

UYANIK RATLARDA KORONER LİGASYON SONUCU OLUŞAN ARİTMİLER VE ÖLÜM ORANI ÜZERİNE GLİBENKLAMİDE (ATP-BAGIMLI POTASYUM KANAL BLOKERİ) VE METOPROLOL'ÜN (β -1 KARDİYOSELEKTİF ADRENERJİK BLOKER) BİRLİKTE ETKİSİ*

The Combined Effect of Glibenclamide (ATP-Dependent Potassium Channel Blocker) and Metoprolol (Cardioselective Adrenergic β -1 Blocker) on the Arrhythmias and Survival Rate Following Coronary Arter Ligation in Conscious Rats

Ömer BOZDOĞAN**

Lepran I***

Papp J. Gy.***

ÖZET

Glibenklamide, iskemik hücrelerde hücre içi ATP azalmasına bağlı olarak açılan potasyum kanallarını bloke eden bir sulfonilüre bileşiğidir. Koroner ligasyon sonrası aritmi şiddeti ve ölüm oranını azaltıcı etkisi ortaya konmuştur. Ancak bu ilacın aynı zamanda iskemiye artırıcı etkisi de saptandığından, antiaritmik etkisi tartışmalıdır. Metoprololün iskemiye azaltıcı yönde etkisi bulunmaktadır. Bu nedenle, bu çalışmada glibenklamidin antiaritmik etkisinin metoprolol ile daha da artırabileceği düşünülmüştür.

Uyanık ratlarda koroner ligasyon, Lepran ve arkadaşlarınca geliştirilen bir metotla yapıldı ve ligasyonu takiben 15 dakika EKG sürekli olarak kaydedildi. Her hayvan için ligasyonu takiben oluşan aritmilerin tipi, süresi, çeşidi ve aritmi skoru belirlendi. Glibenklamid ve metoprololün kombine bir şekilde verildiği hayvanlarda koroner ligasyon sonrası 15. dakikada canlı kalma oranı belirgin bir şekilde arttı (Kontrolde %9 iken, kombinasyon grubunda %62). Bu grupta aritmi skoru ($p<0.05$) belirgin bir şekilde azaldı.

Sonuç olarak bu çalışmada metoprololün glibenklamidin kalbi koruyucu etkisini artırdığı gözlenmiştir. Bu etki metoprololün normal ve iskemik miyokardiyumda oksijen kullanımını azaltıcı etkisine bağlanabilir. Ancak bunu tam mekanizmasının aydınlatılması daha ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç göstermektedir. Bu çalışmada diğer çalışma sonuçlarından farklı olarak tek başına glibenklamidin kalbi koruyucu etkisinin belirgin olmasını, kullanılan deney hayvanlarının yaş ve vücut ağırlıklarının fazla olmasına bağlanmıştır. Bu nedenle, bundan sonraki çalışmalarda ligasyon sonrası aritmiler üzerine farklı vücut ağırlığı ve yaşın etkisinin de araştırılması yararlı olacaktır.

Anahtar Sözcükler: Aritmi, Koroner ligasyon, İskemi, Rat.

SUMMARY

Glibenclamide is a sulfonilure compound that blocks the potassium channel that opens in response to decrease intracellular ATP in ischemic cells. It has been found that it decreases the severity of arrhythmias and the survival rate after the coronary ligation. Since it is also known that it increases ischemia, the antiarrhythmic effect of glibenclamide is controversial. On the other hand, metoprolol has been known to decrease the ischemia. That is why, it can be thought that the antiarrhythmic effects of glibenclamide may be further potentiated by metoprolol.

The coronary ligation was produced in conscious animals and ECG was recorded during the 15 minutes following coronary ligation. The type, length and score of arrhythmias were determined by evaluating the ECG for each animal. The survival rate at the end of 15 th min of coronary ligation in animals treated with glibenclamide and metoprolol combination, were increased significantly (It was %9 in control; %62 in combination group). The score of arrhythmia was also decreased significantly ($p<0.05$) in this group.

As a result, it is observed that metoprolol increased the cardioprotective effects of glibenclamide. This effects may be due to metoprolol that it may lead to decrease myocardial oxygen consuming of normal and ischemic myocardium. The cardioprotective effects of glibenclamide alone not to be observed similar to the previous studies, may be caused by the age and body weight of rats used in this study. That is why, it will be valuable to make research to reveal the effects of different age and body weight of animals on the arrhythmias following coronary ligation.

Key Words: Conscious rats, Arrhythmias, coronary ligation, ischemia.

* Bu araştırma TÜBİTAK ve Macaristan Bilimler Akademisi arasındaki bilimsel işbirliği çerçevesinde gerçekleştirilmiş ve Kafkas Üniversitesi Araştırma Fonunca desteklenmiştir.

** Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Bilim Dalı, Kars, Türkiye

*** Department of Pharmacology, Albert-Szent György Medical University, Szeged-Hungary

GİRİŞ

Glibenklamid iskemiye maruz kalan hücrelerde, hücre içi ATP'nin azalmasına bağlı olarak açılan kanalları bloke eden bir ajandır (1). Bir çok çalışmada glibenklamidinde dahil olduğu sülfonilüre grubundan ilaçların iskemi ve reperfüzyon sonucu oluşan aritmiler üzerine antiaritmik etkili olduğu (2,3) ve özellikle uyanık ratlarda yapılan çalışmalarda ligasyondan sonraki canlı kalma oranını belirgin bir şekilde artırdığı ortaya konmuştur (4). ATP-bağımlı potasyum kanal açıcıları (Kromakalim, yinasidil), glibenklamid'in aksine, normal ve iskemik hücrelerde potasyum kanallarının açılmasına neden olmakta ve aksiyon potansiyeli süresini kısaltmaktadır (5). Bu nedenle potasyum kanal açıcılarının proaritmik etkili olduğu (6), ve bu etkinin glibenklamid ile önlendiği de saptanmıştır (7). Ancak potasyum kanal açıcılarının koroner ligasyon sonrası iskemiye azalttığı da saptanmıştır (6). Potasyum kanal blokerlerinin ise bunun aksine iskemi şiddetini artırdığı ortaya konmuştur (8). Potasyum kanal blokerlerinin iskemiye azaltıcı etkisi tam olarak açıklık kazanmamıştır. Ancak bu etkinin, potasyum kanal blokerlerinin, hücre içerisine kalsiyum girişini artırarak kasılmayı ve miyokardiyal oksijen kullanımını artırarak olduğu sanılmaktadır (1). Metoprolol akut miyokart enfarktüsünden sonra iskemiye azaltıcı bir ajan olarak kliniklerde kullanılmaktadır (8). Son yıllarda yapılan bir çalışmada potasyum kanal açıcısı olan kromakalimin antiaritmik etkisinin metoprolol ile inhibe edildiği saptanmıştır (9). Metoprololün kromakalim ile birlikte kullanılmasında böyle bir etkisinin oluşması düşündürücüdür.

Bu nedenle bu çalışmada, potasyum kanal blokerlerinin iskemiye artırıcı etkisinin beta adrenerejik reseptör blokerleri ile bloke edilerek iskemik aritmilerin azaltılmasında daha etkili olabileceği düşünülmüştür. Bu çalışma bu hipotezin geçerliliğini saptamak ve bu sonuçlar ışığında glibenklamidin antiaritmik etki mekanizmasını tartışmak için yapılmıştır.

MATERYAL ve METOT

Bu çalışmada 370-480 gr ağırlığında erkek Sprague-Dawly cinsi ratlar kullanıldı. Hayvanlar ticari olarak satılan standart rat pellet ye-

mi ile beslendi ve çeşme suyu verildi. İlk operasyonda hayvanlar önce eter ile anestezi edildi ve dördüncü interkostal boşluktan göğüs açıldı. Kalp bu boşluktan dışarı alındı ve ana sol koroner arter altından çıkış yerinden yaklaşık 2mm distalinden ipek iplik geçirildi. İpek ipliğin iki ucu silindirik polietilen tüp içerisinden geçirildi ve dışarı alındı. Bundan sonra kalp tüple birlikte göğüs kafesi içerisine geri itildi ve göğüs, ipek ipliğin iki ucu deri altında tespit edilerek kapatıldı. Göğüs kafesi kapatılırken pnömotoraksı önlemek ve kendiliğinden solunumu yeniden kazandırmak için göğüs kafesi hafifçe yanlardan bastırıldı. Hayvan operasyondan hemen sonra uyandı ve ölüm yüzdesi çok azdı. Bundan sonra, operasyon yaralarının iyileşmesi için hayvan yaklaşık 7-10 gün iyileşmeye bırakıldı. Bu süre sonunda hayvanlar ikinci kez tekrar operasyona alındı. Hafif eter anestezisi altında tespit edilmiş ipek ipliğin iki ucu küçük bir deri ensizyonu ile dışarı alındı. Göğüs kafesinin her iki yanına deri altına elektrotlar yerleştirildi. Bundan sonra hayvanlar yeni duruma alışmaları ve operasyon stresini atlatalmaları için ayrı bir kafese alınarak yaklaşık iki saat beklendi. Bu sürenin sonunda hayvan kafesindeyken deri altına tespit edilen elektrotlar EKG cihazına bağlandı. Koroner ligasyon deri dışına alınan ipek iplik iki ucundan sıkıca çekilerek yapıldı ve hemen bundan sonra hayvan kafesine bıkarıldı. Burada uygulanan yöntem Lepran ve arkadaşlarınınca geliştirilmiştir (10).

Bipolar EKG ligasyondan hemen önce ve ligasyondan sonra 15 dakikaya kadar hayvan kafes içerisinde serbestçe hareket ediyorken sürekli olarak kayıt edildi. Bu süre sonunda canlı kalan hayvanlar bir gün sonrasına kadar takip edildi. Ligasyondan yaklaşık 16 saat sonunda canlı kalan hayvanlar pentobarbital (60 mg/kg, ip.) ile anesteziyeye edildi. Arka bacadan safen veninden heparin verilerek kan heparinize edildi. Bundan sonra kalp damarları ile birlikte kesilip çıkarıldı ve ventriküllerin dışın-daki kapılar kesilip atıldı. Boyama için kalp apeksten başlayarak yaklaşık 1mm kalınlıkta enine kesitlerle dilimlendi. Bu parçalar % 0.1'lik nitrobluetetrazolium ile boyandı.

Aritmiler ventriküler fibrillasyon (VF), ventriküler taşikardi (VT), diğer tip aritmiler (Ventriküler ekstra sistal (VEB), bigemini ve sal-

volar) olarak belirlendi. Her bir aritminin süresi, koroner ligasyondan sonraki 15 dakikalık süre boyunca saniye cinsinden belirlendi. Aritmilerin süre ve yoğunluğunun değerlendirilmesinde aritmi skoru belirlendi. Aritmi skoru şu şekilde belirlendi; (0) Hiç aritmi yok; (1) 10 sn'den kısa süreli VEB, VT; (2) 11-30 sn süreli VEB, VT; (3) 31-90 sn süreli VEB, VT; (4) 91-180 sn süreli VEB, VT yada 10 sn'den kısa süreli VF; (5) 180 sn'den uzun süreli VEB, VT ya da 10 sn den uzun süreli VF; (6) dönüşümsüz VF.

Glibenklamid (5.0 mg/kg) dimetilsulfoksit ve etanol karışımında (1:1 oranında hazırlandı) hazırlandı ve koroner ligasyondan 20 dakika önce intraperitoneal olarak verildi. Metoprolol (2.0 mg/kg) izotonik solüsyonda çözdürüldü ve intraperitoneal olarak uygulandı. Kontrol grubunda glibenklamid yerine aynı miktarlarda dimetilsulfoksit ve etanol karışımından, metoprolol yerine ise izotonik solüsyon intraperitoneal olarak verildi.

3-5 dakikada oluşmuştur. Kontrol grubunda sadece bir hayvan koroner ligasyondan 16 saatin sonunda canlı kalabilmiştir. Metoprolol grubunda ise hayvanlardan hiçbiri ligasyondan sonra yaşamamıştır. Glibenklamid ve metoprololün birlikte uygulandığı grupta koroner ligasyondan 15 dakika sonraki canlı kalma oranında belirgin bir şekilde yüksek olmasına rağmen (% 62), 16 saatin sonunda bu oran % 23'e düşmüştür (Tablo 1).

Dakika kalp atım sayıları kontrol ve glibenklamid-metoprolol kombinasyonu uygulanan grupta hem ligasyondan önce ve hem de sonraki 1 ve 3. dakikalarda belirgin bir şekilde farklı bulunmuştur (Tablo 2). Kalp atım sayısı metoprololün tek veya glibenklamid ile kombine bir şekilde uygulandığı hayvanlarda belirgin bir şekilde azalmıştır. Kontrol grubunda kalp atım sayısı ligasyondan önce 339 ± 8.7 iken kombinasyon uygulanan grupta 289 ± 7.3 olarak tespit edilmiştir. Kombinasyon grubunda bu

Tablo 1. Uyanık ratlarda koroner ligasyondan sonra canlı kalma oranı ve aritmi yoğunlukları.
Table 1. The incidence of arrhythmias and the survival rate after coronary ligation in conscious rats.

Grup	Doz, mg/kg	n	15.dak. sonra canlı kalma oranı	16 saat sonra canlı kalma oranı	Aritmi yoğunluğu (sayı / yüzde)				
					VF	VT	Diğer	Brady	Aritmi skoru
Kontrol		11	1/9	1/9	11/100	11/100	3/27	3/27	5.79
Metoprolol	2	10	1/10	0/0	10/100	9/100	8/80	0/0	5.90
Glibenklamid	5	9	2/22	2/22	9/100	7/78	8/89	0/0	5.56
Glibenklamid + Metoprolol	2+5	13	8/62*	3/23	10/77	11/85	12/92	0/0	4.89

* Kontrol- (Glibenklamid + Metoprolol) : $p < 0.05$

Hayvanların canlı kalma oranları ve aritmi yoğunluklarının karşılaştırılması için Khi-kare testi yapıldı. Diğer parametreler için ortalama değerler ve standart hata saptandı ve gruplar arasındaki farklılıklar tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) ile saptandı.

BULGULAR

Koroner ligasyon sonrası aritmiler genellikle

azalma sadece metoprolol uygulanan gruba göre daha fazla olmuştur, $p < 0.05$. Tek başına glibenklamid kontrole göre kalp atımlarında biraz azalma oluşturmamasına rağmen bu istatistikî önemde bulunmamıştır. Koroner ligasyondan önce, tek başına metoprolol ile oluşan kalp atım oranlarındaki azalma kontrole göre önemli bir farklılık oluşturmamasına rağmen, kombinasyon grubuna göre istatistiksel önemde bulunmuştur (Tablo 2).

Tablo 2. Koroner ligasyondan sonra kalp atım ve aritmi süreleri
Table 2. The heart rate the duration of arrhythmia after coronary ligation.

	Kalp atım sayısı (atım/dak.) Ort ± Standart hata			Aritmiler (saniye) Ort ± Standart hata			
	Önce	1. dak.	3. dak	VF	VT	Diğer	Toplam
Kontrol	339±8.7 (n=11)	430±26.4 (8)	395±26.8 (10)	610±63.1 (11)	16.4±3.1 (11)	20.9±7.9 (11)	647±62 (11)
Metoprolol	312±10.6 (n=10)*	390±7.2 (6)	381±14.5 (9)	559±50.5 (10)	41±31 (10)	9.0±1.8 (10)	608±26.2 (10)
Glibenklamid	316±6.3 (n=9)	405±9.6 (6)	411±16.5 (8)	556±97.1 (9)	34.4±19.1 (9)	30±15.5 (9)	620±80.7 (9)
Glibenklamid + metoprolol	289±7.3 (n=13) *** 1	339±14.3 (13) *** 1	335±15.7 (12) * 1	2816±98.4 (13) ** 1, 2	43.8±11.4 (13)	64.6±17.6 (13) * 2,2	389±80.3 (13) * 1, 2

*: Control, 1: Glibenklamid, 2: Metoprolol, *: p<0.05, **: p<0.01, ***: p<0.001

Aritmi skoru kombinasyon uygulanan grupta kontrole göre düşük bulunmuştur (p<0.05). Ventriküler fibrillasyon yoğunluğu glibenklamid-metoprolol kombinasyonunun uygulandığı grupta, kontrol (p<0.01) metoprolol (p<0.05) ve glibenklamid (p<0.05) grubuna göre belirgin bir şekilde azalmıştır (Tablo 2). Toplam aritmi süresi de kombinasyon grubunda kontrole göre belirgin bir şekilde azalmıştır.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Metoprolol ile beta adrenerjik blokaj dakika kalp atım sayısı, kontraktile ve kan basıncını azaltarak miyokardiyal oksijen kullanımını azaltır (11). Klinik uygulamalarda akut miyokart enfarktüsünden sonraki dönemlerde iskemik alanı azalttığı saptanmıştır (8). Bu çalışmada metoprololün yalnız başına ve glibenklamid ile kombine uygulamalarında dakika kalp atım sayısını benzer oranlarda azaltmıştır. Koroner ligasyondan sonra aritmi şiddeti ve canlı kalma oranları ile dakika kalp atım sayısı arasında bir orantı bulunamamıştır. Kombine uygulamada hem canlı kalma oranı artmış, hemde aritmi şiddeti azalmıştır. Tek başına ne glibenklamid ne de metoprolol aritmi şiddeti ve canlı kalma oranı üzerine etkili bulunmuştur. Glibenklamid tek başına koroner ligasyondan sonraki 15 dakika ve 16 saat sonraki canlı kalma oranını biraz artırmış ancak bu istatistiki olarak önemli bulunmamıştır. Önceki çalışma-

lardan (4) farklı olarak tespit edilen bu sonuç, kullanılan ratların beden ağırlıklarının diğer çalışmalardakine göre daha fazla olmasına bağlanabilir. Kombine uygulamada hem canlı kalma oranı artmış, hem de aritmi şiddeti azalmıştır. Burada glibenklamidin kalbi koruyucu etkisinin metoprolol ile artırıldığı görülmektedir. Istvan ve ark (9), uyanık ratlarda metoprololün, Kromokalimin (ATP-bağımlı potasyum kanal açıcısı) koroner ligasyon sonrası antiaritmik etkisini inhibe ettiğini göstermişlerdir. Bu çalışmada kromokalimin antiaritmik etkisinin dakika kalp atım sayısındaki artışa bağlı olarak oluştuğu ve metoprolol etkisiyle kalp atım oranı azaltıldığından bu antiaritmik etkinin ortadan kalktığı öne sürülmüştür. Kalp atım oranlarındaki değişimin koroner ligasyon sonrası aritmiler üzerine etkili olduğu bilinmektedir (12). Kalp atım oranlarından etkilenen aritmiler re-entrant mekanizmayla oluşmaktadır (13). Çalışmamızda glibenklamid-metoprolol kombinasyonunda gözlenen antiaritmik etki kalp atım oranlarındaki değişmeye bağlı görünmemektedir. Çünkü, yalnızca metoprolol uygulanan grupta kombinasyon uygulanan gruba göre, kalp atım oranlarında benzer bir azalma olmasına rağmen koroner ligasyon sonrası aritmi şiddeti ve ölüm oranı değişmemiştir.

Kalp kası hücrelerinde beta adrenerjik uyarılmayla hücre aksiyon potansiyeli kısılır ve

otomatik aktivite artar (11). Miyokardiyal iskemi sonrası dönemde ventriküler kasların katekolaminlere duyarlılığı artmaktadır. İskemi sonucunda miyokardiyum katekolaminlerin eşit olmayan dağılımı ile hücrelerde refrakter periyotta çeşitlilik artar. Buda re-entry ve otomatisme için uygun bir ortam oluşturur. Akut miyokart enfarktüsünde katekolaminlerin bu olumsuz etkileri nedeniyle, adrenerjik blokajın kardiyak aritmilerin baskılanmasında yararlı olabileceği düşüncesine yol açmaktadır. Glibenklamid iskemik hücrelerde kısalmış hücre aksiyon potansiyeli süresini artırarak normale dönmesini sağlar. Bu şekilde hücrelerin normal elektriksel aktivitesi korunur. Glibenklamidin koroner ligasyondan sonra canlı kalma oranını artırması ve antiaritmik etkileri bu mekanizmaya bağlanabilir.

Kromokalim iskemik hücreler dışında normal kalp kası hücrelerini de etkileyerek iskemik hücrelere benzer olarak hücre aksiyon potansiyelinin kısalmasına neden olmaktadır (5). Bu etkiyle potasyum kanal açıcılarının koroner ligasyon sonrası aritmi şiddetini artırması beklenebilir. Ancak bir çok çalışmada aksini savunan çalışmalarda olmasına rağmen, potasyum kanal açıcılarının antiaritmik etkisi olduğu gösterilmiştir (4,6). Potasyum kanal açıcılarının bu antiaritmik etkisi kalbin normal bölgesi ile iskemik bölgesindeki hücrelerde aksiyon potansiyeli süreleri bakımından homojenliği sağlamasına bağlanabilir. Lepran ve ark. (9), nın çalışmasında tek başına kromokalimin belirgin bir antiaritmik etkisi gözlenirken, metoprolol ile bu etki ortadan kaldırılmıştır. Bu sonuç metoprolol ile kromokalimin kalp kası hücrelerine etkisinin birbirine ters olduğunu göstermektedir. Normal kalp kası hücrelerinde metoprololle adrenerjik etkiyle hücre aksiyon potansiyelindeki kısalmayı artırabilir. Glibenklamid normal kalp kası hücrelerinde etkili değildir, iskemik hücrelerde ise metoprolol ile sinerjik etkili olabilir. Bunun sonucu olarak iskemik hücrelerde aksiyon potansiyeli süresi uzar ve normal ve iskemik bölgeler arasındaki elektriksel aktivitede homojenite sağlanır.

Sonuç olarak metoprololün glibenklamid ile iskemik kalp kası hücreleri üzerine etkisi aynı yöndedir. Glibenklamidin antiaritmik etkisi iskemik hücrelerde elektriksel heterojenliği baskılayarak olabilir. Uyanık ratlarda glibenklamid ve metoprolol kombinasyonu ile koroner ligasyon sonrası aritmi şiddeti üzerine kalp atım oranlarının etkisinin olmadığı görülmüştür. Tek

başına glibenklamidin, önceki çalışmalardan farklı olarak koroner ligasyon sonrası ölüm oranı üzerine istatistiksel önemde belirgin bir etkisinin olmaması, bundan sonraki çalışmalarda kullanılan deney hayvanlarında farklı beden ağırlığı ve yaşın koroner ligasyon sonrası aritmiler üzerine etkisinin araştırılmasında yararlı olacağını ortaya koymuştur.

KAYNAKLAR

1. Lazdunski M: ATP-sensitive potassium channels: An overview. *J Cardiovasc Pharmacol* 24 (Suppl.4): 1-5, 1994.
2. Baczko I, Lepran I, Papp J Gy K: ATP-channel modulators increase survival rate during coronary occlusion-reperfusion in anesthetized rats. *European Journal of Pharmacology*, 324: 77-83, 1997.
3. Bozdoğan Ö, Lepran I, Papp J Gy: Effect of glimepride and glibenclamide, inhibitors of ATP dependent K⁺ channel, on ischemia-reperfusion induced arrhythmias in rats. *Acta Physiologica Hungarica*, 84(3): 265-266, 1996.
4. Lepran I, Baczko I, Varro A and Papp J Gy: ATP-sensitive potassium channel modulators: Both pinacidil and glibenclamide produce antiarrhythmic activity during acute myocardial infarction in conscious rats. *J Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 273(3): 1215-1220, 1996.
5. Tosaki A, Szerdahelyi P, Engelman R M and Das D K: Potassium channel openers and blockers: Do they possess proarrhythmic or antiarrhythmic activity in ischemic and reperfused rat hearts. *J Pharmacol and Experimental Therapeutics*, 267(3): 1355-1362, 1993.
6. Auchampach J A, Maruyama M, Gross G J: Cardioprotective actions of potassium channel openers. *European Heart Journal Suppl. C*: 89-94, 1994.
7. Gross G J, Yao Z, Pieper G M and Auchampach J A: The ATP-regulated potassium channel in ischemia-reperfusion injury. In: Cellular, biochemical and reperfusion injury Ed. Dipak K. Das, *Annals of the New York Academy of Sci*, New York, 723: 71-81, 1994.
8. Campbell C A, Przyklen K and Kloner R A: Infarct size reduction: A review of the clinical trials. *J Clin Pharmacol*, 26: 317-329, 1986.
9. Lepran I, Kormanyos Zs, Papp J Gy: Interaction of cromokalim and metoprolol during the acute phase of myocardial infarction in conscious rats. *J Moll Cell cardiol (Abstract)* 28(5): A47-A184, 1996.
10. Lepran I, Koltai M, Siegmund W and Szekers L: Coronary artery ligation early arrhythmias and determination of the ischemic area in conscious rats. *J Pharmacological Methods*, 9: 219-230, 1983.
11. Chamberlain D A and Vincent R: Combined receptor intervention and myocardial infarction. *Drugs* 28 (Suppl. 2): 88-102, 1984.
12. James R G G, Arnold O, Allen J D, Pantridge J F, Shanks R G: The effects of heart rate, myocardial ischemia and vagal stimulation on the threshold of ventricular fibrillation. *Circulation* 55:311-317, 1976.
13. El-Sherif N, Lazzara R, Hope R R and Scherlag B J: Re-entrant ventricular arrhythmias in the late myocardial infarction period. *Circulation* 56(2): 225-234, 1977.