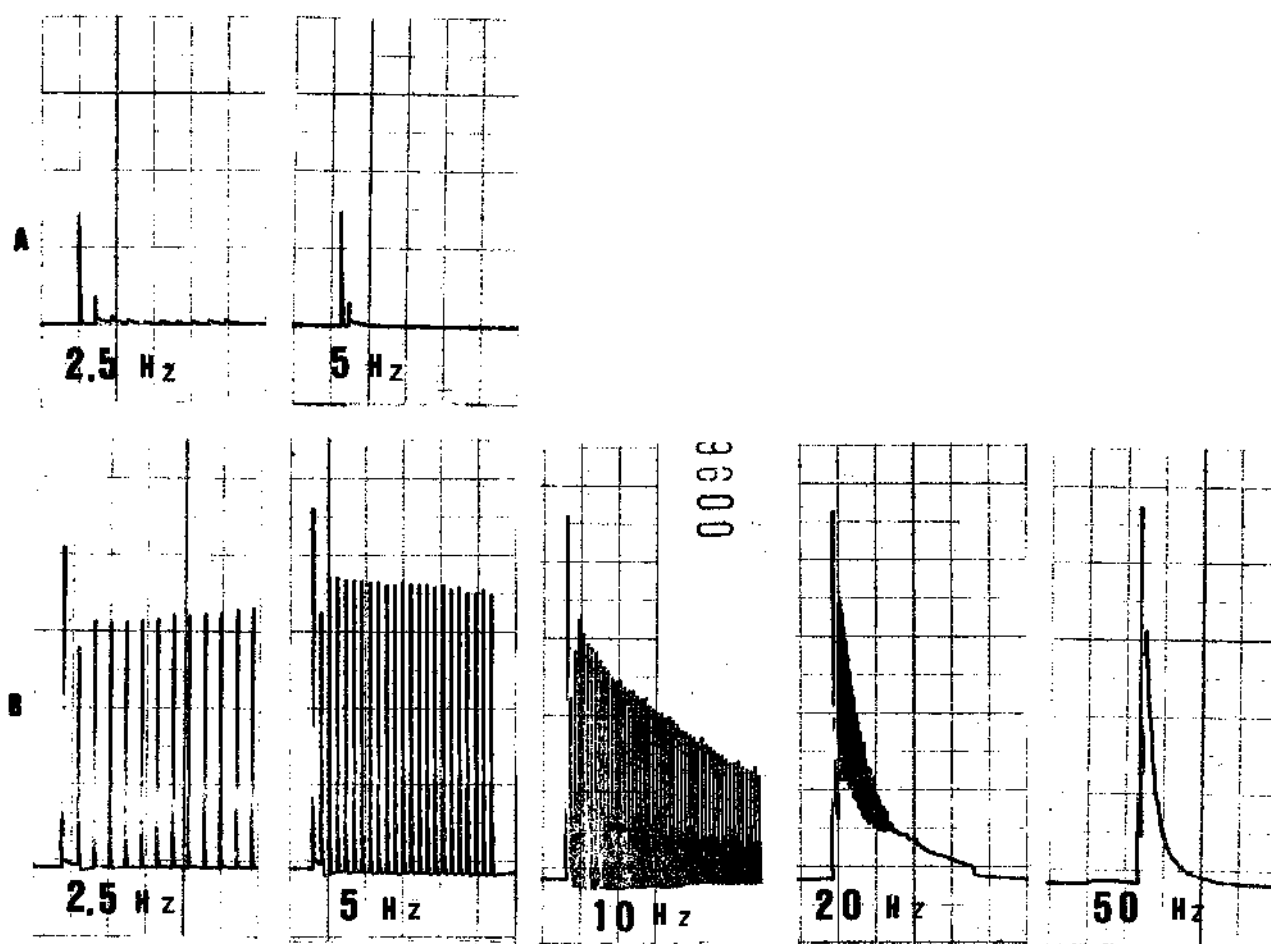


Figura - 31

- A - Registro das tensões de diafragma de rato, submetido à estimulação indireta de frequência elevada (2,5 Hz; 5 Hz) , realizados 20 minutos após à adição de neostigmina (N.S.) 0,1 ug/ml para reverter o bloqueio neuromuscular produzido pela d-tubocurarina (dtc) 2 ug/ml.
- B - Registro das tensões produzidas por nova série de estímulos de frequência elevada, aplicados sobre a mesma preparação após à adição de 4-aminopiridina (4-A.P.) 5 ug/ml.

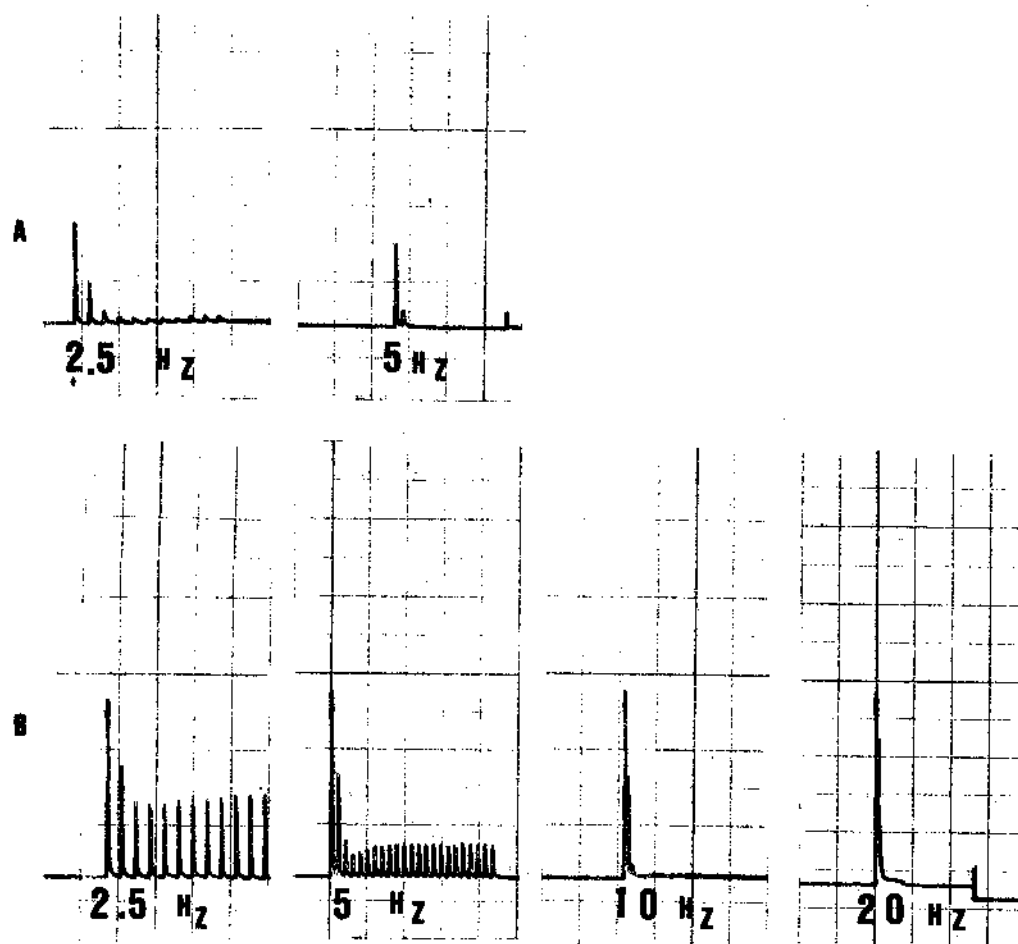


Figura - 32

- A - Registros das tensões de diafragma de rato, submetido à estimulação indireta de frequência elevada (2,5 Hz; 5 Hz) realizados 20 minutos após a adição de neostigmina (N.S.) 0,5 ug/ml para reverter o bloqueio neuromuscular produzido pela d-tubocurarina (dtc) 2 ug/ml.
- B - Registros das tensões produzidas por nova série de estímulos de frequência elevada, aplicados sobre a mesma preparação após a adição de 4-aminopiridina (4-A.P.) 1 ug/ml.

TABELA - XXVII

Valores, da pressão arterial média de cães, medidos: antes, no momento da injeção, 15, 30 e 40 minutos após a injeção de 4-aminopiridina.

Número do Registro	P R E S S ã O A R T E R I A L M É D I A - cm Hg					
	Dose	T ₀	T ₁	T ₁₅	T ₃₀	T ₄₀
7267	0,05	12,5	10,0	12,5	12,5	12,5
7201	0,1	12,5	12,5	12,5	12,5	13,0
7117	0,1	12,5	10,0	12,5	11,0 ⁺	-
7013	0,25	7,5	7,5	10,0	10,0	7,5
6837	0,5	12,5	11,0	11,0	11,0	-

+ = reinício da administração do halotano

T₀ = após indução com tîopental e antes da administração de halotano.

T₁ = injeção endovenosa de 4-A.P.

T₁₅ = 15 minutos após injeção de 4-A.P.

T₃₀ = 30 minutos após injeção de 4-A.P.

T₄₀ = 40 minutos após injeção de 4-A.P.

TABELA - XXVIII

Valores, da frequência cardíaca de cães, medidos: antes, no momento da injeção, 15, 30 e 40 minutos após a injeção de 4-aminopiridina.

Número do Registro	F R E Q U Ê N C I A C A R D Í A C A - mg Hg					
	Dose	T ₀	T ₁	T ₁₅	T ₃₀	T ₄₀
7267	0,05	162	144	144	192	204
7201	0,1	162	90	114	126	126
7117	0,1	132	90	86	126	-
7013	0,25	96	84	84	90	96
6837	0,5	156	120	126	126	-

T₀ = após indução com tiopental e antes da administração do halotano

T₁ = injeção endovenosa de 4-A.P.

T₁₅ = 15 minutos após injeção de 4-A.P.

T₃₀ = 30 minutos após injeção de 4-A.P.

T₄₀ = 40 minutos após injeção de 4-A.P.

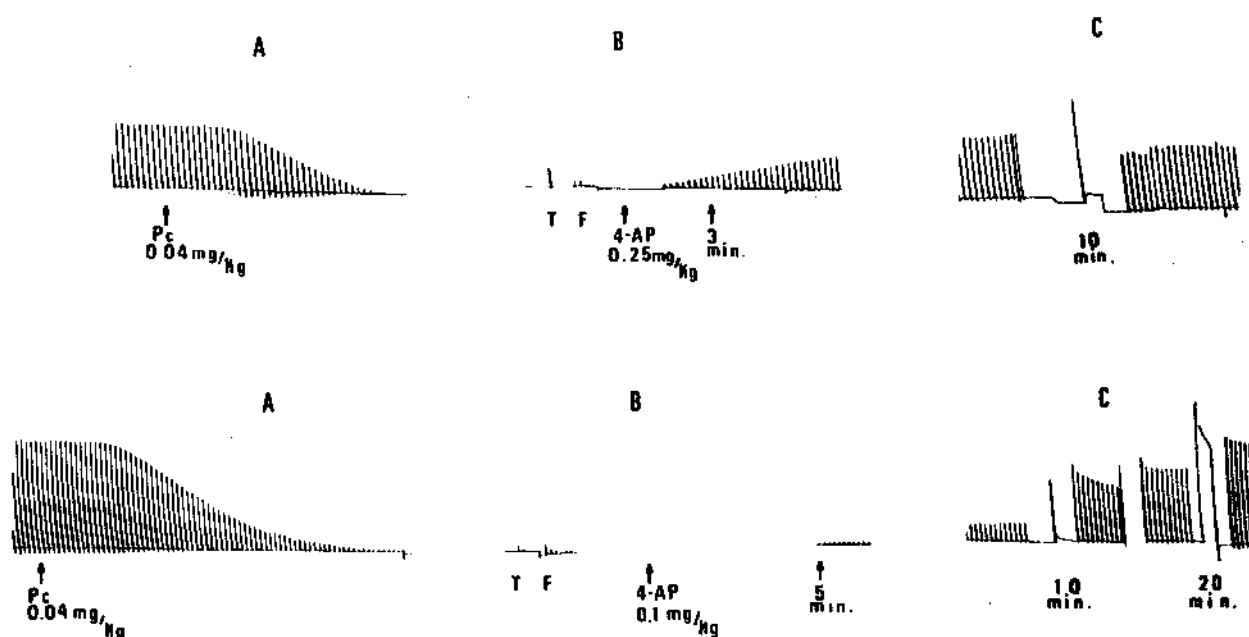


Figura - 33

Efeito antagônico da 4-aminopiridina sobre bloqueio neuromuscular produzido pelo pancurônio.

A)- contrações do músculo tibial anterior provocados estimulação indireta com pulsos supra maximais de 0,5 Hz. Pancurônio (Pc) 0,04 mg/Kg de peso por via venosa; B)- administração por via venosa da 4-aminopiridina (4-A.P.) quando do aparecimento de facilitação pós tetânica (P) após estimulação do nervo com pulsos de 50 Hz durante 5 segundos (T). C)- Avaliação da função neuromuscular aos 10 e 20 minutos após a injeção da 4-aminopiridina.

TABELA - XXIX

Valores, da pressão arterial de cães, medidos: antes, no momento da injeção, 15, 30 e 40 minutos após injeção de 3.4-diaminopiridina (3.4 - D.A.P.) 0,1 mg/Kg de peso.

Número de Registro	P R E S S ã O A R T E R I A L M É D I A - cm Hg				
	T ₀	T ₁	T ₁₅	T ₃₀	T ₄₀
7739	11,0	13,0	15,0	14,0	14,0
8164	12,5	11,0	12,5	11,5	15,0
8256	10,0	10,0	14,0	14,0	12,5
8331	10,0	10,0	10,0	10,0	11,5
8383	10,0	5,0	7,0	10,0	10,0
9451	7,5	7,5	8,0	10,0	10,0
M é d i a	10,17	9,41	11,00	11,58	12,17

T₀ = após indução com tiopental e antes da administração de halotano

T₁ = injeção endovenosa de 3.4- D.A.P. 0,1 mg/Kg de peso

T₁₅ = 15 minutos após injeção de 3.4- D.A.P. 0,1 mg/Kg de peso

T₃₀ = 30 minutos após injeção de 3.4- D.A.P. 0,1 mg/Kg de peso

T₄₀ = 40 minutos após injeção de 3.4- D.A.P. 0,1 mg/Kg de peso

TABELA - XXX

Valores, da frequência cardíaca de cães, medidos antes, no momento da injeção, 15, 30 e 45 minutos após injeção de 3.4-diaminopiridina - (3.4- D.A.P.) 0,1 mg/Kg de peso.

Número do Registro	F R E Q U Ê N C I A C A R D Í A C A - Batimentos/min				
	T ₀	T ₁	T ₁₅	T ₃₀	T ₄₀
7739	144	108	126	144	144
8164	132	102	114	120	132
8256	150	84	102	174	174
8331	144	156	180	186	162
8383	204	90	60	150	126
9451	150	120	142	150	150
M é d i a	154	110	120,66	154	148

T₀ = após anestesia com tiopental e antes da administração de halotano

T₁ = injeção endovenosa de 3.4- D.A.P. 0,1 mg/Kg de peso (interrupção da administração de halotano).

T₁₅ = 15' após administração de 3.4- D.A.P. 0,1 mg/Kg de peso.

T₃₀ = 30' após administração de 3.4- D.A.P. 0,1 mg/Kg de peso.

T₄₀ = 40' após administração de 3.4- D.A.P. 0,1 mg/Kg de peso.

TABELA - XXXI

Valores da pressão arterial média de cães, medidos antes, no momento da injeção, 15, 30 e 45 minutos após a injeção de 3.4-diaminopiridina (3.4- D.A.P.) 0,2 mg/Kg de peso.

Número do Registro	P R E S S ã O A R T E R I A L M É D I A - cm Hg				
	T ₀	T ₁₀	T ₁₅	T ₃₀	T ₄₀
7416	10,0	7,5	11,5	12,5	12,5
7552	12,5	12,5	17,5	15,0	13,0
7619	12,5	10,0	11,5	10,0	10,0
7676	13,0	14,0	17,5	14,0	14,0
7705	11,5	10,0	14,0	12,5	-
7765	12,5	12,0	15,0	13,0	-
M é d i a	12,0	11,0	14,5	12,87	12,37

T₀ = após anestesia com tiopental e antes da administração de halotano

T₁₀ = injeção endovenosa de 3.4-D.A.P. 0,2 mg/Kg de peso (interrupção da administração do halotano).

T₁₅ = 15 minutos após injeção de 3.4- D.A.P. 0,2 mg/Kg de peso.

T₃₀ = 30 minutos após injeção de 3.4- D.A.P. 0,2 mg/Kg de peso.

T₄₀ = 40 minutos após injeção de 3.4- D.A.P. 0,2 mg/kg de peso.

TABELA - XXXII

Valores, da frequência cardíaca de cães, medidos antes, no momento de injeção, 15, 30 e 40 minutos após injeção de 3.4-diaminopiridina (-3.4-D.A.P.) 0,2 mg/Kg de peso.

Número do Registro	F R E Q U Ê N C I A C A R D Í A C A - Batimentos/min				
	T ₀	T ₁	T ₁₅	T ₃₀	T ₄₀
7416	204	108	150	180	180
7552	180	120	198	246	153
7619	150	78	180	138	138
7676	186	180	216	228	228
7705	172	115	182	190	-
7765	188	128	190	206	-
M é d i a	180	121,5	186	198	174,75

T₀ = após anestesia com tiopental e antes da administração de halotano.

T₁ = injeção endovenosa de 3.4-D.A.P. 0,2 mg/Kg de peso (interrupção da administração de halotano).

T₁₅ = 15 minutos após injeção de 3.4- D.A.P.

T₃₀ = 30 minutos após injeção de 3.4- D.A.P.

T₄₀ = 40 minutos após injeção de 3.4- D.A.P.

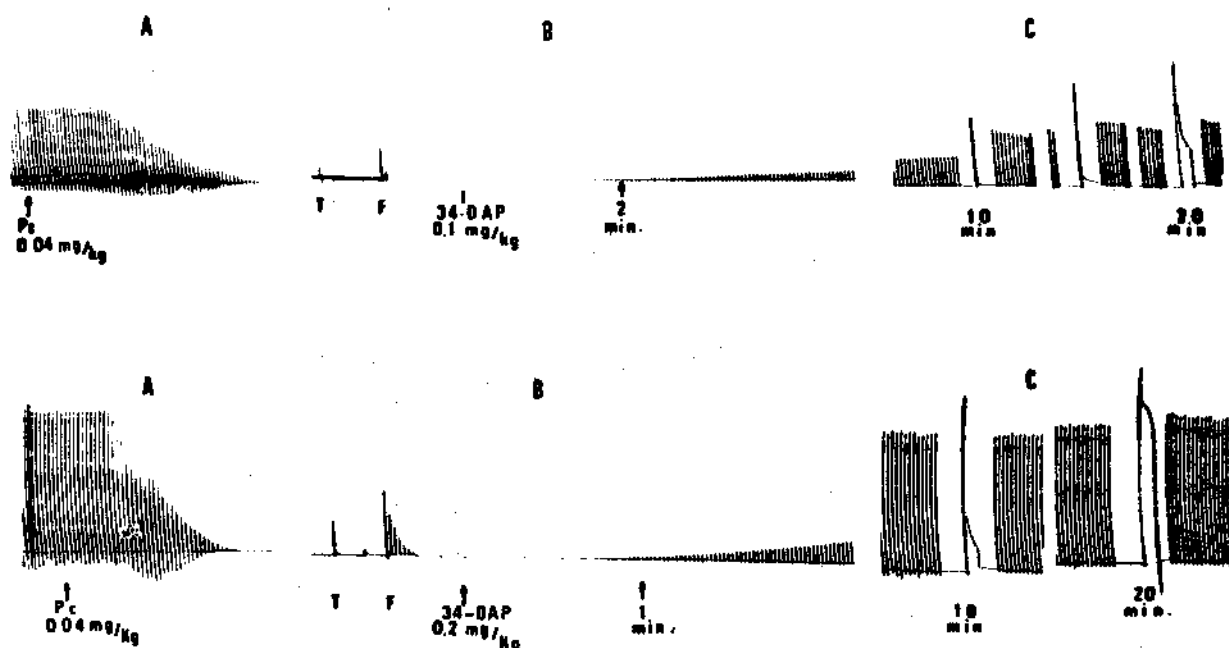


Figura - 34

Efeito antagônico da 3.4-diaminopiridina sobre bloqueio neuromuscular produzido pelo pancurônio.

A)- contrações do músculo tibial anterior provocados estimulação indireta com pulsos supra máximas de 0,5 Hz. Pancurônio (Pc) 0,04 mg/Kg de peso por via venosa; B)- administração por via venosa da 3.4-diaminopiridina (3.4-DAP) quando do aparecimento de facilitação pós tetânica (P) após estimulação do nervo com pulsos de 50 Hz durante 5 segundos (T); C)- Avaliação da função neuromuscular aos 10 e 20 minutos após a injeção da 3.4- diaminopiridina.

TABELA - XXXIII

Valores, da pressão arterial média de cães, medidos antes, no momento da injeção, 15, 30 e 40 minutos após a injeção de neostigmina (N.S) 0,025 mg/Kg de peso.

Número do Registro	P R E S S ã O A R T E R I A L M É D I A - c m H g				
	T ₀	T ₁	T ₁₅	T ₃₀	T ₄₀
8511	10,0	7,5	10,0	10,0	10,0
8555	10,0	10,0	13,0	12,5	14,0
8617	10,0	9,0	10,0	11,0	11,0
8689	12,0	8,0	11,0	11,0	11,0
8735	13,0	10,0	12,5	15,0	14,0
8847	12,0	8,0	10,0	12,5	12,0
M é d i a	11,17	8,75	11,08	12,0	12,17

T₀ = após anestesia com tiopental e antes da administração de halotano

T₁ = injeção endovenosa de N.S. 0,025 mg/Kg de peso (interrupção da administração de halotano).

T₁₅ = 15 minutos após injeção de N.S. 0,025 mg/Kg de peso.

T₃₀ = 30 minutos após injeção de N.S. 0,025 mg/Kg de peso.

T₄₀ = 40 minutos após injeção de N.S. 0,025 mg/kg de peso.

TABELA - XXXIV

Valores, da frequência cardíaca de cães, medidos: antes, no momento da injeção, 15, 30 e 40 minutos após injeção endovenosa de neostigmina (N.S.) 0,025 mg/Kg de peso.

Número do Registro	F R E Q U Ê N C I A C A R D Í A C A - Batimentos/min				
	T ₀	T ₁	T ₁₅	T ₃₀	T ₄₀
8511	126	78	114	126	144
8555	150	96	132	126	144
8617	162	102	96	150	132
8689	180	132	180	138	144
8735	150	72	108	126	126
8847	150	102	102	114	108
M é d i a	153	97	122	130	133

T₀ = após anestesia com tiopental e antes da administração do halotano.

T₁ = injeção endovenosa de N.S. 0,025 mg/Kg de peso.

T₁₅ = 15 minutos após injeção de N.S. 0,025 mg/Kg de peso.

T₃₀ = 30 minutos após injeção de N.S. 0,025 mg/Kg de peso.

T₄₀ = 40 minutos após injeção de N.S. 0,025 mg/Kg de peso.

TABELA - XXXV

Valores, da pressão arterial média de cães, medidos: antes, no momento da injeção 15, 30 e 40 minutos após injeção de neostigmina (N.S.) - 0,05 mg/Kg de peso.

Número do Registro	P R E S S ã O A R T E R I A L M É D I A - cm/Hg				
	T ₀	T ₁	T ₁₅	T ₃₀	T ₄₀
0821	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
0921	12,5	10,0	10,0	10,0	10,0
0454	12,5	7,5	10,0	10,0	7,5
0257	10,0	8,0	10,0	10,0	10,0
M é d i a	11,25	8,87	10,0	10,0	9,37

T₀ = após anestesia com tiopental e antes da administração de halotano.

T₁ = injeção endovenosa de N.S. 0,05 mg/Kg de peso.

T₁₅ = 15 minutos após injeção de N.S. 0,05 mg/Kg de peso.

T₃₀ = 30 minutos após injeção de N.S. 0,05 mg/Kg de peso.

T₅₀ = 40 minutos após injeção de N.S. 0,05 mg/Kg de peso.

TABELA - XXXVI

Valores, da frequência cardíaca de cães, medidos: antes, no momento de injeção, 15, 30 e 40 minutos após a injeção endovenosa de neostigmina (N.S.) 0,05 mg/Kg de peso.

Número do Registro	F R E Q U Ê N C I A C A R D Í A C A - Batimentos/min				
	T ₀	T ₁	T ₁₅	T ₃₀	T ₄₀
0821	162	172	91 ⁺	100	100
0921	178	180	150 ⁺	144	156
0454	108	96	84 ⁺	120	144
0257	150	90	84 ⁺	90	174
M é d i a	149,5	137,0	102,25	118,5	134,5

+ = administração de atropina 1 mg

T₀ = após anestesia com tiopental e antes da administração do halotano.

T₁ = injeção endovenosa de N.S. 0,05 mg/Kg de peso.

T₁₅ = 15 minutos após injeção de N.S. 0,05 mg/Kg de peso.

T₃₀ = 30 minutos após injeção de N.S. 0,05 mg/Kg de peso.

T₄₀ = 40 minutos após injeção de N.S. 0,05 mg/Kg de peso.

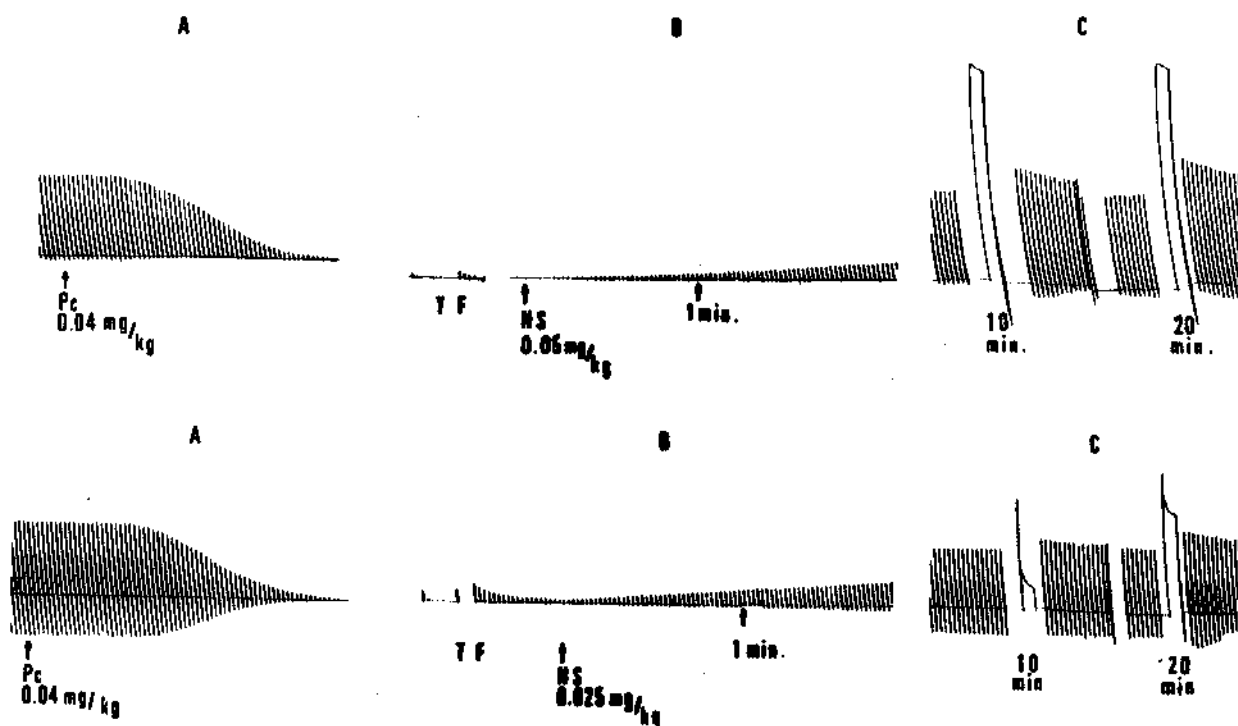


Figura - 35

Efeito antagônico da neostigmina sobre o bloqueio neuromuscular produzido pelo pancurônio.

A)- contrações do músculo tibial anterior provocados estimulação indireta com pulsos supra maximais de 0,5 Hz. Pancurônio (Pc) 0,04 mg/Kg de peso por via venosa; B)- administração por via venosa de neostigmina (N.S.) quando do aparecimento de facilitação pós tetânica (P) após estimulação do nervo com pulsos de 50 Hz durante 3 segundos (T); C)- avaliação da função neuromuscular aos 10 e 20 minutos após injeção da neostigmina.

TABELA - XXXVII

Valores, da pressão arterial média, medidos: antes, no momento da injeção, 15, 30 e 40 minutos após a injeção de 3.4- Aminopiridina (3.4- D.A.P.) 0,1 mg/Kg de peso + neostigmina (N.S.) 0,025 mg/Kg de peso.

Número do	P R E S S ã O A R T E R I A L M É D I A - cm Hg				
Registro	T ₀	T ₁	T ₁₅	T ₃₀	T ₄₀
7811	12,0	11,0	13,0	15,0	13,0
7927	10,0	10,0	12,5	13,0	13,0
7991	10,0	10,0	11,0	11,0	11,0
8051	12,5	12,5	12,5	13,0	15,0
9341	12,5	10,0	10,0	10,0	10,0
9389	10,0	8,0	10,0	10,0	10,0
M é d i a	11,17	10,25	11,50	12,0	12,0

T₀ = após anestesia com tiopental e antes da administração de halotano.

T₁ = injeção endovenosa de 3.4- D.A.P. 0,1 mg/Kg de peso + N.S. 0,025 mg/Kg de peso (interrupção da administração do halotano)

T₁₅ = 15 minutos após injeção de 3.4-D.A.P. 0,1 mg/Kg de peso + N.S. 0,025 mg/Kg de peso.

T₃₀ = 30 minutos após injeção de 3.4- D.A.P. 0,1 mg/Kg de peso + N.S. 0,25 mg/Kg de peso.

T₄₀ = 40 minutos após injeção de 3.4- D.A.P. 0,1 mg/Kg peso + N.S. 0,25 mg/Kg de peso.

TABELA - XXXVIII

Valores, da frequência cardíaca medidos, antes, no momento da injeção, 15, 30 e 40 minutos após injeção endovenosa de 3.4-diaminopiridina (3.4- D.A.P.) 0,1 mg/Kg de peso + Neostigmina (N.S.) 0,025 mg/Kg de peso.

Número do Registro	F R E Q U Ê N C I A C A R D Í A C A - Batimentos/min				
	T ₀	T ₁	T ₁₅	T ₃₀	T ₄₀
7811	150	132	162	174	174
7927	138	96	156	204	204
7991	180	168	192	210	210
8051	144	120	156	156	156
9341	132	78	78	90	90
9389	144	84	120	114	84
M é d i a	148	110	144	154	148

T₀ = após anestesia com tiopental e antes da administração de halotano.

T₁ = injeção endovenosa de 3.4- D.A.P. 0,1 mg/Kg + N.S. 0,025 mg/Kg de peso (interrupção da administração de halotano).

T₁₅ = 15 minutos após injeção de 3.4-D.A.P. 0,1 mg/Kg de peso + N.S. 0,025 mg/Kg de peso.

T₃₀ = 30 minutos após injeção de 3.4-D.A.P. 0,1 mg/Kg de peso + N.S. 0,025 mg/Kg de peso.

T₄₀ = 40 minutos após injeção de 3.4-D.A.P. 0,1 mg/Kg de peso + N.S. 0,025 mg/Kg de peso.

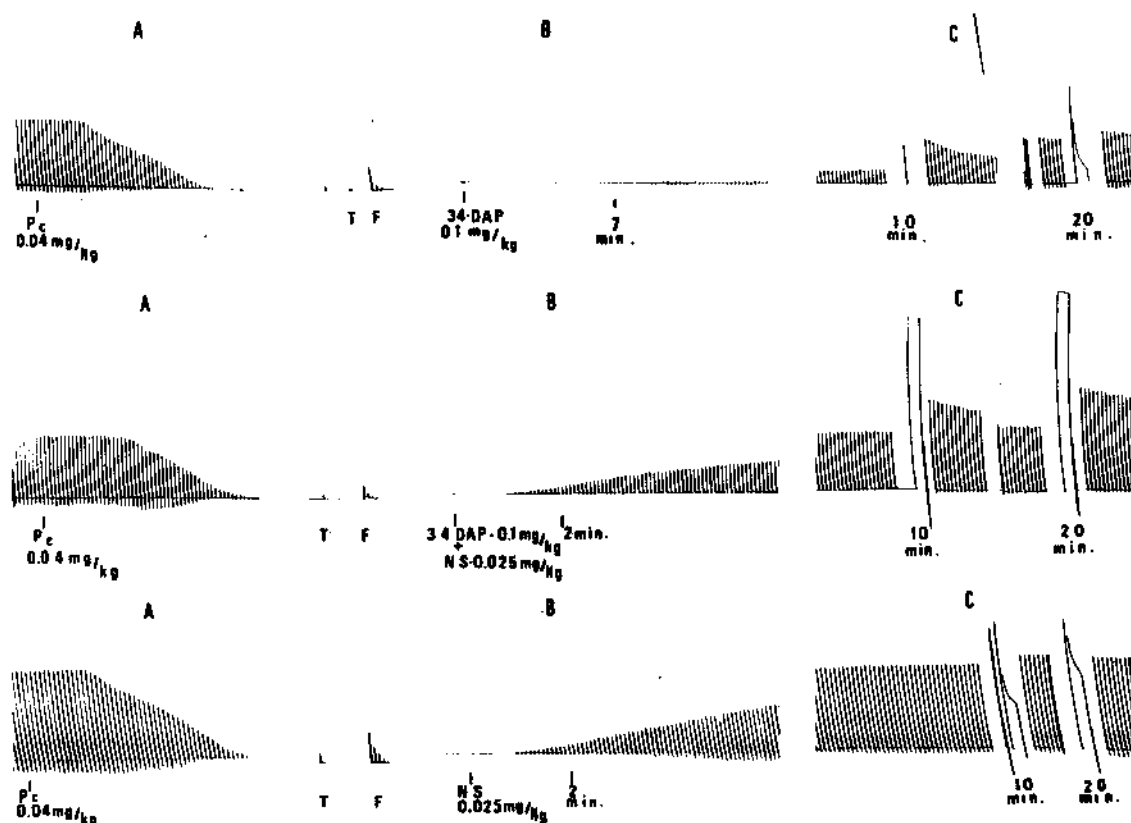


Figura - 36

Efeito antagônico da associação 3.4-diaminopiridina/neostigmina em comparação com os da 3.4-diaminopiridina e da neostigmina.

A)- contrações do músculo tibial anterior provocados estimulação indireta com pulsos supra maximais de 0.5Hz. Pancurônio (Pc) - 0,04 mg/Kg de peso por via venosa. B)- administração por via venosa da 3.4-diaminopiridina (3.4-D.A.P.) registro superior, neostigmina (N.S.), registro inferior e associação 3.4-D.A.P./N.S. registro intermediário; C)- avaliação da função neuromuscular aos 10 e 20 minutos após a injeção das drogas antagonistas de curare.