

Amiodarona en ratas con daño miocárdico inducido por stress. Hallazgos histológicos y ultraestructurales

Amiodarone on stress-induced myocardial damage in the rat. Histological and ultrastructural findings

J. MILEI*+
N. J. BOLOMO***+
E. GARCILAZO***
R. STORINO****
D. J. PIÑEIRO*****
M. VAZQUEZ BLANCO*****

* Jefe de la Sección Patología. Fundación H. Pombo de Rodríguez.

** H.I.C. Fundación H. Pombo de Rodríguez.

*** Jefe del Departamento de Cardiología Hospital Militar Central.

**** Investigador. S.A.C.

***** Hospital Escuela "José de San Martín".

+ Docente Autorizado de Medicina. Universidad Nacional de Buenos Aires.

While the antianginal and antiarrhythmic effects of amiodarone (AMD) are well-documented, its actions on stress-myocardial damage are not. For last actions twenty-five rats undergoing experimental study were divided in two groups. The first group (G-1) was used as a control and animals in group 2 (G-2) received AMD 10 mg per kilogram. Five minutes before injection were injured with stress, consisting of intermittent cold water jets (0°C). Animals were sacrificed one hour after injections. At autopsy, the following lesions were observed: G-1: myocytolysis (2.2 ± 0.79), contraction bands (1.2 ± 1.03) and early necrosis (0.8). G-2: myocytolysis (1.6 ± 0.63), contraction bands (0.67 ± 0.82) and early necrosis (0.7). AMD markedly inhi-

Los efectos antianginosos y antiarrítmicos de la amiodarona (AMD) están bien documentados, no así las acciones de esta droga sobre el daño miocárdico en el "stress". Para analizar este último factor fueron estudiadas 25 ratas divididas en dos grupos. El primer grupo (G-1) se utilizó como control y los animales del segundo grupo (G-2) recibieron AMD 10 mg/kg de peso. Cinco minutos antes de la inyección fueron agredidos mediante "stress" consistente en chorros intermitentes de agua fría (0°C). Los animales fueron sacrificados una hora después de las inyecciones. En la autopsia se observaron las siguientes lesiones: G-1: miocitolisis ($2,2 \pm 0,79$), bandas de contracción ($1,2 \pm 1,03$) y necrosis temprana (0,8). G-2: miocitolisis ($1,6 \pm 0,63$), bandas de contracción ($0,67 \pm 0,82$) y necrosis temprana (0,7). La AMD inhibe marcadamente la miocitolisis inducida por stress ($p < 0,01$) como así también, aunque no significativamente, la gravedad y extensión de las bandas de contracción y áreas de necrosis temprana. Como el primer estadio de la miocitolisis sería la causa de la fibrilación ventricu-

Dirección postal:
Address for reprints:
Dr. José Milei
H.I.C. Fundación H. Pombo
de Rodríguez
Coronel Díaz 2423
(1425) Buenos Aires
Argentina

bited stress-induced myocytolysis ($p < 0.01$) as well as but not significantly severity and extension degrees of contraction bands and the extension of early necrotic areas. As the first stage of myocytolysis would give rise to ventricular fibrillation, AMD appears to have some morphological support to be used in the prevention of lesions which appear in sudden death.

Amiodarone (AMD) [2 butyl-3-(3,5-diiodo-4-diethylaminoethoxy-benzoyl)-benzofuran] a benzofuran derivative, was introduced as an antiarrhythmic drug in 1970,¹ although it has been used as an antianginal drug since 1967.²

In last ten years, AMD has been extensively used as an antianginal drug³ in variant angina and its accompanying ventricular arrhythmias,⁴ and was found to be effective in the prevention and treatment of arrhythmias, particularly when associated with the Wolff-Parkinson-White syndrome.⁵ Accordingly, AMD appears to be an ideal antiarrhythmic agent in several respects.⁶

Recently, Lubbe⁷ demonstrated that AMD caused in the isolated rat heart an increase in the ventricular fibrillation threshold both before and after coronary arterial ligation. Similarly, AMD decreased the incidence of ventricular extrasystoles, ventricular tachycardia and fibrillation during the period of ischemia after coronary artery ligation and also after reperfusion of the ischemic myocardium.

To our knowledge, no reports in the literature have discussed the effects of AMD on "contraction bands", an histological myocardial lesion found in "stress",⁸ acute myocardial infarction,⁹ sudden death^{9,10} and reperfusion and possibly the origin of ventricular lethal arrhythmias.^{9,10}

This work was undertaken to study the effects of AMD on stress-induced myocardial damage in the rat and to obtain morphological background on probable AMD mechanisms of action.

MATERIAL AND METHODS

Twenty-five Wistar rats of either sex, weighing from 180 to 250 g, were used. Prior to experiment water and commercial rat food were allowed ad libitum. Rats were maintained in

lar, la AMD parece tener cierto soporte morfológico para ser usada en la prevención de las lesiones que aparecen en la muerte súbita.

La amiodarona (AMD) [2 butil-3 (3,5 diiodo-4-diethyl amino etoxibenzol) benzofurano] se introdujo como una droga antiarrítmica en 1970.¹ Sin embargo, se utilizó como medicación antianginosa a partir de 1967.²

En los últimos diez años la AMD se usa extensamente como una droga antianginosa³ (angina de Prinzmetal) y antiarrítmica, sobre todo en arritmias ventriculares⁴ y en aquellas asociadas con el síndrome de Wolff-Parkinson-White.⁵ Por lo tanto parece ser el antiarrítmico ideal en afecciones graves.⁶

Recientemente, Lubbe⁷ demostró el efecto de la AMD en el corazón aislado de rata y sobre el incremento de la fibrilación ventricular desencadenada antes y después de la ligadura de la arteria coronaria. La AMD disminuye la incidencia de extrasistolia, taquicardia y fibrilación ventriculares, en forma similar, durante el período de isquemia, provocado por la ligadura de la arteria coronaria y también después de la perfusión del miocardio isquémico.

Según nuestros conocimientos, no hay casos comunicados en la literatura que describan los efectos de la AMD sobre "las bandas de contracción", lesiones histológicas miocárdicas halladas en el "stress",⁸ infarto agudo de miocardio,⁹ muerte súbita,^{9,10} perfusión y posible origen de las arritmias ventriculares letales.^{9,10}

Este trabajo se realizó con el fin de estudiar los efectos de la AMD sobre el daño miocárdico inducido por stress en la rata, y para obtener unas pruebas morfológicas de los probables mecanismos de acción de la droga.

MATERIAL Y METODOS

Fueron utilizadas 25 ratas Wistar de ambos sexos cuyo peso varió de 180 a 250 g, que ingirieron agua y alimento comercial según necesidad. Las ratas permanecieron en jaulas separadas y se dividieron en dos grupos.

El primer grupo (G-1) se utilizó como control, y estuvo conformado por 10 ratas. Los animales del segundo grupo (G-2) (n=15) recibieron

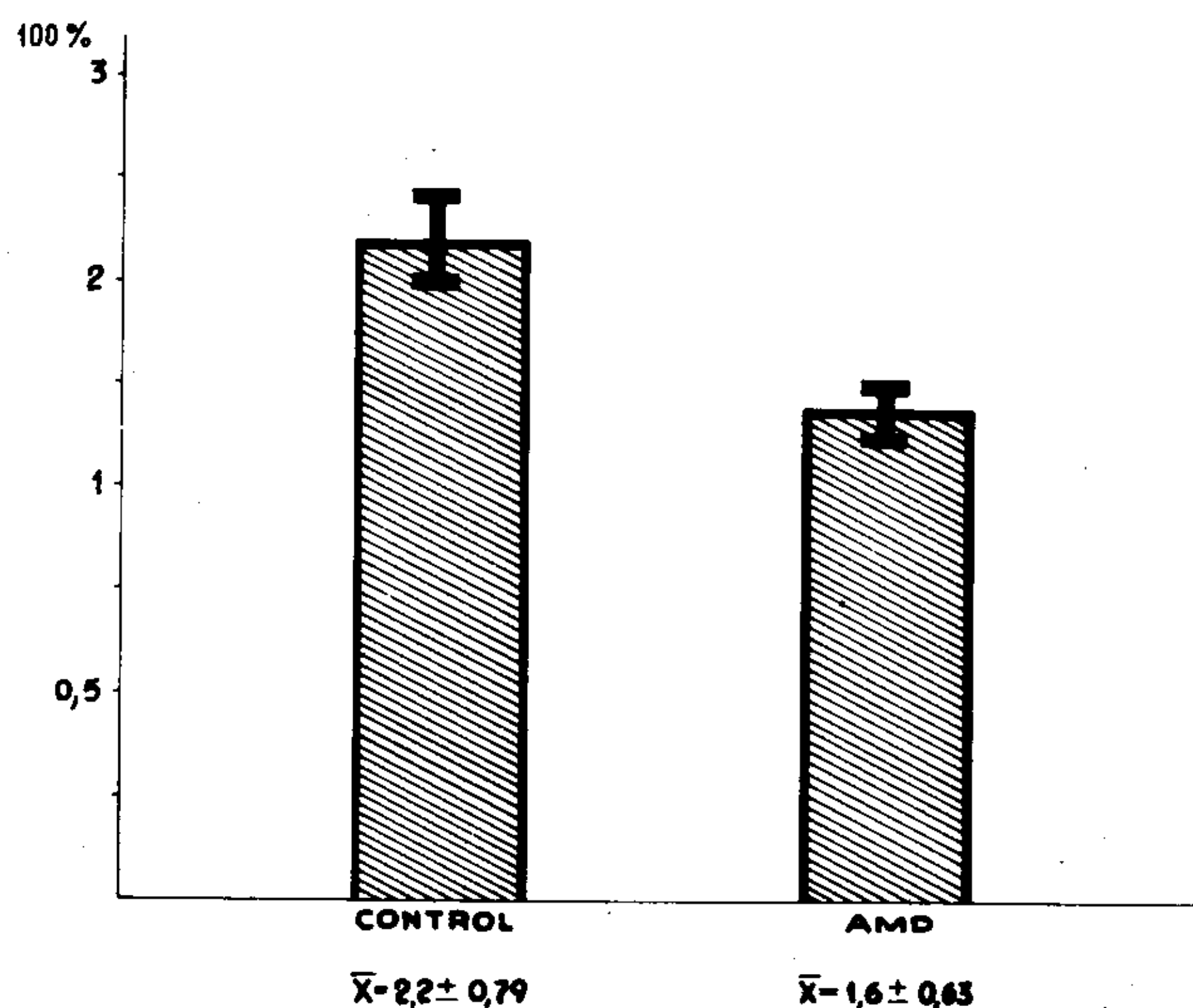


Gráfico 1. Extensión de la miocitolisis inducida por "stress".
Graph 1. Extension of stress induced myocytolysis.

separate cages and divided into two groups.

The first group (G-1) was used as a control, and consisted of 10 rats.

Animals in group 2 (G-2) (n=15) received AMD 10 mg per kilogram. All injections were made intraperitoneally. Animals of group 1 were injected with saline. The doses were established by multiplying three times normal human endovenous doses. These doses are currently used in experimental beings.¹¹

At the beginning of the experiment the rats were carried on a common cage and five minutes before injection were injured with stress, consisting of intermittent cold water jets (6°C). Animals were sacrificed by decapitation one hour after AMD and saline injections. The chest was opened and the heart was quickly removed while beating.

The entire heart was sectioned transversely in slices 1 mm thick and fixed in buffered formol 10 per cent (pH 7.0). Paraffin sections were obtained serially from the 1 mm slices. The following staining methods were used: hematoxylin-eosin, Gomori and Barbeito-López trichromic stains.¹²

The serial sections were examined to localize the necrotic and damaged myocardium as well as its topographic distribution. Barbeito-López trichromic stain has been proved to be highly

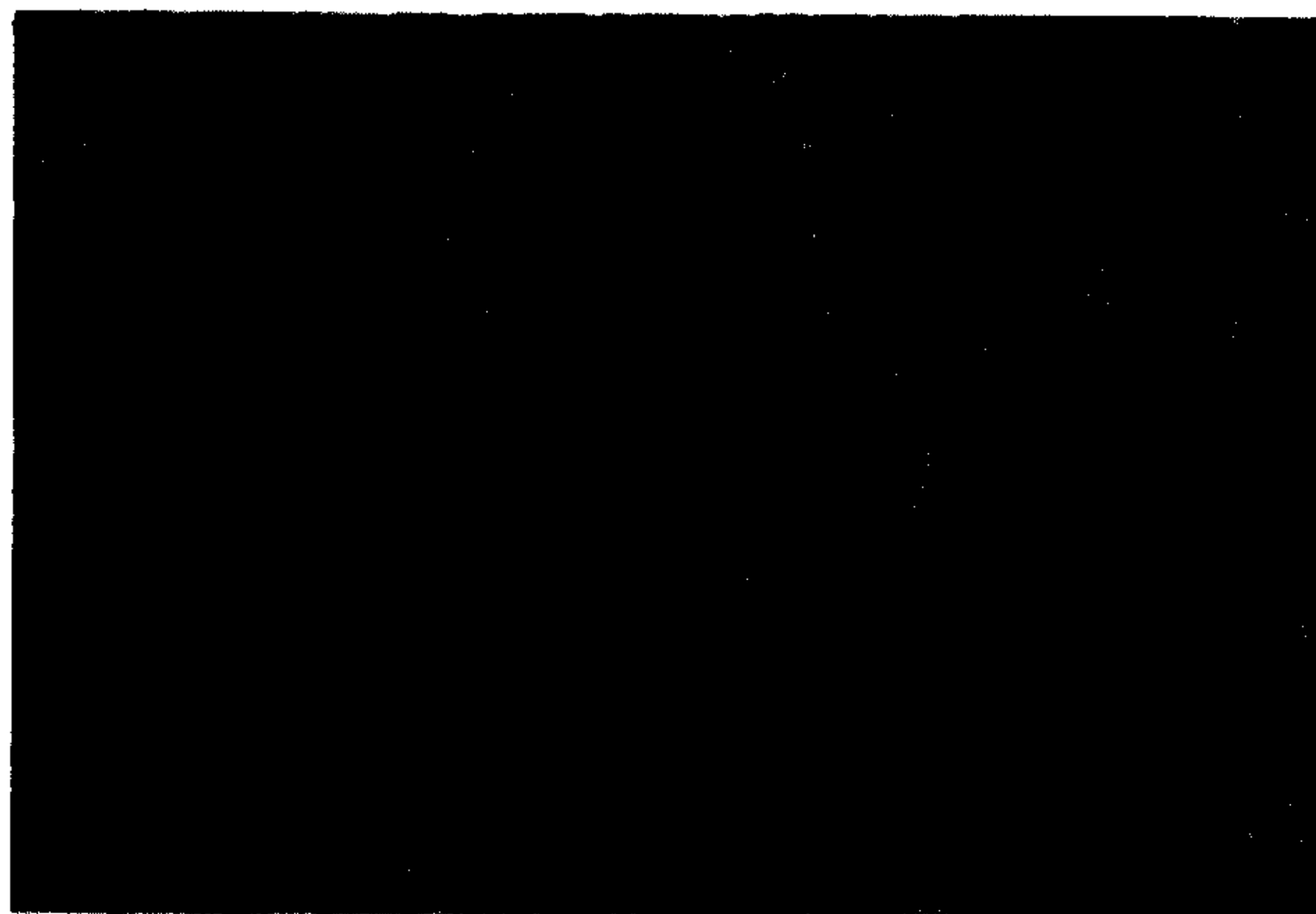


Fig. 1. Explicación en el texto.

Fig. 1. Explained in paper.

AMD, 10 mg/kg de peso. Todas las inyecciones fueron realizadas por vía intraperitoneal.

Los animales del grupo 1 recibieron solución salina. Las dosis se establecieron multiplicando tres veces la dosis humana intravenosa normal. Estas dosis son las comúnmente utilizadas en experimentación.¹¹

Al comenzar la experiencia las ratas permanecieron en una jaula común y cinco minutos antes de la inyección fueron agredidas mediante "stress", consistente en chorros intermitentes de agua fría (6°C). Los animales fueron sacrificados por decapitación una hora después de las inyecciones de la AMD y de la solución salina. Acto seguido luego de abrir el tórax se extrajo el corazón aún latiendo.

El corazón fue seccionado transversalmente en cortes de 1 mm de espesor y fijado en formol buffer al 10% (pH 7,0). Las secciones de parafina se obtuvieron en forma seriada de los cortes de 1 mm. Las técnicas usadas fueron hematoxilina-eosina, Gomori, y Barbeito López.¹² Los cortes seriados se examinaron para localizar la necrosis y el daño miocárdico, así como su distribución topográfica. La tinción tricrómica de Barbeito López probó ser la de más alta especificidad para la necrosis miocárdica temprana. El miocardio normal aparece verde o azul pálido, mientras la necrosis temprana vira hacia el amarillo "sucio", y la necrosis establecida semeja una tinción amarillo ocre.¹³ Las áreas relativas de miocardio necrótico fueron

specific for early myocardial necrosis. Normal myocardium remains green or pale blue, while "early necrotic" turns "dirty yellow" and "established necrotic" remains stained "golden yellow".¹³ The relative areas of necrotic myocardium were assessed by Berazzoli's modified method.¹⁴

"Contraction bands" as expression of the early stages of stress-induced damage were evaluated as follows: 0, no lesions; 1, "contraction bands" only detected by Barbeito-López trichromic stain (no detected by hematoxylin-eosin); 2, one or two groups on the whole heart section, detected neatly by hematoxylin-eosin; 3, more than three groups of contraction bands on the whole transversal heart section.

For electron microscopy, the tissues were cut in cubes of 0.5 mm in size, fixed in phosphate-buffered osmium tetroxide, dehydrated in a graded series of alcohols and propylene oxide, and embedded in araldite. Sections were cut with glass knives on a LKB ultratome. From each block several 1- μ m sections were mounted on glass slides, stained with 1% toluidine blue and examined by light microscopy. Ultratome sections were mounted on copper grids, stained with uranyl acetate and examined with a Philips 200 electron microscope.

In order to certify statistically the inhibitory action of AMD, the Duncan test and chi square test were used for histological results. Observations were conducted on a blind manner by two of the authors and mutually controlled.

AMD was supplied by Roemmer Laboratories.

RESULTS

There were no gross lesions.

G-1. The following lesions were observed: myocytolysis with vacuolization of myocardial fibers specially in the subendocardium of the left ventricles (score 2.2 ± 0.79) with presence of "contraction bands" (1.2 ± 1.03). Areas of subendocardial "early necrosis" pointed out by the Barbeito-López trichromic stain (0.8) were common findings (Fig. 1).

G-2. Lesions described to the G-1 were found but in less intensity; subendocardial myocytolysis, 1.6 ± 0.63 ; "contraction bands", 0.67 ± 0.82 , and positivity with the Barbeito López trichro-

cuantificadas por el método de Bertazzoli modificado.¹⁴

Las "bandas de contracción" como representante de estados tempranos del daño inducido por stress, se evaluaron de la siguiente manera: 0) sin lesiones; 1) bandas de contracción solamente detectadas por la tinción de Barbeito López (no detectadas por hematoxilina-eosina); 2) uno o dos grupos en una sección transversal del corazón detectados por hematoxilina-eosina; 3) más de tres grupos de bandas de contracción en un corte transversal del corazón.

Para microscopía electrónica, los tejidos fueron cortados en cubos de 0,5 mm de espesor, fijados en fosfato de buffer-tetraóxido de osmio, deshidratados en diluciones crecientes de alcohol y óxido de propileno e incluidos en araldita. Las secciones se cortaron con navajas de vidrio en un ultramicrotomo L.K.B. Cada bloque de 1 mm de sección fue montado en portaobjetos de vidrio, teñido con azul de toluidina al 1% y examinado con microscopio de luz. Las secciones de ultramicrotomo, montadas en grillas de cobre y teñidas con uranilacetato, se examinaron con un microscopio electrónico Philips 200.

Para los resultados histológicos se usaron el test de Duncan y el test de chi cuadrado, a fin de certificar estadísticamente la acción inhibitoria de la AMD.

Las observaciones fueron realizadas a doble ciego por dos de los autores y controladas mutuamente.

La AMD la proporcionó el Laboratorio Roemmers S.A.I.C.F. (Buenos Aires).

RESULTADOS

No había lesiones macroscópicas.

G-1. Las lesiones observadas fueron: miocitólisis con vacualización de las fibras miocárdicas, especialmente en el subendocardio del ventrículo izquierdo ($2,2 \pm 0,79$) con presencia de bandas de contracción ($1,2 \pm 1,03$). Fue un hallazgo común la necrosis temprana en áreas del subendocardio, puesta de manifiesto por el tricrómico de Barbeito López (Fig. 1).

G-2. Se observaron las lesiones descriptas para el G-1 pero en menor intensidad: miocitólisis subendocárdica ($1,6 \pm 0,63$), bandas de

mic stain (0.47). Unexpected results were observed in one rat of this group, which consisted of extensive areas of "contraction bands" (although incomplete absorption of the intraperitoneal injection cannot be discarded in this animal).

AMD markedly inhibited stress-induced myocytolysis ($p < 0.01$) (Graph 1) as well as severity and extension degrees but not significantly of "contraction bands" and the extension of "early necrotic" areas.

From the ultrastructural point of view the small sample size of the blocks did not allow to evaluate frequency of "contraction bands" on such specimens. However the electron microscope samples showed hypercontraction of myocardial fibers with a reduction of the sarcomeric length and a widening of Z bands ("contraction bands").

DISCUSSION

In the present study an antiarrhythmic drug with unclear mechanisms of action was used to protect myocardium against stress. The most typical stress-induced myocardial lesion is the "contraction band",⁸ a lesion usually found in different pathological events.

AMD decreased but not significantly "contraction bands", but significantly stress-induced myocytolysis ($p < 0.001$). It may be explained by the fact that stress was induced 5 minutes before the AMD injection, a time sufficient for the development of "contraction bands", for its progression to established myocytolysis and/or also for its reversal to relative histological indemnity by action of the drug.

Nevertheless, it seems that AMD was effective in reducing stress-induced myocytolysis. Myocytolysis starts with transverse bands of hypercontraction bands", due to coagulation of hypercontracted sarcomeres.¹⁵ This pattern leads to a progressive disappearance of the myofibrils producing an empty sarcolemmal tube ("alveolar pattern").⁹ These changes, at least from the experimental point of view, are rapid events. In fact, hypercontraction of some fibers was demonstrated by electron microscopy within 2 minutes of isoproterenol intraperitoneal injection and at 8 minutes "contraction bands"

contracción ($0,67 \pm 0,82$) y positividad con el tricrómico de Barbeito López (0,47). Se hallaron resultados inesperados en una rata de este grupo, consistentes en extensas áreas de bandas de contracción (aunque no puede descartarse en este animal la absorción incompleta de la inyección intraperitoneal de AMD).

La AMD inhibió marcadamente la miocitolisis inducida por "stress" ($p < 0,01$) (Gráfico 1), disminuyendo la gravedad y extensión de las bandas de contractura, como así también el tamaño de las áreas de necrosis temprana, pero no en forma significativa.

Desde el punto de vista ultraestructural, la pequeñez de estos bloques no permite evaluar la frecuencia de las bandas de contracción en estas muestras. La ultramicroscopía confirmó la hipercontracción de las fibras miocárdicas, con reducción del sarcómero y ensanchamiento de las bandas Z.

DISCUSSION

La AMD, que es una droga antiarrítmica cuyo mecanismo de acción no es aún bien conocido, se utilizó en el presente estudio con el objeto de valorar su probable acción protectora del miocardio en las lesiones inducidas por el "stress".

La lesión miocárdica más típica provocada por "stress" es la banda de contracción,⁸ frecuentemente hallada en diferentes cuadros patológicos.

La disminución que produjo la AMD en la cantidad de bandas de contracción no fue estadísticamente significativa, pero sí lo fue en cuanto a la miocitolisis inducida por "stress" ($p < 0,001$).

El intervalo de cinco minutos existente entre el "stress" y la inyección de la AMD, podría explicar la aparición de las bandas de contracción. Este tiempo es suficiente para la evolución de las bandas hacia la miocitolisis o su regresión hacia una relativa indemnidad histológica por acción de la droga.

De todas formas, la AMD parece ser efectiva en reducir las lesiones inducidas por "stress".

La miocitolisis comienza con bandas transversales o bandas de contracción debido a coagulación o hipercontracción de los sarcó-

were fully developed.¹⁶ Accordingly, contraction bands and established myocytolysis were found in isoproterenol-induced myocardial lesions in the monkey,¹⁷ in acute experiments in which animals were sacrificed at 20 minutes and in rats at 5 minutes.¹⁸

The first stage of myocytolysis when the changes in the myocardial fiber are only biochemical or/and ultrastructural would give rise to ventricular fibrillation which leads to death in acute myocardial infarction and sudden death.^{9,10}

From our data, one may speculate that AMD seems to be used in arrhythmias and in the prevention of sudden death.

As ventricular fibrillation has been linked to a hypersympathetic function,¹⁹ the known AMD non competitive inhibition of catecholamine-induced myocardial effects may be suspected as its principal mechanism of action.

° In fact, AMD, as other drugs did (calcium antagonist-drugs: verapamil,²⁰ prenylamine^{17,22}) inhibited catecholamine stress-induced damage.

Recently, Lübke⁷ demonstrated the protective action of AMD against ventricular fibrillation in the isolated perfused rat heart, before and after coronary arterial ligation. They proposed, based on biochemical measurements, that AMD exerts its effects by decreasing tissue cyclic adenosine monophosphate in ischemic myocardium. These effects seem to be independent of the effect on heart rate, coronary flow or tissue high energy phosphate content,⁷ as well as they do not involve calcium transport.²³

However, electrophysiological studies suggest that under experimental conditions AMD would increase Ca entrance into myocardial fibers.²⁴

These data may explain extensive areas of contraction bands observed in one of the AMD treated rats and similar areas found in AMD chronically treated rabbits (M. Elizari and J. Milei, unpublished observations).

However these speculations, AMD mechanism of action stays almost in the mystery. Prominent among its properties is the ability to inhibit specifically some cardiovascular effects of the catecholamines,²⁵ an effect different from the classical beta-receptor blockade mechanism.²⁶

mèros.¹⁵ Esto lleva a una desaparición progresiva de los miofibrillas y a la formación de un tubo sarcolemático vacío (miocitolisis alveolar).⁹ Desde el punto de vista experimental, estos cambios se producen rápidamente.

Es así que la ultramicroscopía reveló la hipercontracción de las fibras, luego de dos minutos de la inyección intraperitoneal de isoproterenol (ISP) y a los ocho minutos, la aparición de las bandas de contracción.¹⁶

Las bandas de contracción y la miocitolisis se hallaron en el miocardio de monos¹⁷ tratados con ISP y sacrificados a los veinte minutos de la inyección, así como en ratas sacrificadas a los cinco minutos.¹⁸

El primer estadio de la miocitolisis, cuando los cambios son ultraestructurales y/o bioquímicos, sería la causa de la fibrilación ventricular que lleva al óbito en el infarto agudo de miocardio y a la muerte súbita.^{9,10}

La fibrilación ventricular ha sido asociada a una hiperfunción simpática.¹⁹ Se puede sospechar que los conocidos efectos inhibitorios (no competitivos, de la AMD sobre la acción catecolamínica) sobre el miocardio serían su principal mecanismo de acción.

La AMD inhibe el daño miocárdico inducido por "stress" catecolamínico, así como lo hacen las drogas antagonistas del calcio (verapamil,²⁰ prenylamina^{17,22}).

Recientemente, Lübke⁷ demostró la acción protectora de la AMD sobre la fibrilación ventricular en el corazón aislado y perfundido de la rata, antes y después de la ligadura de la arteria coronaria. Este autor propone, basado en parámetros bioquímicos, que la AMD ejerce sus efectos por disminución de adenosín-monofosfato cíclico tisular en el miocardio isquémico.

Estos efectos parecen ser independientes de los ejercidos sobre la frecuencia cardíaca, flujo coronario o contenido de fosfato tisular de alta energía,⁷ ya que no involucran el transporte de calcio.²³

Sin embargo, estudios electrofisiológicos sugieren que bajo condiciones experimentales la AMD podría incrementar la entrada de calcio a la fibra miocárdica.²⁴

Estos datos podrían explicar las extensas áreas con bandas de contracción, observadas en

AMD is a non-competitive inhibitor of the isoproterenol-induced frequency increase by β_1 -receptor activation of isolated rabbit right atrial and of the norepinephrine-induced contraction by alfa-receptor activation of isolated rat aortic strips.¹¹ It was speculated that interferes at the lipoprotein coupling site of the hormonal receptors.²⁵

Our study shows that further complete morphological studies are fully necessary to obtain a better categorization of this antiarrhythmic drug. From our data, AMD appears to have some morphological support to be used in the prevention of lesions which appear in sudden death. However, it seems that we are far from knowing AMD mechanism of action.

BIBLIOGRAFIA (REFERENCES)

1. Singh BN, Vaughan Williams EM: The effect of amiodarone, a new anti-anginal drug, on cardiac muscle. *Br J Pharmacol* 39: 657, 1970.
2. Vastesaeger M, Gillot P, Rasson G: Etude clinique d'une nouvelle medication antiangoreuse. *Acta Cardiol* 22: 483, 1967.
3. Charlier R, Deltour G, Baudine A, Chaillet F: Pharmacology of amiodarone, an anti-anginal drug with a new biological profile. *Arzneim Forsch (Drug Res)* 18: 1408, 1968.
4. Brochier M, Fanchier JP, Charbonnier B, Latour F, Perrotin D: Effets bénéfiques de l'amiodarone injectable sur l'état de mal syncopal de l'angor de Prizmétal. *Nouv Presse Med* 6 (1): 1480, 1977.
5. Rosenbaum MB, Chiale P, Ryba D, Elizari M: Control of tachiarhythmias associated with Wolff-Parkinson-White syndrome by amiodarone hydrochloride. *Am J Cardiol* 34: 215, 1974.
6. Dreifus LS, Ogawa S: Quality of the ideal antiarrhythmic. *Am J Cardiol* 39: 466, 1977.
7. Lubbe WF, Mc Fadyen ML, Muller CA, Worthington M, Opie LH: Protective action of amiodarone against ventricular fibrillation in the isolated perfused rat heart. *Am J Cardiol* 43: 533, 1979.
8. Bajus E: Conditioning factors for cardiac necroses. Verlag. S Karger AG (Basel), 1963.
9. Baroldi G: Different types of myocardial necrosis in coronary heart disease: A pathophysiological review of their functional significance. *Am Heart J* 89: 742, 1975.
10. Reichenbach DD, Moss NS: Myocardial cell necrosis and sudden death in humans. *Circulation* 5 (Suppl III): 60, 1976.
11. Opie LH, Nathan D, Lubbe W: Biochemical aspects of arrhythmogenesis and ventricular fibrillation. *Am J Cardiol* 43: 131, 1979.
12. Barbeito-López J: A new trichrome stain. *Am J Clin Path Tech* 16: 53, 1946.
13. Milei J, Núñez R, Rapaport M: The early pathological diagnosis of ischemia and acute myocardial infarction. XI Congress of Internat Acad of Pathol. Washington, DC, October 1976.
14. Bertazzoli C, Bellini O, Magrini U, Tosana MG: Quantitative experimental evaluation of doxorubicin cardiotoxicity in the mouse (to be published).
15. Baroldi G: Pathologic changes in coronary heart disease. An overview on their significance. *Cardiol Bull, Acta Cardiol* 8/9: 133, 1974.
16. Bloom S, Cancilla I: Myocytolysis and mitochondrial calcification in rat myocardium after low doses of isoproterenol. *Am J Path* 54: 373, 1969.
17. Milei J, Vázquez A, Bolomo N: Effects of a Ca-antagonist (prenylamine) on isoproterenol-induced myocardial lesions in the monkey (*Cebus paraguayenses*). Electrocardiographic and anatomopathological findings. *Acta Cardiol* 34 (6): 417, 1979.
18. Milei J, Rapaport M: Localization by autoradiography of tritiated isoproterenol in "infarct-like" lesions of rat myocardium. *Am Heart J* 92: 351, 1976.
19. Khan MI, Hamilton JT, Manning GW: Protective effect of beta-adrenoceptor blockade in experimental coronary occlusion in conscious dogs. *Am J Cardiol* 30: 832-837, 1972.
20. Milei J, Núñez RG, Bolomo N: Isoproterenol-induced ^{45}Ca uptake into myocardium of rats. *Res Exp Med* 176: 117, 1979.

el miocardio de una de las ratas tratadas con AMD, y áreas similares encontradas en conejos tratados crónicamente con AMD (M. Elizari y J. Milei, observaciones no publicadas).

Sin embargo, a pesar de lo expuesto anteriormente, el mecanismo de acción de la AMD sigue siendo un misterio. Una de sus prominentes propiedades es la de inhibir específicamente algunos efectos cardiovasculares de las catecolaminas,²⁵ diferente al mecanismo de los beta bloqueantes clásicos.²⁶ La AMD es un inhibidor no competitivo del aumento de la frecuencia cardíaca inducida por el isoproterenol por la activación del receptor β_1 , en la aurícula derecha aislada de conejo y de la contracción inducida por la norepinefrina por activación del receptor alfa en la aorta aislada de rata.¹¹ Se sugirió también que interferiría en las áreas lipoproteicas de acople de los receptores hormonales.²⁵

Nuestro estudio muestra que son necesarias más investigaciones para obtener una mejor categorización de esta droga antiarrítmica. A partir de nuestros hallazgos la AMD parece tener cierto soporte morfológico para ser usada en la prevención de lesiones que aparecen en la muerte súbita. Sin embargo, aún estamos lejos de conocer el mecanismo de acción de la droga.

21. Fleckenstein A, Janke J, Doring H, Leder O: Die intrazelluläre Überladung mit Kalzium als entscheidender Kausalfaktor bei der Entstehung nicht-koronarogener Myokard-Nekrosen. *Verh dt Ges Kreisl Forsch* 37: 345, 1971.
22. Milei J, Núñez R, Rapaport M: Prenylamine inhibition of isoproterenol-induced myocardial lesions. Histochemical and ultrastructural findings. *Acta Cardiol* 31: 355, 1976.
23. Polster P, Broekhuysen J: The adrenergic antagonism of amiodarone. *Biochem Pharmacol* 25: 131, 1976.
24. Elizari MB, Levy RJ, Novakoski A, Lazari JO, Letulli HM, Rosenbaum MB: Cellular effect of antiarrhythmic drugs. Remarks on methodology. Symposium on antiarrhythmic and antianginal drugs with cumulative effects. VIII European Congress of Cardiology, pp 9-23, June 1980.
25. Bauthier J, Broekhuysen J, Charlier R, Richard J: Nature of the inhibition by amiodarone of isoproterenol-induced tachycardia in the dog. *Arch Int Pharmacodyn* 219: 45, 1976.
26. Charlier R: Cardiac actions in the dog of a new antagonist of adrenergic excitation which does not produce competitive blockade of adrenoceptors. *Brit J Pharmacol* 39: 668, 1970.