흰쥐 횡격막 신경근 표본에서 단순연축 자극에 의한 탈분극성 근이완제의 접합전막 작용의 평가

순천향대학교 의과대학 마취과학교실

황경호 · 채원석 · 강규식 · 김용익 · 박 욱 · 김성열

= Abstract =

Evaluation of Presynaptic Action of Depolarizing Neuromuscular Blocking Agents with Single Twitch Response in Vitro

Kyung Ho Hwang, M.D., Won Seok Chai, M.D., Kyu Sik Kang, M.D.
Yong Ik Kim, M.D., Wook Park, M.D., and Sung Yell Kim, M.D.

Department of Anesthesiology, School of Medicine, Soonchunhyang University, Bucheon, Korea

Background: This study was performed to evaluate the presynaptic effects of depolarizing neuromuscular blocking drugs by using slow and fast frequencies of indirect stimulation on partial twitch depression in vitro.

Methods: A rat phrenic nerve hemidiaphragm was dissected and was mounted in an organ bath containing an oxygenated Krebs solution. The phrenic nerve was stimulated supramaximally and the twitch response (0.1 Hz) was stabilized for at least 30 minutes. T200/T1 ratio (twitch height of the 200th stimuli divided by that of the first stimuli) at frequencies of 0.2, 0.5, 1.0, and 2.0 Hz using a drug concentration which provided approximately 20% twitch depression at 0.1 Hz was calculated. To compare T200/T1 ratios with TOF ratios, a 2.0 Hz TOF response was measured immediately after the 200th stimuli at either frequency of stimulation.

Results: T200/T1 ratios produced by succinylcholine (SCC) and decamethonium (C10) were located between α -bungarotoxin (ABX) and hexamethonium (C6), however, significant differences among the four drugs were found at 2.0 Hz. The propensity for a decrease in T200/T1 ratios at 2.0 Hz might differ from this study: C6 > C10 > SCC > ABX. T200/T1 ratios at 2.0 Hz were not different from TOF ratios.

Conclusions: It is concluded that small doses of C10 have a greater presynaptic activity than that of SCC, when the observed effects in this study were compared with the result of ABX acting predominantly at postsynaptic receptors and C6 acting predominantly at presynaptic receptors. (**Korean J Anesthesiol 2001; 40: 532 ~ 537**)

Key Words: Neuromuscular relaxants: α -bungarotoxin; decamethonium; hexamethonium; succinylcholine. Neuromuscular transmission: twitch response.

논문접수일 : 2001년 3월 21일

책임저자 : 황경호, 경기도 부천시 원미구 중동 1174, 순천향대학병원 마취과, 우편번호: 420-853

Tel: 032-621-5323, 5329, Fax: 032-621-5018, E-mail: khhwang@schbc.ac.kr

석사학위 논문임.

서 론

근이완제는 신경근 접합부 내의 접합후막 및 전막에 있는 수용체에 결합하여 신경근 전달기능을 차단함으로써 근 수축을 억제하는데 그 정도를 평가하기 위한 임상적 방법으로 train-of-four (TOF) 자극법이 흔히 사용되고 있다. 즉 TOF 반응 중 첫 번째 연축 높이(T_1)의 변화로 접합후막 효과를, 그리고 TOF 자극에 의해 점차적으로 연축높이가 감소하는 fade로서 접합전막 효과를 간접적으로 반영한다고 한다.^{1,2)}

Succinylcholine은 접합후막 수용체에 결합하여 탈분극성 신경근 차단을 일으키는 근이완제로 알려져 왔다. 최근 succinylcholine은 acetylcholine (Ach.)과 구조적으로 유사하여 비탈분극성 근이완제와 같이 접합후막 뿐만 아니라 접합전막 수용체에도 작용한다는 보고가 있는데,³⁻⁵⁾ 김성열 등은⁶⁾ 근이완 발현시 TOF 반응으로 이를 증명한 바 있다. 그러나 succinylcholine에 의한 신경근 차단과정이 매우 빠르게 진행되기 때문에 일정 간격으로 가해지는 TOF 자극의 특성상 이를 이용하여 임상적으로 접합전막에 대한 작용을 평가하기에는 어려움이 많다.

한편 England 등과⁷⁾ 임경임 등은⁸⁾ 0.2-2.0 Hz 사이의 다양한 빈도로서 단순연축 자극을 200회 가하여 나타나는 1회째(T_1)와 200회째(T_{200})의 연축높이의 백분율(T_{200}/T_1 ratio)을 이용하여 비탈분극성 근이완제들의 접합전막 효과에 대한 상대적 평가가 가능하였다고 하였다.

본 연구에서는 흰쥐 횡격막 신경근 표본에서 0.2-2.0 Hz 사이의 단순 연축자극에 의한 T_{200}/T_1 ratio 반응으로 탈분극성 근이완제인 succinylcholine과 decamethonium의 접합전막 작용을 접합전막과 후막에 선택적으로 작용하는 hexamethonium과 α -bungarotoxin의 경우와 비교하여 평가하여 보았다.

대상 및 방법

암수 구별없이 체중이 200-300 g인 흰쥐(Sprague-Dawley rat) 22마리를 대상으로 하여 2.5% thiopental sodium 5-10 ml를 복강 내 주사하여 마취한 후 신속하게 좌우 두 개의 횡격막을 횡격신경이 부착된 채로 절제하여 표본을 만들었다. 신경자극과 고정을

동시에 할 수 있게 특별히 고안된 장치에 표본을 거치한 다음 100 ml의 Krebs 용액이 채워진 실험조내에 현수하였다. 조직에 가하는 전부하는 2 g으로 하였고 용액은 실험기간 동안 5% CO_2 와 95% O_2 로 기포화시켰으며 온도는 water bath를 이용하여 32°C로 유지하였다. 사용된 Krebs 용액의 조성은 NaCl 118 mM, KCl 5.0 mM, $CaCl_2$ 2.5 mM, $NaHCO_3$ 30.0 mM, KH_2PO_4 1.0 mM, $MgSO_4$ 1.0 mM, 그리고 포도당 11 mM이었다.

전기자극은 Grass S88 stimulator (Grass Inc., USA)를 이용하여 isolation unit (SIU 5B, Grass Inc., USA)를 통한 0.2 ms, square wave, 0.1 Hz의 극대자극 (supramaximal stimuli)을 횡격신경에 가하여 나타나는 횡격막 근육의 연축반응을 force-displacement transducer (Grass FT03, Grass Inc., USA)로 감지하여 polygraph (Grass 79, Grass Inc., USA)로 기록하였다.

2 Hz TOF 자극에 의한 fade가 없고 적어도 30분 이상 0.1 Hz 단순연축 반응이 안정되는 것을 확인한 후 이를 대조치로 하였다. 소량의 약제를 연축높이가 3개 이상 일정하게 유지될 때마다 반복 투여하여 연축높이를 대조치의 약 80%로 유지되도록 억제시켰다.

약제는 α -bungarotoxin, decamethonium bromide, hexamethonium chloride(이상 Sigma Chemical, USA)와 succinylcholine (석시콜린[®], 일성신약)을 사용하였다.

이후 신경자극은 0.2, 0.5, 1.0, 그리고 2.0 Hz 중 하나의 빈도를 임의로 선택하여 각 빈도에서 200회의 자극을 가한 후 즉시 2 Hz TOF 자극을 가하여 TOF fade 정도를 관찰한 다음 0.1 Hz 단순연축 자극으로 되돌아가 연축높이를 대조치의 80%로 회복시켰다. 200회의 자극은 자극의 빈도로서 자극 기간을 환산하여 0.2 Hz에서는 16분 40초간, 0.5 Hz에서는 6분 40초간, 1.0 Hz에서는 3분 20초간, 그리고 2.0 Hz에서는 1분 40초간으로 설정하였다. 각 자극의 빈도에서 1회째(T_1)와 200회째(T_{200}) 연축높이의 비율(T_{200}/T_1 ratio)을 측정하여 자극빈도별, 약제별로 비교하였고, 또한 각 자극빈도에서의 T_{200}/T_1 ratio와 TOF ratio를 비교하였다. 표본은 하나의 약제와 동일한 자극의 빈도에 노출시켰으며 1회의 실험이 종료되고 0.1 Hz의 자극에서 연축높이가 대조치의 80%로 회복되는 경우에 한하여 적어도 30분 이상 안정되는 것을 확인한 후 실험을 반복하였다.

측정치는 평균 $\pm$ 표준편차로 나타내었으며 통계 분석으로서 T_{200}/T_1 ratio의 약제별, 자극빈도별 비교는 one-way ANOVA를 이용하여 의의 있는 차이가 있을 경우 Bonferroni test로 검정하였고, T_{200}/T_1 ratio와 TOF ratio의 비교는 paired-t test로 하였다. P 값이 0.05 미만일 때 통계학적 의의가 있는 것으로 판정하였다.

결 과

약제별 조직표본수 및 측정치는 각각 α -bungarotoxin은 10 및 52, succinylcholine은 12 및 32, decame-

Fig. 1. Mean T_{200}/T_1 ratio plotted against frequency of stimulation after administration of a dose of drug which gives approximately 20% depression of twitch height at 0.1 Hz. The T_{200}/T_1 ratios produced by succinylcholine (SCC) and decamethonium (C10) located intermediate between α -bungarotoxin (ABX) and hexamethonium (HEX), however significant differences among four drugs were found at 2.0 Hz. *P < 0.05 vs. HEX, †P < 0.05 vs. ABX, ‡P < 0.05 vs. C10.

thonium은 12 및 32, 그리고 hexamethonium은 10 및 46개였다.

0.1 Hz 연축높이를 대조치의 80%로 억제시키기 위한 약제의 평균 용량은 α -bungarotoxin 0.21 mg/L, succinylcholine 0.24 mg/L, decamethonium 0.86 mg/L, 그리고 hexamethonium 1.28 mg/L이었다.

자극의 빈도에 따른 T_{200}/T_1 ratio의 변화는 α -bungarotoxin과 비교하여 succinylcholine의 경우 1.0 Hz 이하에서는 의의 있는 차이가 없었으나 2.0 Hz에서 $86 \pm 8.7\%$ 로 감소되었으며(P < 0.05), decamethonium의 경우 0.5 Hz에서부터 2.0 Hz까지 빈도가 증가함에 따라 감소되는 경향이 있었다(P < 0.05). Hexamethonium과 비교하여서는 succinylcholine 및 decamethonium 모두 0.5-2.0 Hz의 빈도에서 높게 나

Fig. 2. T_{200}/T_1 ratio at 2 Hz during approximately 20% twitch depression by administration of α -bungarotoxin (ABX), succinylcholine (SCC), decamethonium (C10), or hexamethonium (HEX) was not different from train-of-four (TOF) ratio which measured immediately after 200th stimuli. Vertical bar means SD.

Table 1. T_{200}/T_1 Ratios (%) at the Various Rate of Stimulation after Administration of a Dose of Drug Which Gives Approximately 20% Depression of Twitch Height at 0.1 Hz in the Rat Phrenic Nerve Hemidiaphragm

Drugs	0.2 Hz	0.5 Hz	1.0 Hz	2.0 Hz
ABX	95 $\pm$ 2.8	97 $\pm$ 3.1	94 $\pm$ 2.3	94 $\pm$ 2.7
SCC	97 $\pm$ 4.5*	97 $\pm$ 4.7*	96 $\pm$ 6.7*	86 $\pm$ 8.7*†‡
C10	87 $\pm$ 4.2	72 $\pm$ 14.4*†	63 $\pm$ 13.0*†	44 $\pm$ 13.1*†
HEX	81 $\pm$ 6.4	32 $\pm$ 8.2	10 $\pm$ 4.1	3 $\pm$ 3.3

Values are expressed as mean $\pm$ SD. ABX : α -bungarotoxin, SCC : succinylcholine, C10 : decamethonium, and HEX : hexamethonium. *P < 0.05 vs. HEX, †P < 0.05 vs. ABX, ‡P < 0.05 vs. C10

타났다($P < 0.05$)(Table 1).

약제들간의 있어서는 2.0 Hz의 빈도에서만 α -bungarotoxin $94 \pm 2.7\%$, succinylcholine $86 \pm 8.7\%$, decamethonium $44 \pm 13.1\%$ 그리고 hexamethonium $3 \pm 3.3\%$ 로서 차이를 나타내어($P < 0.05$) 상대적 비교가 가능하였다(Fig. 1).

각 빈도에서 200회 째 단순연축 자극 후 측정된 TOF ratio와 T_{200}/T_1 ratio를 비교한 결과 1.0 Hz까지는 차이를 보이다가($P < 0.05$) 2.0 Hz에서 유의 있는 차이 없이 일치하였다(Fig. 2).

고 찰

신경근 전달물질인 Ach.은 신경근 접합부에서 접합후막 수용체에 작용하여 근 수축을 일으키는 한편 접합전막에서는 nicotine성 자가수용체(autoceptor)에 작용하여 Ach.의 추가 분비를 촉진하고 muscarine성 자가수용체에 작용하여 Ach.의 유출을 억제함으로써 연접간격(synaptic cleft) 내 Ach.의 분비를 조절한다고 한다. 즉, 정상상태에서는 신경 impulse에 의하여 유리되는 Ach.의 양이 근육 종판(end plate)을 탈분극 시키는데 필요한 양보다 훨씬 많지만 자극기간이 길어지면 궁극적으로 Ach.의 방출량은 떨어지게 되기 때문에 높은 자극빈도에 대하여 양성 귀환역할(positive feedback mechanism)을 통하여 신경말단에서 Ach. 분비에 신속하게 동원할 수 있게 한다.⁹⁻¹¹⁾

연속적인 신경자극으로 처음에 비하여 진폭(amplitude)이 감소되는 현상을 tetanic 또는 TOF fade라고 하는데 자극 빈도가 높을수록 이러한 현상은 현저해지며,^{12,13)} 비탈분극성 근이완제는 접합후막 수용체를 차단하여 근 수축을 억제할 뿐만 아니라 접합전막 수용체에도 작용하여 양성 귀환 역할을 억제시킴으로서 반복 자극 동안 특징적인 fade가 나타난다.

탈분극성 근이완제들은 접합후막의 Ach. 수용체에 작용하여 신경근 차단작용을 일으키는 것으로 알려져 왔으나 최근 succinylcholine도 Ach.과 구조적으로 유사하여 접합전막의 수용체에 작용한다고 보고되고 있다.³⁻⁵⁾ 김성열 등은⁶⁾ succinylcholine을 투여하면 일차적으로 접합전막 수용체에 작용하여 양성 귀환역할에 의해 Ach.의 분비가 촉진됨으로써 근 수축이 일어났다가 이차적으로 음성 귀환역할(negative feedback mechanism)에 의한 Ach. 분비억제와 근이완이

일어난다고 하였다. 그러나 succinylcholine을 임상용량으로 투여하는 경우 근이완 과정이 신속하게 일어나 근이완 발현시에 TOF 비를 일정 시점에서 포착하지 못하여 임상용량보다 적은 용량을 투여함으로써 TOF fade를 관찰할 수 있었다고 하였다. Kimura 등은¹⁴⁾ 동물실험에서 고농도의 succinylcholine이 농도 및 시간 의존성으로 신경종말에서 Ach.의 분비를 억제한다고 하였고, 황경호 등도¹⁵⁾ 쥐의 횡격막 신경근 표본에서 decamethonium이 d-tubocurarine에 의한 TOF fade를 증가시키는 것이 접합전막에 대한 효과라고 하였다. 본 연구에서도 2.0 Hz 자극빈도에서의 T_{200}/T_1 ratio는 succinylcholine 및 decamethonium의 경우 86% 및 44%로서 α -bungarotoxin과 hexamethonium의 결과와 비교하여 접합전막 효과가 있는 것으로 나타났으며 이러한 결과는 TOF ratio와도 잘 일치함을 보여주었다.

Hexamethonium은 접합후막 nicotine성 수용체에 대하여 길항 작용이 약하지만 peak tetanic tension이나 단순연축의 억제 없이도 완전한 tetanic fade를 일으키며¹⁶⁾ 쥐의 횡격막 신경근 표본에서 심한 fade를 일으킨다고 하여 접합전막에 주로 작용하는 약물로 간주되고 있다.^{17,18)} 한편 α -bungarotoxin은 접합후막 내 nicotine성 수용체의 α -subunit에 특이적으로 결합하여 자극의 전달을 비가역적으로 차단하지만 접합전막 수용체에 대해서는 아무 작용이 없다고 한다.^{19,20)} 본 연구에서는 탈분극성 근이완제들의 접합전막 효과를 상대적으로 평가하기 위한 기준 시약으로 α -bungarotoxin과 hexamethonium을 사용하였다.

신경 자극에 의해 유리되는 Ach.의 양은 즉시 방출 가능한(immediately available store) 양의 극히 일부일 뿐만 아니라 근육의 탈분극을 일으킬 수 있는 양의 20-30배에 달한다고 하는데²¹⁾ 근이완제에 의한 접합전막의 부분 차단으로 TOF 자극 중 첫 번째 자극 0.5초 후인 두 번째 자극에서부터 근 반응의 fade가 일어날 만큼 Ach. 유리가 현저하게 감소된다는 것은 설명하기 곤란하다. 실제로 Ach. 방출을 측정한 실험에서 d-tubocurarine에 의한 부분적 근이완 동안 신경자극이 10-15회 이상 가해져야만 신경말단에서의 Ach. 유리가 감소되는 것이 증명된 바 있다.⁵⁾ 따라서 근이완제에 의해 접합전막 수용체가 차단되어 Ach. 유리가 감소되는 것은 신경자극이 10회 이상 되어야 작동이 시작되는 반면에, TOF 자극에

의해서는 두 번째 자극에서부터 억제되는 것이기 때문에 TOF fade를 단순히 근이완제의 접합전막 효과에만 기인한다고 할 수 없으며 이는 보다 복합적인 현상이라고 하였다.^{5,22)} 따라서 근이완제의 접합전막 효과를 평가할 수 있는 다른 신경자극법에 대한 연구가 필요하다.

England 등은⁷⁾ 흰쥐의 횡격막 조직실험에서 단순 연속 자극의 빈도를 증가시키므로서 나타나는 탈분극성 근이완제들의 접합전막 효과를 상대적으로 비교할 수 있었다고 하는데 임경임 등도⁸⁾ T_{200}/T_1 ratio가 통상적인 TOF ratio와 연관성을 보여 근이완제들의 접합전막 효과를 평가할 수 있는 또 다른 방법이 될 수 있을 것이라고 하였다. 본 연구에서도 T_{200}/T_1 ratio는 α -bungarotoxin의 경우에 거의 변화하지 않는 반면 hexamethonium의 경우에는 매우 심하게 감소되어 주로 α -bungarotoxin은 접합후막에 그리고 hexamethonium은 접합전막에 선택적으로 작용하는 약제라는 것을 재확인할 수 있었다. 한편 succinylcholine의 경우 2.0 Hz에서만 α -bungarotoxin에 비해 유의 있는 감소를 나타냈으나 decamethonium의 경우에는 자극의 빈도가 증가할수록 감소되는 경향을 보여 같은 탈분극성 근이완제이지만 접합전막 효과는 더 강한 것으로 생각된다.

그러나 fade 현상이 신경말단에서 Ach. 동원이 저하되기 때문인지 아니면 접합후막 수용체의 이온통로가 차단되어서 나타나는 것인지에 대해서는 논란이 많다. Succinylcholine이나 decamethonium은 수용체내 Ach. 결합부위에 작용할 뿐 아니라 이온통로에도 작용한다고 한다.²³⁾ 특히 decamethonium의 경우 구조적으로 가늘고 길기 때문에 이온통로가 개방되었을 때 쉽게 통과하여 제 2 상 차단(phase II block)을 잘 일으킨다고 하나 명확한 약리학적 효과는 알려져 있지 않다.²⁴⁾ 또한 대부분의 근이완제들은 수용체나 이온통로 어디에서나 작용할 수 있지만 우선적으로 α -bungarotoxin은 Ach. 결합부위에서, 그리고 hexamethonium은 이온통로 차단으로 신경근 전도를 차단한다고 한다.²⁵⁾ 따라서 fade 현상이 접합전막 수용체의 차단으로 발생하는 Ach. 추가분비의 억제로 기인하는지 아니면 접합후막 수용체에서의 이온통로 차단 때문인지에 대해서는 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

결론적으로 본 연구에서는 α -bungarotoxin 및 he-

xamethonium의 작용을 기준으로 하여 T_{200}/T_1 ratio로서 탈분극성 근이완제인 succinylcholine과 decamethonium의 접합전막 효과를 평가할 수 있었으며, succinylcholine에 비해 상대적으로 decamethonium의 경우에서 접합전막 효과가 더 우세하게 나타났다. 이러한 결과가 접합전막 수용체에 대한 작용이 강하기 때문인지 아니면 접합후막 수용체에서 이온통로를 차단시키는 경향이 있기 때문인지에 대해서는 본 연구에서 확인할 수 없었으며, 또한 in vitro 실험의 특성상 약제가 대사되지 않고 오랫동안 수용체에 작용함으로써 발생할 수 있는 탈감작 (desensitization)에 의한 영향도 배제하지 못하였다.

참 고 문 헌

1. Bowman WC: Pharmacology of neuromuscular function. London, Wright. 1990, pp65-230.
2. Power SJ, Jones RM: Relationship between single twitch depression and train-of-four fade: influence of relaxant dose during onset and spontaneous offset of neuromuscular blockade. *Anesth Analg* 1987; 66: 633-6.
3. Standaert FG, Adams JE: The actions of succinylcholine on motor nerve terminals. *J Pharmacol Exp Ther* 1965; 149: 118-23.
4. Galindo A: Depolarizing neuromuscular block. *J Pharmacol Exp Ther* 1971; 178: 339-49.
5. Wessler I: Pre-synaptic neuromuscular block. *Anesth Pharmacol Review* 1993; 1: 69-71.
6. 김성열, 이정석, 윤종수, 김선중, 박 욱, 김문호 등: 근이완 발현 및 회복시 사연속반응비에 관한 연구. *대한마취과학회지* 1997; 32: 553-60.
7. England AJ, Richards KM, Feldman SA: The effect of rate of stimulation on force of contraction in a partially paralyzed rat phrenic nerve hemidiaphragm preparation. *Anesth Analg* 1997; 84: 882-5.
8. 임경임, 황경호, 정우택, 이정석, 박 욱, 김성열: 흰쥐 횡격막 신경근 표본에서 전기적 신경자극의 빈도가 부분 연속억제에 미치는 효과. *대한마취과학회지* 1998; 35: 831-8.
9. Bowman WC: Prejunctional and postjunctional cholinergic receptors at the neuromuscular junction. *Anesth Analg* 1980; 59: 935-43.
10. Paton WDM, Waud DR: The margin of safety of neuromuscular transmission. *J Physiol* 1967; 191: 59-90.
11. Standaert FG: Release of transmitter at the neuro-

- muscular junction. *Br J Anaesth* 1982; 54: 131-45.
12. Lilleheil G, Naess K: A presynaptic effect of d-tubocurarine in the neuromuscular junction. *Acta Physiol Scand* 1961; 52: 120-36.
13. Standaert FG: The action of d-tubocurarine on the motor nerve terminal. *J Pharmacol Exp Ther* 1964; 143: 181-6.
14. Kimura I, Okazaki M, Uwano T, Kobayashi S, Kimura M: Succinylcholine-induced acceleration and suppression of electrically evoked acetylcholine release from mouse phrenic nerve-hemidiaphragm muscle preparation. *Jpn J Pharmacol* 1991; 57: 397-403.
15. 황경호, 송주은, 이선학, 이정석, 박 욱, 김성열: 흰쥐 횡격막 신경근 표본에서 decamethonium이 d-tubocurarine의 작용에 미치는 영향. *대한마취과학회지* 1998; 34: 910-4.
16. Bowman WC, Webb SN: Tetanic fade during partial transmission failure produced by non-depolarizing neuromuscular blocking drugs in the cat. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1976; 3: 545-55.
17. Gibb AJ, Marshall IG: Nicotinic antagonists produce differing amounts of tetanic fade in the isolated diaphragm of the rat. *Br J Pharmacol* 1986; 89: 619-24.
18. Gwee MC, Cheah LS: In vitro time course studies on train-of-four fade induced by hexamethonium, pancuronium and decamethonium in the rat hemidiaphragm. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1989; 16: 897-903.
19. Lee C, Chen D, Katz RL: Characteristics of nondepolarizing neuromuscular block: (1) Post-junctional block by alpha-bungarotoxin. *Can Anaesth Soc J* 1977; 24: 212-9.
20. Cheah LS, Gwee MC: Train-of-four fade during neuromuscular blockade by tubocurarine, succinylcholine or alpha-bungarotoxin in the rat isolated hemidiaphragm. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1988; 15: 937-43.
21. Glavinovic MI, Narahashi T: Depression, recovery and facilitation of neuromuscular transmission during prolonged tetanic stimulation. *Neuroscience* 1988; 25: 271-81.
22. Feldman SA: Second thoughts on the train of four. *Anaesthesia* 1993; 48: 1-2.
23. Norman J: *Clinics in anaesthesia*. London. WB Saunders Co. 1985, pp 243-59.
24. Adams PR, Sakmann B: Decamethonium both opens and blocks endplate channels. *Proc Natl Acad Sci USA* 1978; 75: 2994-8.
25. Silverman DG: *Neuromuscular block in perioperative and intensive care*. Philadelphia, JB Lippincott Co. 1994, pp 11-22.