

RECEPTORES DA PLACA MIONEURAL E MECANISMO DE AÇÃO DOS RELAXANTES MUSCULARES

DR. JAIME WIKINSKI (*)

São estudados os mecanismos de ação dos relaxantes musculares e os receptores da placa mioneural, com ênfase ao grau de afinidade entre os miorelaxantes e os receptores.

Assim, descreve-se o mecanismo normal de ativação da placa mioneural, tendo por base a teoria iônica de ativação das membranas, a estrutura química da acetilcolina e do receptor colinérgico.

E' provável que existam três receptores específicos na placa terminal: para a acetilcolina, para a colinesterase e o chamado receptor "curáricos"; este último de função ainda desconhecida, mas, provavelmente capazes de reagir com os curares naturais e sintéticos.

Em seqüência, estuda-se a relação entre a estrutura química dos relaxantes e o mecanismo do bloqueio neuromuscular, tendo como local de ação os receptores acima citados.

A maioria dos compostos naturais e sintéticos com ação curarizante são sais de amônio quaternário, capazes de produzir no animal e no homem respostas similares ou antagonizar as determinadas pela Acetilcolina. Sua atividade se exerce na placa mioneural.

Entre os fatores gerais que influem sobre sua ação Cavallito (1) distingue: a) acesso ao local de ação b) distribuição relativa entre os locais de ação específicos (receptores) e os que não o são (site of loss); c) seu grau de afinidade com os receptores específicos.

Estudaremos especialmente o ponto mencionado por último, para o que começaremos por analisar as circunstâncias que interferem na ativação normal da placa mioneural.

(*) Do Serviço de Anestesiologia do Hospital Municipal Rawson, editor chefe da Revista Argentina de Anestesiologia.

I — MECANISMO NORMAL DE ATIVAÇÃO DA PLACA MIONEURAL

A — *Teoria iônica de ativação das membranas excitáveis.* A Placa Terminal é o setor da junção mioneural onde se produzem a maioria dos eventos que levarão à contração muscular. Esta parte da membrana muscular se comporta como uma membrana excitável. Competem-lhe, portanto, todas as propriedades que regem o funcionamento de ditas estruturas. Estudos fisiológicos determinaram que sua conformação não é uniforme distinguindo-se claramente dois setores: a) um setor quimioexcitável sensível unicamente à ação de transmissor químico e insensível a estímulos elétricos ⁽²⁾; que é a porção da membrana subjacente ao terminal nervoso onde se encontram os receptores sobre os quais atuam a acetilcolina e outras substâncias farmacológicas que produzem a contração muscular ou que a impedem; b) o resto da membrana que é somente eletroexcitável ⁽³⁾.

Sabemos que em estado de repouso existe uma diferença de potencial em ambos os lados da membrana celular de mais ou menos 90mV, sendo o interior da célula eletronegativa em relação ao exterior. A membrana celular comporta-se como membrana semipermeável, o que quer dizer que sua permeabilidade está limitada a alguns ions e metabólitos. Esta permeabilidade seletiva é a causa da distribuição irregular de ions em ambos os lados da membrana e da mencionada diferença de potencial. Com a célula em repouso o ion K^+ encontra-se quasi que exclusivamente confinado ao interior da célula e o ion Na^+ quasi, exclusivamente, ao espaço extracelular. A estimulação nervosa produz a liberação de Acetilcolina armazenada na terminação nervosa, que atravessa o espaço intersináptico para reagir com locais específicos da Placa Terminal. Produz-se então uma alteração de permeabilidade da membrana aos ions Na^+ e K^+ dando início ao processo bioelétrico de despolarização.

O primeiro ion a atravessar a membrana é favorecido não só pelo gradiente de concentração como também pela atração do interior da célula que é eletronegativa. A erupção de Na^+ determina uma mudança no potencial transmembranário que vai se tornando cada vez menos negativo. Quando a diferença de potencial chega a um valor próximo aos — 40mV, produz-se um fenômeno conhecido como Potencial de Ação que se propaga a ambos os lados do local originariamente estimulado.

Com certo retardo em relação a entrada de Na^+ ocorre o deslocamento do K^+ para o exterior da célula tratando de

compensar o desequilíbrio iônico produzido pelo primeiro fenômeno. Neste momento, inicia-se a repolarização: a saída do K^+ reduz o potencial transmembrana que havia chegado a valores próximos a $+20mV$. O processo de repolarização se completa empregando um sistema "carreador" específico (bomba de Na^+) encarregado de extrair o Na^+ do interior da célula e atrair o K^+ a seu interior, a fim de restabelecer o potencial de membrana de repouso. A célula está novamente em condições de ser estimulada.

Em resumo, o processo de despolarização é governado pela erupção brusca de Na^+ ao interior da célula e o processo de repolarização pela saída de K^+ ; ambos fenômenos dependem da ação do intermediário químico da estimulação nervosa que é a acetilcolina. O potencial de ação ocorre quando a diferença de potencial transmembrana chega a um valor determinado (geralmente $-40mV$) que se denomina Potencial de Placa.

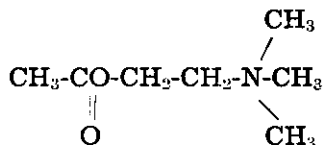
Não queremos seguir adiante sem falar de outro fenômeno eletrofisiológico que transcorre, em forma simultânea com o descrito e que nos permitirá interpretar melhor alguns aspectos do bloqueio despolarizante, em especial ao prolongamento da chamada fase II. Referimo-nos ao processo de *Acomodação*. De forma simultânea com as modificações bioelétricas, determinantes do Potencial de Ação produz-se uma elevação progressiva do Potencial de Placa. Devido a que normalmente o processo excitatório é rápido, a diferença de potencial chega ao limiar fisiológico antes que aquele houvesse aumentado originando-se assim o potencial de ação. Mas se o processo excitatório se amplia pela aplicação de um estímulo contínuo e prolongado, a elevação do limiar pode superar o potencial alcançado pelo próprio estímulo. Nestas condições não se produzirá o potencial de ação. A célula se torna inexcitável e diz-se que está "acomodada".

Devemos saber que tanto a membrana nervosa como a muscular se acomodam facilmente. Portanto, é de se esperar que em presença de uma despolarização prolongada estas estruturas podem se "acomodar" e tornarem-se inexcitáveis. Do ponto de vista da teoria iônica este processo está determinado pela inativação da permeabilidade ao sódio (Na^+) e um aumento na propagação da permeabilidade ao potássio (K^+). É importante assinalar que os eventos se produzem exclusivamente no local da membrana eletroestimulável, encarregado de propagar a ordem recebida dos nervos aos setores mais periféricos da fibra muscular e determinar a sua contração.

Sendo a acetilcolina o elemento desencadeante de todo este processo, o estudo de sua estrutura e propriedades químicas

cas nos permitirão esclarecer a conformação dos receptores da placa terminal e compreender o mecanismo de ação dos relaxantes musculares.

B — *Estrutura Química da Acetilcolina.* A acetilcolina é um composto de amônio quaternário que está presente em quantidades variadas em distintos tecidos do organismo. Do ponto de vista químico apresenta duas características notáveis: a) um centro quaternário trimetilado de natureza catiônica ao pH orgânico; b) uma união éster, separada do amônio quaternário por uma cadeia carbonada.



A presença de um grupo amônio quaternário parece ser indispensável para a ação da acetilcolina. A este respeito devemos esclarecer alguns conceitos sobre a natureza catiônica do referido grupo (4):

A estrutura atômica do nitrogênio (N) é tal que os 7 elétrons que rodeiam seu núcleo dispõem-se em dois elétrons centrais e cinco periféricos. Em linhas gerais os átomos são mais estáveis quando o grupo de elétrons periféricos tem a conformação de um octeto, o que no caso do N se pode conseguir com a junção de três átomos de hidrogênio, compartilhando ambos (nitrogênio e hidrogênio) três pares de elétrons. Se ao par de elétrons restantes (Figura 1) se une um próton (e deixa um átomo de hidrogênio de carecer de seu elétron, está carregado positivamente) o nitrogênio adquirirá uma carga positiva transformando-se em *ion amônio*. O nitrogênio pode formar também este tipo de uniões com átomos de carbono sendo estas últimas mais estáveis que as formadas com o hidrogênio. Convém assinalar que este tipo de união só apresenta estabilidade devido ao nitrogênio ter uma carga positiva. Essa é a origem da natureza catiônica de todos os compostos de amônio quaternário.

A acetilcolina possui dois grupos funcionais capazes de reacionar com locais específicos de ação: estes são o mencionado grupo amônio quaternário e o grupo éster. Que relação tem este fato com a provável estrutura do receptor colinérgico? Um dos métodos mais empregados para estudar a provável estrutura dos receptores é conhecer bem a do agente cujo comportamento farmacológico e fisiológico interessa,

donde este se comporta como um reator sendo o outro reator o proprio organismo e o resultado da reação uma resposta fisiológica ou sua anulação. Esta correlação entre a estrutura química e a atividade é tão geral que se pode demonstrar que as mesmas estruturas químicas de distintos compostos se acompanha de efeitos farmacológicos iguais ou similares a de um efeito farmacológico antagonico. A análise da estrutura da acetilcolina tem conduzido assim a imaginar a provável conformação de seus receptores específicos.

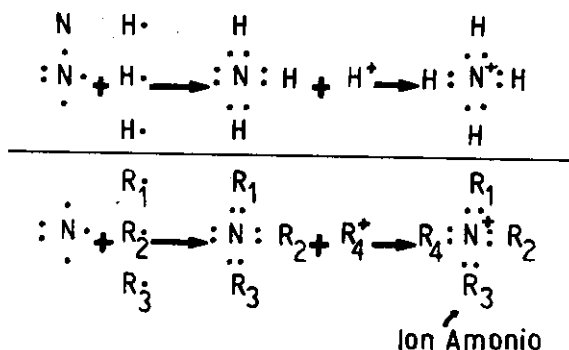


FIGURA 1

Acima — Formação do ion amonio pela agregação de um proton (átomo de hidrogênio desprovido de seu eletron) ao amoniaco. **Abaixo** — Formação de um grupo amonio quaternário com radicais carbonados (R) em vez de átomos de hidrogênio.

C — *Estrutura do Receptor Colinérgico*. Paton e Payne (3) definem por receptor uma superfície especializada contendo grupos químicos específicos ordenados de alguma forma especial particular de modo que somente moléculas de grupos complementares apropriadamente ordenados podem reagir com aquelas para produzir uma ação farmacológica (agonistas) ou para silenciá-las (antagonistas). Seriam macromoléculas de natureza química ainda não elucidada capazes de modificar sua conformação ao reagir com moléculas endógenas e com drogas de constituição muito similar a estas, fenômeno que iniciaria a série de eventos que definem sua função. No caso do receptor colinérgico da placa mioneural esta seria a contração muscular. De acordo com o que se conhece da estrutura química da acetilcolina e drogas similares, pode se deduzir com bastante segurança a dos receptores que nos interessam. É muito provável que todos os receptores colinérgicos possuam, um local aniônico capaz de reagir com o centro catiônico da acetilcolina. A aproximação entre

ambos os setores se faria fundamentalmente por atração elétrica. Além disso devem possuir um local "esterásico" adaptado a tarefa de fixar e em seguida destruir a união ester da acetilcolina. Este local coincide em parte com a localização da colinesterase, enzima encarregada de hidrolizar a acetilcolina, formando primeiro um complexo com a mesma, para logo decompor-se em colina e acetilenzima cujo destino final seria ácido acético e enzima livre. Em todo processo a função do local aniônico seria a de orientar e fixar em posição a molécula de acetilcolina o tempo suficiente para sua destruição pela enzima, o que geralmente se realiza em milisegundos. Conforme esta doutrina o receptor colinérgico e a colinesterase estariam intimamente conectados, tendo em comum, segundo Zupancic (6) o local esterásico. Uma consequência desta suposição é que o número de receptores concide com o número de locais ativos de colinesterase (Figura 2).

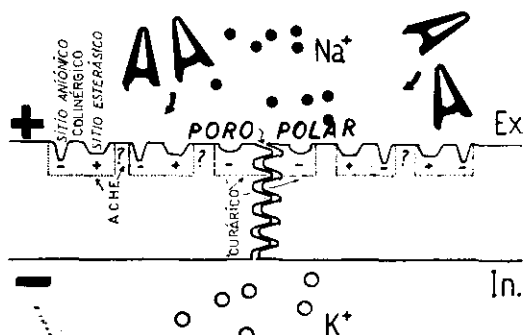


FIGURA 2

RECEPTORES DA PLACA TERMINAL

Está representada uma membrana com carga negativa em seu lado interior e positiva no exterior. Cations sódio (Na^+) fora da membrana e potássio (K^+) dentro da célula. Na proximidade de um poro polar vê-se um receptor «curárico»; mais distante e em maior número, os receptores colinérgicos com seu local aniônico e seu local esterásico, este último é compartilhado pelo receptor colinesterásico (R. ACHE) cujo outro componente ainda não se conhece. Algumas moléculas de Acetilcolina foram liberadas pela terminação nervosa ao chegar um impulso motor.

Mas a associação simples entre receptor e agonista não dá lugar a nenhuma ação específica a menos que dita união determine modificações fisicoquímicas no receptor ou em sua vizinhança. Segundo Cavallito (7) a cabeça catiônica da acetilcolina produz um deslocamento iônico (um cation Ca^{++} ou Mg^{++} de um complexo fosforado), que origina um aumento de permeabilidade da membrana aos ions intra e extra-

celulares. Os locais de permeabilidade aumentada que permitem um fluxo de ions tem recebido especial atenção e foram denominados por Waser (⁸) "poros polares". Sua periferia estaria constituída por locais aniônicos capazes de controlar o deslocamento dos cations Na e K (Figura 2).

No entanto, quando se pretende estudar, o mecanismo dos relaxantes musculares a luz destes fatos, a situação se complica um pouco. Se ao administrar curare marcado com carbono 14, em forma simultânea com um anticolinesterásico como a neostigmina, em ratos cujo diafragma se estuda logo por meio de autorradiografias, pode-se constatar que o curare ocupa exatamente a mesma superfície e o mesmo local que quando é injetado só. Este fato só é compatível com a presença de dois receptores diferentes: os da colinesterase e os capazes de fixar a molécula de curare.

Na placa terminal haveria portanto três tipos de receptores:

- a — Receptores específicos para acetilcolina;
- b — Receptores para colinesterase;
- c — Receptores "curáricos" cuja função se desconhece mas que são capazes de reagir em forma muito notória com os curares naturais e sintéticos.

Os dois primeiros estão localizados muito próximos um do outro, possivelmente na mesma macromolécula ou pelo menos compartilhando o centro esterásico. Os receptores "curáricos" estariam localizados na zona vizinha dos poros cuja natureza aniônica exerceria atração sobre os centros catiônicos dos paquicurares. Waser (⁸) sugeriu que cada receptor "curárico" possuiria pelo menos dois locais aniônicos, já que ensaios realizados com curares monoquaternários e biquaternários indicam que estes possuem uma atividade muito maior que aqueles.

II — RELAÇÃO ENTRE A ESTRUTURA QUÍMICA DOS RELAXANTES MUSCULARES E O MECANISMO DE BLOQUEIO NEUROMUSCULAR

A — *Estrutura química* — Antes de 1935 um número apreciável de investigadores já havia estabelecido que os sais de amônio quaternário possuíam propriedades curarizantes. Mas apenas após o isolamento e a determinação da estrutura da d-tubocurarina por Bovet e col. (⁹) foi quando começaram a se estudar a relação que existe entre a estrutura dos relaxantes musculares e sua atividade bloqueadora da transmissão neuromuscular. Na Figura 3 estão representadas as estruturas químicas dos relaxantes musculares mais emprega-

dos na clínica. Como se pode notar, todos os agentes possuem dois ou mais grupos amônio quaternários separados entre si por uma cadeia de um número variável de carbonos disposta em forma simples como na succinilcolina e decametônio e em forma complexa com um ou vários anéis benzênicos na mesma. Da mesma forma que na acetilcolina a presença do grupo amônio quaternário é indispensável para sua ação sobre a transmissão neuromuscular.

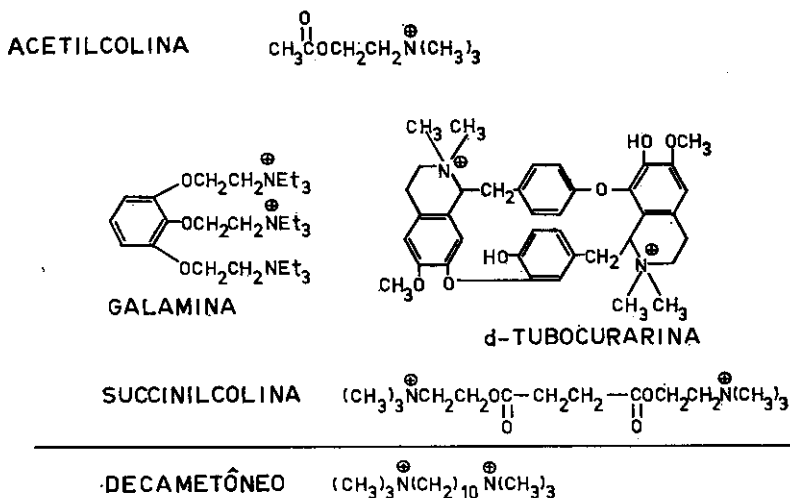


FIGURA 3

Fórmula química da Acetilcolina e dos relaxantes de uso mais comum.

Este fato faz supor que as forças que intervêm na sua associação ao receptor são também do tipo de atração elétrica.

Já assinalamos que os compostos biquaternários são mais ativos que os monoquaternários, tendo-se comprovado, ainda, que o efeito máximo se obtém quando a distância que separa os centros catiônicos é de 10 a 15 Å. Isto faria supor que os dois centros aniônicos do receptor estariam localizados a uma distância similar. O que não está claro é se ambos centros catiônicos de um relaxante muscular compartilham somente os centros aniônicos de um mesmo receptor ou podem fazê-lo com os dos receptores vizinhos.

Vinculado com sua forma de ação o tamanho da molécula dos relaxantes musculares é particularmente importante. Os derivados metilados do nitrogênio quaternário se comportam como drogas despolarizantes. Parece que só dois dos três

grupos metilas que tem a acetilcolina, o decametônio e a succinilcolina, são os responsáveis pelo encaixe estrutural com o local específico do receptor. A substituição de um grupo metila, afeta pouco a atividade destes agentes. Mas a substituição das três metilas o faz em 10 mil vezes. Se admite que deve haver uma distância de aproximação ótica entre o receptor e o agente para que seu efeito seja máximo. A interposição de estruturas de cadeia longa ou de estruturas mais complexas distanciam os centros ativos e determinam não só um retardo de ação, como também perda de potência ou modificação apreciável na forma de atuar. Assim por exemplo, a substituição dos grupos metila por grupos etila transforma o bloqueio despolarizante em antidespolarizante, assemelhando-se a ação da d-tubocurarina.

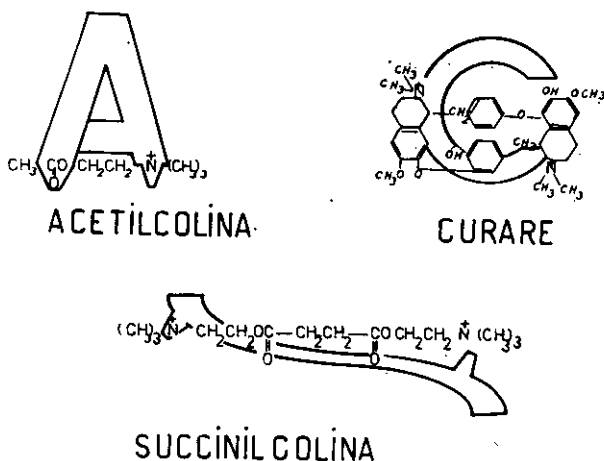


FIGURA 4

Representação imaginária das moléculas de Acetilcolina (A), d-tubocurarina (C) e Succinilcolina (S) para mostrar os centros de fixação dos respectivos receptores.

Um aspecto também relacionado com o tamanho da molécula é sua configuração especial. Muitas das drogas tri ou poliquaternárias tem uma configuração tredimensional, sendo de secção mais esférica que as biquaternárias. A configuração plana como a da d-tubocurarina ou longitudinal como a da succinilcolina permitem um melhor ajuste entre seus locais ativos e os do receptor.

B — Mecanismo de ação dos relaxantes musculares.
Com base no que dissemos até agora, vejamos como se interpreta o mecanismo de ação dos relaxantes musculares.

Pelo que vimos, haveriam três tipos de receptores na porção quimiosensível da membrana pós-sináptica ⁽¹⁰⁾.

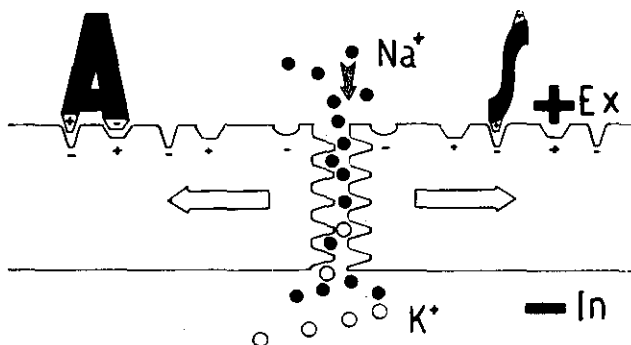


FIGURA 5

BLOQUEIO DESPOLARIZANTE

À direita vê-se uma molécula de Acetilcolina (a) encaixando seu centro catiônico (nitrogênio quaternário) no local aniônico de um receptor colinérgico e seu grupo esterídico no local esterídico do mesmo. Com isto, deforma-se o receptor e a membrana e se abre o poro polar. A erupção de Na^+ para o interior provoca a despolarização da placa terminal. A colinesterase, em parte sobreposta ao receptor colinérgico, destrói a união esterídica da Acetilcolina e deixa livre o receptor permitindo então a repolarização da placa. À esquerda vê-se uma molécula de Succinilcolina com um dos seus grupos catiônicos atraído pelo local aniônico de um receptor colinérgico. Como antes há deformação da membrana, abertura do poro e despolarização da placa por entrada de sódio. A colinesterase da placa não afeta a molécula de Succinilcolina porque a conformação desta impede sua atração pelo local esterídico do receptor. O bloqueio se prolonga até que a molécula seja eliminada pela placa.

I — Receptores colinérgicos: Pelos quais têm afinidade a acetilcolina e os relaxantes despolarizantes. Segundo Waser ⁽¹¹⁾ são muito numerosos e estão dispostos a certa distância do poro. A união entre o centro catiônico do relaxante muscular e o centro aniônico do receptor determina o deslocamento ou modificação na configuração da macromolécula. Isto por sua vez origina uma soma de permeabilidade aumentada o deslocamento do Na^+ e do K^+ e a despolarização da membrana muscular. Isto é devido a que relaxantes despolarizantes que não são metabolizados in situ, por nenhuma enzima e a despolarização persiste durante um tempo prolongado o que origina uma área de acomodação que torna inexcitável a célula correspondente. Durante todo este tempo o poro se mantém aberto e através dele se produz uma saída contínua de K^+ , tentando restabelecer o desequilíbrio iônico

causado pela entrada de Na^+ . Segundo Waud este fato tem muita importância para explicar o prolongamento anormal da fase II do bloqueio despolarizante (3).

Para Paton e Payne (12) a despolarização está relacionada com a velocidade de combinação da droga com o receptor. A grande velocidade de associação produziria a despolarização e esta capacidade de associação é tanto mais notória quanto menor o tamanho da molécula e maior o número de receptores disponíveis; isto caracteriza os leptocurares.

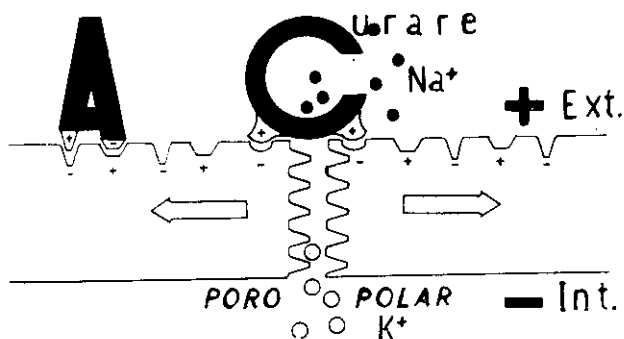


FIGURA 6

BLOQUEIO ANTIDESPOLARISANTE

Uma molécula de curare é atraída pelos locais aniónicos de um receptor «curárico». Fica bloqueado assim o deslocamento iônico e impossibilitada a despolarização da placa. Ainda que a Acetilcolina, atuando sobre distintos receptores, seja capaz de abrir o poro não chega a fazê-lo com a dimensão suficiente para permitir a entrada do sódio na célula.

O prolongamento da fase II do bloqueio despolarizante pode aparecer quando se administra de forma prolongada um relaxante despolarizante ou quando a dose é elevada (superior a 500 mg de dose total). Segundo Waser (13) esta fase de inexcitabilidade prolongada se deveria a penetração no interior da fibra muscular das pequenas e abundantes moléculas de leptocurare, através dos poros que elas mesmo mantêm abertos. Deste modo bloqueiam-se os movimentos dos ions, assim se prolongando a fase de inexcitabilidade que inicialmente era despolarizante. Para Waud (3) o mecanismo seria outro. A abertura prolongada do poro, determina a saída prolongada de K^+ para o espaço extracelular. Descarrega-se assim a bateria celular e esta se torna inexcitável até que se restitua a concentração normal de K^+ intracelular. Como o ion K^+ passa para o exterior da célula e daí para o espaço

vascular, o retorno a normalidade, requer não somente tempo como também a intervenção de carreadores para reintroduzi-lo ao interior da célula. Enquanto isto não ocorra a célula continua inexcitável.

II — Receptores de curare: São menos numerosos que os anteriores e situados na proximidade dos poros ou compartilhando seus locais polares que, segundo vimos, são de natureza aniônica. Os relaxantes antidespolarizantes de molécula de grande tamanho, ao fixar-se por seus centros catiônicos sobre as ditas estruturas ocluem o poro e se colocam como obstáculo ao livre movimento de ions Na^+ e K^+ , interferindo assim com o processo de despolarização. Devido a este fato, não se produz o fenômeno excitatório que caracteriza a fase I do bloqueio despolarizante; para isto contribui sua pequena velocidade de associação e dissociação com os receptores.

III — Receptores de acetilcolinesterase: Encarregados de distribuir a acetilcolina em um milissegundo contribuem para reconstruir a configuração original da macromolécula e a oclusão do poro. O retorno do potencial de repouso da membrana se obtém ao ser novamente repostos o Na^+ e o K^+ a seus locais se origem. Formam parte do receptor colinérgico e podem ser inibidos ou bloqueados por drogas anticolinesterásicas (por ex. neostigmina) empregadas na prática para reduzir ou abolir o relaxamento muscular originada por administração de relaxantes antidespolarizantes.

SUMMARY

ENDPLATE MYONEURAL RECEPTORS

The mechanism of action of muscle relaxants and myoneural receptors are studied emphasising affinity among relaxants and receptors.

Normal mechanism of endplate activation is review based on the ionic theory of membrane activation, chemical structure of acetylcholine and cholinergic receptor.

It is postulated that in the endplate there exists three specific receptors: one for acetylcholine, one for cholinesterase and the «curare receptor» whose role still unknown can be related with fixation of natural and synthetic curares.

REFERÊNCIAS

1. Cavallito, Ch C — Some interrelationships of chemical structure, physical properties and curarimimetic action. Em «Curare and Curarelike agents», D Bovet, F Bovett-Nitti y G B Marini-Bettole, Editores. Amsterdam, Elsevier Publishing Co 1959, p. 288.
2. Werman R. — Electrical inexcitability of synaptic membrane in frog skeletal muscle fiber. Nature 188:149, 1960.

3. Waud D R — The nature of depolarization block. *Anesthesiology* 29:1014, 1968.
4. Paton W D M, Payne J P — *Pharmacological Principles and Practice*. Boston, Little, Brown, and Co 1.^a Ed p. 162-163, 1968.
5. Paton W D M, Payne J P — *Op. Cit.* p. 1.
6. Zupancic A O — Evidence for the identity of anionic centers of cholinesterases with colinoreceptors. *Ann N Y Acad Sci* 14:689-692, 1967.
7. Cavallito Ch C — Some speculation on the chemical nature of post junctional membrane receptors. *Fed Proc* 26:1647, 1967.
8. Waser P G — Receptor localization by autoradiographic techniques. *Ann N Y Acad Sci* 144:737, 1967.
9. Bovett D, Bovett-Nitti F, Guarino S, Longe V G, Fusco R — Recherches sur les poisons curarisantes de synthese. *Arch Inter Pharmacodyn* 88:1, 1951.
10. Foldes F F — Conceptos actuales sobre el mecanismo de acción de los bloqueadores neuromusculares. IX Congreso Latinoamericano y XI Congreso Argentino de Anestesiología, Bs As Tomo II, p. 215, 1967.
11. Waser P G — Nature of the cholinergic receptor. *Proc 1st Pharmacol Meet* 7:101, 1963.
12. Paton W D M, Payne J P — *Op. Cit.* p. 3.
13. Waser P G — Curare and cholinergic receptors in the motor endplate. In D Bovet, F Bovet-Nitti y G B Marini-Bettolo. *Op. Cit.* p. 219.