

## Κοιλιακές Αρρυθμίες και Αντιοξειδωτικά Φάρμακα. Πειραματική Μελέτη

ΑΓΓΕΛΙΚΗ ΚΑΡΑΧΑΛΙΟΥ<sup>1</sup>, ΧΡΗΣΤΟΣ ΚΑΤΣΟΥΡΑΣ<sup>2</sup>, ΒΑΣΙΛΕΙΟΣ ΚΟΥΛΟΥΡΑΣ<sup>1</sup>, ΔΗΜΗΤΡΑ ΝΙΟΥΚΟΥ<sup>3</sup>, ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΣ<sup>3</sup>, ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ ΣΙΔΕΡΗΣ<sup>2</sup>, ΛΑΜΠΡΟΣ ΜΙΧΑΛΗΣ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Μονάδα Εντατικής Θεραπείας, <sup>2</sup>Καρδιολογική Κλινική, <sup>3</sup>Αναισθησιολογική Κλινική, Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Ιωαννίνων

Λέξεις ευρετηρίου:  
**Κοιλιακές  
αρρυθμίες,  
Στεφανιαία νόσος,  
Σύνδρομο  
Ισχαιμίας-  
Επαναϊμάτωσης,  
Μηχανοηλεκτρική  
ζεύξη, Ελεύθερες  
ρίζες Οξυγόνου,  
Ασκορβικό οξύ,  
Δεσφερριοξαμίνη .**

Ημερ. παραλαβής  
εργασίας:  
9 Ιουλίου 2007  
Ημερ. αποδοχής:  
8 Νοεμβρίου 2007

Διεύθυνση  
Επικοινωνίας:  
Αγγελική Καραχάλιου

Μονάδα Εντατικής  
Θεραπείας ΠΠΓΝ  
Ιωαννίνων  
Λεωφόρος Νιάρχου 1  
451 00 Ιωάννινα  
e-mail:  
[dvardakas@hotmail.com](mailto:dvardakas@hotmail.com)

**Εισαγωγή:** Σκοπός της μελέτης ήταν να ελέγξει εάν ο συνδυασμός αντιοξειδωτικού (ασκορβικού οξέος) και σιδηροδεσμευτικού παράγοντα (δεσφερριοξαμίνης), μπορεί να μειώσει την επιρρέπεια του μυοκαρδίου σε κοιλιακές αρρυθμίες που προκαλούνται από το σύνδρομο ισχαιμίας - επαναϊμάτωσης και τον συνδυασμό ισχαιμίας και αύξησης της αρτηριακής πίεσης.

**Μέθοδος:** Χρησιμοποιήθηκαν 30 πρόβατα (γενική αναισθησία, ανοικτή θωρακοτομή). Καταγράφηκαν οι κακοήθεις κοιλιακές αρρυθμίες (Εμμένουσα Κοιλιακή Ταχυκαρδία ή Κοιλιακή Μαρμαρυγή, ΚΤ/ΚΜ) που προκλήθηκαν σε δύο φάσεις: α) 60 λεπτά μετά την επαναϊμάτωση του μυοκαρδίου (προηγέθηκε ισχαιμία για 45 λεπτά με απόφραξη του προσθίου κατιόντα) και β) για χρονική περίοδο 20 λεπτών μετά από συνδυασμό νέας ισχαιμίας (απολίνωση προσθίου κατιόντα) και αύξησης της πίεσης (ενδοφλέβια χορήγηση μεταραμινόλης και/ή μηχανική απόφραξη της ανιούσας αορτής). Ελέγχθηκε η εμφάνιση ΚΤ/ΚΜ μετά από χορήγηση (10 λεπτά πριν την επαναϊμάτωση, ενδοφλέβια) φυσιολογικού ορού (n=8), δεσφερριοξαμίνης, (n=6), ασκορβικού οξέος (n=8) και συνδυασμού ασκορβικού οξέος και δεσφερριοξαμίνης (n=8).

**Αποτελέσματα:** Στην ομάδα ελέγχου εμφάνισαν τελικά ΚΤ/ΚΜ 8/8 (100%) των πειραματοζώων, στην ομάδα με δεσφερριοξαμίνη 6/6 (100%), στην ομάδα με ασκορβικό οξύ 6/8 (75%) και στην ομάδα με το συνδυασμό ασκορβικού οξέος-δεσφερριοξαμίνης 3/8 (37,5%) (P<0,009). Τα ποσοστά ΚΤ/ΚΜ στην ομάδα του συνδυασμού ασκορβικού οξέος-δεσφερριοξαμίνης ήταν χαμηλότερα από την ομάδα ελέγχου (P<0.03), αλλά οι διαφορές από τις άλλες δύο ομάδες δεν ήταν στατιστικά σημαντικές.

**Συμπεράσματα:** Ο συνδυασμός ασκορβικού οξέος-δεσφερριοξαμίνης ενδέχεται να προσφέρει μια προστασία έναντι των κακοήθων αρρυθμιών μετά από απόφραξη στεφανιαίας αρτηρίας, άρση της απόφραξης και επαναπόφραξη και συνθήκες αύξησης της αρτηριακής πίεσης ενώ η μεμονωμένη χρήση των ουσιών αυτών δεν φαίνεται να έχει προστατευτική δράση.

**Π**ειραματικά και κλινικά δεδομένα έχουν αποδείξει ότι η οξεία ισχαιμία του μυοκαρδίου μπορεί να προκαλέσει αιφνίδιο θάνατο.<sup>1,2</sup> Θανατηφόρες κοιλιακές αρρυθμίες επέρχονται τόσο κατά την ισχαιμία,<sup>3</sup> όσο και κατά την επαναϊμάτωση, που ακολουθεί την αποδρομή της («βλάβη επαναϊμάτωσης»)<sup>4,5</sup> Ο ακριβής παθοφυσιολογικός μηχανισμός της αρρυθμογένεσης στην βλάβη από ισχαιμία-επαναϊμάτωση δεν είναι ξεκά-

θαρος. Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου μάλλον διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο, ενώ σε αρκετές πειραματικές μελέτες οι αρρυθμίες αυτές βελτιώνονται από πολλούς εκκαθαριστές ελευθέρων ριζών οξυγόνου ή αντιοξειδωτικούς παράγοντες, εκείνους δηλαδή που εξουδετερώνουν τις δραστικές μορφές οξυγόνου.<sup>5</sup> Ωστόσο τ' αποτελέσματα άλλων μελετών ήταν αρνητικά.<sup>6</sup> Μία από τις αιτίες αυτής της αντιφατικότητας των αποτελεσμάτων στα διά-

φορα μοντέλα επαναιμάτωσης μπορεί να είναι το γεγονός ότι τα αντιοξειδωτικά, παρουσία ιόντων μετάλλων, όπως σιδήρου μπορούν να δράσουν σαν προοξειδωτικά (αντίδραση Fenton). Στην περίπτωση αυτή ικανή ποσότητα ιόντων σιδήρου θα μπορούσε να έχει απελευθερωθεί κατά την διάρκεια ισχαιμίας, ούτως ώστε να υπερκερασθεί η σιδηροδεσμευτική ικανότητα του ορού.<sup>7</sup> Άρα, θα ήταν λογικό να υποθέσει κανείς ότι είναι απαραίτητη η χορήγηση σιδηροδεσμευτικών παραγόντων ταυτόχρονα με τη χορήγηση αντιοξειδωτικών για την πρόληψη αρρυθμιών επαναιμάτωσης.

Ένας ακόμη δυναμικός μηχανισμός αρρυθμογένεσης είναι το φαινόμενο της μηχανοηλεκτρικής ζεύξης ή ανάδρασης σύσπασης – διέγερσης (contraction – excitation feedback), που αναφέρεται στις μεταβολές των ηλεκτροφυσιολογικών ιδιοτήτων του μυοκαρδίου που προκαλούνται από φόρτιση πίεσης ή όγκου.<sup>8-10</sup> Η οξεία φόρτιση πίεσης της αριστερής (ΑΡ) ή της δεξιάς (ΔΕ) κοιλίας, με μηχανικά ή φαρμακευτικά μέσα, ανεξάρτητα από τις ηλεκτροφυσιολογικές μεταβολές που προκαλεί, ευνοεί την ανάπτυξη κοιλιακών αρρυθμιών ενώ αντίθετα η μείωση της αρτηριακής πίεσης ασκεί αντιαρρυθμική δράση.<sup>11-13</sup>

Στην παρούσα πειραματική μελέτη, ελέγχθηκε αν ο συνδυασμός ενός αντιοξειδωτικού (ασκορβικό οξύ) μ' έναν σιδηροδεσμευτικό (δεσφερριοξαμίνη), μπορεί να μειώσει την επιρρέπεια του μυοκαρδίου σε κοιλιακές αρρυθμίες, που προκαλείται από το σύνδρομο ισχαιμίας-επαναιμάτωσης, καθώς και από τον συνδυασμό ισχαιμίας και αύξησης της αρτηριακής πίεσης.

## Υλικό και μέθοδος

Χρησιμοποιήθηκαν 42 πρόβατα συνολικά, ηλικίας 10 έως 24 μηνών και βάρους 15 έως 25 kg. Τα πειραματόζωα, υπό γενική αναισθησία, υποβλήθηκαν σε ανοιχτή θωρακοτομή και το αρρυθμιολογικό πρότυπο που χρησιμοποιήθηκε διακρίθηκε σε δύο(2) φάσεις. Στην πρώτη φάση, το πειραματικό πρότυπο βασίστηκε σε συνθήκες ισχαιμίας-επαναιμάτωσης. Στην δεύτερη φάση, το πειραματικό πρότυπο βασίστηκε στον συνδυασμό ισχαιμίας και αύξησης της Αρτηριακής Πίεσης (η δεύτερη φάση εφαρμόστηκε σε όσα πειραματόζωα επέζησαν της πρώτης φάσης).

Η εισαγωγή στην αναισθησία έγινε με ξυλαζίνη (0,1-0,2mg/Kg im) και ατροπίνη (0,02-0,03mg/Kg im) και στη συνέχεια διαδερμική τοποθέτηση φλεβοκαθετήρα (κεφαλική ή ωτιαία φλέβα) και χορήγηση πεντοθάλης (5-7mg/Kg iv). Ακολούθως, πραγματο-

ποιούνταν η ενδοτραχειακή διασωλήνωση και η σύνδεση με αναπνευστήρα θετικής πίεσης (Engstrom model 200, Engstrom Sweden) με μείγμα οξυγόνου και αέρα (1:2), με συχνότητα αναπνοών 14-16/λεπτό, με αναλογία εισπνοής/εκπνοής 1:2, με όγκο αερισμού 200-300ml/Kg/min και θετική τελο-εκπνευστική πίεση 3-4cmH<sub>2</sub>O, ώστε το πειραματόζωο να υποστηρίζεται με μηχανική αναπνοή καθ' όλη την διάρκεια του πειράματος.

Ηλεκτροκαρδιογραφική παρακολούθηση με ταχύτητα χάρτου 25mm/sec, άρχιζε με την εισαγωγή της αναισθησίας. Η συντήρηση της αναισθησίας γινόταν με αλοθάνιο ή σεβοφλουράνιο (0,5-1vol%), και φεντανύλη (5mg/Kg) και ατροκούριο (0,6mg/Kg)

Στη συνέχεια, γινόταν διαδερμική τοποθέτηση εισαγωγέα στην δεξιά μηριαία φλέβα (μεγέθους 7Fr) για εγχύσεις διαλυμάτων και στην δεξιά μηριαία αρτηρία (μεγέθους 7Fr) για συνεχή παρακολούθηση και καταγραφή της Αρτηριακής Πίεσης. Ακολουθούσε πρόσθια εγκάρσια θωρακοτομή στο ύψος της μεσότητας του στέρνου και εγκάρσια διατομή του περικαρδίου. Στη συνέχεια, γινόταν απολίνωση του πρόσθιου κατιόντα κλάδου της αριστερής στεφανιαίας αρτηρίας, περιφερικά της έκφυσης του πρώτου διαγώνιου κλάδου και η απολίνωση αφαιρούνταν μετά από 45 λεπτά. Δέκα min πριν την επαναιμάτωση χορηγούνταν ενδοφλέβια (iv), η εκάστοτε θεραπευτική ουσία (για 15 min) μετά από τυχαίοποίηση (χρησιμοποιώντας σφραγισμένους φακέλους). Από τα 42 πρόβατα αποκλείστηκαν από την μελέτη 12, λόγω θανάτου πριν από τη χορήγηση των ουσιών, που προαναφέρθηκαν. Συγκεκριμένα, 3 κατέληξαν στο στάδιο της διασωλήνωσης και ανοικτής θωρακοτομής και 9 κατά την διάρκεια εφαρμογής της πρώτης απολίνωσης του προσθίου κατιόντα κλάδου της Αριστερής Στεφανιαίας αρτηρίας ή και λίγα λεπτά μετά την απολίνωση του. Τα υπόλοιπα 30 πειραματόζωα δημιούργησαν τις κάτωθι ομάδες: α) ομάδα ελέγχου (E) στην οποία χορηγήθηκαν 500ml NaCl 0,9% (n=8), β) ομάδα Ασκορβικού οξέος + Δεσφερριοξαμίνης (A + Δ) στην οποία χορηγήθηκαν 1g δεσφερριοξαμίνης και 1,5gr ασκορβικού οξέος σε 500ml NaCl 0,9% (n=8), γ) ομάδα Ασκορβικού οξέος (A) στην οποία χορηγήθηκαν 1.5gr ασκορβικού οξέος σε 500ml NaCl 0,9% (n=8) και δ) ομάδα Δεσφερριοξαμίνης (Δ) στην οποία χορηγήθηκε 1g δεσφερριοξαμίνη σε 500ml NaCl 0,9% (n=6) Οι δόσεις των αντιοξειδωτικών παραγόντων που χρησιμοποιήθηκαν, επιλέχθηκαν με βάση την ικανότητα τους να προστατεύουν το μυοκάρδιο των προβάτων από την αποπληξία του μυοκαρδίου από

επαναιμάτωση (reperfusion-induced stunning).<sup>18,19</sup>

Για διάστημα 60 λεπτών μετά την επαναιμάτωση, παρακολουθούνταν το πειραματόζωο και καταγράφονταν οι κοιλιακές αρρυθμίες που εμφάνιζε. Μία ώρα και 45 min από την έναρξη του πειράματος επιχειρούνταν πρόκληση κοιλιακών αρρυθμιών και πάλι, αρχικά με ισχαιμία του μυοκαρδίου επί 20min, σε όσα πειραματόζωα επέζησαν της πρώτης φάσης. Η ισχαιμία του μυοκαρδίου γινόταν πάλι με απολίπωση του πρόσθιου κατιόντα κλάδου της αριστερής στεφανιαίας αρτηρίας μετά την έκφυση του πρώτου διαγωνίου. Ακολούθως επιχειρούνταν πρόκληση κοιλιακών αρρυθμιών και με αύξηση της Αρτηριακής Πίεσης(ΑΠ) ή της Κοιλιακής Πίεσης χορηγώντας ενδοφλέβια υδροχλωρική μεταραμινόλη με ρυθμό έγχυσης 1mg/min, υπό συνεχή παρακολούθηση και καταγραφή (με την ίδια ταχύτητα) της ΑΠ και του καρδιακού ρυθμού ή με μηχανική στένωση της ανιούσας αορτής. Αν σε 20 min δεν παρατηρείτο ΚΤ ή ΚΜ, τότε θεωρείτο ότι το μυοκάρδιο δεν είχε καταστεί επιρρεπές σε τέτοιες αρρυθμίες.

Το πρόβατο επιλέχθηκε σ' αυτή τη μελέτη διότι είναι ένα μεγάλο ζώο εύκολο στους χειρισμούς, κι εμφανίζει παρόμοια ανατομία των στεφανιαίων και γενικότερα όλων των αγγείων του, με τον άνθρωπο.<sup>14,15</sup> Δεν εμφανίζει αυτόχθονα στεφανιαία παράπλευρα αγγεία και δεν αναπτύσσει παράπλευρη κυκλοφορία μετά από απόφραξη των στεφανιαίων.<sup>16,17</sup> Επίσης, εμφανίζει πολύ εύκολα κοιλιακές αρρυθμίες και κυρίως εμμένουσα κοιλιακή ταχυκαρδία (ΚΤ) ή ανθεκτική Κοιλιακή Μαρμαρυγή (ΚΜ) με ελάχιστους χειρισμούς στην καρδιά του.<sup>14</sup>

Όλα τα ζώα που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα αντιμετωπίστηκαν σύμφωνα με τις διατάξεις του Ν.1197/81 περί «Προστασίας των ζώων» και συ-

γκεκριμένα το άρθρο 4, τις διατάξεις του Ν.2015/92 περί «Κυρώσεως της Ευρωπαϊκής Σύμβασης για την Προστασία των σπονδυλωτών ζώων που χρησιμοποιούνται για πειραματικούς ή άλλους επιστημονικούς σκοπούς» και τις διατάξεις του Π.Δ.160/91 περί «Προστασίας των ζώων που χρησιμοποιούνται για πειραματικούς ή άλλους επιστημονικούς σκοπούς, σε συμμόρφωση με την οδηγία 86/609/ΕΟΚ του Συμβουλίου». Η έγκριση για την πραγματοποίηση των πειραμάτων στα ζώα δόθηκε από την Νομαρχιακή Αυτ/ση Ιωαννίνων, Διευθ/νη Κτηνιατρικής-Τμήμα: Κ.Α.-Π.Ζ. και το Υπουργείο Γεωργίας, Δ/νηση Κ.Α.Φ.Ε.-Τμήμα Α και την Επιθεώρηση Κτην/κης Ηπείρου.

### Στατιστική ανάλυση

Η σύγκριση των ομάδων για τις αριθμητικές διαφορές έγινε με την μέθοδο t-test ενώ για τις ποιοτικές διαφορές η σύγκριση έγινε με τη δοκιμασία  $\chi^2$ , με τη διόρθωση Yates. Για παραμέτρους με στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $p < 0,05$ ) έγινε ανάλυση διασποράς με τη μέθοδο ANOVA. Σε κάθε περίπτωση  $p < 0,05$  θεωρήθηκε στατιστικά σημαντικό.

### Αποτέλεσμα

Από τα 42 πρόβατα που χρησιμοποιήθηκαν στην μελέτη, στα 30 πρόβατα ολοκληρώθηκε το πρωτόκολλο του πειράματος, όπως φαίνεται αναλυτικά στον Πίνακα 1.

Από τα δεδομένα του πίνακα 2 φαίνεται ότι στην ομάδα ελέγχου (Ε) εμφάνισαν τελικά κοιλιακή ταχυκαρδία/μαρμαρυγή (ΚΤ/ΚΜ) 8/8 (100%) των πειραματοζώων, στην ομάδα με δεσφεροξιαμίνη (Δ) 6/6

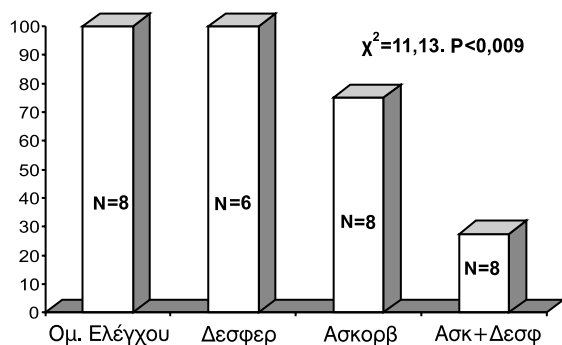
**Πίνακας 1.** Αναλυτικά το σύνολο των πειραματόζωων που χρησιμοποιήθηκαν στη πειραματική μελέτη

ΟΜΑΔΕΣ	Αρ. πειραμάτων n=42	ΘΑΝΑΤΟΣ						
		ΠΡΙΝ ΤΗ ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΟΥΣΙΩΝ		ΜΕΤΑ ΤΗ ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΟΥΣΙΩΝ			ΕΠΙΒΙΩΣΗ	
		1η Έναρξη	2η Απολίπωση	Επαναιμάτωση	Απολίπωση	↑ΑΠ		
Ελέγχου	8	0	0	0	3	1	4	0
Δ	6	0	0	1	2	1	2	0
Α	8	0	0	0	2	1	3	2
Α+Δ	8	0	0	0	2	0	1	5
Πειραματόζωα που κατέληξαν πριν τη χορήγηση.	12	3	9	0	0	0	0	

**Πίνακας 2.** Η σύγκριση των ομάδων για εμφάνιση ΚΤ/ΚΜ

ΟΜΑΔΕΣ	ΚΤ/ΚΜ				ΟΧΙ ΚΤ/ΚΜ	Σύνολο ΚΤ/ΚΜ
	1η απολίνωση	Επαναμιάτωση	2η απολίνωση	↑ΑΠ		
Ελέγχου	0	3	1	4	0	8/8
Δ	1	2	1	2	0	6/6
A	0	2	1	3	2	6/8
A+Δ	0	2	0	1	5	3/8

(100%), στην ομάδα με ασκορβικό οξύ (A) 6/8 (75%) και στην ομάδα με το συνδυασμό ασκορβικού οξέος-δεσφεροξιαμίνης (A+Δ) 3/8 (37,5%). Η διαφορά στην πιθανότητα κοιλιακής ταχυκαρδίας/μαρμαρυγής μεταξύ των 4 ομάδων ήταν στατιστικά σημαντική ( $\chi^2 = 11,134$  με τη διόρθωση Yates,  $P < 0,009$  για 3 βαθμούς ελευθερίας, Εικόνα 1). Τα ποσοστά κοιλιακής ταχυκαρδίας/μαρμαρυγής στην ομάδα του συνδυασμού ασκορβικού οξέος-δεσφεροξιαμίνης (37,5%) ήταν σημαντικά ( $\chi^2 = 4,654$ ,  $P < 0,03$  για ένα



**Εικόνα 1.** Ποσοστά % πρόκλησης ΚΤ/ΚΜ στις 4 πειραματικές ομάδες

βαθμό ελευθερίας) χαμηλότερα από την ομάδα ελέγχου (100%), αλλά οι διαφορές από τις άλλες δύο ομάδες δεν ήταν στατιστικά σημαντικές.

Η επέλευση κακοήθους αρρυθμίας δεν μπορεί να αποδοθεί σε υπέρμετρη αύξηση της ΑΠ στα πειράματα που εμφανίστηκε η αρρυθμία. Αντίθετα, οι μεγαλύτερες μέγιστες τιμές της συστολικής αρτηριακής πίεσης (ΣΑΠ) παρατηρήθηκαν στην ομάδα του συνδυασμού Ασκορβικού οξέος και Δεσφεροξιαμίνης (A+Δ) ( $185,75 \pm 76,69$ ) χωρίς να προκληθεί ΚΤ/ΚΜ, όπως φαίνεται από τον Πίνακα 3.

Ανεξάρτητα από την ομάδα στην οποία ανήκε κάθε πειραματόζωο, η μέγιστη ΣΑΠ που επιτεύχθηκε στα 23 πειραματόζωα στα οποία προκλήθηκε κοιλιακή ταχυκαρδία/μαρμαρυγή ήταν  $163,44 \pm 64,84$  mm Hg, ενώ στα 7 που δεν προκλήθηκε ήταν  $226,43 \pm 57,15$  mm Hg ( $t = 2,472$ ,  $P < 0,027$ ).

Ο Πίνακας 3 συνοψίζει τις μέσες ΣΑΠ και τις μέσες τιμές ( $\pm$  SD) της μέγιστης ΣΑΠ που επιτεύχθηκε σε καθένα πειραματόζωο στις ποικίλες φαρμακευτικές παρεμβάσεις. Οι μεγαλύτερες τιμές της μέγιστης ΣΑΠ παρατηρήθηκαν στην ομάδα της δεσφεροξιαμίνης/ασκορβικού οξέος ( $185,75 \pm 76,69$ ) χωρίς να προκληθεί ΚΤ/ΚΜ.

Κάποια κοιλιακή αρρυθμία (ζεύγη ή ΚΤ ή ΚΜ)

**Πίνακας 3.** Η σύγκριση των ομάδων για εμφάνιση ΚΤ/ΚΜ και μέση ΣΑΠ/ μέγιστη μέση ΣΑΠ

ΚΤ/ΚΜ	Ομάδα Ελέγχου		Δεσφεροξιαμίνη		Ασκορβικό οξύ		Δεσφεροξιαμίνη + Ασκορβικό οξύ		Σύνολο	
	Χωρίς	ΚΤ/ΚΜ	Χωρίς	ΚΤ/ΚΜ	Χωρίς	ΚΤ/ΚΜ	Χωρίς	ΚΤ/ΚΜ	Χωρίς	ΚΤ/ΚΜ
Μέση	$98,3 \pm 37,05$	164,75	105,0	136,5	114,75	165,17	116,8	88,33	109,82	146,48
ΣΑΠ	N=30	$\pm 77,38$ N=8	$\pm 18,29$ N=20	$\pm 71,48$ N=6	$\pm 77,37$ N=34	$\pm 98,80$ N=6	$\pm 55,72$ N=40	$\pm 44,77$ N=3	$\pm 43,62$ N=124	$\pm 73,16$ N=23
Μέση	136,0	164,75	111,00	136,5	151,12	165,17	185,75	80,33	148,3	146,48
μέγιστη	$\pm 35,33$	$\pm 77,38$	$\pm 20,26$	$\pm 71,48$	$\pm 63,51$	$\pm 98,80$	$\pm 76,69$	$\pm 40,77$	$\pm 59,02$	$\pm 73,16$
ΣΑΠ	N=8	N=8	N=6	N=6	N=8	N=6	N=8	N=3	N=30	N=23

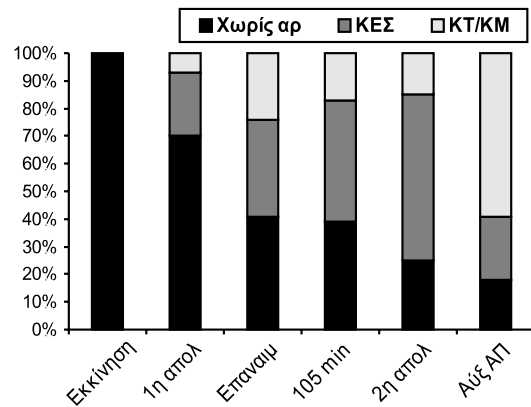
**Πίνακας 4.** Αριθμός χειρισμών απόλυτος (και επί τοις %) που προκάλεσαν αντίστοιχες αρρυθμίες.

Χρόνος (T)	Είδος αρρυθμίας. Αριθμός χειρισμού απόλυτος (και επί τοις %).			
	Χωρίς αρρυθμία	ΚΕΣ	ΚΤ/ΚΜ	Σύνολο
T=0 min (πριν την 1η απολίνωση)	30(100,0)	0	0	30
T=1-45 min (1η απολίνωση/Ισχαμία)	21(70,0)	7(23,3)	2(6,7)	30
T=46min (1min μετά την επαναιμάτωση)	12(41,4)	10(34,5)	7(24,1)	29
T=47-105 min (επαναιμάτωση)	9(39,1)	10(43,5)	4(17,4)	23
T=106-116 min (2η απολίνωση/ισχαμία)	5(25,0)	12(60,0)	3(15,0)	20
T=116-125 min (2η απολίνωση/ισχαμία)+↑Α.Π.	3(17,7)	4(23,5)	10(58,8)	17

προκλήθηκε σε 69 χειρισμούς στα 30 πειράματα, ενώ σε 77 άλλους χειρισμούς δεν προκλήθηκε καμιά κοιλιακή αρρυθμία. Η μέση συστολική πίεση στα πειράματα με τις αρρυθμίες ( $125,06 \pm 61,00$  mm Hg) ήταν σημαντικά ( $t = 1,995, P < 0,05$ ) υψηλότερη από εκείνη ( $107,61 \pm 41,70$ ) στα πειράματα που δεν παρατηρήθηκε καμιά αρρυθμία.

Ο πίνακας 4, καθώς και η εικόνα 1, δείχνουν την αρρυθμιογόνο δράση των ποικίλων χειρισμών που έγιναν, πιο συγκεκριμένα τον αριθμό των χειρισμών που δεν προκάλεσαν καμιά αρρυθμία, ή προκάλεσαν ΚΕΣ ή ΚΤ/ΚΜ. Η επίδραση των διαφόρων χειρισμών στην αρρυθμιογένεση ήταν ανομοιογενής ( $\chi^2 = 64,98, P < 0,0005$  για 10 βαθμούς ελευθερίας). Ο εντονότερος κακοήθης χειρισμός με πρόκληση ΚΤ/ΚΜ ήταν η αύξηση της ΣΑΠ μετά τη δεύτερη απολίνωση. Τα ποσοστά πρόκλησης ΚΤ/ΚΜ μ' αυτό το χειρισμό (58,8%) ήταν σημαντικά ( $\chi^2 = 12,90, P < 0,0005$ ) υψηλότερα από εκείνα με την απολίνωση (6,7%), 1 λεπτό μετά την επαναιμάτωση (24,1% των χειρισμών,  $\chi^2 = 4,15, P < 0,04$ ), ως 105 λεπτά μετά την επαναιμάτωση (17,4% των χειρισμών,  $\chi^2 = 5,67, P < 0,02$ ) και μετά τη δεύτερη απολίνωση (15,0% των χειρισμών,  $\chi^2 = 5,94, P > 0,015$ ). Ο δεύτερος σε κακοήθεια χειρισμός ήταν αμέσως (ως ένα λεπτό) μετά την επαναιμάτωση (24,1%), ποσοστό όμως που δεν διέφερε σημαντικά από των υπόλοιπων χειρισμών με εξαίρεση εκείνον της αύξησης της πίεσης μετά τη δεύτερη απολίνωση.

Γενικά αρρυθμίες (ΚΕΣ ή ΚΤ/ΚΜ) προκλήθηκαν πιο συχνά από το συνδυασμό απολίνωσης και αύξησης της πίεσης (82,3%). Το ποσοστό αυτό ήταν σημαντικά ( $\chi^2 = 9,90, P < 0,005$ ) υψηλότερο από εκείνο μετά την 1η απολίνωση (30,0%), αλλά δεν διέφερε σημαντικά από εκείνο αμέσως μετά την επαναιμάτωση (58,6%), ως 105 λεπτά μετά την επαναιμάτωση (60,9%) και μετά τη 2η απολίνωση (75,0%). (Εικόνα 2)



**Εικόνα 2.** Ποσοστά χωρίς αρρυθμία, με ΚΕΣ και με ΚΤ/ΚΜ με τους ποικίλους χειρισμούς, ανεξάρτητα από τη χορήγηση φαρμάκων

### Συζήτηση

Η παρούσα μελέτη εξέτασε αν ο συνδυασμός ενός αντιοξειδωτικού (ασκορβικού οξέος) και ενός σιδηροδεσμευτικού παράγοντα (δεσφερριόξαμίνης), μπορεί να προφυλάξει την επιρρέπεια του μυοκαρδίου σε κοιλιακές αρρυθμίες, που προκαλούνται από το Σύνδρομο ισχαιμίας- επαναιμάτωσης, καθώς και από τον συνδυασμό ισχαιμίας και αύξησης της αρτηριακής Πίεσης.

Επιλέχθηκε ο συνδυασμός ενός αντιοξειδωτικού παράγοντα μ' έναν σιδηροδεσμευτικό, γιατί το ασκορβικό οξύ κάτω από συνθήκες έντονης οξειδωτικής πίεσης μπορεί να καταστεί τοξικό και αυτή η μετατροπή μπορεί να καταλύεται από την παρουσία σιδήρου (αντίδραση Fenton). Ο συνδυασμός ενός αντιοξειδωτικού παράγοντα μ' έναν σιδηροδεσμευτικό δεν έχει χρησιμοποιηθεί σε άλλη παρόμοια μελέτη στην διεθνή βιβλιογραφία, και συγκεκριμένα του ασκορβικού οξέος μαζί με την δεσφερριόξαμίνη, παρά το γεγονός ότι μεμονωμένα αυτοί οι παράγοντες, έχουν χρησιμοποιηθεί.

Το εύρημα, ότι η μέγιστη ΣΑΠ που επιτεύχθηκε στα πειραματόζωα που δεν προκλήθηκε ΚΤ/ΚΜ ήταν σημαντικά υψηλότερη από εκείνη στα πειραματόζωα στα οποία προκλήθηκε, είναι ενδεικτικό ότι η ΚΤ/ΚΜ στη συγκεκριμένη ομάδα δεν οφειλόταν σε επιβολή υψηλότερης ΣΑΠ. Εξάλλου αυτό θα αναμενόταν, αφού γινόταν προσπάθεια να αυξηθεί η ΣΑΠ ώσπου να προκληθεί ΚΤ/ΚΜ. Όσο δεν προκαλούνταν ΚΤ/ΚΜ η προσπάθεια συνεχιζόταν με αποτέλεσμα να αυξηθεί σ' αυτά τα ζώα περισσότερο η ΣΑΠ. Η αύξηση της αρτηριακής πίεσης στη μελέτη μας έγινε με τη χορήγηση μεταραμινόλης που θα μπορούσε να είναι άμεσα υπεύθυνη για την πρόκληση αρρυθμιών. Ωστόσο, είναι γνωστό ότι η δράση της ασκείται αν και όχι απόλυτα, κατ' εξοχήν στους α-αδρενεργικούς υποδοχείς. Επιπλέον, οι Σιδηρές και συν.<sup>(10)</sup> έδειξαν ότι η μείωση της αρτηριακής πίεσης με αφαιμάξη σε πειραματόζωα με κοιλιακές αρρυθμίες που προκλήθηκαν με αύξηση της πίεσης προκαλούσε καταστολή των αρρυθμιών παρά τη συνέχιση της χορήγησης μεταραμινόλης. Ενώ η μέγιστη ΣΑΠ ήταν χαμηλότερη στα πειραματόζωα που τους προκλήθηκε ΚΤ/ΚΜ παρά σε εκείνα στα οποία δεν προκλήθηκε, η ΣΑΠ στους χειρισμούς που προκάλεσαν οποιαδήποτε κοιλιακή αρρυθμία ήταν υψηλότερη παρά σε κείνους που δεν προκάλεσαν αρρυθμία, όπως θα αναμενόταν από τα ήδη γνωστά ότι δηλαδή η αύξηση της πίεσης έχει αρρυθμογόνο δράση στις κοιλίες<sup>10-13,20-26</sup>. Τελικά, η ομάδα με το συνδυασμό δεσφερ+ασκ υπήρξε περισσότερο από τις άλλες ομάδες ανθεκτική στην πρόκληση ΚΤ/ΚΜ παρά τις υψηλότερες τιμές αρρυθμογόνων ερεθισμάτων (υψηλότερη μέγιστη ΣΑΠ) και τους ίδιους προκλητικούς χειρισμούς με τις άλλες ομάδες (απολίνωση, άρση της απολίνωσης, δεύτερη απολίνωση). Συμπεραίνεται ότι ο συνδυασμός των δύο φαρμάκων προσέφερε μια προστασία έναντι των κακοήθων αρρυθμιών μετά από απόφραξη στεφανιαίας αρτηρίας, άρση της απόφραξης και επαναπόφραξη.

### Σύγκριση με άλλες μελέτες

Κλινικές μελέτες χορήγησης βιταμίνης C έχουν δώσει αντιφατικά αποτελέσματα για τον ρόλο της στις καρδιαγγειακές παθήσεις.<sup>27-33</sup> Πειραματικές μελέτες είχαν επίσης αντιφατικά αποτελέσματα. Σε μοντέλα ισχαιμίας-επαναιμάτωσης σε καρδιά ποντικού, άλλες έδειξαν όφελος κι άλλες απέτυχαν να αποδείξουν κάποιο όφελος των εκκαθαριστών ελευθέρων ριζών στις αρρυθμίες επαναιμάτωσης.<sup>34,35</sup> Μερικές μόνο μελέτες εξετάζουν τον ρόλο των ελευθέρων ρι-

ζών στις αρρυθμίες επαναιμάτωσης στην καρδιά σκύλων. Αν και οι παράγοντες που εκκαθαρίζουν τις ελεύθερες ρίζες ή αναστέλλουν τον σχηματισμό τους μάλλον προστατεύουν την καρδιά των σκύλων από μεταϊσχαιμική συστολική δυσλειτουργία, η εμφάνιση θανατηφόρων αρρυθμιών επαναιμάτωσης σ' αυτές τις μελέτες ήταν τόσο σποραδική, που ο ρόλος των ελευθέρων ριζών στις αρρυθμίες επαναιμάτωσης ήταν δύσκολο να εκτιμηθεί,<sup>18,19,36-41</sup> ενώ η παρουσία σημαντικής παράπλευρης κυκλοφορίας στα ζώα αυτά προστάτευε τις κοιλίες από θανατηφόρες αρρυθμίες.<sup>42</sup> Οι οξυγονοκαθαριστές που έχουν χρησιμοποιηθεί σ' αυτές τις πειραματικές μελέτες προκειμένου να ελεγχθεί αν μειώνουν την επίπτωση της κοιλιακής μαρμαρυγής λόγω επαναιμάτωσης, σ' αντίθεση με τα συστήματα γένεσης ελευθέρων ριζών, που αυξάνουν στο μέγιστο την ευπάθεια της καρδιάς σε αρρυθμίες<sup>43</sup> είναι η υπεροξειδική δισμουτάση (SOD), η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GP) και η καταλάση (CAT) που επιταχύνουν την πρόσληψη των ηλεκτρονίων από το οξυγόνο για να σχηματισθεί ύδωρ, παρακάμπτοντας τα στάδια των πολύ τοξικών ριζών. Άλλοι οξυγονοκαθαριστές είναι η Ν-ακετυλοκυστεΐνη, και οι βιταμίνες (ή παράγωγα τους), όπως το ασκορβικό οξύ, η α-τοκοφερόλη και η β-καροτένη, η αλλοπουρινόλη, η μεθειονίνη, η μαννιτόλη, η δεσφερροιοξαμίνη.<sup>44-49</sup> Η δεσφερροιοξαμίνη αντιδρά μ' ελεύθερα ιόντα σιδήρου κι έχει αποδειχθεί ότι μειώνει την ισχαιμική βλάβη σε καρδιές κουνελιών.<sup>50</sup> Σε σκύλους που χορηγήθηκε δεσφερροιοξαμίνη κατά την πρόκληση ισχαιμίας, παρατηρήθηκε βελτίωση στην συστολική λειτουργία της καρδιάς από την βλάβη της επαναιμάτωσης έναντι των σκύλων της ομάδας ελέγχου.<sup>51</sup>

Συνεπώς, μεγάλος αριθμός μελετών, όπως αναφέρθηκε παραπάνω, είχε σαν στόχο την μείωση της βλάβης του μυοκαρδίου κατά την επαναιμάτωση, και την μείωση της επίπτωσης των κοιλιακών αρρυθμιών από το σύνδρομο ισχαιμίας-επαναιμάτωσης, χρησιμοποιώντας αντιοξειδωτικές ουσίες, ωστόσο τ' αποτελέσματα πολλές φορές ήταν αντιφατικά. Μία από τις αιτίες αυτής της αντιφατικότητας των αποτελεσμάτων στα διάφορα μοντέλα ισχαιμίας-επαναιμάτωσης θα μπορούσε να είναι το γεγονός ότι τ' αντιοξειδωτικά παρουσία ιόντων μετάλλων, όπως σιδήρου, μπορούν να δράσουν σαν προοξειδωτικά (αντίδραση Fenton). Στην περίπτωση αυτή ικανή ποσότητα ιόντων σιδήρου θα μπορούσε να έχει απελευθερωθεί κατά την διάρκεια ισχαιμίας, ούτως ώστε να υπερκερασθεί η σιδηροδεσμευτική ικανότητα του ορού.<sup>7</sup>

Είναι γνωστό ότι η αύξηση της πίεσης δημιουργεί ένα αρρυθμολογικό υπόστρωμα. Οι Σιδερός και συνεργάτες<sup>10,11</sup> αυξάνοντας μηχανικά ή φαρμακευτικά την αρτηριακή πίεση φυσιολογικών αναισθητοποιημένων σκύλων προκάλεσαν την ανάπτυξη κοιλιακών έκτοπων ρυθμών ενώ, αντίθετα, μειώνοντας την αρτηριακή πίεση παρατήρησαν αναστολή προϋπάρχουσας κοιλιακής έκτοπης δραστηριότητας. Η ίδια ερευνητική ομάδα σε κλινική μελέτη<sup>12</sup> εξέτασε την αρρυθμογόνο επίδραση των οξειών μεταβολών της αρτηριακής πίεσης σε 24 ασθενείς, στους 13 από τους οποίους προκάλεσε αύξηση της αρτηριακής πίεσης με ενδοφλέβια χορήγηση μεταραμινόλης. Επτά από τους ασθενείς αυτούς είχαν ενδείξεις καρδιακού νοσήματος ενώ οι υπόλοιποι 6 είχαν ελεύθερο καρδιολογικό ιστορικό. Η σημαντική αύξηση της συστολικής πίεσης προκάλεσε την εμφάνιση εκτάκτων κοιλιακών συστολών στους 12/13 ασθενείς, ενώ ο αριθμός των έκτοπων κοιλιακών συμπλεγμάτων ήταν μεγαλύτερος στους ασθενείς με ιστορικό καρδιοπάθειας ή προκάρδιων παλμών. Στην παρούσα μελέτη ενώ η μέγιστη ΣΑΠ ήταν χαμηλότερη στα πειραματόζωα που τους προκλήθηκε ΚΤ/ΚΜ παρά σε εκείνα στα οποία δεν προκλήθηκε, η ΣΑΠ στους χειρισμούς που προκάλεσαν οποιαδήποτε κοιλιακή αρρυθμία ήταν υψηλότερη παρά σε κείνους που δεν προκάλεσαν αρρυθμία, όπως θα αναμενόταν από τα ήδη γνωστά ότι δηλαδή η αύξηση της πίεσης έχει αρρυθμογόνο δράση στις κοιλίες.<sup>10-13,20-26</sup>

### Κλινική σημασία

Οι ασθενείς με στεφανιαία νόσο και τμηματικές διαταραχές συσπαστικότητας της αριστερής κοιλίας αποτελούν μια ομάδα με μεγάλη συχνότητα σοβαρών κοιλιακών αρρυθμιών<sup>52,53</sup> και υψηλό απόλυτο κίνδυνο αιφνίδιου θανάτου,<sup>54,55</sup> που είναι ανάλογος με το βαθμό έκπτωσης της σφαιρικής συστολικής λειτουργικότητας της αριστερής κοιλίας.<sup>56,57</sup> Το οξειδωτικό stress εμπλέκεται στην παθογένεια της αθηροσκλήρυνσης<sup>58,59</sup> και της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας,<sup>60,61</sup> στην παθολογική συσσώρευση των αιμοπεταλίων, στην καρδιακή ανεπάρκεια και σε πολλές άλλες διεργασίες που επηρεάζουν την εξέλιξη των καρδιαγγειακών νοσημάτων.<sup>62</sup> Η βιταμίνη C έχει βρεθεί ότι βελτιώνει την ενδοθηλιοεξαρθώμενη αγγειοδιαστολή της βραχιονίου αρτηρίας σε ασθενείς με διαβήτη,<sup>63</sup> σε καπνιστές,<sup>64</sup> σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο<sup>65,66</sup> και σε υπερτασικούς.<sup>67,68</sup> Δρα ως η πρώτη γραμμική άμυνας απέναντι στο οξειδωτικό stress στο ανθρώπινο σώμα αν και ο ακριβής ρόλος

της παραμένει ακόμα ασαφής. Συμπληρωματικά με την ύπαρξη της πλειάδας των αντιοξειδωτικών ενζύμων, οι οργανισμοί φαίνεται ότι διαθέτουν και ένα άλλο μηχανισμό αντίστασης εναντίον των βλαπτικών δράσεων των δραστικών μορφών οξυγόνου. Αυτός ο μηχανισμός συνίσταται στην δέσμευση ελεύθερων ιόντων μετάλλων (π.χ. Fe και Cu) καθώς και ελεύθερης αίμης ή αιμοσφαιρίνης, ούτως ώστε να αναστέλλουν την συμβολή τους σε αντιδράσεις, οι οποίες προκαλούν την δημιουργία ελεύθερων ριζών π.χ. (αντίδραση Fenton και δημιουργία φερρουλικών μορφών). Στο μέλλον το οξειδωτικό stress θα αποτελέσει έναν από τους νέους θεραπευτικούς στόχους της στεφανιαίας νόσου και των κλινικών της εκδηλώσεων.

Η μελέτη αυτή εμφανίζει ορισμένους περιορισμούς. Ο αριθμός των πειραματοζώων που αποκλείστηκαν είναι μεγάλος (12/42). Πάντως ο θάνατος στα ζώα αυτά επήλθε πριν τη χορήγηση εικονικού φαρμάκου ή των λοιπών ουσιών. Επίσης δεν υπήρχε ομάδα ελέγχου που το δεύτερο επεισόδιο ισχαιμίας δεν θα συνδυαζόταν με αύξηση της αρτηριακής πίεσης ούτως ώστε να φανεί η επίδραση της πρώτης ισχαιμίας-επαναιμάτωσης (χωρίς υπέρταση) στο τελικό αποτέλεσμα. Επιπλέον η εφαρμογή μηχανικής αύξησης της αρτηριακής πίεσης με μερική περιοχική απόφραξη της ανιούσης αορτής αντί της χρήσης μεταραμινόλης θα εξαφάνιζε τα πιθανά μειονεκτήματα από τη χρήση του υπερτασικού αυτού παράγοντα. Η ενδοφλέβια χορήγηση θεραπευτικών ουσιών σε πειραματικά πρότυπα πιθανόν υστερεί της από τον στεφανιαίο κόλπο χορήγησης που μπορεί να προκαλεί ικανοποιητικές ενδοκυττάρειες συγκεντρώσεις τους. Επίσης δεν αναφέρονται δεδομένα σχετικά με την έκταση του εμφράγματος και την πιθανή σχέση αυτής με την εμφάνιση κακοήθων αρρυθμιών. Τέλος, δεν μετρήθηκαν στο περιφερικό αίμα ή στους ιστούς, δείκτες ενδεικτικοί αντιοξειδωτικής δράσης του ασκορβικού και του συνδυασμού με δεσφεροξαμίνη (πχ συγκεντρώσεις μηλονικής διαλδεΰδης, ή συζευγμένων διενίων, ή νιτροτυροσίνης ή ισοπροστανίων) που θα πιστοποιούσαν ότι οι συγκεκριμένες δόσεις και ο τρόπος χορήγησης έχουν όντως βιολογική αντιοξειδωτική δράση.

Συμπερασματικά, στο συγκεκριμένο πειραματικό πρότυπο ισχαιμίας-επαναιμάτωσης ο συνδυασμός ασκορβικού οξέος-δεσφεροξαμίνης είχε προστατευτική αντιαρρυθμογόνο δράση συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου. Μόνος του καθένας από τους δύο αυτούς παράγοντες δεν έχει την ίδια προστατευτική δράση. Η επέλευση κακοήθους αρρυθ-

μίας δεν μπορεί να αποδοθεί σε υπέρμετρη αύξηση της πίεσης στα πειράματα που εμφανίστηκε η αρρυθμία.

## Βιβλιογραφία

- Wiggers CJ: Defibrillation of the ventricles. *Circ Res* 1953 May; 1: 191-199.
- Davies MJ, Bland JM, Hangarhner JR, Angelini A, Thomas AC: Factors influencing the presence or absence of acute coronary artery thrombi in sudden ischaemic death. *Eur Heart J* 1989; 10: 203-208.
- Engler RL, Dahlgren MD, Morris DD, Petersen MA, Schmid-Schonbein GW: Role of leukocytes in response to acute myocardial ischaemia and reflow in dogs. *Am J Physiol* 1986; 251: H314-H322.
- Simon RJ Maxwell, Gregory YH Lip: Reperfusion injury: a review of the pathophysiology, clinical manifestations and therapeutic options. *International journal of Cardiology* 1997; 58: 95-117.
- Mc Cord JM: Oxygen-derived free radicals in post-ischaemic tissue injury. *N Engl J Med* 1985; 312: 159-163.
- Parratt JR, CL.Wainwright: Failure of allopurinol and a spin trapping agent N-t-butyl-a-phenyl nitron to modify significantly ischaemia and reperfusion-induced arrhythmias. *Br. J. Pharmacol.* 1987; 91: 49-59.
- Healing G, Gower J, Fuller B, Green C: Intracellular iron redistribution. An important determinant of reperfusion damage to rabbit kidneys. *Biochem Pharmacol* 1990; 39: 1239-1245.
- Lab MJ: Contraction-excitation feedback in myocardium: physiological basis and clinical relevance. *Circ Res* 1982; 50: 757-766.
- Dean JW, Lab MJ. Arrhythmia in heart failure: Role of mechanically induced changes in electrophysiology. *Lancet* 1989; Suppl(I): 1309-1312.
- Σιδερός ΔΑ, Τουμανίδης ΣΤ, Χρυσός ΔΝ, Μερτζανίδης ΕΤ, Βάρδας ΠΕ, Μουλόπουλος ΣΔ: Η επίδραση των μεταβολών της αρτηριακής πίεσης στον καρδιακό ρυθμό. *Ελλ Καρδιολ Επιθ* 1985; 26: 52-57.
- Sideris DA, Chrysos DN, Maliaras GK, Michalis LK, Mouloupoulos SD: Effect of acute hypertension on the cardiac rhythm. Experimental observations. *J Electrocardiol* 1988; 21: 183-191.
- Sideris DA, Kontoyannis DA, Michalis L, Adractus A, Mouloupoulos SD: Acute changes in blood pressure as a cause of cardiac arrhythmias. *Eur Heart J* 1987; 8: 45-52.
- Sideris DA: High blood pressure and ventricular arrhythmias. *Eur Heart J* 1993; 14: 1548-1553.
- Shofti R, Zaretzki A, Cohen E, Engel A, Bar-EIY: The sheep as a model for coronary artery bypass surgery. *Lab Anim* 2004; 38: 149-157.
- Wang S, Gregory J. Dusting GJ, May CN and Woodman OL: 3',4'-Dihydroxyflavonol reduces infarct size and injury associated with myocardial ischaemia and reperfusion in sheep. *British J Pharm* 2004; 142: 443-452.
- Markovitz LJ, Savage EB, et al: Large animal model of left ventricular aneurysm. *Ann Thorac Surg* 1989; 48: 838-845.
- Maxwell MP, et al: Species variation in the coronary collateral circulation during regional myocardial ischaemia: a critical determinant of the rate of evolution and extent of myocardial infarction. *Cardiovasc Res* 1987; 21: 737-746.
- Bolli R, Patel BS, Zhu W-X, O'Neill PG, Hartely CJ, Charlat ML, et al: The iron chelator desferrioxamine attenuates postischemic ventricular dysfunction. *Am J Physiol* 1987; 253: H1372-H1380.
- Myers M.L., R. Bolli, RF Lekich, et al: Enhancement of recovery of myocardial function by oxygen free-radical scavengers after reversible regional ischaemia. *Circulation* 1985; 72: 915-921.
- Siogas K, Pappas S, Graekas G, Goudevenos J, Liapi G, Sideris DA: Segmental wall motion abnormalities alter vulnerability to ventricular ectopic beats associated with acute increases in aortic pressure in patients with underlying coronary artery disease. *Heart* 1998; 79: 268-273.
- Sideris DA: The importance of blood pressure in the emergence of arrhythmias. *Eur Heart J* 1987; 8: 129-131.
- Sideris DA, Toumanidis ST, Kostis EB, Diakos A, Mouloupoulos SD: Arrhythmogenic effect of high blood pressure: Some observations on its mechanism. *Cardiovasc Res* 1989; 23: 983-992.
- Σιδερός ΔΑ, Τουμανίδης ΣΘ, Κωστής ΕΒ, Διάκος Α, Μαλιάρας Γ, Μουλόπουλος ΣΔ: Αρτηριακή πίεση και κοιλιακές αρρυθμίες. Σημασία της κοιλιακής διάτασης. *Ελλ Καρδιολ Επιθ* 1987; 28: 301-306.
- Sideris DA, Toumanidis ST, Kostis EB, Spyropoulos G, Mouloupoulos SD: Effect of adrenergic blockade on pressure-related ventricular arrhythmias. *Acta Cardiol* 1991; 46: 215-225.
- Sideris DA, Toumanidis ST, Anastasiou-Nana M, Zakopoulos N, Kitsiou Anastasia, Tsagarakis K, et al: The circadian profile of extrasystolic arrhythmia: its relationship to heart rate and blood pressure. *Int J Cardiol* 1992; 34: 21-31.
- Sideris DA, Kontoyannis DA, Anastasiou-Nana M, Diakos A, Mouloupoulos SD: Effect of blood pressure on variations in ventricular ectopy. *J Ambul Monit* 1990; 3: 119-127.
- Rimm EB, Stampfer MJ, Ascherio A, et al: Vitamin E consumption and the risk of coronary heart disease in men. *N Engl J Med* 1993; 328: 1450-1456.
- Christen WG, Gaziano JM, Hennekens CH: Design of Physicians' Health Study II-a randomized trial of beta carotene, vitamins E and C, and multivitamins, in prevention of cancer, cardiovascular disease, and eye disease, and review of results of completed trials. *Ann Epidemiol* 2000; 10: 125-134.
- Riemersma RA, Carruthers KF, Elton RA, Fox KA: Vitamin C and the risk of acute myocardial infarction. *Am J Clin Nutr* 2000; 71: 1181-1186.
- Singh RB, Niaz MA, Rastogi SS, Rastogi S: Usefulness of antioxidant vitamins in suspected acute myocardial infarction (the Indian experiment of infarct survival-3). *Am J Cardiol* 1996; 77: 232-236.
- Salonen JT, Salonen R, Penttila I, et al: Serum fatty acids, apolipoproteins, selenium, vitamin antioxidants and the risk of death from coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1985; 56: 226-231.
- Enstrom JE, Kanim LE, KleinMA: Vitamin C intake and mortality among a sample of the United States population. *Epidemiol* 1992; 3: 194-202.
- Hercberg S, Preziosi P, Galan P, et al: 'The SU.VI.MAX Study': a primary prevention trial using nutritional doses of antioxidant vitamins and minerals in cardiovascular diseases and cancers. Supplementation on Vitamines et Miniraux Antioxydants. *Food Chem Toxicol* 1999; 37: 925-930.



34. Coetzee WA, Owen P, Dennis SC, Saman S, Opie LH: Reperfusion damage: free radicals mediate delayed membrane changes rather than early ventricular arrhythmias. *Cardiovasc Res* 1990; 24: 156-164.
35. Hagar JM, Hale SL, Ilvento JP, Kloner RA: Lack of significant effects of superoxide dismutase and Catalase on development of reperfusion arrhythmias. *Basic Res Cardiol* 1991; 86: 127-135.
36. Bolli R, Patel BS, Jeroudi MO, Lai EK, McCay PB: Demonstration of free radical generation in "stunned" myocardium of intact dogs with the use of the spin trap  $\alpha$ -phenyl N-tert-butyl nitron. *J Clin Invest* 1988; 82: 476-485.
37. Bolli R, Zhu W-X, Hartley CJ, Michael LH, Repine JE, L Hess, M et al: Attenuation of dysfunction in the postischaemic "stunned" myocardium by dimethylthiourea. *Circulation* 1987; 76: 458-468.
38. Farber NE, Vercellotti GM, Jacob HS, Pieper GM, Gross GJ. Evidence for a role of iron-catalyzed oxidants in functional and metabolic stunning in the canine heart. *Circ Res* 1988; 63: 351-360.
39. Gross GJ, Farber NE, Hardman HF, Warltier DC: Beneficial actions of superoxide dismutase and Catalase in stunned myocardium of dogs. *Am J Physiol* 1986; 250: H372-H377.
40. Myers ML, Bolli R, Lekich RF, et al: N-2-mercaptopyrionylglycine improves recovery of myocardial function after reversible regional ischaemia. *J Am Coll Cardiol* 1986; 8: 1161-1168.
41. Przyklenk K, Kloner RA: Superoxide dismutase plus Catalase improve contractile function in the canine model of the "stunned myocardium". *Circ Res* 1986; 58: 148-156.
42. Bolli R, Patel BS: Factors that determine the occurrence of reperfusion arrhythmias. *Am Heart J* 1988; 115: 20-29.
43. Hearse DJ, Bolli R: Reperfusion induced injury: manifestations, mechanisms, and clinical relevance. *Cardiovasc Res* 1992; 26: 101-108.
44. Bernier M, Manning AS, Hearse DJ. Reperfusion arrhythmias: dose-related protection by anti-free radical interventions. *Am J Physiol* 1989; 256: H1344-1352.
45. Bernier M, Hearse DJ: Reperfusion-induced arrhythmias: mechanisms of protection by glucose and mannitol. *Am J Physiol* 1988; 254: H862-870.
46. Riva E, Manning AS, Hearse DJ. Superoxide dismutase and the reduction of reperfusion-induced arrhythmias: in vivo dose-response studies in the rat. *Cardiovasc Drug Ther* 1987; 1: 133-139.
47. Woodward B, Zakaria MNM: Effect of some free radical scavengers on reperfusion induced arrhythmias in the isolated rat heart. *J Mol Cell Cardiol* 1985; 17: 485-493.
48. Nejima J, Knight DR, Fallon JT, et al: Superoxide dismutase reduces reperfusion arrhythmias but fails to salvage regional function or myocardium at risk in conscious dogs. *Circulation* 1989; 79: 143-153.
49. Watanabe N, Inoue M, Morino Y: Inhibition of post ischaemic reperfusion arrhythmias by an SOD derivative that circulates blind to albumin with prolonged in vivo half life. *Biochem Pharmacol* 1989; 79: 143-153.
50. Myers CL, Weiss SJ, et al: Involvement of hydrogen peroxide and hydroxyl radical in the "oxygen paradox": reduction of creatine kinase release by Catalase, allopurinol or deferoxamine but not by superoxide dismutase. *J Mol Cell Cardiol* 1985; 17: 675-685.
51. Bolli R, Patel BS, Zhu WX, et al: The iron chelator desferrioxamine attenuates postischaemic ventricular dysfunction. *Am J Physiol* 1987; 253: H1372-H1380.
52. Calvert A, Lown B, Gorlin R: Ventricular premature beats and anatomically defined coronary heart disease. *Am J Cardiol* 1977; 39: 627-634.
53. Califf RM, Burks JM, Behar VS, et al: Relationships among ventricular arrhythmias, coronary artery disease and angiographic and electrocardiographic indicators of myocardial fibrosis. *Circulation* 1978; 57: 725-732.
54. Weaver WD, Lorch GS, et al: Angiographic findings and prognostic indicators in patients resuscitated from cardiac death. *Circulation* 1976; 54: 895-900.
55. Schultz RA, Strauss HW, Pitt B: Sudden death in the year following myocardial infarction: relation to ventricular premature contractions in the late hospital phase and left ventricular function. *Am J Med* 1977; 62: 192-199.
56. Kostis JB: The prognostic significance of ventricular ectopic activity. *Am J Cardiol* 1992; 70: 807-808.
57. White HD, Norris RN, Brown MA, et al: Left ventricular end systolic volume as the major determinant of survival after recovery from myocardial infarction. *Circulation* 1987; 76: 44-51.
58. Steinberg D, Parthasarathy S, Carew T: Beyond cholesterol-modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N Engl J Med* 1989; 320: 915-924.
59. Heinecke W, Kawamura M, Suzuki L: Oxidation of low density lipoprotein by thiols: superoxide-dependent and-independent mechanisms. *J Lipid Res* 1993; 34: 2051-2061.
60. Gryglewski RJ, Palmer RM, Moncada S: Superoxide anions involved in the breakdown of endothelium-derived vascular relaxing factor. *Nature* 1986; 320: 454-456.
61. Solzbach U, Hornig B, Jeserich M, Just H: Vitamin C improves endothelial dysfunction of epicardial coronary arteries in hypertensive patients. *Circulation* 1997; 96: 1513-1519.
62. Ohara Y, Peterson TE, Zheng B: Lysophosphatidicholine increases vascular superoxide anion production via protein kinase C activation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 14: 1007-1013.
63. Timimi FK, Ting HH, Haley EA, et al: Vitamin C improves endothelium dependent vasodilation in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *J Am Coll Cardiol* 1998; 31: 552-557.
64. Raitakari QT, Adams MR, McCredie RJ, et al: Oral vitamin C and endothelial function in smokers: short-term improvement but no sustained beneficial effect. *J Am Coll Cardiol* 2000; 35: 1616-1620.
65. Levine GN, Frei B, Koulouris SN, et al: Ascorbic acid reverses endothelial dysfunction in patients with coronary artery disease. *Circulation* 1996; 93: 1107-1113.
66. Gokce N, Keaney JF Jr, Frei B, et al: Long-term ascorbic acid administration reserves endothelial vasomotor dysfunction in patients with coronary artery disease. *Circulation* 1999; 99: 3234-3240.
67. Solzbach U, Hornig B, Jeserich M, Just H: Vitamin C improves endothelial dysfunction of epicardial coronary arteries in hypertensive patients. *Circulation* 1997; 96: 1513-1519.
68. Taddei S, Virdis A, Ghiadoni L, Magagna A, Salvetti A: Vitamin C improves endothelium-dependent vasodilation by restoring nitric oxide activity in essential hypertension. *Circulation* 1998; 97: 2222-2229.