

# Acció facilitadora dels fàrmacs adrenèrgics sobre la neurotransmissió en el múscul esquelètic de rata

J. Baños\*\*, A. Badia\* i F. Jané\*

\*Departament de Farmacologia i Terapèutica. Facultat de Medicina. Universitat Autònoma de Barcelona.

\*\*Servei de Farmacologia Clínica. Hospital Clínic i Provincial. Barcelona.

## FACILITATING ACTION OF ADRENERGIC DRUGS ON NEUROTRANSMISSION IN THE SKELETAL MUSCLE OF RATS

The effect of alphaadrenergic drugs on the skeletal muscle junction manifests itself as an increased functional response in various experimental situations. The subtype of receptor implicated has not been fully ascertained. In order to clarify this point, we used the *in vitro* pharmacological sample of a phreno-diaphragmatic preparation in which the facilitating effect on contractility produced by alpha-adrenergic drugs was studied, as well as its inhibition by both specific and nonspecific antagonists. The present study shows evidence demonstrating the implication of an alpha-1 type receptor possibly different from those described in other structures. We also suggest that the mechanisms involved in this facilitation by adrenergic drugs, in basal conditions and in the presence of tubocurarine, can be different.

**Paraules clau:** Receptors adrenèrgics. Fatiga muscular. Facilitació de la neurotransmissió. Fàrmacs curaritzants.

## ACCIÓN FACILITADORA DE LOS FÁRMACOS ADRENÉRGICOS SOBRE LA NEUROTRANSMISIÓN EN EL MÚSCULO ESQUELÉTICO DE RATA

El efecto de los fármacos alfaadrenèrgicos en la unión neuromuscular esquelética se manifiesta en forma de un aumento de la respuesta funcional en varias situaciones experimentales. El subtipo de receptor implicado no ha estado totalmente aclarado. Con el fin de averiguar este punto hemos utilizado el modelo farmacológico *in vitro* de preparación nervio frénico-diafragma, en la que se estudió el efecto facilitador de la contractilidad producido por fármacos alfaadrenèrgicos, así como su inhibición por antagonistas específicos e inespecíficos. El presente estudio ha mostrado evidencias que demuestran la implicación de un receptor de tipo alfa-1, posiblemente diferente de los descritos en otras estructuras. Así mismo sugerimos que los mecanismos implicados en la facilitación en condiciones basales y en presencia de tubocurarina, por fármacos adrenèrgicos, pueden ser distintos.

*Ann Med (Barc)* 1988; 74:174-178.

## Introducció

La descripció inicial de l'acció de les catecolamines en el múscul esquelètic prové del treball d'Oliver i Schaffer<sup>1</sup> realitzats el 1895 en mamífers. Posteriorment altres autors, com Panella<sup>2</sup>, demostraren l'efecte dels extractes adrenals en aus i amfibis. Si bé els primers treballs sobre la caracterització de l'acció de l'adrenalina en la unió neuromuscular no estableixen la seva acció pre o postsinàptica, els estudis realitzats en els últims anys han aclarit acuradament aquest fet<sup>3</sup>. Així, hom ha assenyalat principalment l'existència de dos tipus de receptors: un a nivell postsinàptic de tipus

beta-2-adrenèrgic i l'altre a nivell presinàptic de tipus alfa. Si bé el paper d'aquests receptors depèn del múscul i de les condicions d'experimentació emprades, en general, el receptor beta-adrenèrgic facilita la resposta en ser estimulat per un agonista en músculs de contractió ràpida, mentre que en els de contractió lenta disminueix la resposta contràctil<sup>4</sup>.

L'acció de l'adrenalina i d'altres catecolamines a nivell postsinàptic ha estat motiu d'un ampli estudi, tant funcional com bioquímic<sup>5</sup>. En canvi, el receptor adrenèrgic neuronal ha estat motiu de menys interès. Des del treball inicial de Krnjevic i Miledi<sup>6</sup> realitzat *in vitro*, fins l'estudi funcional en animal sencer<sup>7</sup> i l'exhaustiva aproximació electrofisiològica<sup>8</sup>, s'han anat obtenint més coneixements sobre les propietats farmacològiques d'aquest receptor i les seves accions en els processos que porten a l'alliberació del transmissor en la unió neuromuscular esquelètica. Així hom ha estudiat la seva activació en situacions basals pels agonistes adrenèrgics, i la seva dependència de les condicions experimen-

Aquest treball ha estat realitzat amb l'ajuda d'una beca per "Formación del Personal Investigador (JBD) del Ministerio de Educación y Ciencia".

Correspondència: Josep Baños i Díez. Departament de Farmacologia i Terapèutica. Facultat de Medicina. Campus de Bellaterra. Universitat Autònoma de Barcelona. 08193 Cerdanyola (Barcelona).

tals<sup>8,9</sup>. L'acció de les catecolamines sobre l'alliberació d'acetilcolina és més manifesta quan el múscul es troba fatigat (per elevada freqüència d'estimulació o per curarització parcial, per exemple).

Els estudis que han volgut investigar el fenomen de la facilitació del neurotransmissor són contradictoris<sup>10-12</sup>, potser com a conseqüència d'estudiar fenòmens diferents, com alguns autors han suggerit<sup>9</sup>. En els darrers anys, l'aparició dels treballs assenyalant l'existència de diversos receptors adrenèrgics alfa<sup>13</sup> ha despertat un renovat interès sobre la pertinença del receptor presinàptic de la unió neuromuscular a un dels dos subtipus. Continuant amb la confusió anterior, no hi ha un acord unànim, i recentment hom ha descrit la presència d'un receptor alfa-2 a nivell postsinàptic<sup>14</sup>.

El present estudi pretén adequar una metodologia per a l'estudi d'aquests receptors i establir el subtipus al qual pertanyen.

### Material i mètodes

Hom ha utilitzat la preparació nervi frènic-diafragma de rata, dissecada segons Büllbring<sup>15</sup>. Les rates eren de la soca Sprague-Dawley, mascles i de pes entre 250 i 300 g. Foren sacrificades per decapitació, prèvia anestèsia amb èter. Això permeté obtenir un tòrax sense sang que facilità la dissecció. L'hemidiafragma esquerre amb el seu nervi es transferí a una placa de Petri amb líquid nutritiu on barbotejava una mescla d'oxigen (95 %) i CO<sub>2</sub> (5 %). Es dissecà i fixà a un elèctrode Harvard. Després, es col·locà en un bany de 75 ml contenint una solució nutritiva de Krebs-Hukovic formada per: (mM) NaCl 112,8; KCl 4,7; Cl<sub>2</sub>Ca 2,54; PO<sub>4</sub>H<sub>2</sub>K 1,19; MgSO<sub>4</sub> 2,44; NaHCO<sub>3</sub> 25 i glucosa 11,5. La temperatura del bany es mantingué a 25 ± 1 °C a fi d'assegurar la viabilitat i la duració de la preparació<sup>16</sup>.

L'estimulació del nervi frènic es realitzà amb impulsos de voltatge supramaximal, normalment 30 V, a una freqüència de 0,2 Hz i una duració de 0,5 ms. Es permeté un període d'estabilització de 30 min. La resposta contràctil obtinguda passà a un transductor isomètric que permeté enregistrar-la en un inscriptor *Panscriber*.

### Estudi de l'acció agonista

La inhibició de la resposta contràctil es realitzà amb l'administració de d-tubocurarina a concentracions suficients per blocar la contracció màxima en un 70-90 %. Normalment la dosi emprada fou de 1 a 5 µM. Una vegada aconseguida la reducció de la resposta, s'administrà el fàrmac agonista motiu de l'estudi a dosis d'1 a 100 µM, rentant el preparat després de cada administració per permetre la recuperació de la resposta basal. A continuació el procés es repetí de nou a fi d'obtenir una corba dosi-resposta. L'anàlisi dels resultats es realitzà calculant l'índex de recuperació de la resposta (o índex d'antagonisme) per cada fàrmac, segons l'expressió:

$$R = I_2 - I_1$$

R = índex de recuperació o d'antagonisme

I<sub>1</sub> = inhibició de la resposta contràctil per la tubocurarina (%)

I<sub>2</sub> = inhibició de la resposta contràctil en presència del fàrmac (%)

L'afinitat relativa davant el receptor adrenèrgic es calculà mitjançant la CE<sub>50</sub> (concentració necessària per obtenir un 50 % del valor màxim obtingut de R). Aquest valor s'obtingué a partir de la recta de regressió.

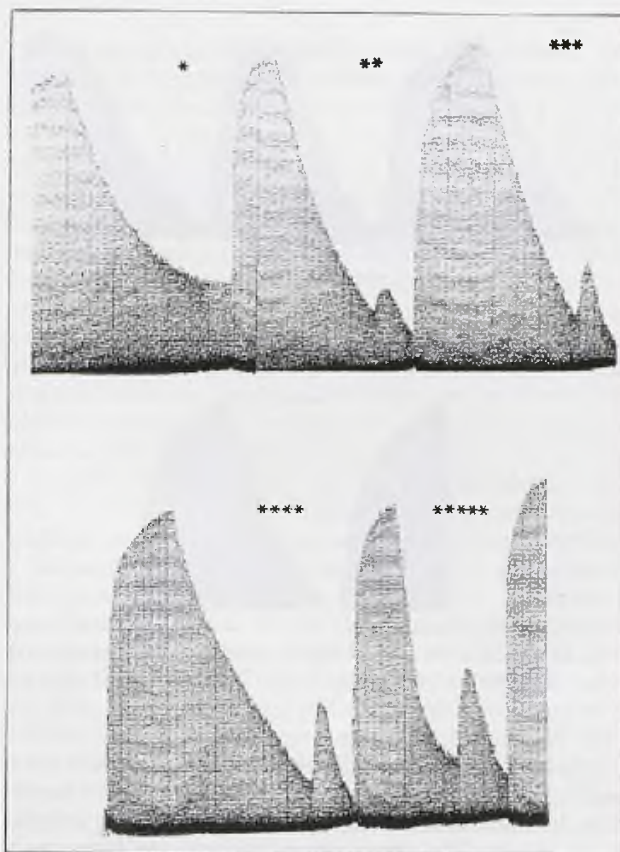


Fig. 1. Reversió de l'efecte curaritzant de la tubocurarina per la noradrenalina. \*=1, \*\*=3, \*\*\*=10, \*\*\*\*=30, \*\*\*\*\*= 100 micromols.

### Estudi de l'acció antagonista

En primer lloc s'obtingué una resposta control segons la seqüència descrita en l'apartat anterior amb adrenalina (50 µM). Després de rentar la preparació i obtenir la contracció basal, s'administrava l'antagonista i després la tubocurarina, a fi de permetre el contacte de l'antagonista amb la preparació per un temps de 15 minuts. Quan s'arribava al 80 % d'inhibició de la resposta, s'administrava l'adrenalina. El procés es repetia a continuació emprant concentracions progressives d'antagonista (3-100 nM). Posteriorment s'establí la recta de regressió entre les concentracions d'antagonista i els valors de R obtinguts. A continuació es calcula la concentració de l'antagonista capaç d'inhibir en un 50 % l'acció de l'adrenalina (CI<sub>50</sub>). Els fàrmacs emprats foren adrenalina (Sigma), noradrenalina (Sigma), clonidina (Boehringer), fenilefrina (Sigma), acepexol (Boehringer), metoxamina (Gayoso-Wellcome), iohimbina (Sigma), prazosina (Pfizer), tolazolina (Ciba) i tubocurarina (Sigma).

### Resultats

#### Activitat agonista

L'adrenalina, la noradrenalina i la fenilefrina varen revertir parcialment el bloqueig de la contracció muscular secundari a l'administració de d-tubocurarina (fig. 1). En canvi, no s'observà cap efecte després de metoxamina, clonidina i acepexol (fig. 2). Dels fàrmacs que varen produir efecte, la noradrenalina fou el més potent (pD<sub>2</sub> = 4,84), però l'adrenalina mostrà un efecte similar (pD<sub>2</sub> = 4,69). La fenilefrina presentà una activitat molt inferior (pD<sub>2</sub> = 3,94). La taula I i la figura 3 resumeixen les dades obtingudes amb els fàrmacs agonistes.

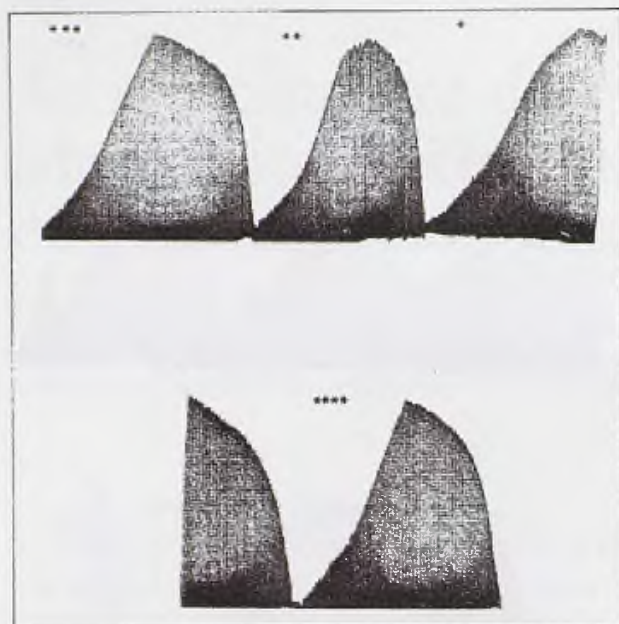


Fig. 2. Manca de reversió de l'efecte curaritzant de la tubocurarina per la clonidina. En  $\mu\text{M}$ : \* = 0,1; \*\* = 1; \*\*\* = 10; \*\*\*\* = 100.

L'afinitat pel receptor adrenèrgic fou similar per l'adrenalina i la noradrenalina, fet característic en un receptor de tipus alfa. La fenilefrina presentà una afinitat molt menor. Els altres agonistes emprats foren inactius, com ja s'ha esmentat.

#### Activitat antagonista

La taula II resumeix les dades obtingudes amb els fàrmacs antagonistes adrenèrgics. Així, mentre la tolazolina i la prazosina blocaven l'efecte anticurare de l'adrenalina, la iohimbina no exhibí cap efecte (fig. 4). L'antagonisme fou dosiddependent i, en el cas de la prazosina, arribà a blocar totalment l'acció de l'adrenalina a la dosi de 100 nM (fig. 5).

#### Discussió

Els resultats del present estudi confirmen l'antagonisme pels fàrmacs alfa-adrenèrgics de la curarització en el múscul esquelètic, encara que no tots presenten aquesta acció. Així, hom ha observat que l'adrenalina, la noradrenalina i la fenilefrina el posseeixen, tant *in*

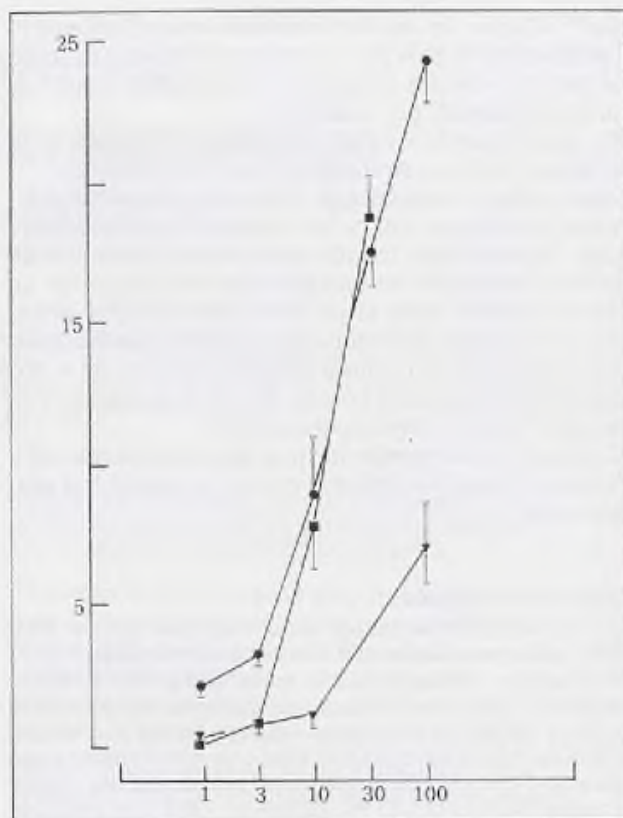


Fig. 3. Efecte dels fàrmacs adrenèrgics en el múscul curaritzat. Abscisses: concentracions micromolars del fàrmac. Ordenades: valor de R (vegeu Material i mètodes). ● adrenalina, ■ noradrenalina, ▼ fenilefrina.

*vivo* com *in vitro*<sup>7,8,12</sup>. La manca d'efecte que hem observat amb la metoxamina es contradiu amb l'observat per altres autors<sup>12</sup>. Aquest fet pot ser conseqüència del fet que el preparat nervi frènic-diafragma sigui menys sensible que el tibial anterior de gat als fàrmacs adrenèrgics. En aquest múscul, la metoxamina és molt menys activa (prop de nou vegades) que la fenilefrina. Aquesta també és poc potent en la nostra preparació ( $pD_2 = 3,94$ ). Per altra banda, els dos agonistes alfa-2-adrenèrgics emprats, la clonidina i l'acepexol, no mostraren tampoc cap tipus d'activitat. Això coincideix amb els resultats de Snider i Gerald<sup>11</sup> que tampoc no observaren cap canvi en la contracció ni en l'alliberació d'acetilcolina en presència de clonidina. Tampoc hom no ha observat amb la clonidina un efecte clar en el

TAULA I  
Activitat de diferents agonistes alfa-adrenèrgics sobre la resposta contràctil del múscul parcialment curaritzat

Agonista	$pD_2 \pm \text{EEM}$	n
Noradrenalina	$4,84 \pm 0,04$	6
Adrenalina	$4,69 \pm 0,10$	6
Fenilefrina	$3,94 \pm 0,08$	6
Metoxamina	a	6
Clonidina	a	6
Acepexol	a	6

$pD_2 = -\log CE_{50}$ .

EEM = error estàndard de la mitjana.

n = nombre d'experiments. Els resultats s'expressen com la mitjana de sis.

a = no s'observaren respostes quantificables.

TAULA II  
Activitat de diferents antagonistes alfa-adrenèrgics sobre l'efecte de l'adrenalina en el múscul parcialment curaritzat

Antagonista	$CI_{50} \pm \text{EEM}$	n
Prazosina	$3,96 \pm 0,76 (10^{-9}\text{M})$	6
Tolazolina	$1,03 \pm 0,05 (10^{-8}\text{M})$	6
Iohimbina	a	6

$CI_{50}$  = concentració inhibidora<sub>50</sub> (M).

EEM = error estàndard de la mitjana.

n = nombre d'experiments. Els resultats s'expressen com la mitjana de sis.

a = no s'observaren respostes quantificables.

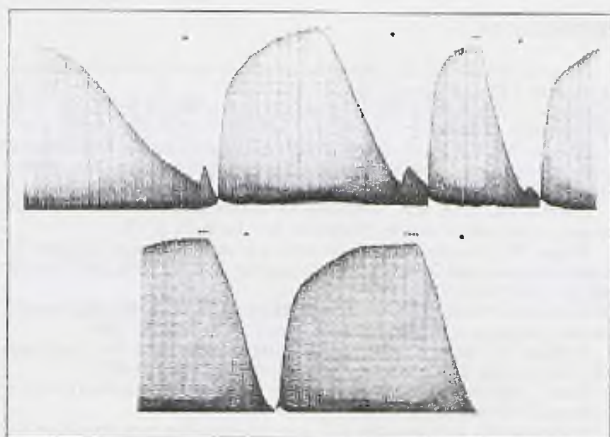


Fig. 4. Efecte de la prazosina sobre l'efecte anticurare de l'adrenalina: \* = adrenalina 50  $\mu$ M, prazosina: +=3 nM, ++=10 nM, +++=30 nM, ++++=100 nM.

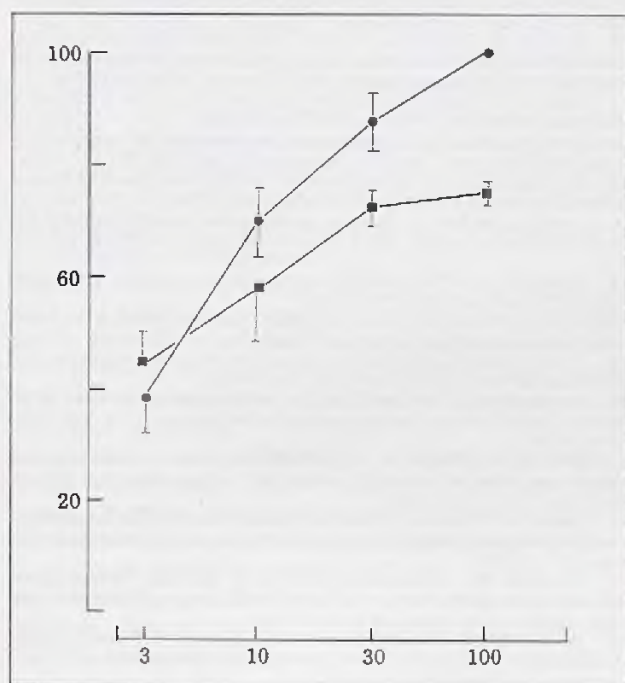


Fig. 5. Efecte dels antagonistes adrenèrgics sobre l'efecte anticurare de l'adrenalina. Abscisses: concentracions micromolars del fàrmac. Ordenades: grau d'antagonisme (%). ● prazosina, ■ tolazolina.

múscul tibial anterior de gat *in vivo*<sup>12</sup>. En canvi, els estudis electrofisiològics<sup>10</sup> assenyalen l'existència d'un efecte facilitador de l'alliberació manifestat en un augment de la freqüència dels potencials miniatura de placa motora (MEPP), similar a l'obtinguda amb noradrenalina, mentre que el seu efecte sobre el potencial de placa motora (EPP) és inferior al de la fenilefrina. La xilazina, un altre agonista alfa-2-adrenèrgic, té un comportament similar<sup>10</sup>. Per aquest motiu, les diferències dels resultats anteriors podrien explicar-se per la possibilitat que l'efecte anticurare dels fàrmacs adrenèrgics no es relacionés totalment amb l'augment de la freqüència dels MEPP, i que aquest fet reflectís dos fenòmens diferents. De fet, mentre que l'efecte sobre els MEPP s'observa en condicions basals<sup>8</sup>, l'acció sobre la

contracció precisa d'una fatiga prèvia (curarització, estimulació a freqüències elevades, concentracions altes de potassi)<sup>4,9</sup>. Aquesta acció sembla dependre d'un mecanisme alfa-1-adrenèrgic; a més, l'efecte de la clonidina podria també ser resultat d'una acció de tipus alfa-1, ja que només s'observà a concentracions elevades de fàrmac (10  $\mu$ M)<sup>10</sup>. En canvi, l'acció facilitadora dels fàrmacs adrenèrgics a nivell basal seria la conseqüència de l'activació d'un mecanisme adrenèrgic inespecífic que respondria tant a fàrmacs alfa-1 com alfa-2. De fet, els estudis electrofisiològics que estudien aquesta situació són escassos<sup>10</sup> i la determinació química de l'alliberació d'acetilcolina no mostra alteracions en presència de clonidina, encara que aquesta metodologia pot ser poc sensible per valorar diferències mínimes<sup>11</sup>.

L'efecte dels antagonistes és més confús. Mentre que s'ha descrit un efecte inhibidor amb antagonistes inespecífics com la fenoxibenzamina, fentolamina, tolazolina i timoxamina<sup>7,11,12</sup>, la utilització de fàrmacs més específics com la prazosina o la iohimbina<sup>10,11</sup> ha permès aprofundir més en la natura del subtipus del receptor. Nosaltres hem observat l'efecte blocador de la prazosina i de la tolazolina a l'igual que altres autors<sup>10,11</sup>, però no el de la iohimbina (0,1  $\mu$ M). Lin i Muir<sup>10</sup> observaren l'efecte inhibidor d'aquesta sobre la freqüència dels MEPP i l'amplitud dels EPP, però a concentracions més elevades que la prazosina. En canvi, Snider i Gerald<sup>11</sup> no objectivaren cap efecte sobre la contracció a concentracions tan elevades com 10  $\mu$ M. Sembla, doncs, que existeix un efecte diferent en la resposta contràctil i l'electrofisiològica respecte a la iohimbina. Encara que això pot atribuir-se a diferències de sensibilitat, també pot reflectir l'existència de fenòmens diferents, com suggerien les dades observades amb els agonistes adrenèrgics.

El mecanisme d'acció pel qual els fàrmacs adrenèrgics faciliten l'alliberació no ha estat del tot establert. Hom ha assenyalat la possibilitat que augmentin la probabilitat d'alliberació d'un determinat quantum<sup>17,18</sup>, encara que la base bioquímica d'aquest efecte és desconeguda<sup>5</sup>. Segons aquesta hipòtesi, l'alliberació del neurotransmissor es modificaria per la unió del calci a un lloc específic de la terminació motora<sup>17</sup>. Els fàrmacs alfa-adrenèrgics actuarien augmentant la probabilitat del complex de calci per alliberar acetilcolina. Aquest increment s'observa també en aquelles situacions que faciliten l'esmentada probabilitat, com la despolarització de les terminacions nervioses per corrent, els augments de la concentració externa de calci i la disminució de la de sodi o magnesi<sup>17</sup>. Hom ha assenyalat que aquest efecte de la noradrenalina seria similar al d'un excés de calci<sup>3</sup>. El lloc de fixació d'aquest calci podria ser la calmodulina, però aquest fet és absolutament especulatiu<sup>3</sup>.

Recentment, Van der Kloot<sup>19</sup> ha observat que els efectes de l'adrenalina i la noradrenalina sobre el contingut quàntic són antagonitzats per un inhibidor del transport de calci en les vesícules sinàptiques, cosa que comporta que els fàrmacs anteriors podrien actuar a nivell de la fosforilació de les proteïnes de les membranes sinàptiques<sup>20</sup>. També hom ha observat un efecte de la noradrenalina sobre la potenciació tetànica. Aquest efecte és dependent de calci, ja que desapareix en medis que no contenen aquest ió<sup>21</sup>.

Existeixen evidències que assenyalen la possible implicació del sistema de l'AMPC-adenilciclasa i possiblement del GMPc-guanidilciclasa en l'alliberació del neurotransmissor<sup>3</sup>. Degut al conegut efecte de l'adrenalina sobre l'adenilciclasa, també hom ha suggerit la implicació d'aquests sistemes en l'acció dels fàrmacs alfa-adrenèrgics en la transmissió neuromuscular. Hom ha descrit que, en condicions normals, l'AMPC no està implicat en el mecanisme fisiològic d'alliberació<sup>22,23</sup>, encara que sí en altres processos metabòlics neuronals relacionats amb aquesta. Sembla que les catecolamines actuarien a través d'un mecanisme d'aquest tipus en els músculs fatigats<sup>23,24</sup>. En els músculs curaritzats, però normals, tindria poca importància<sup>3</sup>. Finalment, també hom ha suggerit la possibilitat que l'acció de la noradrenalina vingués donada per accions a nivell d'ATPases de membrana, encara que aquesta possibilitat no ha estat prou explorada fins l'actualitat<sup>3</sup>. Els estudis sobre l'acció de la noradrenalina a nivell de membrana muscular han estat contradictoris<sup>25,26</sup>, i per tant és una hipòtesi en la qual cal aprofundir.

El paper dels receptors alfa-adrenèrgics en la fisiologia neuromuscular esquelètica és desconegut. Possiblement tenen un paper complementari en la facilitació de la neurotransmissió en condicions de fatiga o d'agressió, però les altes concentracions de catecolamines que precisen per ser activats fan que fins i tot aquesta possibilitat sigui considerada amb precaució.

### Resum

L'efecte dels fàrmacs alfa-adrenèrgics a la unió neuromuscular esquelètica es manifesta en forma d'un augment de la resposta funcional en diverses situacions experimentals. El subtipus de receptor implicat no ha estat del tot aclarit. A fi d'esbrinar aquest punt hom ha utilitzat el model farmacològic *in vitro* de preparació nervi frènic-diafragma, en la qual s'estudia l'efecte facilitador de la contractilitat produït per fàrmacs alfa-adrenèrgics, així com la inhibició d'aquesta per antagonistes específics i inespecífics. El present estudi ha mostrat evidències que demostren la implicació d'un receptor de tipus alfa-1, possiblement diferent dels descrits en altres estructures. Tanmateix, hom suggereix que els mecanismes implicats en la facilitació en condicions basals i en presència de tubocurarina, per fàrmacs adrenèrgics, poden ser diferents.

### BIBLIOGRAFIA

1. Oliver G, Schafer EA. The physiological effects of extracts of the suprarenal capsules. *J Physiol (Lond)* 1895; 18:230-276.
2. Panella A. Action du pincipe actif surrenal sur la fatigue musculaire. *Arch Ital Biol* 1907; 48:430-463.
3. Bowman WC. Effects of adrenergic activators and inhibitors on the skeletal muscle. A: Szekeres L, ed. *Handbook of Experimental Pharmacology*. Berlin, Springer Verlag 1980; 47-128.
4. Bowman WC, Nott MW. Actions of sympathomimetic amines and their antagonists on skeletal muscle. *Pharmacol Rev* 1969; 21:27-72.
5. Rodger IW, Bowman WC. Adrenoceptors in skeletal muscle. A: Kunos G, ed. *Adrenoceptors and Catecholamine Action Part B*. Nova York, John Wiley & Sons Inc, 1983; 123-155.
6. Krnjevic K, Mileti R. Some effects produced by adrenaline upon neuromuscular propagation in rats. *J Physiol (Lond)* 1958; 141:291-304.
7. Bowman WC, Raper C. Effects of sympathomimetic amines on neuromuscular transmission. *Br J Pharmacol Chemother* 1966; 27:313-331.
8. Kuba K. Effects of catecholamines on the neuromuscular junction in the rat diaphragm. *J Physiol (Lond)* 1970; 211:551-570.
9. Miyamoto MD, Breckenridge BM. A cyclic adenosine monophosphate link in the catecholamine enhancement of transmitter release at the neuromuscular junction. *J Gen Physiol* 1974; 63:609-624.
10. Lin SP, Muir TC. Microelectrode recording of the effects of agonists and antagonists on alpha-adrenoceptors on rat somatic nerve terminals. *Br J Pharmacol* 1983; 80:41-46.
11. Snider R, Gerald M. Noradrenergic-mediated potentiation of acetylcholine release from phrenic nerve: evidence for presynaptic  $\alpha_1$ -adrenoceptor involvement. *Life Sci* 1982; 853-857.
12. Malta E, Mc Pherson GA, Raper C. Comparison of pre-junctional alpha-adrenoceptors at the neuromuscular junction with vascular postjunctional alpha-adrenoceptors in cat skeletal muscle. *Br J Pharmacol* 1979; 65:249-256.
13. Langer SZ. Presynaptic receptors and their role in the regulation of transmitter release. *Br J Pharmacol* 1977; 60:481-487.
14. Parle M, Kulkarni SK. Alpha<sub>1</sub> adrenoceptor-mediated contraction of frog rectus abdominis muscle. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1984; 271:122-126.
15. Bullbring E. Observations on the isolated phrenic nerve-diaphragm preparation of the rat. *Br J Pharmacol Chemother* 1946; 1:38-61.
16. Segal SS i Faulkner JA. Temperature-dependent physiological stability of rat skeletal muscle *in vitro*. *Am J Physiol* 1985; 248 (Cell Physiol 17) 265-270.
17. Kuba K, Tomita T. Noradrenaline action on nerve terminal in rat diaphragm. *J Physiol (Lond)* 1971; 217:19-31.
18. Kuba K, Tomita T. Effects of noradrenaline on miniature end-plate potentials and on end-plate potentials. *J Theor Biol* 1972; 36:81-88.
19. Van der Kloot W. AH 5183 blocks increases in quantal size at the frog neuromuscular junction. *J Physiol (Lond)* (en premsa).
20. Van der Kloot W, Van der Kloot TE. Catecholamines, insulin and ACTH increase quantal size at the frog neuromuscular junction. *Brain Res* 1986; 376:378-381.
21. Bergman H, Glusman S, Harris-Warrick R. Noradrenaline augments tetanic potentiation of transmitter release by a calcium dependent process. *Brain Res* 1981; 214:200-204.
22. Quastel DMJ, Hackett JT. Quantal release of acetylcholine at neuromuscular junction is not mediated by cyclic 3', 5'-adenosine monophosphate. *Fed Proc* 1971; 30:557.
23. Miyamoto MD, Breckenridge BM. A cyclic Adenosine Monophosphate link in the catecholamine enhancement of transmitter release at the neuromuscular junction. *J Gen Physiol* 1974; 63:609-624.
24. Wilson DF. The effects of dibutyryl cyclic adenosine 3', 5'-monophosphate, theophylline and aminophylline on neuromuscular transmission in the rat. *J Pharmacol Exp Ther* 1984; 188:447-452.
25. Lewis DM, Pardoe MJ, Webb SN. Effect of adrenaline on intracellularly recorded action potentials of mammalian skeletal muscles. *Br J Pharmacol* 1977; 60:299.
26. Horowitz JM, Hamilton JS, Horwitz BA. Norepinephrine depolarizes sartorius but hyperpolarizes soleus muscles *in vitro*. *Eur J Pharmacol* 1985; 119:85-92.