

Lair Geraldo Theodoro Ribeiro *
Duarte Bravo Faria **
Wai-man Cheung***
Peter Richard Maroko****

IMPORTÂNCIA DA EXTENSÃO DA ÁREA ISQUÊMICA NOS EFEITOS BENÉFICOS DE DROGAS CAPAZES DE PROTEGER O MIOCÁRDIO ISQUÊMICO

A hipótese de que a eficácia de uma droga na proteção do miocárdio isquêmico depende do tamanho da área isquêmica (zona em risco) foi testada. A zona em risco foi determinada imediatamente após a oclusão da artéria coronária, através da injeção de microesferas de albumina marcadas com Tc99m. O estudo foi feito em 68 cães, dos quais 18 receberam metoxi-verapamil (D600), começando 15 minutos após a oclusão coronária. Seis horas após a oclusão, os cães foram sacrificados e o ventrículo esquerdo cortado em 20-25 fatias. Em cada fatia, a extensão da zona de necrose foi determinada por planimetria após coloração das fatias com cloreto de trifeniltetrazólio, com o qual a zona necrótica se apresenta amarelo pálido e a zona normal, vermelha. A extensão da zona em risco foi determinada também por planimetria das autoradiografias nessas mesmas fatias. Os animais foram divididos em dois grupos de acordo com a extensão da zona em risco: grupo A - zona em risco menor do que 27% do ventrículo esquerdo; grupo B - zona em risco maior do que 27% do ventrículo esquerdo.

Os resultados mostraram que no grupo A, D600 reduziu o infarto em 60%, enquanto que no grupo B a redução foi de apenas 38%. Isso demonstra que o efeito de uma droga na diminuição da extensão do infarto depende das dimensões iniciais da zona isquêmica.

Inúmeras intervenções têm sido eficazes em extensão da lesão miocárdica consecutiva à oclusão experimental da artéria coronária¹⁻⁵. Contudo, não se sabe se além das propriedades benéficas da intervenção, o grau de eficácia depende também da extensão inicial da área isquêmica, isto é, da zona de hipoperfusão (zona em risco).

O objetivo desta investigação foi determinar se metoxi-verapamil (D600), um potente antagonista do cálcio⁶⁻⁷, reduziria a lesão miocárdica mesma magnitude em áreas de hipoperfusão de diferentes extensões.

Neste estudo, a área de hipoperfusão foi determinada por uma técnica recentemente desenvolvida, que tem a vantagem de avaliar, "in vivo", a extensão da zona hipoperfundida imediatamente após oclusão da artéria coronária⁸, permitindo a avaliação da zona em risco antes qualquer intervenção seja feita e, além disso condições fisiológicas de fluxo sanguíneo e circulação coronária colateral.

MÉTODOS

Sessenta e oito cães de raça indefinida pesando entre 17 e 22kg, foram anestesiados com tiamilato de sódio e a respiração mantida usando-se um respirador artificial de volume constante (Harvard Apparatus). A pressão arterial sistêmica foi medida através de um cateter de polietileno colocado na artéria carótida esquerda (Statham P23db pressure transducer) e as derivações eletrocardiográficas a VF foram registradas continuamente num polígrafo de 8 canais (Gould Instruments). Foi realizada toracotomia no 5 EIE e o coração suspenso num berço pericárdico. Um cateter de polietileno, colocado no apêndice auricular esquerdo, serviu para a injeção de microesferas. A artéria descendente anterior esquerda foi dissecada dos tecidos adjacentes e ocluída com um fio de seda. Para avaliar a zona em risco, 2×10^6 microesferas de albumina (20 m, 3M Company, St. Paul, Minnesota) marcadas com, Tc99m, foram injetadas na aurícula esquerda, um minuto após a oclusão coronária⁸⁻⁹.

Trabalho realizado no Deborah Cardiovascular Research Institute, Browns Mills - New Jersey, USA. *Vice-Diretor do Deborah Cardiovascular Research Institute.

**Fellow em Cardiologia.

***Farmacêutico Nuclear do Deborah Cardiovascula Research Institute.

****Diretor do Deborah Cardiovascular Research Institute.

Aos 15 min, os cães foram sorteados num grupo controle (50 cães) e num grupo tratado com D600 * (18 cães). D600 foi administrado endovenosamente na dose inicial de 0,8mg/kg em 5 min e, a seguir, uma infusão contínua de 0.2mg/kg/h até o término da experiência.

Seis horas após a oclusão coronária, os animais foram sacrificados com uma injeção endovenosa de cloreto de potássio e o ventrículo esquerdo dissecado das estruturas adjacentes (parede livre do ventrículo direito, grandes vasos, átrios, anéis valvulares e gordura epicárdica). Em seguida, o ventrículo esquerdo foi congelado a uma temperatura de -70,C e então cortado em fatias de 3mm de espessura, do ápice para a base. As

fatias foram incubadas em uma solução de 1 % de cloreto de trifeniltetrazólio (TTC, Sigma Chemical) à temperatura de 37°C, durante 10 min. Áreas com infarto assumem cor amarelo pálida, enquanto que o miocárdio normal se coroa em vermelho tijolo. A extensão da zona de hipoperfusão (zona em risco) foi determinada pela exposição de películas sensíveis aos Raios-X por 13 horas às referidas fatias. Tanto a extensão do infarto quanto a zona em risco (zona de hipoperfusão na autoradiografia) (fig.1) foram determinadas por planimetria, usando-se o computador (Apple II).

Em cada animal, avaliou-se quanto da em risco evoluiu para infarto. Com a finalidade de apurar se a eficácia do tratamento depende da extensão inicial da zona de

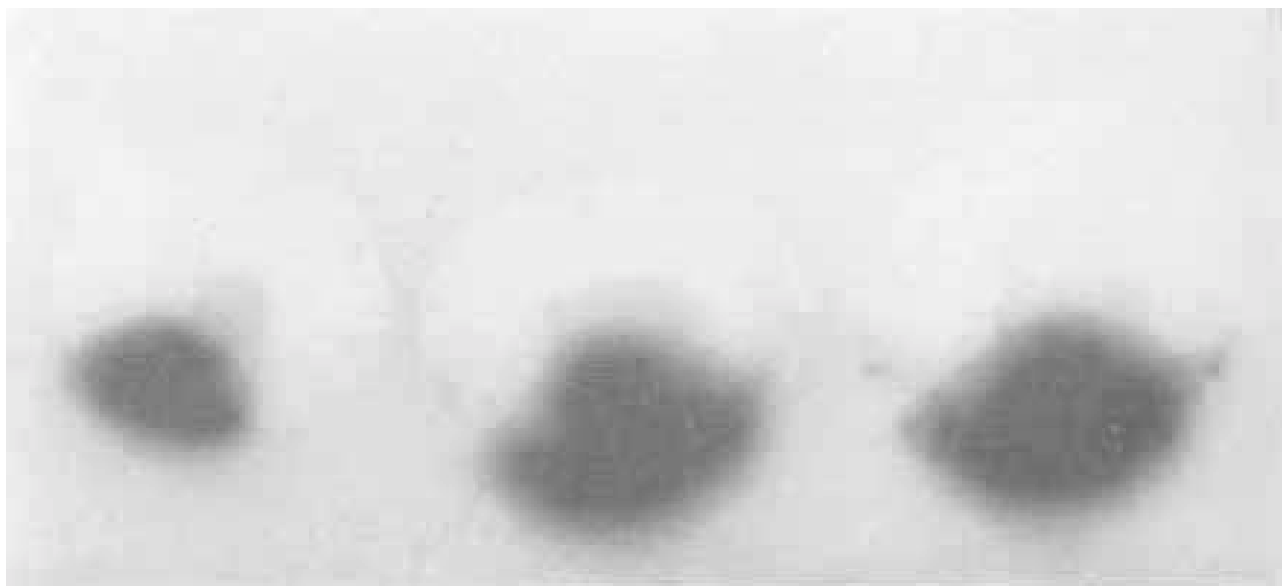


Fig. 1 - Auto-radiografia de uma fatia do miocárdio. A área em preto (“área quente”) indica o miocárdio perfundido. A área em branco (“área fria”) indica a zona de hipoperfusão (zona em risco).

hipoperfusão, os cães foram divididos em dois grupos de acordo: grupo A (incluiu os cães em que a zona de hipoperfusão era menor do que 27% do ventrículo esquerdo) e grupo B (cães em que a zona de hipoperfusão era maior do que 27% do ventrículo esquerdo). A porcentagem da zona de hipoperfusão que evoluiu para

infarto foi analisada em ambos os grupos, tanto nos, mais que receberam D600 quanto nos controles. A eficácia do tratamento foi avaliada pela relação entre a extensão da zona de infarto (TI) e a da zona de hipoperfusão (ZH) dos cães tratados multiplicada por 100 e dividida pela mesma relação correspondente ao grupo controle, ou seja:

$$\left\{ 1 - \left[\frac{TI_t}{ZH_t} : \frac{TI_c}{ZH_c} \right] \right\} \times 100, \text{ onde } t = \text{tratado e } c = \text{controle}$$

O número assim obtido é a porcentagem da redução da extensão da zona de infarto (normalizada para a zona em risco) resultante do tratamento com o D600.

As comparações entre valores obtidos nos mesmos cães foram feitas usando-se o teste da diferença média entre dados emparelhados e entre os cães tratados e de controle pelo teste da diferença entre as médias recorrendo à

distribuição t de Student¹⁰. Para comparar a mortalidade dos grupos recorreu-se à distribuição do quadrado¹¹. Todos os resultados são apresentados como média dos valores ± desvio da média.

RESULTADOS

A oclusão da artéria coronária causou zonas de hipoperfusão (ZH) comparáveis em ambos os grupos: no grupo controle, ZH foi 26,2 ± 1,3% do ventrículo esquerdo (VE), enquanto tratado com D600, foi 26,7 ± 2,3% do VE. A

* Metoxi-verapamil (D600), Knoll S/A - Produtos Químicos e Farmacêuticos

freqüência cardíaca e a pressão arterial média foram também semelhantes em ambos os grupos 15 min

após a oclusão, imediatamente antes do sorteio (quadro I).

Quadro I - Média ± desvio-padrão da média da freqüência cardíaca (FC) em batimentos por minuto, da pressão arterial média (PA) em mm Hg, conforme o tempo após a oclusão experimental da artéria coronária nos animais tratados D600 e nos de controle.

Tratamento	D600		Controle	
Tempo após oclusão coronária	FC	PA	FC	PA
15 min (antes da administração de D600)	132 ± 6	99 ± 5	146 ± 6	100 ± 5
30 min	123 ± 6 p < 0,01 (vs controle)	83 ± 3 P < 0,01 (vs controle) P < 0,05 (vs 15 min)	147 ± 5	100 ± 4
6 horas	129 ± 3 p < 0,001 (vs controle)	83 ± 6 p < 0,05 (vs controle)	167 ± 3 p < 0,01 (vs 15 min)	100 ± 4

No grupo-controle, a pressão arterial média manteve-se estável durante toda a experiência enquanto a freqüência cardíaca aumentou, em média, 21 bpm 6 horas depois da oclusão. Em contraposição, no grupo tratado com D600 a pressão arterial média diminuiu em média 16 mm Hg e a freqüência cardíaca não mudou (quadro I).

A mortalidade (conseqüente à fibrilação ventricular) desde 15 min até 6h após a oclusão coronária, foi de 20% (10/50 cães) no grupo-controle e 0% (0/18) no grupo tratado com D 600 ($\chi^2 = 4,22$ p < 0,05).

A extensão da zona de infarto foi de 24,4 ± 0,8 % do VE no grupo controle o que, ponderalmente, correspondeu a 22,6 ± 1,4g. No grupo tratado foi de 14,1 ± 2,2 do VE ou 13,6 ± 1,8g (p < 0,001). A extensão da zona de hipoperfusão que evoluiu para infarto (TI/ZH) foi de 93,6 ± 1,8 % no grupo controle enquanto que, no grupo tratado com D600, foi apenas 47,8 ± 5,0 %, o que representa redução de 49% (p < 0,001).

A extensão média da zona de hipoperfusão no grupo A foi 19,7 ± 1,2 % do VE nos 18 animais de controle e 19,2 ± 2,0% do VE nos 9 cães sorteados para o tratamento. No grupo B, os valores foram 32,7 ± 1,0% nos 18 animais de controle e 34,2 ± 1,6% do VE nos 9 cães sorteados para tratamento.

Nos cães de controle TI/ZI foi de 94,1 ± 3,0 no grupo A e de 93,1 ± 2,1% no grupo B. Nos cães tratados com D600, essa mesma relação foi 37,7 ± 7,2% no grupo A e 57,8 ± 5,8% no grupo B. Ambos os valores foram significativamente menores que os dos respectivos controles (p < 0,01). Isso correspondeu a uma rede 60 ± 7,6% nos cães com ZH menor do que 27% do VE e de somente 38 ± 6,2% naqueles com ZH maior do que 27% do VE.

DISCUSSÃO

Desde 1971, encara-se o infarto do miocárdio como um processo dinâmico e sua extensão como passível de ser modificada¹. Intervenções realizadas logo após a oclusão são capazes de diminuir ou aumentar a extensão do infarto^{1-5,12-16}. Usando técnicas diferentes para avaliação da lesão miocárdica, investigadores confirmaram e ampliaram esse conceito¹⁷⁻¹⁹.

Algumas dessas intervenções, baseadas em medidas indiretas da lesão miocárdica, parecem aplicáveis a pacientes com infarto agudo do miocárdio²⁰⁻²⁵. Contudo, é extremamente difícil comparar a eficácia relativa de diferentes intervenções ou a de uma intervenção em diferentes circunstâncias, devido ao fato de as técnicas não serem quantitativas ou quando são apresentadas ainda uma grande variabilidade^{17,18}. Artérias coronárias de diferentes cães, ocluídas à mesma distância do óstio coronário, produzem infartos de extensão muito variável (de 0 a 50% do VE). Tal variabilidade torna muito difícil avaliar diferenças entre grupos.

Por causa disso, várias técnicas foram desenvolvidas no sentido de minimizar essa variabilidade²⁶⁻²⁸. O nosso laboratório desenvolveu um método pelo qual cada cão funciona como seu próprio controle⁸⁻⁹. A variação anatômica das artérias coronárias de um cão para outro não constitui mais obstáculo para a avaliação da eficácia de drogas. Essa técnica, basicamente, consiste em medir a área de hipoperfusão, isto é, zona em risco, um minuto após oclusão coronária conforme a descrição feita anteriormente. Usando essa técnica, é possível, em cada cão, comparar a extensão da zona em risco com a da zona de necrose.

Uma correlação altamente significativa é obtida entre a zona em risco e a área necrótica (r = 0,93).

O metoxi-verapamil (D600), droga com propriedades semelhantes ao verapamil²⁹⁻³⁰, mostrou-se eficaz em reduzir a incidência de arritmias e em diminuir a extensão do infarto do miocárdio³¹⁻³⁶. Esse efeito benéfico tem sido atribuído tanto à ação vasodilatadora coronária como à redução do consumo do miocárdio³⁷⁻³⁸.

Nesse estudo, D600 reduziu a extensão do infarto e impediu a fibrilação ventricular após efeito antiarrítmico direto ou, indiretamente, devido à proteção do miocárdio isquêmico.

Os cães tratados do grupo A apresentaram maior redução da extensão do infarto do que os tratados do grupo B. Esses resultados podem ser explicados por melhor penetração da droga em zonas isquêmicas menores que apresentam uma relação entre superfície e volume mais elevada. A observação de que pequenas áreas em risco apresentam mais colaterais³⁹ está também de acordo com esse conceito. Es-

ses achados também explicam por que investigadores têm estado em desacordo acerca da eficácia de uma mesma intervenção.

Em conclusão, esse estudo demonstra que a eficácia de uma intervenção depende da extensão da zona em risco: tanto maior quanto menor para a zona em risco.

SUMMARY

The goal of this study was to examine whether the effectiveness of a drug in protecting a ischemic myocardium depends on the size of the hypoperfused zone (i.e., the area at risk) measured immediately after coronary artery occlusion (CAO). Methoxy-verapamil (D600), a potent calcium antagonist, was used to test this hypothesis. Accordingly, in 68 dogs, one minute after CAO, 8mCi of Tc99m - labeled albumin microspheres were injected into the left atrium for future assessment of the hypoperfused zone by autoradiography. Eighteen dogs were treated with D600 (0.8 mg/kg as a bolus 15 minutes after CAO and 0.2 mg/kg/hr as a continuous infusion for 6 hours). After 6 hours the hearts were excised and the left ventricles cut into 3mm -thick slices and stained with triphenyltetrazolium chloride. The extent of myocardial damage was measured by planimetry of the unstained areas. Thereafter, the same slices were autoradiographed and the extent of the hypoperfused zones measured by planimetry of the "cold spots". Both the treated and control dogs were divided into two classes according to the percentage of the left ventricle that was hypoperfused: small (< 27% of left ventricle) and large (> 27% of left ventricle). In control dogs with small and large hypoperfused zones, the percent of the hypoperfused zone that evolved to infarction were $94.1 \pm 3.0\%$ (mean \pm SE) and $93.3 \pm 2.1\%$, respectively; and in the D600 - treated dogs they were $37.7 \pm 7.2\%$ and $57.8 \pm 5.8\%$, respectively. Thus, the dogs with the small areas at risk had the most extensive reduction in damage (60% reduction) and treatment was less effective in those with the large areas at risk (43% reduction). Thus, the size of the area at risk is an important factor in determining the effectiveness of a drug in reducing myocardial damage.

REFERÊNCIAS

1. Maroko, P. R.; Kjekshus, J.K.; Sobel, B. E.; Watanabe, T.; Covell, J. W.; Ross Jr. J.; Braunwald, E. - Factors influencing infarct size following coronary artery occlusions. *Circulation*, 43: 67, 1971.
2. Maclean, D.; Fishbein, M. C.; Braunwald, E.; Maroko, P. R. - Long-term protection of ischemic myocardium after experimental coronary artery occlusion. *J. Clin. Invest.* 61: 541, 1978.
3. Maroko, P. R.; Covell, J. W. - Approaches to the protection of jeopardized myocardium. In *Karlner, J. S. - Coronary Care*, Churchill Livingstone, New York, 1981. P. 517.
4. Smith, E. R.; Redwood, D. R.; McCarron, W. E.; Epstein, S. E. - Coronary artery occlusion in the conscious dog. Effects of alterations in arterial pressure produced by nitroglycerin, hemorrhage, and alphaadrenergic agonists on the degree of myocardial ischemia. *Circulation*, 47: 51, 1973.
5. Reimer, K. A.; Loawe, J. E.; Jennings, R. B. - Effects of the calcium antagonist verapamil on necrosis following coronary artery occlusion in dogs. *Circulation*, 55: 581, 1977.
6. Fleckenstein, A.; Byron, K. - Prevention by Ca-antagonistic compounds (verapamil, D600) of coronary smooth muscle

- contracture due to treatment with cardiac glycosides. *Arch. Pharmacol. (Suppl R. 20)*: 641, 1974.
7. Nayler, W. G.; Poole-Wilson, P. - Calcium antagonists. Definition and mode of action. *Basic Res. Cardiol* 76: 1, 1981.
8. DeBoer, L. W. V.; Strauss, H. W.; Kloner, R. A.; Rude, R. E.; Davis, R. F.; Braunwald, E.; Maroko P.R. - An autoradiographic method for measuring the ischemic area at risk: The effects of delayed verapamil therapy on necrosis. *Proc. Natl. Acad.Sci.* 77: 6119, 1980.
9. Iwasaki, T.; Ribeiro, L.G. T. Faria, D. B.; Cheung, W.M.; Maroko, P. R. - The importance of the source of hyaluronidase in determining its effectiveness in reducing infarct size. *Am. Heart J.* 102: 324, 1981.
10. Snedecor, G. W.; Cochran, W. G. - *Statistical Methods*. 6th ed. Ames, University Press, Iowa, 1967.
11. Fisher, R. A. - *Statistical methods for research workers*, 13th ed. Hafner Publishing, New York, 1967.
12. Maroko, P. R.; Libby, P.; Sobel, B. E.; Bloor, C. M.; Sybers, H. D.; Shell, W. E.; Covell, J. W.; Braunwald, E. - Effect of glucose-insuline-potassium infusion on myocardial following experimental artery occlusion. *Circulation*, 45:1160, 1972.
13. Maroko, P. R.; Libby, P.; Bloor, C. M.; Sobel, B.E.; Braunwald, E. - Reduction by hyaluronidase of myocardial necrosis following coronary artery occlusion. *Circulation*, 46: 430, 1972.
14. Maroko, P. R.; Libby, P.; Ginks W. R., Boor, C. Shell, W. E.; Sobel, B. E.; Ross Jr., J. - Coronary artery reperfusion I: Early effects on local myocardial function and the extent of myocardial necroses. *J. Clin. Invest.* 51: 2710, 1972.
15. Radvany, P.; Maroko, P. R.; Braunwald, E. - Effects of hypoxemia on the extent of myocardial necrosis after experimental coronary artery occlusion. *Am. J. Cardiol.* 35: 795, 1975.
16. Libby, P.; Maroko, P. R.; Braunwald, E. - The effect of hypoglycemia on myocardial ischemic injury during acute experimental coronary artery occlusion. *Circulation*, 51: 621, 1975.
17. Miura, M.; Thomas, R.; Ganz, W.; Sokol T.; Shell, W. E.; Toshimitsu, T.; Kwan, A. C.; B. N. - The effect of delay in propranolol administration on reduction in size of experimental myocardial infarct size after experimental coronary artery occlusion in dogs. *Circulation*, 59: 1148, 1979.
18. Nasser, F. N.; Walls, J. T.; Edwards, W. D.; Harrison Jr., C. E. - Lidocaine induced reduction in size of experimental myocardial infarction. *Am. J. Cardiol* 46: 967, 1980.
19. Ribeiro, L. G. T.; Hillis, L. D - Louie, E. K.; Davis, M. A.; Maroko, P. R.; Braunwald, E. - A method demonstrating the efficacy of interventions designed to limit infarct size following coronary occlusion. Beneficial effect of hyaluronidase. *Cardiovasc. Res.* 12: 334, 1978.
20. Maroko, P. R.; Davidson, D. M.; Libby P.; Hagan, A. D.; Braunwald, E. - Effects of hyaluronidase nistration on myocardial ischemic injury in acute infarction. A preliminary study in 24 patients. *Ann. Intern. Med.* 82: 516, 1975.
21. Gold, H. K.; Leinbach, R. C.; Maroko, P. R. - Propranolol-induced reduction of signs of ischemic injury during acute myocardial infarction. *Am. J. Cardiol* 38: 689, 1976.
22. Maroko, P. R.; Hillis, L. D.; Muller, J. E.; Tavazzi, L.; Heyndrickx, G. R.; Ray, M.; Chiariello, M.; Distante, A.; Askenazi, J.; Salerno, J.; Carpenter, Reshetnaya, M. I.; Radvany, P.; Libby. P.; Raab, D. S.; Chazov, E. I.; Bobba, P.; Braunwald, E. Favorable effects of hyaluronidase on electrocardiographic evidence of necrosis in patients with acute myocardial infarction. *N. Engl. J. Med.* 296: 893, 1977.
23. Come, P. C.; Flaherty, J. T.; Baird, M. G.; Rouleau, J. R.; Weisfeldt, M. L.; Greene, H. L.; Becker, L.; Pitt, B. - Reversal by phenylephrine of the effects of intravenous nitroglycerin in patients with acute myocardial infarction. *N. Engl. J. Med.* 293: 1003, 1975.
24. Chiariello, M.; Gold, H. K.; Leinbach, R. C.; Davis, M. A.; Maroko, P. R. - Comparison between the effects of nitroprusside and nitroglycerin on ischemic injury during acute myocardial infarction. *Circulation* 54: 766, 1976.
25. Epstein, S. E.; Kent, K. M.; Goldstein, R. E.; Borer, J. S.; Redwood, D. R. - Reduction of ischemic injury
26. Lowe, J. E.; Reimer, K. *; Jennings, R.B. - Experimental infarct size as a function of the amount of myocardium at risk. *Am. J. Pathol.* 90:363, 1978.

27. Jugdutt, B.I.; Hutchins, G.M.; Bulkey, B. H., Becker, L. C.- Myocardial infarction in the conscious dog: Three- dimensional mapping of infarct: Collateral flow and at risk. *Circulation*, 60: 1141, 1979
28. Schaper, W.; Hofmann, M.; Muller, K. D., Genth, L.; Carl, M. - Experimental occlusion of the two small coronary arteries in the same heart. A new validation method for infarct size manipulation. *Basic. Res. Cardiol.*74: 224, 1979.
29. Watanabe, A. M.; Beach Jr., H. R. - Subcellular myocardial effects of verapamil and D600. Comparison with propranolol. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 191: 241, 1974.
30. Bayer,R.; Hennekes, R.; Kaufmann, R.; Mannhold, R. - Inotropic and electrophysiological actions of verapamil and D600 in mammalian myocardium. I. Pattern of inotropic effects of racemic compounds. *Arch. Pharmacol.* 290: 49, 1975.
31. Brooks, W.W.; Verrier, R. L.; Lown, B. - Protective effect of verapamil on ventricular vulnerability during coronary artery occlusion and reperfusion. *Am. J. Cardiol.* 41: 426, 1977.
32. Fondacaro, J. D.; Han, J.; Yoon, M. S. - Effects of verapamil on ventricular rhythm during acute coronary occlusion. *Am. Heart J.* 96: 81, 1978.
33. Smith, H. J.; Singh, B. N.; Nisbet, H. D.; Norris, R.M. - Effects of verapamil on infarct size following experimental coronary artery occlusion. *Cardiovasc. Res.* 9: 569, 1975.
34. Wende, W.; Bleifeld, W.; Meyer, J.; Stuhlen, H. W. -Reduction of size of acute experimental myocardial infarction by verapamil. *Basic Res. Cardiol.* 70: 198, 1975.
35. Ribeiro, L. G. T.; Yasuda, T.; Lowenstein, E.; Braunwald, E.; Maroko, P. R.; Comparative effects on anatomic infarct size of verapamil, ibuprofen, and morphine-prometazine-chlorpromazine combination, *Am. J. Cardiol.* 43: 396, 1979.
36. Lefer, A. M.; Polansky, E. W.; Bianchi, C. P.; Narayan, S. - Influence of verapamil on cellular integrity and electrolyte concentrations of ischemic myocardial tissue in the cat. *Basic Res. Cardiol.* 74: 555, 1979.
37. Da Luz, P. L.; Barros, L. F. M.; Leite, J. J.; Pileggi, F.; Decourt, L. V. - Effect of verapamil on regional coronary and myocardial perfusion during acute coronary occlusion. *Am. J. Cardiol.* 45: 269, 1980.
38. Nayler, W. G.; Szeto, J. - Effect of verapamil on contractility; oxygen utilization, and calcium exchangability in mammalian heart muscle. *Cardiovasc. Res.* 6: 120, 1972.
39. Schaper, W. - Experimental coronary artery occlusion III. The determinants of collateral blood flow in acute coronary. *Basic. Res. Cardiol.* 73: 584, 1978.