

Circadian rhythm of the ventricular fibrillation threshold in the hypoventilation-reoxygenation model in female Wistar rats

Svorc P, Bracokova I, Podlubny I, Kassayova K, Dorko E

Cirkadiánny rytmus prahu komorovej fibrilácie v hypoventilačno-reoxygenačnom modeli u samíc potkana kmeňa Wistar

Abstract

Svorc P, Bracokova I, Podlubny I, Kassayova K, Dorko E: Circadian rhythm of the ventricular fibrillation threshold in the hypoventilation-reoxygenation model in female Wistar rats Bratisl Lek Listy 2000; 101 (7): 383–390

Hypoxia, similarly as myocardial ischemia, decreases the electric stability of the heart and thus produces the conditions for the genesis of ventricular arrhythmias within the 24 h period however a prompt restoration of oxygen supply or blood flow within myocardium causes serious ventricular arrhythmias. Therefore the aim of our study was to evaluate the reoxygenation impact on myocardium after hypoventilation in circadian dependence. The experiments were performed in female Wistar rats (pentobarbital anesthesia 40 mg/1 kg i.p., open chest experiments). The animals were adapted to the light regimen 12:12 hours, with the dark phase from 18.00 h to 06.00 h. Normal ventilation was used in the control group (n=17) and in the second one (n=4), 20 min reoxygenation followed 20 min of hypoventilation. The heart rate (HR) had been recorded just before the ventricular arrhythmias rised. Hypoventilation decreased significantly ($p<0.001$) the VFT and HR when compared with the control group and changed the 24-hour rhythm of VFT to moderate bi-phase one. Reoxygenation counter changed this rhythm to inverse in the comparison with the control group. The lowest VFT values occurred when the top of VFT circadian rhythm was detected during normal ventilation. No dependence was detected between VFT and HR in both ventilation types. It is concluded that reoxygenation alternates the myocardial vulnerability to ventricular arrhythmias in dependence on alternation of light and dark and without the evident dependence on HR in the course of the whole 24-hour period. (Tab. 2, Fig. 2, Ref. 43.)

Key words: circadian rhythm, ventricular fibrillation threshold, heart rate, hypoventilation, reoxygenation.

Abstrakt

Švorc P., Bračoková I., Podlubný I., Kassayová K., Dorko E.: Cirkadiánny rytmus prahu komorovej fibrilácie v hypoventilačno-reoxygenačnom modeli u samíc potkana kmeňa Wistar Bratisl. lek. Listy, 101, 2000, č. 7, s. 383–390

Hypoxia, podobne ako ischémia myokardu, znižuje elektrickú stabilitu srdca, a tak vytvára podmienky pre genézu komorových arytmií aj v priebehu celej 24-hodinovej periódy. Promptné obnovenie zásobenia kyslíkom alebo krvného zásobenia myokardu, napríklad po ischémii, vyvoláva však vážne komorové arytmie. Preto cieľom našej štúdie bolo posúdenie efektu reoxygénácie na myokard, ktorý bol vystavený hypoxii, a to v cirkadiánnej závislosti. Experimenty sa robili na samiciach potkana kmeňa Wistar (v pentobarbitalovej anestézii 40 mg/1 kg, i.p.). Zvieratá boli adaptované na svetelný režim 12:12 hodín, s tmavou fázou od 18. h do 6. h. Náhodným výberom bola vytvorená kontrolná normoventilovaná skupina (n=17) a skupina (n=4), kde 20-minútová hypoventilácia predchádzala 20-minútovej reoxygénácii. Prah komorovej fibrilácie (PKF) sa meral elektrickou stimuláciou bázy pravej komory, priamo, na otvorenom hrudníku. Frekvencia akcie srdca (SF) sa snímala bezprostredne pred vznikom komorových arytmií. Cirkadiánne charakteristiky sa počítali pomocou jednoduchého a populačného priemerového kosínorového testu. Porovnanie sa robilo pomocou t-testu. Hypoventilácia signifikantne ($p<0,001$) znížila PKF a SF oproti kontrole a zmenila 24-hodinový rytmus PKF na mierne bifázický. Reoxygénácia nielenže zvýšila PKF ($p<0,001$) oproti hypoventilácii, ale zmenila rytmus na inverzný, v porovnaní s kontrolnou skupinou. Najnižšie hodnoty PKF počas reoxygénácie boli v čase, keď sa zistil vrchol cirkadiánneho rytmu PKF počas normálnej ventilácie. Pri oboch typoch ventilácie sa nezistila žiadna závislosť medzi PKF a SF. Záverom môžeme povedať, že reoxygénácia mení citlivosť myokardu na komorové arytmie v závislosti od striedania sa svetla a tmy a bez zjavnej závislosti od SF v priebehu celej 24-hodinovej periódy. (Tab. 2, obr. 2, lit. 43.)

Kľúčové slová: cirkadiánny rytmus, prah komorovej fibrilácie, frekvencia akcie srdca, hypoventilácia, reoxygénácia.

Department of Physiology, School of Medicine, Šafarikiensis University, Kosice.psvorc@central.medic.upjs.sk

Technical University, Kosice

Address for correspondence: P. Svorc, Dpt of Physiology, School of Medicine, LF UPJS, Trieda SNP 1, SK-040 66 Kosice, Slovakia.
Phone: +421.95.6404 498

Ústav fyziológie Lekárskej fakulty Univerzity P.J. Šafárika v Košiciach a Technická univerzita v Košiciach

Adresa: P. Švorc, Ústav fyziológie LF UPJŠ, Trieda SNP 1, 040 66 Košice.

Hoci respiračné funkcie u zdravých jedincov nepreukazujú výrazne cirkadiánne rytmy, veľký záujem vzbudilo zistenie, že určité chorobné stavy môžu byť spojené s abnormálnymi rytmami citlivosti na vonkajšie faktory a s abnormálnou cirkadiánnou rytmicitou (Minors, 1985). Ako príklad možno uviesť cirkadiánnu rytmus pľúcnej rezistencie, ktorý je u zdravých ľudí nízkej amplitúdy, no u pacientov s bronchiálnou astmou sa dokázala vysoká amplitúda (Moore-Ede a spol., 1983). V súčasnosti je známa aj skutočnosť o vzájomnom vzťahu medzi poruchami ventilácie a výskytom komorových arytmií. V experimente na potkanoch, za normálnych ventilačných podmienok, demoštrujeme cirkadiánnu variabilitu v citlivosti komôr na arytmie (Otsuka a Watanabe, 1990; Švorc a spol., 1994). Hypoventilácia ako možný výsledok porúch normálnej ventilácie znižuje prah komorovej fibrilácie a mení 24-hodinový rytmus (Švorc a spol., 1997). To pravdepodobne znamená, že poruchy dýchania majú výrazný vplyv na komorový myokard, menia elektrickú stabilitu srdca aj v priebehu 24-hodinovej periódy a pravdepodobne menia aj rytmy niektorých parametrov samého respiračného systému.

Zatiaľ nie je jasné, či existuje jednoznačný synchronný priebeh cirkadiánnych rytmov elektrickej stability srdca a niektorých parametrov respiračného systému najmä pri poruchách dýchania, hoci existuje doklad o vzťahu porúch ventilácie ku komorovým arytmiám (Otsuka a Watanabe, 1990).

Výsledkom takýchto porúch, aj počas 24-hodinovej periódy môže byť hypoxia, resp. hypoxémia, ktorá podobne ako ischemia myokardu, mení elektrickú stabilitu srdca. Zdá sa, že podobnými mechanizmami vytvára substrát pre genézu komorových arytmií. Ak sa zásobenie kyslíkom alebo krvou promptne neobnoví, môžu nastať ireverzibilné zmeny v myokardiálnom tkanive a tkanivo môže odumrieť. Na základe toho sa stáva reoxygénácia, podobne ako aj reperfúzia najdôležitejším momentom pre zachránenie takto poškodeného tkaniva.

V súčasnosti existuje pomerne veľa článkov a štúdií o tzv. reperfúzných arytmiách, ale pomerne málo o efekte reoxygénácie (a najmä po perióde hypoxie vyvolanej poruchou ventilácie) na vznik a vývoj komorových arytmií.

O efekte hypoxickej periódy a následnej reoxygénácie na srdce sa zmieňujú viacerí autori. Inserte a spol. (1997) opisujú výskyt vážnych edémov počas myokardiálnej reoxygénácie po prechodnej hypoxii, kde predpokladajú, že Na^+ preťaženie vyskytujúce sa počas hypoxie, cez Na^+ - H^+ výmenu a HCO_3^- závislé transportéry, majú dôležitú úlohu v ich genéze. Podobne týmto mechanizmom sa pripisuje arytmogénna úloha počas reperfúzie (Yasutake a spol., 1994). Na^+ preťaženie je dôležitý determinant hyperkontrakčnej periódy počas následnej reoxygénácie. Bunková kontrakčnosť vyskytujúca sa pri reoxygénácii najpravdepodobnejšie vyplýva z kombinácie vysokej koncentrácie cytosolového Ca^{2+} akumulovaného počas anoxickej periódy a znovuzásobenia metabolickej energie so začiatkom reoxygénácie (Schlack a spol., 1996). Bertoni a spol. (1993) vo svojej práci zasa nezistili žiadne zmeny v intracelulárnej koncentrácii Ca^{2+} , alebo v kinetikách Ca^{2+} prechodov počas reoxygénácie. Kumulácia Ca^{2+} sa pozorovala aj v ischemicko-reperfúzných modeloch (Brooks a spol., 1995; Guarini a spol., 1995; Shinmura a spol., 1997; Zumino a spol., 1997). Kontrakčnosť môže mať za následok mechanické porušenie buniek, ktoré majú zvýšenú mechanickú fragilitu po perióde vyčerpania energie. V modeli Schlacka a spol. (1996) vyvolala reoxygénácia náhle zvýšenie tlaku

v ľavej komore (kontrakčnosť) a vysokú spotrebu myokardiálneho O_2 . Súčasne bolo masívne uvoľnenie kreatínkinázy ako ukazovateľa letálneho bunkového poškodenia. V práci Buggeho a spol. (1997) tento tlak bol znížený počas hypoxie, ale s nesignifikantnou zmenou počas reoxygénácie. Koncový diastolický tlak ľavej komory sa zvýšil počas hypoxie, počas reoxygénácie sa výrazne nemenil vzhľadom na poslednú hodnotu hypoxickej periódy. Z elektrofyziologických parametrov, trvanie akčného potenciálu bolo signifikantne znížené na začiatku hypoxie, no počas reperfúzie sa postupne a signifikantne zvyšovalo (Perchenet a Kreher, 1995). V experimentálnych prácach na ischemicko-reperfúznom modeli na potkanoch, viacerí autori opisujú výrazné zvýšenie výskytu komorových arytmií počas reperfúzie po nízkoprietokovej ischemii (Perchenet a Kreher, 1995), globálnej ischemii (Bilinská a spol., 1996), koronárnej oklúzii (Bernauer, 1995, 1996, 1997) alebo po ligácii koronárnej artérie (Winslow a spol., 1983). To znamená, že výskyt vážnych komorových arytmií je manifestáciou reperfúzneho poškodenia. Hoci sa autori sústredili hlavne na mechanické a metabolické zmeny myokardiálnej bunky u potkana počas reoxygénácie, efekty reoxygénácie sú porovnateľné s efektmi reperfúzie a priamo, alebo nepriamo môžu ovplyvňovať vývoj reoxygenačných arytmií.

Cieľom našej štúdie bolo posúdiť, či: 1. striedanie svetla a tmy má vplyv na cirkadiánnu rytmus elektrickej stability srdca meranej prahom komorovej fibrilácie v podmienkach reoxygénácie, 2. dĺžka trvania hypoxickej a reoxygenačnej periódy mení hodnoty sledovaného parametra, 3. prah komorovej fibrilácie závisí od frekvencie akcie srdca v podmienkach experimentu.

Metodika

Experimenty sme robili na samiciach potkana kmeňa Wistar (konvenčný chov, vek 3–4 mesiace, priemerná hmotnosť 310 g). Zvieratá sa adaptovali na štandardné podmienky zverinca 4 týždne, za konštantných podmienok (režim svetla a tmy 12:12 hodín, so svetlou fázou od 6. h do 18. h, relatívna vlhkosť 40–60 %, chovná teplota 24 °C, intenzita umelého žiarivkového osvetlenia v priemere 80 Lux v klietkach). Zvieratá boli kŕmené štandardnou Larsenovou diétou v peletách a vodovodnou vodou ad libitum.

Zvieratá sme náhodne rozdelili do dvoch experimentálnych skupín. Prvá skupina (kontrolná, 17 zvierat) bola ventilovaná umelo, pomocou dýchacej pumpy, pri parametroch ventilácie: frekvencia dýchania 40 dychov/min, dychový objem 1 ml/100 g telesnej hmotnosti. Druhá skupina (4 zvieratá) po 5-minútovej normálnej ventilácii bola vystavená 20-minútovej hypoventilácii (frekvencia dýchania 20 dychov/min, dychový objem 0,5 ml/100 g telesnej hmotnosti) a potom následnej 20-minútovej reoxygénácii (parametre ventilácie ako v kontrolnej skupine). Experimenty sme robili v trojhodinových intervaloch, v priebehu celej 24-hodinovej periódy, so začiatkom o 9. h. Zvieratá boli v celkovej pentobarbitalovej anestézii (40 mg/1 kg telesnej hmotnosti, i.p.). Príprava zvierata pozostávala z tracheotómie a následného napojenia na dýchaciu pumpu a torakotómie so zavedením dráždiacich elektród s priemerom 1 mm a vo vzájomnej vzdialenosti 5 mm, na bázu pravej komory.

Dráždenie myokardu sme prevádzkali priamo, na otvorenom hrudníku, periódou pravouhlých impulzov pri frekvencii 30 Hz, dĺžke impulzu 10 ms a trvaní salvy 400 ms. Intenzitu dráždiaceho

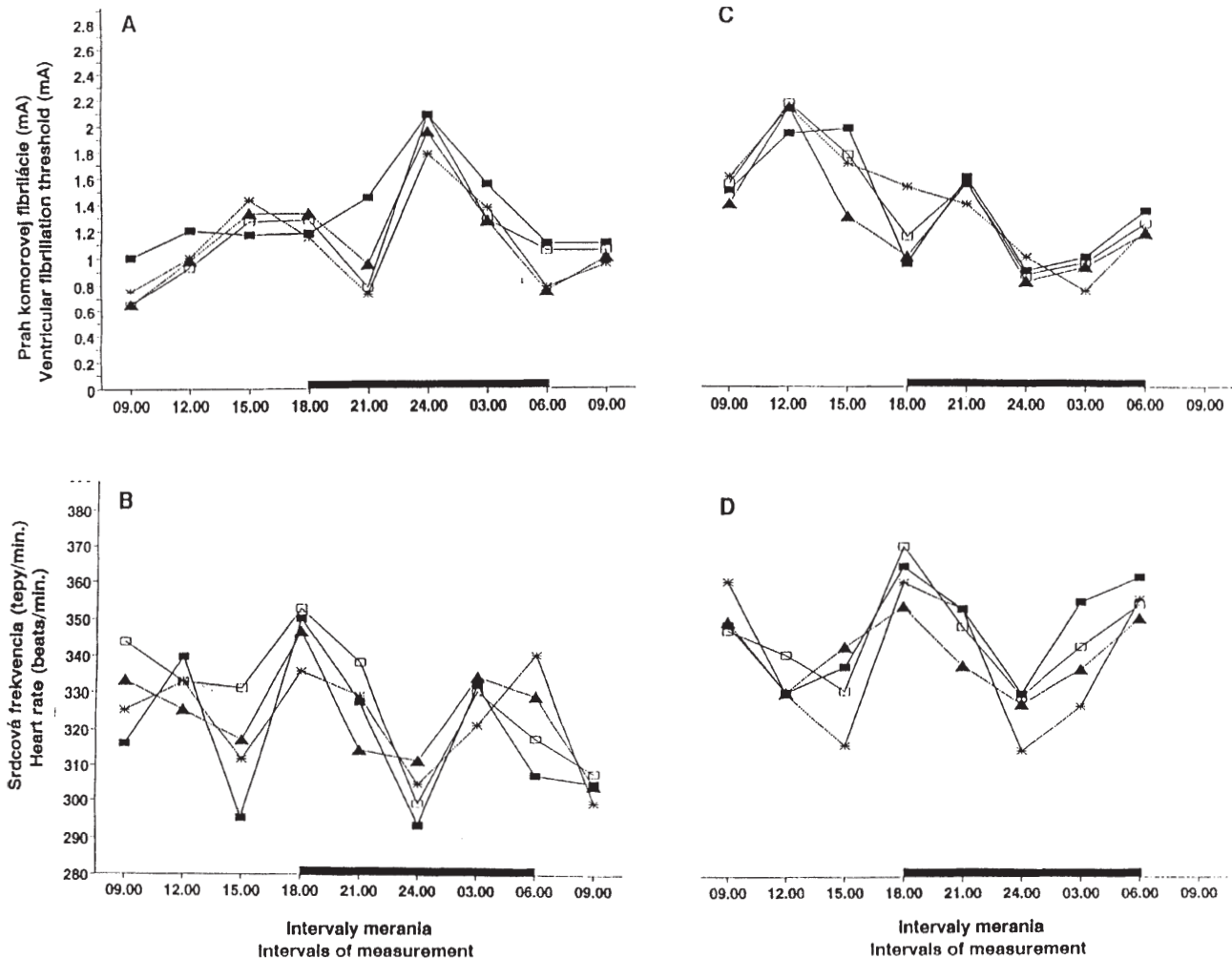


Fig. 1. 24 h courses of the VFT (1A — initial hypoventilation, 1C — subsequent reoxygenation) and the HR (1B — initial hypoventilation, 1D — subsequent reoxygenation) after 5 min (full squares), 10 min (empty squares), 15 min (full triangles) and 20 min (star). The dark bar on the x axis presents the dark phase of the regime day of the rats. The single values are the arithmetical mean from all experiments in the respectively interval of the measurement.

Obr. 1. 24-hodinové priebehy PKF (1A — úvodná hypoventilácia, 1C — následná reoxygénácia) a SF (1B — úvodná hypoventilácia, 1D — následná reoxygénácia) po 5 min (plné štvorce), 10 min (prázdne štvorce), 15 min (plné trojuholníky) a 20 min (hviezdičky). Čierny prúžok na osi x znamená tmavú fázu režimového dňa. Jednotlivé hodnoty na grafe sú aritmetické priemery zo všetkých experimentov v príslušnom intervale merania.

prúdu sme postupne zvyšovali po 0,5 mA až do vyvolania komorových arytmií (išlo o zmiešaný výskyt paroxysmálnej komorovej tachykardie, komorových reentry a komorovej fibrilácie). Dráždenie sme opakovali každých 5 minút v priebehu ventilačnej periódy. Jednotlivé salvy boli spúšťané synchronizovane s ekg, bezprostredne po kmitte R. Frekvenciu akcie srdca sme snímali bezprostredne pred vznikom komorových arytmií.

Jednotlivé hodnoty sú prezentované ako aritmetický priemer \pm SD. Pomocou t-testu sme robili kvantitatívne porovnania, kde sa štatistická úroveň $p < 0,05$ považovala za významnú. Cirkadiánne charakteristiky ako mezor (priemerná hodnota matematicky spracovanej oscilujúcej veličiny), amplitúda (polovica rozdielu medzi maximálnou a minimálnou hodnotou v priebehu

jedného cyklu) a akrofáza (časový bod, do ktorého spadá vrchol regresnej sínusovej krivky preloženéj nameranými hodnotami) sa vypočítali pomocou jednoduchého a populačného priemerového kosínorového testu. Za významný posun v akrofázach sa považoval posun o 3 hodiny a viac oproti porovnáwanej hodnote.

Výsledky

24-hodinové rytmy PKF a SF počas úvodnej 20-minútovej hypoventilácie a 20-minútovej následnej reoxygénácie u toho istého zvierata vidieť na obrázkoch 1A, 1B, 1C a 1D. Krivky sú prezentované priemernými hodnotami po 5, 10, 15 a 20 minútach hypoventilácie. Rytmy PKF nadobudli mierny bifázický charakter, ale až po

Tab. 1. Parameters of the circadian rhythm of the VFT and HR in the single minutes of the ventilation.
Tab. 1. Parametre cirkadiánnych rytmov PKF a SF v jednotlivých minútach ventilácie.

	Initial hypoventilation Úvodná hypoventilácia				Subsequent reoxygenation Následná reoxygénácia			
	5 min	10 min	15 min	20 min	5 min	10 min	15 min	20 min
VFT (PKF)								
Mesor (mA)	1,32 ± 0,10	1,17 ± 0,15	1,15 ± 0,15	1,12 ± 0,13	1,41 ± 0,13	1,41 ± 0,10	1,29 ± 0,13	1,42 ± 0,07
Amplitude (mA)	0,33 ± 0,15	0,33 ± 0,22	0,35 ± 0,19	0,20 ± 0,21	0,41 ± 0,18	0,48 ± 0,14	0,37 ± 0,19	0,53 ± 0,09
Akrophase in degrees	-356 ± 25	-11 ± 37	-36 ± 30	-30 ± 58	-166 ± 24	-165 ± 17	-172 ± 29	-156 ± 10
in hours	23,56 ± 1,40	00,44 ± 2,28	02,24 ± 2,00	02,00 ± 2,32	11,04 ± 1,36	11,00 ± 1,08	11,28 ± 1,56	10,24 ± 0,40
HR (SF)								
Mesor (mA)	320 ± 8	331 ± 6	327 ± 5	325 ± 5	349 ± 6	345 ± 5	342 ± 4	340 ± 8
Amplitude (mA)	7 ± 37	12 ± 8	4 ± 7	4 ± 7	4 ± 8	2 ± 8	4 ± 6	4 ± 12
Akrophase in degrees	-115 ± 98	-139 ± 37	-207 ± 93	-206 ± 78	-337 ± 105	-102 ± 204	-183 ± 80	-212 ± 173
in hours	07,04 ± 6,32	09,16 ± 2,28	13,48 ± 6,12	13,44 ± 5,12	22,28 ± 7,00	6,48 ± 13,36	12,12 ± 5,20	14,08 ± 11,32

10 minútach hypoventilácie. Priebehy boli synchronne vyjmúc 5. minútu. Reoxygénácia výrazne zmenila cirkadiánne priebehy PKF. Po 5 minútach reoxygénácie bol zachovaný bifázický charakter na konci hypoventilácie. Po 10 a 15 minútach a najmä po 20 minútach hodnoty PKF v jednotlivých intervaloch merania postupne klesali (až na 21. hodinu), s najnižšími hodnotami medzi 24. a 3. hodinou. 24-hodinové rytmy SF mali nesúrodý charakter s viacerými nepravidelne sa opakujúcimi vrcholmi a so značnými interindividuálnymi aj intraindividuálnymi rozdielmi v jednotlivých intervaloch merania počas hypoventilácie, ako aj počas reoxygénácie.

Počas hypoventilácie mezory cirkadiánnych rytmov PKF vypočítané pre jednotlivé minúty merania sa postupne, ale nesignifikantne znižovali a amplitúdy boli ustálené. Akrofázy boli nesignifikantne posunuté po 10, 15 a 20 minútach hypoventilácie oproti 5 minútam. Počas reoxygénácie mezory PKF boli vyššie v porovnaní s hypoventiláciou a mali ustálený charakter. Amplitúdy sa výrazne nezmenili a akrofázy sa stabilizovali (tab. 1).

Mezory pre SF počas hypoventilácie mali vzrastajúcu tendenciu, amplitúdy mali kolísavý charakter. Akrofázy sa postupne s trvaním hypoventilácie menili a posúvali do svetlej časti dňa. Signifikantný posun akrofáz bol medzi 5. a 15. minútou a 5. a 20. minútou hypoventilácie. Podobne ako pri PKF reoxygénácia stabilizovala mezory, ale s vyššími hodnotami aj amplitúdy, ktoré neboli signifikantne odlišné od amplitúd počas hypoventilácie. Akrofázy mali klesajúcu tendenciu s pomerne širokými intervalmi spoľahlivosti (tab. 1). Po spriemernení výsledkov z celej 20-minútovej hypoventilácie a z periódy reoxygénácie sa nezistili signifikantné rytmy ani pre PKF ani pre SF.

Pri porovnaní priemerných hypoventilačných hodnôt z celej svetlej a tmavej fázy PKF bol signifikantne vyšší počas tmy ($p < 0,01$;

svetlo $1,02 \pm 0,5$ vs. tma $1,38 \pm 0,7$ mA). Počas následnej reoxygénácie sa zistila opačná tendencia ($p < 0,001$; svetlo $1,85 \pm 0,8$ vs. tma $1,08 \pm 0,5$ mA). Zistila sa aj štatisticky významná signifikancia ($p < 0,001$) medzi hodnotami počas hypoventilácie a následnej reoxygénácie vo svetlej fáze režimového dňa (hypoventilácia $1,02 \pm 0,5$ mA vs. reoxygénácia $1,85 \pm 0,8$ mA). V tmavej, teda v aktívnej časti dňa, hodnoty PKF počas hypoventilácie boli signifikantne vyššie ($p < 0,05$; hypoventilácia $1,38 \pm 0,7$ vs. reoxygénácia $1,08 \pm 0,5$ mA). Hodnoty SF neboli navzájom signifikantne rozdielne v tmavej alebo vo svetlej časti dňa počas jednotlivých typov ventilácie (hypoventilácia — tma 327 ± 32 vs. hypoventilácia — svetlo 321 ± 29 tepov/min, reoxygénácia — tma 346 ± 24 vs. reoxygénácia — svetlo 348 ± 36 tepov/min). Reoxygénácia významne zvýšila ($p < 0,001$) hodnoty SF oproti hypoventilácii v oboch fázach (hypoventilácia — svetlo 321 ± 29 vs. reoxygénácia — svetlo 348 ± 36 tepov/min, hypoventilácia — tma 327 ± 32 vs. reoxygénácia — tma 346 ± 24 tepov/min).

Na obrázku 2A a 2B vidieť dynamiku zmien PKF (2A) a SF (2B) v kontrolnej skupine a v skupine zvierat s úvodnou 20-minútovou hypoventiláciou nasledovanou 20-minútovou reoxygénáciou.

Hypoventilácia signifikantne znížila PKF a SF pri porovnaní poslednej hodnoty z kontrolnej skupiny (20 min) s prvou hodnotou počas hypoventilácie (5 min) ($p < 0,001$) v oboch fázach režimového dňa (tab. 2). V priebehu 20-minútovej úvodnej hypoventilácie hodnoty PKF z tmavej časti boli nesignifikantne vyššie v porovnaní so svetlou časťou. V oboch svetelných fázach sa zaznamenal kontinuálny pokles bez zjavnej stabilizácie (obr. 2A-b). SF sa stabilizovala už po 10. minúte s rovnakými hodnotami v oboch fázach dňa (obr. 2B-b).

Počas 20-minútovej reoxygénácie sme zaznamenali rozdielne správanie sa PKF vo svetlej a v tmavej časti režimového dňa. Vo

Tab. 2. The average values±SD of the VFT and HR from the both experimental groups in the single minutes of the ventilation. The values are average values from all measurements of the light and dark phases of the regime day.
Tab. 2. Priemerné hodnoty±SD PKF a SF z oboch experimentálnych skupín v jednotlivých minútach ventilácie. Hodnoty sú priemerné hodnoty zo všetkých meraní svetlej a tmavej fázy režimového dňa.

		5 min	10 min	15 min	20 min
Control group (kontrolná skupina)					
Light phase (svetlá fáza)	VFT (PKF)	2,46 ± 0,90	2,37 ± 0,90	2,33 ± 0,70	2,38 ± 0,90
	HR (SF)	355 ± 29	351 ± 30	348 ± 31	350 ± 27
Dark phase (tmavá fáza)	VFT (PKF)	2,67 ± 0,80	2,61 ± 0,90	2,66 ± 0,80	2,70 ± 0,90
	HR (SF)	358 ± 30	355 ± 24	353 ± 26	356 ± 26
Initial hypoventilation (úvodná hypoventilácia)					
Light phase (svetlá fáza)	VFT (PKF)	1,11 ± 0,54 ^{***}	0,96 ± 0,50	0,91 ± 0,55	0,96 ± 0,45
	HR (SF)	315 ± 35 ^{***}	329 ± 28	324 ± 26	326 ± 28
Dark phase (tmavá fáza)	VFT (PKF)	1,51 ± 0,84 ^{***}	1,37 ± 0,84	1,38 ± 0,69	1,25 ± 0,67
	HR (SF)	326 ± 42 ^{***}	330 ± 40	326 ± 30	323 ± 28
Subsequent reoxygenation (následná reoxygénácia)					
Light phase (svetlá fáza)	VFT (PKF)	1,69 ± 0,85 ⁺⁺	1,64 ± 0,75	1,45 ± 0,59	1,65 ± 0,43
	HR (SF)	348 ± 39	346 ± 34	347 ± 40	344 ± 43
Dark phase (tmavá fáza)	VFT (PKF)	1,12 ± 0,62	1,12 ± 0,59	1,06 ± 0,61	1,21 ± 0,58
	HR (SF)	351 ± 25 [†]	349 ± 24	340 ± 23	342 ± 27

Legend: *** p < 0.001, statistical significance between 20 min. of the normal ventilation and 5 min. of the hypoventilation
 ++ p < 0.005, + p < 0.05, statistical significance between 20 min. of the hypoventilation and 5 min. of the reoxygenation
 Legenda: *** p < 0.001, štatistická významnosť medzi 20 min. normálnej ventilácie a 5 min. hypoventilácie
 ++ p < 0.005, + p < 0.05, štatistická významnosť medzi 20 min. hypoventilácie a 5 min. reoxygénácie

svetlej fáze prvá hodnota PKF (5 min) bola signifikantne zvýšená ($p < 0,005$) oproti poslednej hodnote z hypoventilácie (20 min) ($1,69 \pm 0,85$ mA vs. $0,96 \pm 0,45$ mA), no nedosiahla hodnotu kontrolnej skupiny. Táto hodnota bola signifikantne nižšia ($p < 0,05$) oproti hodnote z kontrolnej skupiny po 20 minútach ventilácie ($1,69 \pm 0,85$ mA vs. $2,38 \pm 0,9$ mA) (obr. 2A). SF sa zvýšila a nadobudla hodnoty kontrolnej skupiny. Počas tmavej fázy sa nezistil žiaden signifikantný nárast ako vo svetlej fáze, ale naopak ďalší pokles (20-minútová hypoventilácia $1,25 \pm 0,67$ mA vs. 5-minútová reoxygénácia $1,10 \pm 0,62$ mA), ktorý sa neprehlboval (tab. 2, obr. 2A-c). SF, zhodne ako vo svetlej fáze, bola zvýšená na hodnoty kontrolnej skupiny (tab. 2, obr. 2B-c).

Diskusia

Cielom našej štúdie bolo posúdenie efektu jednej z porúch ventilácie (hypoventilácia) a následnej obnovy (reoxygénácia) na cirkadiálny priebeh PKF. Sledoval sa aj efekt trvania hypoventilácie a reoxygénácie a vzájomný vzťah medzi PKF a SF v jednotlivých svetelných fázach režimového dňa potkana.

Signifikantný pokles PKF a zmenený cirkadiálny rytmus bol zhodný s našimi predchádzajúcimi výsledkami (Švorc a spol., 1997). Reoxygénácia zmenila cirkadiálny priebeh PKF na inverzný, kde najnižšie hodnoty sa vyskytovali v čase, keď sa pozoroval vrchol v kontrolnej skupine. Výsledkom poklesu PKF by mala byť vyššia vulnerabilita komôr k arytmiám, teda vyššia incidencie komorových arytmií. Na základe poznatkov z ischemicko-reperfúzných modelov vyplýva, že počas reperfúzie sa vyskytovali vážne komorové arytmie. Vznik týchto arytmií sa pripisuje reperfúznemu poškodeniu myokardu (Winslow a spol., 1983; Tosaki a spol., 1994, 1996; Brooks a spol., 1995; Bernauer a spol., 1995, 1996, 1997; Bilinska a spol., 1996). Zumino a spol. (1997) opi-

sujú niektoré faktory, ktoré majú vplyv na vznik a vývoj reperfúzných arytmií ako napríklad vymytie K^+ z intersticiálneho priestoru, zvýšenie intracelulárneho Ca^{2+} , adrenergická stimulácia alebo vytváranie kyslíkových radikálov. Problémom zostáva, že tieto faktory neboli opísané v hypoxicko-reoxygénacných modeloch a v cirkadiálnej závislosti.

Citlivosť srdca na komorové arytmie závisí najmä od elektrickej stability srdca, ktorá je zasa podmienená zmenami v iónových koncentráciách. V našich experimentoch sa tieto zmeny nesledovali v intracelulárnom ani v extracelulárnom prostredí myokardiálnych buniek, ale možný výsledok takýchto zmien na elektrickú stabilitu srdca meraní PKF. Za normálnych podmienok ventilácie sa zistili cirkadiálne rytmy plazmatického Ca^{2+} (Lausson a spol., 1985) a exkrécie Ca^{2+} do moču (Roelfsema a spol., 1987) u potkana s maximálnymi koncentraciami počas svetlej fázy režimového dňa, teda v čase spánku. Aj cirkadiálne rytmy plazmatickej koncentrácie iónov K^+ a Na^+ dokázalo viacero autorov (Stoynev a spol., 1986; Poulis a spol., 1989 a, b) s akrofázami počas noci, teda v aktívnej fáze potkana. Z uvedených faktov vyplýva, že ak práve elektrická stabilita srdca je výsledkom zmien v iónových koncentráciách, tak aj cirkadiálny rytmus PKF sa musí správať adekvátne s cirkadiálnymi rytmiami jednotlivých iónov. Otázkou zostáva, ako pôsobí svetlo a tma, po synchronizácii zvierat na svetelný režim 12:12 hodín, na kinetiku týchto iónov pri poruchách respirácie a pri návrate do normálnych podmienok ventilácie.

V ischemicko-reperfúzných modeloch opisovalo akumuláciu Ca^{2+} v bunkách viacero autorov. Ca^{2+} preťaženie v myocytoch počas reperfúzie sa považuje za jednu z mnohých príčin reperfúzneho poškodenia (Brooks a spol., 1995; Meissner a Morgan, 1995; Perchenet a Kreher, 1995; Kamiyana a spol., 1996; Tosaki a spol., 1996; Mugabwa a spol., 1997; Shinmura a spol., 1997). Predpokladá sa, že výsledkom takéhoto Ca^{2+} preťaženia je výskyt one-

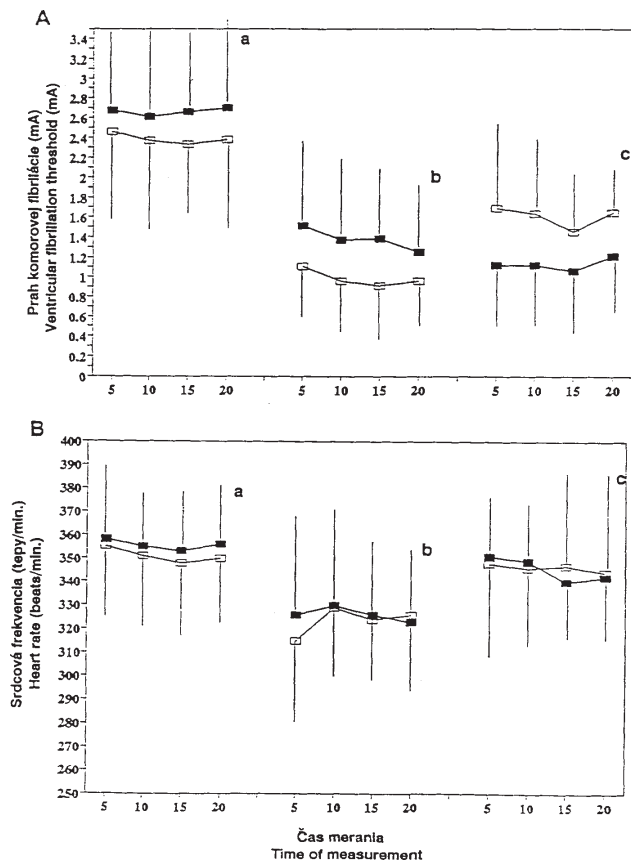


Fig. 2. The VFT (2A) and the HR (2B) changes in the control group (2A-a, 2B-a), during the initial hypoventilation (2A-b, 2B-b) and the subsequent reoxygenation (2A-c, 2B-c) in the dark phase (full squares) and the light phase (empty squares) of the regime day after 5, 10, 15 and 20 min of the respective ventilation. The values are expressed as the average value (\pm SD calculated from all VFT and HR measurements of the light and dark phases in the respectively minute of the measurement).

Obr. 2. Zmeny PKF (2A) a SF (2B) v kontrolnej skupine (2A-a, 2B-a), počas úvodnej hypoventilácie (2A-b, 2B-b) a následnej reoxygénácie (2A-c, 2B-c) v tmavej fáze (plné štvorce) a svetlej fáze (prázdne štvorce) režimového dňa po 5, 10, 15 a 20 minútach príslušnej ventilácie. Hodnoty sú vyjadrené ako aritmetický priemer (\pm SD) vypočítaný zo všetkých hodnôt PKF a SF zo svetlej a z tmavej fázy režimového dňa po príslušnej minúte merania.

skorených podepolarizácií, ktoré vytvárajú substrát pre genézu vážnych komorových dysrytmii (Ca sprostredkovaných, nie reentry arytmií) (Whalley a spol., 1995). Otázkou zostáva, či tento nárast Ca^{2+} v myokardiálnych bunkách je aj počas hypoxie a následnej reoxygénácie. Bertoni a spol. (1993) použili indo-1-fluorescenčnú metódu na určenie $[Ca^{2+}]_i$ alebo kinetik Ca^{2+} prechodov a zistili pokles $[Ca^{2+}]_i$ počas hypoxie, ale bez absolútnych zmien počas reoxygénácie. Podobný význam sa pripisuje aj vyplaveniu K^+ iónov z buniek nielen počas ischemie, ale aj počas hypoxie (Shivkumar a spol., 1997). Inhibícia prechodných vonku smerujúcich K^+ prúdov ukázala ochranný efekt počas reperfúzie (Liu a spol., 1993; Tosaki a spol., 1996). Aj Na^+ preťaženie buniek, podobne ako Ca^{2+} preťaženie môže prispievať k vzniku reperfú-

nych alebo reoxygenačných arytmií (Liu a spol., 1993; Takeo a spol., 1995; Kamiyama a spol., 1996; Tosaki a spol., 1996; In-serte a spol., 1997; Shimura a spol., 1997). Samozrejme, že tieto zmeny sú sprevádzané adekvátnymi zmenami i v elektrofyziologických parametroch samého srdca a majú za následok pokles PKF. Hypoxia (Perchenet a Kreher, 1995) aj ischemia (Bernauer, 1997) významne znížili trvanie akčného potenciálu, pravdepodobne cez aktiváciu KATP kanálikov a cez zvýšený výtok K^+ iónov. V tejto súvislosti je zaujímavý názor Saineta a spol. (1992), ktorí poukazujú na selektívne pôsobenie K^+ . Predpokladajú, že genéza reperfúzných arytmií zahrňuje odlišný proces ako genéza ischemických arytmií. Najpravdepodobnejším mechanizmom by mohla byť redukcia K^+ gradiendu cez hraničnú zónu zodpovednú za generáciu prúdov z poškodenia, alebo ochrana neischemického tkaniva pred inváziou arytmiických impulzov. Hoci sa nevie určiť, či zmeny v elektrofyziologických vlastnostiach srdca vyvolané zmenami v koncentráciách iónov sú rovnaké aj v hypoxiko-reoxygenačnom modeli, je zjavné, že hypoventilácia znížila PKF, čo prezentujeme aj v našej práci. Reperfúzia postupne upravuje uvedené parametre, čo by bolo podporené aj vyššími hodnotami PKF počas reoxygénácie. Problémom zostáva, že takáto úprava nastala len počas svetlej fázy režimového dňa. Pokles PKF v tmavej fáze v čase reoxygénácie pravdepodobne signalizuje zvýšenú citlivosť myokardu ku komorovým arytmiám. V súčasnosti nie sú opísané zmeny v iónovej distribúcii v cirkadiánnej závislosti, najmä pri poruchách ventilácie. Preto zostáva zaujímavou a nevyriešenou otázkou inverzný 24-hodinový priebeh PKF počas reoxygénácie, v porovnaní so skupinou s normálnou ventiláciou. Pokles SF zistený za ischemických podmienok na izolovaných srdciach potkana možno pozorovať aj za podmienok hypoventilácie. Pokles bol významný už po 5 minútach ventilácie v oboch svetelných fázach režimového dňa s prakticky totožnými hodnotami aj po 10, 15 a 20 minútach. Ak budeme považovať zmeny v SF za výsledok zmien v aktivite vegetatívneho nervového systému, tak naše výsledky sú zhodné s výsledkami Chaninu a spol. (1993), ktorí zistili redukciu tkanivového noradrenalínu v ischemizovanom myokarde u potkana. Táto redukcia môže mať vzťah k poklesu SF pri hypoventilácii. Počas reoxygénácie sa SF zvýšila až na úroveň kontrolnej skupiny v oboch fázach svetelného režimu. U väčších laboratórnych zvierat, ako napríklad u psa, reperfúziu sprevádzalo masívne uvoľňovanie noradrenalínu do koronárneho riečiska (Godin a spol., 1985) a cez stimuláciu (1 - a (1 - adrenoreceptorov môže tak mať dôležitú úlohu v patofyziológii ischemického myokardu (Schomig a spol., 1984; Hirche a spol., 1985). Podobný nárast sa pozoroval aj na izolovaných srdciach potkana počas reperfúzie po ischemii myokardu (Winslow a spol., 1983; Zumino a spol., 1997; Merati a spol., 1996). Iní autori síce poukazujú na zvýšené hodnoty SF počas reperfúzie, ale tento nárast nedosiahol preperfúzne hodnoty (Bugge a spol., 1997; Ohashi a spol., 1996; Tosaki a spol., 1996), resp. SF zastala na úrovni ischemických hodnôt (Kokita a spol., 1998). Z uvedených skutočností vyplýva, že efekt ischemie a reperfúzie na SF je rovnaký ako efekt hypoventilácie a reoxygénácie.

Vzťah SF k PKF u potkana je dosť diskutabilný. Pri porovnaní cirkadiánnych priebehov a akrofáz v jednotlivých minútach úvodnej hypoventilácie a počas reoxygénácie možno vidieť značné rozdiely. Podobne aj správanie sa týchto parametrov počas svetla a tmy nesvedčí o ich vzájomnom vzťahu, resp. o vplyve SF na

PKF. Cirkadiálne priebehy v SF počas reoxygénácie mali nesúrodý charakter, čo by mohlo vyplývať aj z interindividuálnej reaktivity potkana na pentobarbitalovú anestéziu, alebo na zásahy do organizmu (tracheotómia, torakotómia). Experimenty sa robili iba na samiciach potkana, no môže byť aj pohlavný rozdiel v cirkadiálnom kolísaní SF, ako aj vo vzťahu SF k PKF v podmienkach experimentu. 20-minútová normálna ventilácia (dychový objem 1 ml/100 g telesnej hmotnosti, frekvencia dýchania 40 dychov/min) za našich experimentálnych podmienok, signifikantne nemenila SF v kontrolnej skupine, podobne ako normooxická perfúzia kontrolných izolovaných srdc potkana (Makiguchi a spol., 1991; Ohashi a spol., 1996; Bugge a spol., 1997). Takáto stabilizácia bola počas oboch svetelných fáz režimového dňa, no s vyššími hodnotami v tmavej, teda aktívnej časti dňa potkana. Ak sa frekvencia akcie srdca považuje za jeden z parametrov poukazujúcich na aktivitu vegetatívneho systému, tak aj tonus vegetatívneho nervového systému bude stabilizovaný za podmienok dlhšie trvajúcej normooxickéj perfúzie, ale aj v podmienkach umelej ventilácie. Toto by mohlo byť dôležitým východiskovým poznatkom v experimentoch, kde sa sleduje vzťah vegetatívneho nervového systému k iným meraným parametrom počas hypoventilácie, ako jednej z porúch normálnej ventilácie.

Záverom možno povedať, že 5-minútová hypoventilácia signifikantne znížila PKF, no nezmenila cirkadiálny priebeh oproti kontrolnej skupine. 10-, 15- a 20-minútová hypoventilácia neprehĺbila rozdiel vo veľkostiach PKF v jednotlivých minútach merania, ale zmenila jeho rytmus. Počas reoxygénácie sa zvýšená vulnérabilita komôr k arytmiám prehlbuje počas tmavej, aktívnej časti dňa. Vo svetlej časti dňa sa hodnoty PKF zvýšili oproti hypoventilačnej perióde, ale nedosiahli hodnoty kontrolnej skupiny. Zmeny vo veľkosti PKF nezávisia od zmien v SF počas celej 24-hodinovej peródy.

Literatúra

- Bernauer W.:** Effect of antiarrhythmics on the release of adenosine in rat hearts with coronary occlusion and reperfusion. *Europ. J. Pharmacol.*, 283, 1995, s. 91—98.
- Bernauer W.:** Increase of adenosine release by adenosine antagonists in hearts with coronary occlusion and reperfusion. *Pharmacology*, 53, 1996, s. 311—319.
- Bernauer W.:** Concerning the effect of the K⁺ channel blocking agent glibenclamide on ischaemic and reperfusion arrhythmias. *Europ. J. Pharmacol.*, 326, 1997, s. 147—156.
- Bertoni A.G., Adrian S., Mankad S., Silverman H.S.:** Impaired posthypoxic relaxation in single cardiac myocytes: role of intracellular pH and inorganic phosphate. *Cardiovasc. Res.*, 27, 1993, s. 1983—1990.
- Bilinska M., Maczewski M., Beresewicz M.:** Donors of nitric oxide mimic effects of ischaemic preconditioning on reperfusion induced arrhythmias in isolated rat heart. *Mol. Cell. Biochem.*, 160, 1996, s. 265—271.
- Brooks W.W., Conrad Ch.H., Morgan J.P.:** Reperfusion induced arrhythmias following ischaemia in intact rat heart: role of intracellular calcium. *Cardiovasc. Res.*, 29, 1995, s. 536—542.
- Bugge E., Gamst T.M., Hegstad A.C., Andreasen T., Ytrehus K.:** Mecprine protects the isolated rat heart during hypoxia and reoxygenation — but not by inhibition of phospholipase A2. *Basic. Res. Cardiol.*, 92, 1997, s. 17—24.
- Chanine R., Adam A., Yamaguchi N., Gaspo R., Regoli D., Nadeau R.:** Protective effects of bradykinin on the ischaemic heart: implication of the B1 receptor. *Brit. J. Pharmacol.*, 108, 1993, s. 318—322.
- Godin D., Campeau N., Nadeau R., Cardinal R., DeChamplain J.:** Catecholamine release and ventricular arrhythmias during coronary occlusion and reperfusion in the dog. *Canad. J. Physiol. Pharmacol.*, 63, 1985, s. 1088—1095.
- Guarini S., Martini M.C., Bertolini A.:** Reperfusion-induced arrhythmias and lethality are reduced by a 2 kDa heparin fragment. *Life Sci.*, 57, 1995, s. 967—972.
- Hirche H., McDonald F.M., Polwin W., Addicks K.:** Vicious cycle of catecholamines and K⁺ in cardiac ischemia. *J. cardiovasc. Pharmacol.*, 7, 1985, Suppl. 15, s. S71—S75.
- Inserte J., Garcia-Dorado D., Ruiz-Meana M., Solares J., Soler J.:** The role of Na⁺-H⁺ exchange occurring during hypoxia in the genesis of reoxygenation-induced myocardial oedema. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 29, 1997, s. 1167—1175.
- Kamiyama T., Tanonaka K., Hayashi J., Takeo S.:** Effects of aprindine on ischemia/reperfusion-induced cardiac contractile dysfunction of perfused rat heart. *Jap. J. Pharmacol.*, 70, 1996, s. 227—234.
- Kokita N., Hara A., Abiko Y., Arakawa J., Hashizume H., Namiki A.:** Propofol improves functional and metabolic recovery in ischemic perfused isolated rat hearts. *Anesth. Analg.*, 86, 1998, s. 252—258.
- Lausson S., Staub J.F., Milhaud G., Perault-Staub A.M.:** Circadian variations in plasma calcium and calcitonin: effect of calcium deficiency and fasting. *J. Endocrinol.*, 107, 1985, s. 389—395.
- Liu J., Tanonaka K., Sanbe A., Yamamoto K., Takeo S.:** Beneficial effects of quinidine on post-ischemic contractile failure of isolated rat hearts. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 25, 1993, s. 1249—1263.
- Makiguchi M., Kawaguchi H., Tamura M., Yasuda H.:** Effect of palmitic acid and fatty acid binding protein on ventricular fibrillation threshold in the perfused rat heart. *Cardiovasc. Drugs Therapy*, 5, 1991, s. 753—762.
- Meissner A., Morgan J.P.:** Contractile dysfunction and abnormal Ca²⁺ modulation during postischemic reperfusion in rat heart. *Amer. J. Physiol.*, 268, 1995, s. H100—H111.
- Merato G., Allibardi S., Monti L.D., DeJong J.W., Samaja M.:** Dynamics of myocardial adaptation to low-flow ischemia and hypoxemia. *Amer. J. Physiol.*, 271, 1996, s. H2300—H2305.
- Minors D.S.:** Chronobiology — its importance in clinical medicine. Editorial review. *Clin. Sci.*, 69, 1985, s. 368—376.
- Moore-Ede M.C., Czeisler C.A., Richardson G.S.:** Circadian timekeeping in health and disease. Part 2. Clinical implications of circadian rhythmicity. *New Engl. J. Med.*, 309, 1983, s. 530—536.
- Mubagwa K., Kaplan P., Flameng W.:** The effects of ryanodine on calcium uptake by the sarcoplasmic reticulum of ischemic and perfused rat myocardium. *Fundam. Clin. Pharmacol.*, 11, 1997, s. 315—321.
- Ohashi T., Yamamoto F., Yamamoto H., Ichikawa H., Shibata T., Kawashima Y.:** Transient reperfusion with acidic solution affects postischemic functional recovery: studies in the isolated working rat heart. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 111, 1996, s. 613—620.
- Otsuka K., Watanabe H.:** Experimental and clinical chronocardiology. *Chronobiologia*, 17, 1990, s. 135—163.

- Perchenet L., Kreher P.:** Mechanical and electrophysiological effects of preconditioning in isolated ischemic/reperfused rat heart. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 26, 1995, s. 831–840.
- Poulis J.A., Roelfsema F., van der Heide D.:** Circadian urinary electrolyte excretory rhythms in male and female rats. *J. Interdiscipl. Cycle Res.*, 20, 1989 a, s. 35–47.
- Poulis J.A., Roelfsema F., van der Heide D.:** Circadian electrolyte excretion rhythms in hypophysectomized rats. *J. Interdiscipl. Cycle Res.*, 20, 1989 b, s. 294–308.
- Roelfsema F.:** The influence of light on circadian rhythms. *Experientia*, 43, 1987, s. 7–12.
- Saint K.M., Abraham S., MacLeod B.A., McGough J., Yoshida N., Walker M.J.A.:** Ischemic but not reperfusion arrhythmias depend upon serum potassium concentration. *J. Mol. Cell Cardiol.*, 24, 1992, s. 701–710.
- Schlack W., Hollmann M., Stunneck J., Thämer V.:** Effect of halotane on myocardial reoxygenation injury in the isolated rat heart. *Brit. J. Anaesth.*, 76, 1996, s. 860–867.
- Schomig A., Dart A.M., Dietz R., Mayer E., Kubler W.:** Release of endogenous catecholamines in the ischemic myocardium of the rat. Part A. Locally mediated release. *Circulat. Res.*, 55, 1984, s. 689–701.
- Shinmura K., Tani M., Suganuma Y., Hasegawa H., Ebihara Y., Nakamura Y., Asakura Y.:** Effects of α_1 -adrenoreceptor subtype blockade on ischemia-reperfusion injury. *Jap. circulat. J.*, 61, 1997, s. 927–935.
- Shivkumar K., Deutsch N.A., Lamp S.T., Khoo K., Goldhaber J.I., Weiss J.N.:** Mechanism of hypoxic K loss in rabbit ventricle. *J. Clin. Invest.*, 100, 1997, s. 1782–1788.
- Stoynev A.G., Ikononov O.C., Vrabchev N.C.:** Suprachiasmatic nuclei lesions do not eliminate the circadian rhythms of electrolyte excretion in the rat. *Physiol. Behav.*, 38, 1986, s. 657–662.
- Švorc P., Wilk P., Murár J., Podlubný I., Kujaník Š., Bračoková I., Murín M.:** Circadian rhythm of the ventricular fibrillation threshold in female Wistar rats. *Physiol. Res.*, 43, 1994, s. 355–358.
- Švorc P., Podlubný I., Kujaník Š., Bračoková I.:** 24 h rhythm of the ventricular fibrillation threshold during normal and hypoventilation in female Wistar rats. *Chronobiol. Int.*, 14, 1997, s. 363–370.
- Takeo S., Liu J., Tanonaka K., Nasa Y., Yabe K., Tanahashi H., Sudo H.:** Reperfusion at reduced flow rates enhances postischemic contractile recovery of perfused heart. *Amer. J. Physiol.*, 268, 1995, s. H2384–H2395.
- Tosaki A., Cordis G.A., Szerdahelyi P., Engelman R.M., Das D.K.:** Effects of preconditioning on reperfusion arrhythmias, myocardial functions, formation of free radicals, and ion shifts in isolated ischemic/reperfused rat hearts. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 23, 1994, s. 365–373.
- Tosaki A., Engelman D.T., Engelman R.M., Das D.K.:** The evolution of diabetic response to ischemia/reperfusion and preconditioning in isolated working rat hearts. *Cardiovasc. Res.*, 31, 1996, s. 526–536.
- Whalley D.W., Wendt D.J., Grant A.O.:** Electrophysiologic effects of acute ischemia and reperfusion and their role in the genesis of cardiac arrhythmias. S. 109–130. In: Podrid P.J., Kowey P.R. (Eds.): *Cardiac Arrhythmias: Mechanisms, Diagnosis and Management*. Philadelphia, Williams and Wilkins 1995.
- Winslow E., Marchall R.J., Hope F.G.:** Comparative effects of fast- and slow-ion channel blocking agents on reperfusion-induced arrhythmias in the isolated perfused rat heart. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 5, 1983, s. 928–936.
- Yasutake M., Ibuki Ch., Hearse D.J., Avkiran M.:** Na^+/H^+ exchange and reperfusion arrhythmias: protection by intracoronary infusion of a novel inhibitor. *Amer. J. Physiol.*, 267, 1994, s. H2430–H2440.
- Zumino A.P., Risler N.R., Schanne O.F., Petrich E.R., Carión A.:** Magnesium: Effects on reperfusion arrhythmias and membrane potential in isolated rat hearts. *Mol. Cell. Biochem.*, 171, 1997, s. 85–93.

Received February 21, 2000.

Accepted June 16, 2000.