

Arritmias de reperfusión en el corazón aislado de rata. Papel del Ca^{2+} , la hipertrofia cardíaca y el tiempo de isquemia

AMIRA Z. PONCE ZUMINO, ADOLFO J. GAMBARTE, GUILLERMO SOSA SUAREZ, NORMA RISLER, ELENA RUIZ PETRICH, ELISA E. TESTASECCA

Cátedra de Fisiología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina, y Departamento de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Sherbrooke, Quebec, Canadá

Trabajo recibido para su publicación: 11/91. Aceptado: 4/92

Dirección para separatas: Cátedra de Fisiología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo, Casilla de Correos 33, (5500) Mendoza, Argentina

Se estudió el posible mecanismo de las arritmias inducidas por la reperfusión subsecuente a la ligadura de la arteria coronaria descendente anterior en corazones aislados y perfundidos de ratas. Se realizaron 60 experimentos distribuidos en cuatro grupos: *Testigos*, perfundidos con 2,5 mM de Ca^{2+} ($n = 10$); *Bajo Ca^{2+}* , con Ca^{2+} 1,25 mM ($n = 10$); *Hipertrofia*, animales con hipertrofia cardíaca secundaria a hipertensión arterial renovascular ($n = 20$); *Sham*, ratas sometidas a operación simulada ($n = 20$). Después de un período de estabilización de 20 minutos, y uno control de 15 minutos, se ligó la arteria coronaria descendente anterior por lapsos de 5 (oclusión I) y 10 minutos (oclusión II), seguidos de 10 minutos de reperfusión (reperfusión I y II respectivamente). Se registraron: el electrocardiograma en derivación II y el potencial de membrana desde la superficie epicárdica del ventrículo izquierdo. Se midieron: amplitud y duración del potencial de acción, potencial de reposo y frecuencia cardíaca. Las arritmias ventriculares evaluadas durante las reperfusiones fueron clasificadas en extrasístoles, taquicardias o fibrilaciones. El peso corporal de las ratas *Sham* e hipertensas no fue diferente, pero la presión arterial y el peso del corazón fueron significativamente mayores en el último grupo ($p < 0,005$). El 75 % de las arritmias aparecidas durante la reperfusión II se desarrolló dentro de los tres primeros minutos subsecuentes a la desoclusión, y la incidencia y severidad de las mismas dependió de la duración de la oclusión previa y también la concentración extracelular de Ca^{2+} . El estudio de la actividad eléctrica mostró, durante la oclusión I, una despolarización, salvo para el grupo *Bajo Ca^{2+}* . Asimismo hubo una disminución de la frecuencia cardíaca en todos los grupos, con un concomitante aumento de la duración de los potenciales de acción, excepto en *Hipertrofia*. En la oclusión II también estuvo presente la despolarización, pero ni la frecuencia cardíaca ni la duración de los potenciales de acción se modificaron. La amplitud de los potenciales de acción varió de acuerdo con el potencial de reposo. Un hallazgo frecuente fue la presencia de pospotenciales particularmente tardíos durante las oclusiones y reperfusiones. Del análisis de estos resultados se pueden extraer los siguientes hechos: a) la disminución de la concentración extracelular de Ca^{2+} reduce la incidencia de las arritmias de reperfusión; b) la frecuencia en la aparición de estas arritmias guarda relación directa con el tiempo de la isquemia previa, y c) la presencia de hipertrofia cardíaca no modifica los trastornos del ritmo durante la reperfusión. Aunque no se pudo aclarar el mecanismo íntimo responsable de la aparición de estas arritmias, la presencia frecuente de posdespolarización tardía sugiere la posibilidad de que la actividad gatillada podría estar involucrada.

Los estudios sobre los efectos de la reoxigenación del miocardio isquémico son importantes porque la desoclusión experimental de una arteria coronaria en corazones aislados reproduce, bastante fielmente, situaciones que se presentan en la clínica cardiológica. Esto sucede cuando un espasmo coronario cede en forma espontánea o cuando, por tratamiento trombolítico o angioplástico, se revasculariza la zona

isquémica inmediatamente después del infarto agudo de miocardio.

El corazón aislado de rata ha sido considerado como un modelo apropiado para el estudio de los cambios eléctricos en la reperfusión, durante la cual se desarrollan con mucha frecuencia arritmias ventriculares.

Se ha sugerido que la sobrecarga de calcio juega un papel importante en el desencadena-

miento de las arritmias que se manifiestan durante la isquemia miocárdica y en la reperfusión.^{1,2} Este incremento del calcio citosólico puede deberse a: a) aumento de la corriente entrante de Ca^{2+} , b) inversión en la dirección de funcionamiento del intercambiador $\text{Na}^+:\text{Ca}^{2+}$ y c) liberación desde el retículo sarcoplásmico.³ Asimismo se ha demostrado que los miocitos de corazones hipertróficos de ratas incrementan efectivamente el calcio citosólico por aumento de la corriente entrante de este ión, y que el intercambiador $\text{Na}^+:\text{Ca}^{2+}$ es menos sensible al calcio intracelular en estos corazones, lo que podría aumentar la susceptibilidad para desarrollar arritmias durante la reperfusión.^{4,5}

Con el objeto de tratar de dilucidar estos mecanismos se estudiaron las arritmias de reperfusión en el corazón aislado de rata, en distintas condiciones experimentales: 1) Baja concentración de Ca^{2+} , para determinar el papel del Ca^{2+} extracelular. 2) Modificación de la duración de la isquemia, determinante de la acumulación de Na^+ . 3) Inducción de hipertrofia cardíaca como mecanismo eventual de disminución de la densidad de los canales de Ca^{2+} disponibles.⁶⁻⁸

MATERIAL Y METODO

Se trabajó con corazones aislados de rata, latiendo espontáneamente, perfundidos a $35 \pm 0,5^\circ\text{C}$ y 10-12 ml/min con Tyrode conteniendo (en mM): ClNa , 121; SO_4Mg , 1,20; CO_3HNa , 25; ClK , 5; $\text{PO}_4\text{H}_2\text{Na}$, 1,17; Cl_2Ca , 2,50 y glucosa 5,5, gaseado con carbógeno y a pH $7,40 \pm 0,05$. Se utilizaron ratas Wistar con un peso corporal de 250 a 300 g sin distinción de sexo. El protocolo experimental consistió en 20 minutos de estabilización seguidos de 15 minutos de control (C), al cabo de los cuales se ligó la arteria coronaria descendente anterior, con hilo de seda 5-0, manteniendo la oclusión 5 y 10 minutos (oclusión I y II respectivamente), cada una de ellas seguida de 10 minutos de desoclusión (reperfusión I y II, respectivamente).

Se realizaron 60 experimentos distribuidos en cuatro grupos: **Testigos**, en las condiciones descriptas ($n = 10$); **Bajo Ca^{2+}** , con concentración de Cl_2Ca 1,25 mM ($n = 10$); **Hipertrofia** (corazones de ratas con hipertensión tipo Goldblatt 1 clip-2 riñones) ($n = 20$) y **Sham** (corazones de ratas con operación simulada) ($n = 20$). Para obtener las ratas hipertensas (**Hipertrofia**) se usaron ratas Wistar de 100 g de peso, a las cuales se les colocó, bajo anestesia con éter, un clip de plata de 0,22 mm en la arteria renal izquierda, dejando el riñón contra-

lateral intacto. Simultáneamente, las ratas (**Sham**) fueron sometidas a una falsa operación. En ambos grupos, dos veces por semana, se pesaron los animales y se midió la presión arterial en la cola, por un método pletismográfico. Estos animales fueron utilizados para el experimento entre ocho a diez semanas después de la intervención quirúrgica.

Para registrar el electrocardiograma epicárdico en derivación II y en forma continua, se usaron dos pequeños electrodos extracelulares. Los electrodos consistían en alambres de plata protegidos en su extremo por un algodón embebido en el líquido de perfusión, que fueron ubicados en la punta del ventrículo izquierdo y en la orejuela derecha. El potencial de membrana de las células epicárdicas del ventrículo izquierdo se determinó con microelectrodos convencionales de vidrio, llenos con ClK 3M y hechos flexibles con un hilo de tungsteno. Las penetraciones fueron limitadas a la zona donde la perfusión con Cardio-Green había demostrado falta de irrigación subsecuente a la ligadura arterial. La extensión de la zona del infarto fue similar a la cuantificada por Kannegiesser y colaboradores por medio de microesferas radioactivas.⁹

Para los registros se utilizaron: un electrocardiógrafo Twin Viso, un seguidor catódico de alta impedancia de entrada, un osciloscopio Tektronix 565 y una cámara Grass C4 de avance automático. Se midieron los siguientes parámetros: amplitud del potencial de acción (APA), potencial de reposo (PR), duración del potencial de acción a nivel de repolarización completa (DPA) y frecuencia cardíaca (FC).

Las arritmias ventriculares evaluadas en la reperfusión fueron clasificadas en: extrasístoles ventriculares (EV), aisladas, en duplas o en salvas; taquicardia ventricular (TV), cinco o más complejos prematuros consecutivos autolimitados o sostenidos; y fibrilación ventricular (FV), en episodios o duradera (ver Figura 1). A los efectos del análisis, los corazones que presentaron menos de cinco EV por minuto fueron considerados sin arritmias.

Se realizó el tratamiento estadístico de los resultados correspondientes a peso corporal, peso del corazón y presión arterial entre **Sham** e **Hipertrofia**, por medio del test de "t". Las comparaciones múltiples de los otros parámetros se efectuaron usando ANOVA-1 y ANOVA-2, y se aplicaron los tests de Duncan y de Tau respectivamente para averiguar la significación estadística de las diferencias entre los grupos, considerándose significativa una $p < 0,05$.

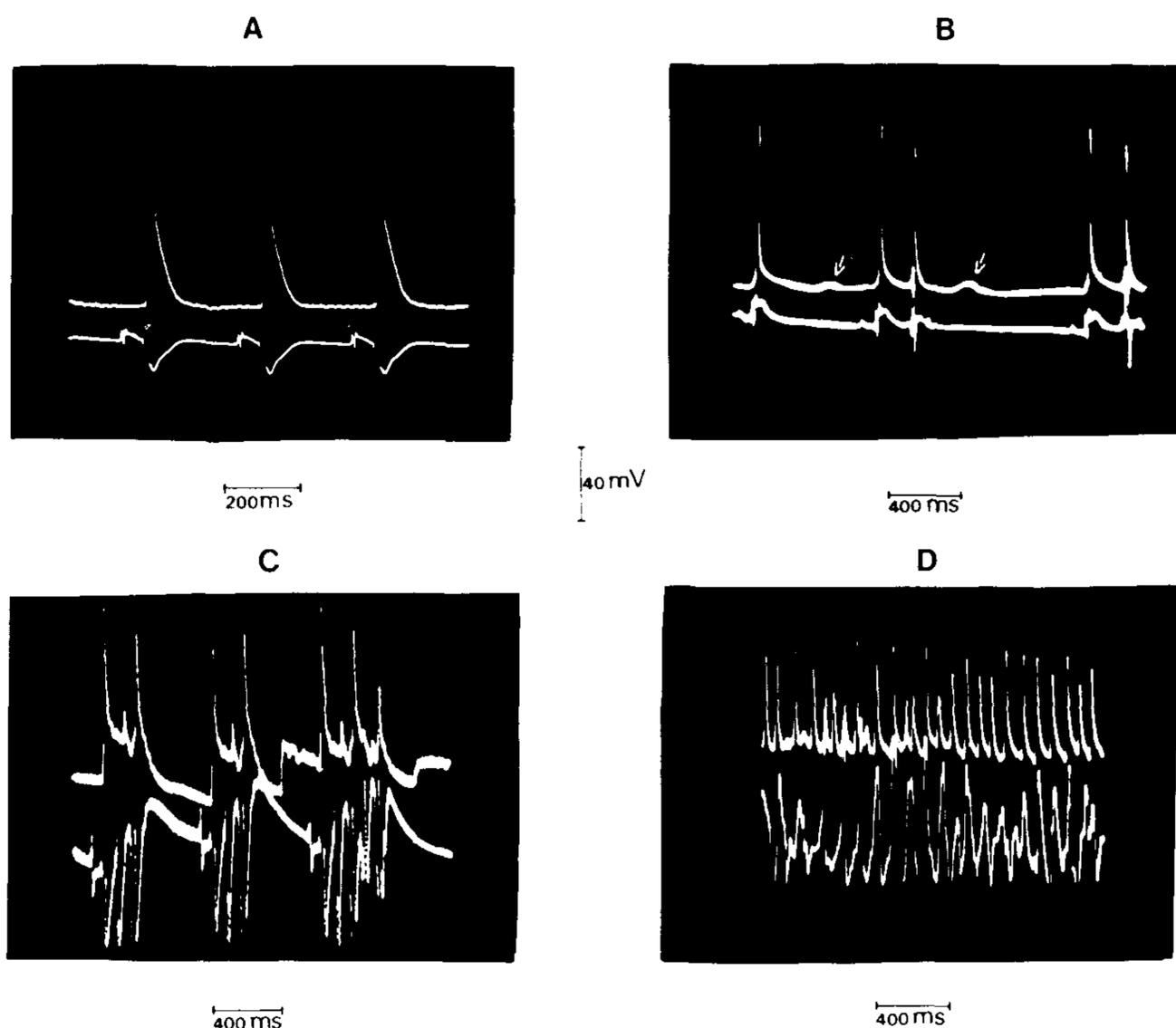


Fig. 1. Registros de potencial de membrana (trazado superior) y electrocardiograma en DII (trazado inferior) ilustrando los tipos de arritmias evaluadas. A: CONTROL. B: EV bigeminadas. C: EV en duplas (dos primeros trazados) con episodio de TV autolimitada al final. D: FV sostenida.

RESULTADOS

La diferencia entre el peso corporal de las ratas **Sham** ($233,83 \pm 12,2$ g) y las hipertensas ($250,48 \pm 9,2$ g) no fue significativa. En cambio, el peso del corazón ($0,95 \pm 0,07$ g y $1,21 \pm 0,04$ g respectivamente) fue mayor en el último grupo ($p < 0,005$). Esto permitió confirmar que la hipertensión desarrollada por estos animales (190 ± 21 mmHg vs 135 ± 20 mmHg de las **Sham**) provocó hipertrofia cardíaca.

El 75% de las arritmias inducidas por la reperfusión II se desarrolló precozmente, dentro de los tres primeros minutos, con la siguiente distribución temporal: 43% entre 0 y 1 minuto; 33% entre 1 y 2 minutos y 24% entre 2 y 3 minutos.

La Figura 1 muestra algunos ejemplos de las arritmias ventriculares encontradas durante la reperfusión. En la parte B de esta Figura se pueden observar EV bigeminadas, mientras que en el panel C se muestran EV en duplas (dos primeros trazados) y un episodio de TV autolimitada en la parte final del mismo. En D se ve una FV sostenida.

La incidencia de arritmias y la severidad de las mismas se presentan en la Tabla 1. En todos los grupos la frecuencia de aparición de los trastornos del ritmo dependió de la duración de la oclusión previa, lo mismo que la gravedad de los diferentes tipos de arritmia, ya que la ocu-

rrencia de FV aumentó en detrimento de las EV en la reperfusión II. El bajo calcio disminuyó significativamente tanto la incidencia como la severidad de las arritmias. La hipertrofia, en cambio, no alteró la presencia y las características de los disturbios del ritmo encontrados durante la reperfusión.

La Figura 2A muestra que en el grupo Testigo la oclusión más larga produjo la despolarización esperada como consecuencia de la acumulación extracelular de K^+ y una recuperación por encima del valor control que puede atribuirse a una estimulación de la bomba Na^+ .¹⁰ Estos cambios del PR no fueron observados en **Bajo Ca^{2+}** . En los grupos **Sham** e **Hipertrofia** la despolarización durante la primera oclusión fue más acentuada que en el **Testigo**, y la recuperación, durante las reperfusiones, fue incompleta. Las variaciones de la amplitud del potencial de acción correspondieron a las del PR, sin cambios significativos en la magnitud de la inversión de la polaridad (*overshoot*).¹¹

En la Figura 2B se ilustran los cambios de la duración del potencial de acción durante los dos períodos de oclusión. La primera oclusión produjo un aumento significativo de la DPA que estuvo correlacionado con una disminución acentuada de la frecuencia cardíaca en todos los grupos, excepto en el de corazones hipertroficados, en el cual se produjo bradicardia, sin mo-

Tabla 1
Incidencia y severidad de las arritmias inducidas por la reperfusión

GRUPO	N	REPERFUSION I				REPERFUSION II			
		INC %	EV %	TV %	FV %	INC %	EV %	TV %	FV %
TESTIGO	10	40	71	21	8	90	18	50	32
BAJO CALCIO	10	10	100	—	—	30	67	33	—
SHAM	20	41	55	36	9	82	32	39	29
HIPERTROFIA	20	50	50	38	12	80	28	36	36

Incidencia y distribución de las arritmias encontradas durante la reperfusión después de oclusión de 5 minutos (REPERFUSION I) y de 10 minutos (REPERFUSION II). N, número de corazones de cada grupo. INC %, porcentaje de corazones que desarrollaron arritmias respecto de N. EV %, TV % y FV %, porcentaje de extrasístoles ventriculares, taquicardias ventriculares y fibrilaciones ventriculares en relación con la incidencia respectivamente.

dificación de la DPA. Los efectos de la primera oclusión sobre la FC y la DPA no se reprodujeron en la segunda.

Cabe señalar que en condición control la DPA del grupo **Hipertrofia** fue significativamente mayor ($p < 0,005$) que la del grupo **Sham** ($86,52 \pm 2,06$ ms, $n = 125$, vs $78,79 \pm 1,79$ ms, $n = 112$), como fuera demostrado por nuestro grupo, trabajando con corazones hipertróficos de ratas, sometidas a hipoxia hipobárica crónica, y por Aronson.^{12, 13}

La presencia de arritmias durante los períodos de reperfusión, particularmente reperfusión II, impidió un análisis adecuado de los parámetros del potencial de acción, los que dependen no sólo de la FC sino también de la regularidad de la duración del ciclo. Por otra parte, dado que la incidencia y la severidad de las arritmias parecen estar condicionadas por los cambios celulares que ocurren durante la oclusión, se puede esperar que las alteraciones eléctricas producidas por la isquemia contribuyan

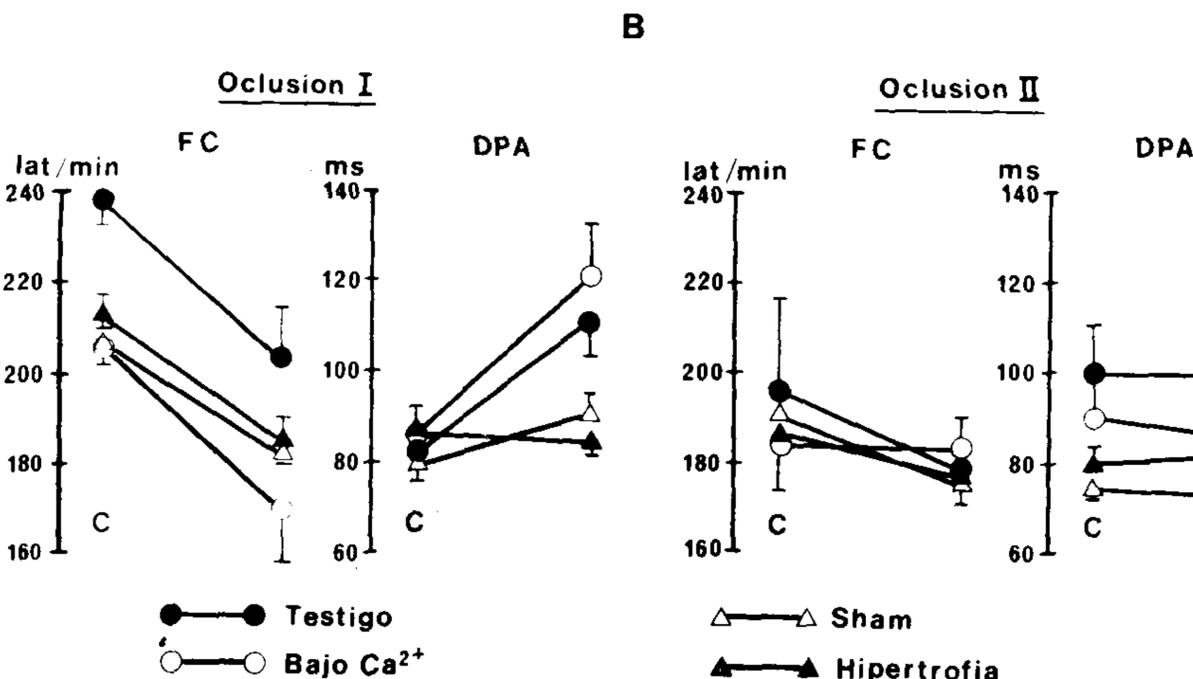
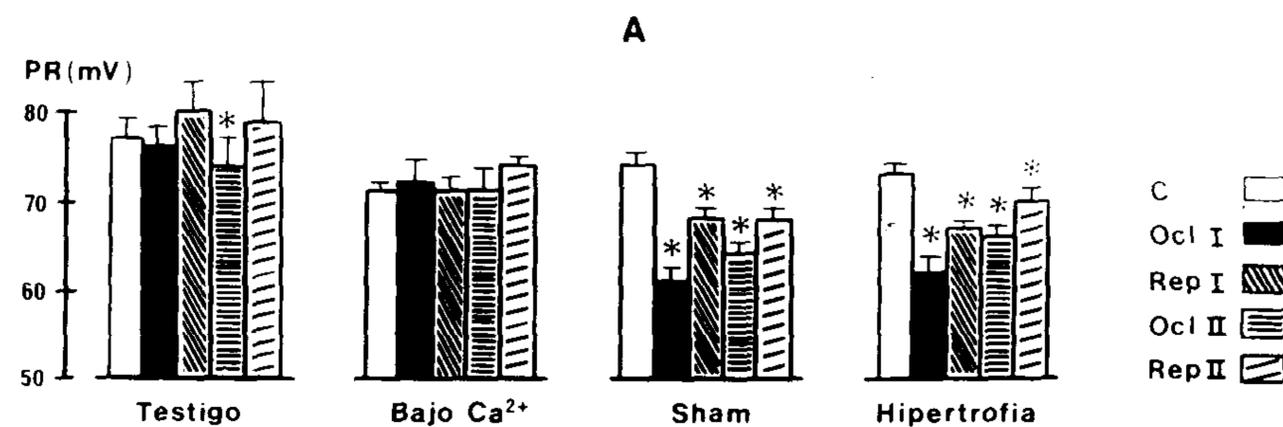


Fig. 2. Modificaciones de los parámetros eléctricos. A: Comportamiento del potencial de reposo durante cada período experimental. La altura de las barras indica el valor promedio \pm error estándar, de los últimos 3 minutos (considerado estado estable). Número de mediciones entre 20 y 80. El asterisco indica diferencia estadísticamente significativa con respecto al control. B: Cambios de la frecuencia cardíaca y la duración del potencial de acción durante la oclusión de 5 minutos (Oclusión I) y la oclusión de 10 minutos (Oclusión II). Igual que en la parte A, los valores son promedios \pm error estándar, de mediciones en estado estable.

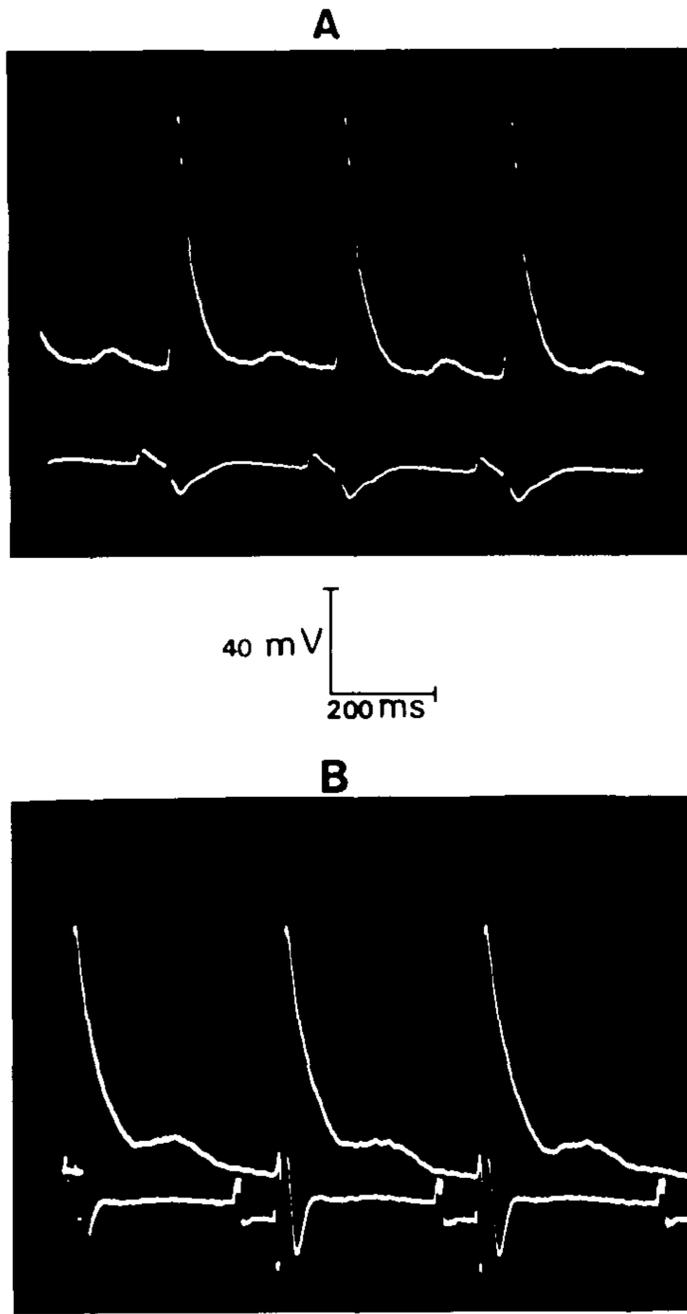


Fig. 3. Presencia de pospotenciales tardíos independientemente de la ocurrencia de arritmias. En A, durante Oclusión I, corazón del grupo TESTIGO, y en B, durante Reperusión I, grupo HIPERTROFIA.

a determinar el mecanismo de la arritmias por desarrollarse durante la reoxigenación.

Las Figuras 1B (flechas) y 3 muestran un hallazgo bastante frecuente: la presencia de pospotenciales tardíos, tanto durante la oclusión (3A) como durante la reperusión (3B). Estas posdespolarizaciones no siempre estuvieron correlacionadas con la aparición de arritmias.

DISCUSION

El estudio de la actividad eléctrica celular durante la oclusión y la reperusión puede proporcionar indicios sobre el o los cambios subyacentes al desarrollo de las arritmias observadas. Tres mecanismos son generalmente invocados para explicar la génesis de los trastornos del ritmo durante la reperusión: aumento del automatismo, reentrada y/o actividad gatillada.¹⁴

En nuestras condiciones experimentales y con los resultados aquí presentados no podemos confirmar si alguno de ellos interviene con ex-

clusividad o si, posiblemente, se trata de un mecanismo mixto.

Nuestros datos indican que la incidencia y la severidad de las arritmias de reperusión están relacionadas con la duración de la oclusión precedente, lo que coincide con lo publicado por otros autores, entre ellos Manning y Hearse.¹⁵ La mayor frecuencia de las arritmias en la reperusión II, aparentemente no fue debida a un efecto acumulativo de dos oclusiones sucesivas porque, en experimentos complementarios, la ocurrencia de arritmias no varió cuando las dos oclusiones fueron de la misma duración. La relación entre la duración de la oclusión y la incidencia de arritmias, agregado al desarrollo precoz de las mismas, apoya la hipótesis de que el mecanismo arritmogénico no sólo está determinado por los efectos de la isquemia, sino también por el proceso de restitución del flujo que ocurre durante la reperusión. Nuestros resultados también indican que la concentración extracelular de Ca^{2+} desempeña un papel importante en el desencadenamiento de las arritmias.²

La presencia de pospotenciales tardíos (Figuras 3 y 1B) refleja la existencia de corrientes transitorias de entrada, consideradas como el sustrato funcional subyacente al desarrollo de una arritmia gatillada. Está ampliamente demostrado que estas corrientes transitorias ocurren como respuesta a elevaciones, también transitorias, del calcio libre intracelular.^{16, 17} En nuestros experimentos, el aumento de la DPA durante la oclusión favorecería un mayor influjo de Ca^{2+} , pero es evidente que éste no es el único determinante del aumento citosólico de Ca^{2+} , porque la DPA no aumentó durante la segunda oclusión y sin embargo la incidencia de arritmias fue mayor durante la reperusión II. El mecanismo adicional que puede haber contribuido a la sobrecarga de Ca^{2+} es el intercambiador $\text{Na}^+:\text{Ca}^{2+}$ que, funcionando en modo invertido, promueve la salida de Na^+ y la entrada de Ca^{2+} . Este mecanismo explicaría la mayor incidencia de arritmias, porque la duración de la isquemia favorece la acumulación de Na^+ debida sobre todo a la activación del intercambiador $\text{Na}^+:\text{H}^+$ producida por la acidosis existente.^{6, 18} Además, la acidosis induce la liberación de Ca^{2+} del retículo sarcoplásmico, lo que explicaría la aparición de pospotenciales aun durante la oclusión (Figs. 3 y 1B).³

El aumento de la DPA durante la isquemia (Fig. 2B) es probablemente secundario a la bradicardia y reflejaría un incremento en la corriente de Ca^{2+} , sistema responsable de las variaciones de DPA con la frecuencia de estimula-

ción.^{19,20} En consecuencia, si la DPA a 100% de repolarización es determinada sobre todo por I_{Ca} , la mayor DPA de la Hipertrofia respecto de Sham, durante el período de control, indicaría que esta corriente está aumentada en las células hipertróficas.¹⁶ Sin embargo, la DPA no se prolongó en respuesta a la bradicardia, lo que sugiere que el aumento de superficie de la membrana, que ocurre con la hipertrofia, no se acompaña con un aumento proporcional del número de canales de calcio, *up regulation*, de manera que no se observa respuesta a los estímulos que normalmente incrementan I_{Ca} . La eliminación de este mecanismo eventual de aumento del influjo de Ca^{2+} explicaría que la incidencia de arritmias no varió en el grupo Hipertrofia.

En resumen, los resultados aquí presentados apoyan los siguientes hechos:

- 1) La disminución de la concentración extracelular de Ca^{2+} disminuye la incidencia de las arritmias de reperfusión.
- 2) La frecuencia de aparición de estas arritmias guarda relación directa con la duración de la isquemia previa.
- 3) La presencia de hipertrofia cardíaca no modifica la incidencia de los trastornos del ritmo durante la reperfusión.

Si bien no se pudo aclarar el mecanismo electrofisiológico responsable de la aparición de estas arritmias, la presencia frecuente de posdepolarizaciones tardías sugiere que la actividad gatillada podría estar involucrada.

SUMMARY

Reperfusion-induced arrhythmias and their possible mechanisms of production were studied in isolated-perfused rat hearts. The experiments were performed on 4 different groups of animals: 1) Control = Testigo, the hearts were perfused with 2.5 mM $CaCl_2$ in Tyrode solution (n = 10). 2) Low calcium = Bajo Ca^{2+} , perfused with $CaCl_2$ 1.25 mM (n = 10). 3) Hypertrophic hearts from rats with renovascular hypertension = Hipertrofia (n = 20). 4) Hearts from normotensive sham operated rats = Sham (n = 20). The experiments in the two groups were performed 8 weeks after the operation. The experimental protocol consisted of 20 minutes of perfusion to reach the steady state, 15 minutes of control period after which the anterior descending coronary artery was ligated with 5-0 silk during 5 minutes (occlusion I) or 10 minutes (occlusion II) followed by 10 minutes of reperfusion (reperfusion I or II respectively). The electrocardiogram in lead II and transmembrane potentials from the epicardial surface of the left ventricle were recorded. Action potential amplitude, resting potential, action potential duration at full repolariz-

ation, and heart rate measured. Ventricular extra-beats, ventricular tachycardia and ventricular fibrillation were evaluated during reperfusion periods. There were no differences in body weight between Sham and Hipertrofia but heart weight and blood pressure values were greater ($p < 0.005$) in Hipertrofia. Seventy five percent of the arrhythmias observed in reperfusion II period started within 3 minutes of disocclusion of the artery. The incidence and severity of the arrhythmias was highly dependent of the duration of the previous occlusion and on the extracellular calcium concentration. During occlusion I, the resting potential decreased in all groups except in Bajo Ca^{2+} . The cardiac rate diminished and this was accompanied by an increase in action potential duration, except in Hipertrofia. During occlusion II there was also a depolarization but no changes in frequency. A quite frequent finding was the presence of delayed after depolarizations during occlusions of reperfusion, without any predictive significance about the possibility of appearance of an arrhythmia. Our results demonstrate that: a) when extracellular calcium concentration was reduced to half of the normal there was a decrease in the incidence of the reperfusion arrhythmias; b) their frequency was directly related with the duration of the preceding period of ischemia and c) in the hypertrophic hearts the incidence of arrhythmias during the reperfusion period did not change. According to the rather frequent presence of after depolarizations we think that triggered activity could be involved in the mechanism of the reperfusion-induced arrhythmias.

BIBLIOGRAFIA

1. Shen AC, Jennings RB: Kinetics of calcium accumulation in acute myocardial ischaemic injury. *Am J Pathol* 1972; 67: 441-452.
2. Tani M: Mechanisms of Ca^{2+} overload in reperfused ischemic myocardium. *Ann Rev Physiol* 1990; 52: 543-559.
3. Orchard CH, Houser SR, Kort AA et al: Acidosis facilitates spontaneous sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} release in rat myocardium. *J Gen Physiol* 1987; 90: 145-165.
4. Keung EC: Calcium current is increased in isolated adult myocytes from hypertrophied rat myocardium. *Circ Res* 1989; 64: 753-763.
5. Hanf R, Dubraix I, Marotte F et al: Rat cardiac hypertrophy: altered sodium-calcium exchange activity sarcolemmal vesicles. *FEBS Lett* 1988; 236: 145-149.
6. Lazdunski M, Frelin C, Vigne P: The sodium/hydrogen exchange system in cardiac cells: its biochemical and pharmacological properties and its role in regulating internal concentrations of sodium and internal pH. *J Mol Cell Cardiol* 1985; 17: 1029-1042.
7. Kleiman RB, Houser SR: Calcium currents in normal and hypertrophied isolated feline ventricular myocytes. *Am J Physiol* 1988; 255: H1434-1442.
8. Heller LJ, Stauffer EK: Membrane potentials and contractile events of hypertrophied rat cardiac muscle. *Proc Soc Exptl Biol Med* 1981; 166: 141-147.
9. Kannengiesser GJ, Lubbe WF, Opie LH: Experimental myocardial infarction with left ventricular failure in the isolated perfused rat heart. Effects of isoproterenol and pacing. *J Mol Cell Cardiol* 1975; 7: 135-151.

10. Wilde AAM, Escande D, Schumacher CA et al: Potassium accumulation on the globally ischemic mammalian heart. A role for the ATP-sensitive potassium channel. *Circ Res* 1990; 67: 835-843.
11. Inoue F, MacLeod BA, Walker MJA: Intracellular potential changes following coronary occlusion in isolated perfused rat hearts. *Can J Physiol Pharmacol* 1984; 62: 658-664.
12. Saldeña TA, Ponce Zumino AZ, Draque J, Suárez Estrade JRE: Acute and chronic myocardial hipoxia: effect on the ventricular action potential. *Can J Physiol Pharmacol* 1972; 50: 1201-1205.
13. Aronson RS: Characteristics of action potentials of hypertrofied myocardium from rats with renal hypertension. *Circ Res* 1980; 47: 443-454.
14. Pogwizd SM, Corr PB: Electrophysiologic mechanisms underlying arrhythmias due to reperfusion of ischemic myocardium. *Circulation* 1987; 76: 404-426.
15. Manning AS, Hearse DJ: Review reperfusion induced arrhythmias: mechanisms and prevention. *J Mol Cell Cardiol* 1984; 16: 497-518.
16. Aronson RS: Afterpotentials and triggered activity in hypertrophied myocardium from rats with renal hypertension. *Circ Res* 1981; 48: 720-727.
17. Cranefield PF, Aronson RS: The causes, characteristics, and consequences of early afterdepolarizations. *In: Cardiac Arrhythmias: The role of triggered activity and other mechanisms.* Futura Publishing Co, New York, 1988; Cap XIV, pp 431-479.
18. Grinwald PM, Brosnahan C: Sodium imbalance as a cause of calcium overload in post-hypoxic reoxygenation injury. *J Mol Cell Cardiol* 1987; 19: 487-495.
19. Payet MD, Schanne OF, Ruiz-Ceretti E: Frequency dependence of the ionic currents determining the action potential repolarization in rat ventricular muscle. *J Mol Cell Cardiol* 1981; 13: 207-215.
20. Bernier M, Curtis MJ, Hearse DJ: Isquemia-induced and reperfusion-induced arrhythmias: importance of heart rate. *Am J Physiol* 1989; 256: H21-H31.