

## 原 著

成人T細胞白血病由来因子(ATL-derived factor:ADF)の  
虚血再灌流不整脈に及ぼす影響

榎田高士\* 田中一彦\* 中村正人\*\*  
田倉学\* 泉 貴文\* 末包慶太\*  
古賀義久\*

## 要 約

ウイスターラットの摘出心を用い、再灌流不整脈に対する成人T細胞白血病由来因子(ATL-derived factor:ADF)の抗不整脈作用を検討した。灌流液であるKrebs-Henseleit液の中にADFを添加、ADF濃度を0(control), 0.01, 0.1, 0.25, 0.5, 0.75, 1.0, 2.5, 5.0, 10.0, 15.0, 50.0mg/lの12群(各群12匹)とし、ランゲンドルフ法による冠灌流を行った。冠状動脈左前下行枝を11分間結紮閉塞させ、その後、結紮を解除することにより再灌流を行ない、再灌流不整脈の発生頻度、持続時間について検討した。その結果、持続性心室細動(sustained VF)の発生頻度、心室細動持続時間においてはADFの濃度が0.5ないし0.75mg/lを最低とする逆ベル型の用量効果曲線が認められた。またADFによる摘出灌流心の冠灌流量、心拍数の変化には有意差を認めなかった。これらの結果から、ADFには抗再灌流不整脈作用があり、その効果発現は濃度依存性ではなく、至適濃度が存在することが判明した。

心筋虚血後に再灌流を行うと重症不整脈が発生することが知られている<sup>1)2)</sup>。この再灌流不整脈は血栓溶解療法や経皮経管冠動脈形成術などによる閉鎖冠動脈の血行再灌流療法、また麻酔中の冠動脈の攣縮後や人工心肺離脱時の再灌流における合併症として注目されている<sup>2)3)4)</sup>。再灌流不

整脈の発生原因については諸説があるが、活性酸素の関与が成因のひとつとして重要視されるようになってきた<sup>5)6)</sup>。しかし、そのメカニズムについては未だ不明な点も多く、有効な予防薬の開発が待たれているのが現状である。

一方、1985年に発見された成人T細胞白血病由来因子<sup>7)</sup>(Adult T cell leukemia-derived factor:ADF)は酸化ストレス防御因子のサイトカインであり、過酸化水素のスキャベンジャーとして作用することが示唆されている<sup>8)9)</sup>。そこで我々はADFに再灌流不整脈の予防薬としての効果が期待できるのではないかと考え、ラット摘出心における再灌流不整脈に対するADFの効果について検討を行った。

## 対象および方法

## 1. 実験動物

273-318gの雄性ウイスター系ラットを用い、各群12匹とした。

## 2. 灌流モデル作成および実験手順

エーテル麻酔下に、ヘパリン200単位を大腿静脈から投与、1分後に心臓を摘出し直ちに4℃の灌流液で冷却、心停止させた後、ランゲンドルフ法による冠灌流を開始した。灌流液には95%酸素+5%炭酸ガスでバブリングさせた37℃のKrebs-Henseleit緩衝液(mmol/l:NaCl 118.5, NaHCO<sub>3</sub> 25, KCl 3.2, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.19, MgSO<sub>4</sub> 1.18, CaCl<sub>2</sub> 2.5, glucose 11)を用い、100cmH<sub>2</sub>Oの静水圧による定圧冠灌流を行なった。なお灌流液は使用前にフィルター(0.45μm, ミリポア)にて濾過した。

\*近畿大学医学部麻酔科学教室

\*\*市立貝塚病院麻酔科

2本の液槽のうち、1本の液槽には Krebs-Henseleit 緩衝液のみを、他の液槽には各濃度に ADF を添加した Krebs-Henseleit 緩衝液を入れ、バブリングを行った。

摘出心をランゲンドルフ装置に装着後、冠状動脈起始部付近の左前下行枝周囲に針付き糸 (5-0 ネスピレン, 日本商事) をまわし、糸の両端を約 2 cm のプラスチックチューブのオクルーダーの中へ通した。その後、心電図電極を心尖部と大動脈起始部に装着、心外膜心電図を全経過を通してハートモニター (HR-3, 三栄電子) で観察し、図1に示す測定点では記録計 (レクチコーダー, 日本光電) を用いて 25mm/sec で記録を行なった。摘出心を Krebs-Henseleit 緩衝液のみで 15 分間灌流させて心拍数および冠灌流量を一定に安定させた後、図1に示す測定点において後述の測定項目についてコントロールの測定を行なった (測定点 1)。その後、スイッチャーにより後述の各濃度の ADF を混和した Krebs-Henseleit 緩衝液にて灌流を行い、10 分間 ADF 添加灌流液による変化を観察 (測定点 2)、その後オクルーダーで左前下行枝の冠状動脈の結紮を行ない (測定点 3)、11 分間の虚血を行なった後、結紮糸を切断、オクルーダーを取り除き、3 分間再灌流を行った<sup>10)</sup> (測定点 4)。

### 3. ADF の調製および濃度

ADF は味の素(株)中央研究所より提供を受けた recombinant ADF (MW = 12000)<sup>8)</sup> を使用した。

ADF を Krebs-Henseleit 緩衝液に混和し、0 (control), 0.01, 0.1, 0.25, 0.5, 0.75, 1.0, 2.5, 5.0, 10.0, 15.0, 50.0mg/l の 12 群 (各群 12 匹) となるように調製した。

### 4. 測定項目

#### 1) 冠灌流量の測定

各測定点 (図1) で 10ml のメスシリンダーを用い、流出する灌流液量を各測定点の前 1 分間で測定した。

#### 2) 心拍数の測定と再灌流不整脈の分析

心拍数は図1の測定点 1, 2, 3, 4 の前 30 秒間記録した心電図から計測し、計測値を 2 倍して算出した。但し、測定点 4 において洞調律でない灌流心では測定は行わなかった。再灌流不整脈は再灌流直前から灌流後 3 分までの心電図を連続記録し、出現した不整脈を Lambeth Conventions ガイドライン<sup>11)</sup>に従って分析した。再灌流後 3 分の観察時間を過ぎて VF が持続しているものを sustained VF とし、VF 持続時間は再灌流開始から 3 分間の観察時間内に認められた VF の時間の合計時間とした。

### 5. 統計

統計処理には発現頻度の検定には  $\chi^2$  検定 (Yates の補正)、群内の検定には Student's paired t-test を用い、群間の検定には分散分析を行ない、有意差の生じたものについてはコントロール群と Student's unpaired t-test を用いて行ない、 $P < 0.05$  を有意と判定した。

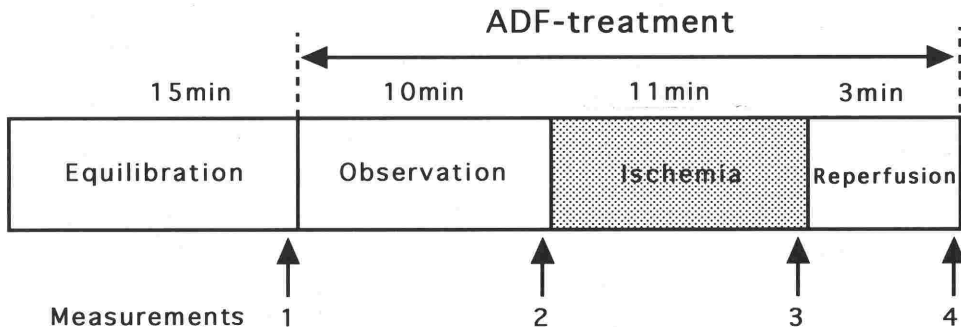


図1 実験のプロトコール

- 測定点 1. Control : 摘出心のランゲンドルフ装着後、安定平衡 15 分後。
- 測定点 2. Pre-ischemia : 冠状動脈結紮直前
- 測定点 3. Ischemia : 再灌流直前
- 測定点 4 : Reperfusion : 再灌流後 3 分
- 測定点 1. の直後から各濃度の ADF の灌流を開始。
- 1. 2. 3. 4. の各測定点において冠灌流量、心拍数を測定。
- 測定点 3. の直前から測定点 4. の間は心電図を連続記録。

結 果

1. 冠灌流量の変化

コントロール値と比較して全濃度において ADF 投与による冠灌流量の統計的有意な変化は認めなかった。虚血時には冠灌流量は全群約60%に減少したが、群間には有意差は認められなかった(表1)。

2. 心拍数の変化

全群で ADF の投与による心拍数の統計的有意な変化はなく (Pre-ischemia), 虚血時では ADF 非投与のコントロール群：(0)control を含む全群で結紮前と比較して有意に低下したが各群間に有意差は認められなかった(表2)。

3. 心室性頻拍 (VT)・VF 発現頻度

VT 発現頻度はコントロール群および ADF 投与の全群で100%であった。VF 発現頻度については ADF 0.25, 1.0mg/l の濃度で92.7%となったが、その他の濃度群では全て100%であった。VT および VF 発現頻度はコントロール群と比較して統計的有意差は認められなかった。

4. Sustained VF 発現頻度

ADF 0.5, 0.75, 1 mg/l の3群でコントロール群と比較して有意に発現頻度の低下を認めた。また0.5mg/l を最低とする逆ベルシェーブ型の用量効果曲線となった(図2 a))。

5. VF 持続時間

Sustained VF 発現頻度と同様, ADF 0.5, 0.75, 1 mg/l の3群でコントロール群の VF 持続時間と比較して有意な低下が認められた。VF 持続時間については0.75mg/l を最小とする逆ベルシェーブ型の用量効果曲線を認めた(図2 b))。

6. VT 持続時間, 心室性期外収縮 (PVC) 数の変化

VT 持続時間, PVC の数においてはコントロール群の値と ADF 添加後の各測定値では統計的有意差は認められなかった(表3)。

考 察

ランゲンドルフ法を用いた摘出心標本の左前下行枝結紮および解除による再灌流不整脈については多くの研究がなされている<sup>1)5)6)</sup>。再灌流不整

表1 冠灌流量の変化 (ml/min)

Concentration of ADF (mg/ℓ)	Control	Pre-ischemia	Ischemia	Reperfusion
(0)control	10.9±0.4	10.5±0.2	6.0±0.2 <sup>ab</sup>	15.0±0.6 <sup>ab</sup>
0.01	10.9±0.3	10.4±0.4	6.8±0.2 <sup>ab</sup>	15.3±0.6 <sup>ab</sup>
0.1	10.9±0.3	10.5±0.2	6.8±0.4 <sup>ab</sup>	14.9±0.5 <sup>ab</sup>
0.25	11.0±0.2	10.6±0.2	6.7±0.3 <sup>ab</sup>	15.2±0.6 <sup>ab</sup>
0.5	11.1±0.3	10.8±0.3	7.1±0.3 <sup>ab</sup>	14.4±0.7 <sup>ab</sup>
0.75	10.8±0.2	10.4±0.3	7.3±0.5 <sup>ab</sup>	14.4±0.6 <sup>ab</sup>
1.0	11.8±0.5	11.4±0.6	6.9±0.3 <sup>ab</sup>	14.8±0.6 <sup>ab</sup>
2.5	10.6±0.4	10.3±0.3	7.2±0.4 <sup>ab</sup>	14.5±0.5 <sup>ab</sup>
5.0	10.8±0.3	10.4±0.2	7.3±0.4 <sup>ab</sup>	15.0±1.0 <sup>ab</sup>
10.0	10.8±0.4	10.6±0.3	6.9±0.4 <sup>ab</sup>	12.3±0.8 <sup>ab</sup>
15.0	10.9±0.2	10.5±0.2	7.1±0.3 <sup>ab</sup>	14.6±0.5 <sup>ab</sup>
50.0	10.3±0.4	10.3±0.5	7.0±0.2 <sup>ab</sup>	14.0±0.8 <sup>ab</sup>

群は ADF の濃度によって分けた。  
 Control (0) : ADF は含まず Krebs-Henseleit 液のみで灌流を行った群。  
 Control : 摘出心のランゲンドルフ装着後, 安定平衡時間15分後の値。  
 Pre-ischemia : 冠状動脈結紮直前の値。  
 Ischemia : 再灌流直前の値。  
 Reperfusion : 再灌流後3分の値。  
 数値は平均±平均誤差。  
 a : P < 0.01 vs Control      a' : P < 0.05 vs Control  
 b : P < 0.01 vs Pre-ischemia      b' : P < 0.05 vs Pre-ischemia

表2 心拍数の変化 (beats/min)

Concentration of ADF (mg/ℓ)	Control	Pre-ischemia	Ischemia	Reperfusion
(0)control	284.5±7.9	277.5±5.6	261.7±3.4 <sup>ab</sup>	282 (n=1)
0.01	285.1±6.2	278.6±6.1	254.8±7.4 <sup>ab</sup>	270.0±4.6 (n=3)
0.1	287.9±6.5	277.9±6.2	255.4±4.0 <sup>ab</sup>	252.8±7.2 (n=4)
0.25	277.3±6.1	270.3±4.7	251.7±6.2 <sup>ab</sup>	257.2±5.4 (n=5)
0.5	278.3±6.8	275.3±9.2	257.1±6.4 <sup>a'b'</sup>	256.6±7.0 (n=8)
0.75	287.2±5.8	280.4±5.5	255.3±7.5 <sup>a'b'</sup>	258.6±9.1 (n=7)
1.0	284.9±4.5	278.7±4.4	261.3±7.4 <sup>ab'</sup>	271.4±11.0 (n=7)
2.5	276.3±6.3	266.3±7.6	253.8±9.8 <sup>ab'</sup>	267.3±10.9 (n=4)
5.0	281.0±5.5	280.5±7.2	266.0±5.7 <sup>ab</sup>	268.5±2.9 (n=4)
10.0	277.5±5.7	268.5±4.9	255.0±6.5 <sup>a</sup>	264.0±12.5 (n=3)
15.0	281.5±3.6	274.0±4.5	244.3±3.1 <sup>ab</sup>	260.0±12.2 (n=3)
50.0	278.5±6.8	269.8±5.9	247.0±5.9 <sup>ab</sup>	240 (n=1)

群は ADF の濃度によって分けた。

Control (0) : ADF は含まず Krebs-Henseleit 液のみで灌流を行った群。

Control : 摘出心のランゲンドルフ装着後、安定平衡時間15分後の値。

Pre-ischemia : 冠状動脈結紮直前の値。

Ischemia : 再灌流直前の値。

Reperfusion : 再灌流後3分の値。

数値は平均±平均誤差。

a : P < 0.01 vs Control    a' : P < 0.05 vs Control

b : P < 0.01 vs Pre-ischemia    b' : P < 0.05 vs Pre-ischemia

表3 再灌流による心室性不整脈

Concentration of ADF (mg/ℓ)	Duration of VT (sec)	Number of PVC (beats)
(0)control	9.0±1.8	98.8±15.4
0.01	10.3±2.7	129.5±40.4
0.1	14.5±2.5	160.8±34.5
0.25	12.8±3.1	145.9±38.6
0.5	12.8±3.0	161.5±37.7
0.75	13.2±2.9	140.3±30.3
1.0	9.8±2.1	117.4±17.4
2.5	10.3±1.4	124.0±16.2
5.0	7.8±1.2	94.3±18.3
10.0	14.0±3.6	147.2±48.2
15.0	10.3±2.3	121.8±25.1
50.0	9.9±3.4	122.3±36.7

Control (0) : ADF は含まず Krebs-Henseleit 液のみで灌流を行った群。

VT : 心室性頻拍    PVC : 心室性期外収縮

数値は平均±平均誤差。

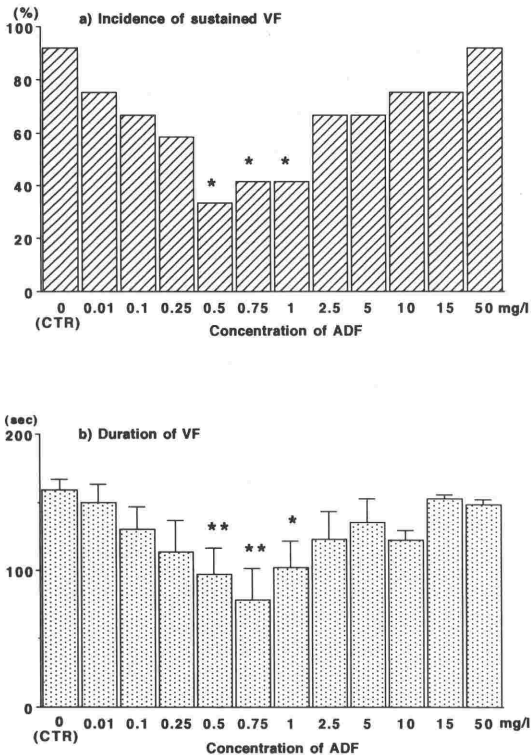


図2 持続性VF出現頻度およびVF持続時間

a) 持続性VF頻度

持続性VFは再灌流後に発生したVFが3分間の観察時間の終了時まで止らずに連続したものと定義した。

b) VF持続時間

VF持続時間は再灌流後3分間に発生したVFの総合計時間。値は平均±平均誤差。

CTRはADFは含まずクレブス液のみで灌流を行った群の値。

\*\* :  $P < 0.01$  vs CTR \* :  $P < 0.05$  vs CTR

脈の発生原因についてはカルシウムイオンの influx の増加<sup>12)</sup>、リエントリー<sup>13)</sup>等が報告されてきたが、最近ではスーパーオキシドアニオンラジカルが引金となる活性酸素説が有力な仮説の一つとして提唱されている<sup>5)6)14)</sup>。我々と同様のランゲンドルフモデルを用いた実験においても電子スピン共鳴法により虚血再灌流後の初期にバースト状にラジカルが発生することが確認されている<sup>14)</sup>。これに対してラジカルスカベンジャーである superoxide dismutase (SOD) やカタラーゼ、グルタチオンが再灌流不整脈の発生を軽減させる

作用があることが報告されている<sup>5)6)</sup>。これらのことからフリーラジカルのスカベンジャーや抗酸化剤が、再灌流不整脈の有効な治療薬として期待されている<sup>15)16)</sup>。

1985年に勅使河原ら<sup>7)</sup>は HTLV-1 (human T cell leukemia type-1) の陽性細胞株である ATL-2 (adult T cell leukemia-2) の培養上清中に IL-2R (interleukin-2 receptors)/p55 (tac antigen) 誘導因子を発見し、成人T白血病由来因子 ADF と名づけた。この ADF は生体内に広く分布し、ウイルス感染細胞の増殖促進、co-cytokine 活性などの種々の生物活性をもつサイトカインである<sup>17)</sup>。ADF は活性部位に2つのシスチン基をもち、還元活性を持つことが判明しており、腫瘍壊死因子や過酸化水素による細胞障害活性を抑制することが報告されている<sup>18)</sup>。また NADPH, thioredoxin reductase (TxR) の存在下にキサンチン/キサンチンオキシダーゼにより発生する活性酸素を消去する作用を有している。この作用は過酸化水素に対する作用であり、還元反応とカタラーゼ様の反応は同じ活性部位で起こっていることが示唆されている<sup>8)</sup>。しかし、現在まで ADF の再灌流不整脈に対する作用についての報告は見当たらない。ADF は低濃度 ( $4.2 \sim 8.3 \times 10^{-8} M$ ) で心拍数や灌流量に影響を与えず、再灌流不整脈を抑制することを認めた報告は、我々が最初である。

今回の実験では再灌流後3分間での sustained-VF 発現頻度、VF 持続時間からみた場合、0.5~1 mg/l で有意に重症不整脈の発生が低下しており、ADF の虚血再灌流不整脈発現に対する抑制作用が認められた。ADF がカタラーゼと同様ラジカルスカベンジャーとして作用して、再灌流不整脈を抑制したと考えられる。しかし、ADF 投与下での VT 出現頻度、VF 出現頻度については全群高率であり、同様な再灌流モデルで行われた SOD、カタラーゼ、グルタチオンなどのスカベンジャーの結果と比較して ADF の抗不整脈効果は弱い<sup>5)6)</sup>。中村らによると過酸化水素あるいは phorbol myristate acetate (PMA) で活性化した好中球による血管内皮細胞障害系に対して ADF はこれらの細胞障害を防御する。この作用は同 mol のカタラーゼ、グルタチオンと比較するとカタラーゼの防御効果が最も強く、ついで ADF、グルタチオンの順であったと報告している<sup>19)</sup>。

カタラーゼは単独で、主として細胞外で過酸化水素を消去することによって細胞を保護すると考えられるのに対し、ADFはNADPHとTxRの共存のもとに細胞質レベルで過酸化水素を消去する<sup>9)</sup>17)。この点でカタラーゼとは異なった経路で過酸化水素が消去され、再灌流不整脈発生在抑制されたものと考えられる。またカタラーゼの場合、濃度依存性で効果を現わしている<sup>6)</sup>のに対しADFは逆ベルシエープの用量効果曲線を示した。この逆ベルシエープを示す理由は定かではないが、高濃度のADFが存在すれば、通常、酸化環境である灌流空間が還元環境にさらされ、S-S結合によって高次構造の保たれているレセプタなどの細胞表面に露出している蛋白質のS-S結合の切断によってその機能を障害され、これが有効性消失につながる一因となっている可能性があり、今後検討を要するものと考えられる。

再灌流不整脈に有効な治療薬としてSODが検討されている<sup>4)15)</sup>が、臨床実用化されるには至っていない。ADFはそのレドックス制御が活性酸素に関連した各種の病態を改善し、細胞傷害を防止する物質<sup>9)17)</sup>として注目されつつあり、今後の臨床応用が期待される。

## ま と め

ADFの虚血再灌流不整脈に対する抗不整脈効果をラット摘出灌流心モデルを用いて検討した。

ADFは心拍数、冠灌流量に対して変化を及ぼさず、再灌流不整脈の発生を抑制する効果を示した。その効果発現様式は用量依存性ではなく逆ベルシエープ型であり、至適濃度は0.5~0.75mg/lであった。

## 文 献

- 1) Manning AS, Hearse DJ: Reperfusion-induced arrhythmias: mechanisms and prevention. *J Mol Cell Cardiol* 16: 497-518, 1984
- 2) 宮崎利久, 小川 聡: 虚血・再灌流障害と不整脈. *nanoGIGA* 12: 89-95, 1993
- 3) 山崎 昇: 虚血・冠再灌流と心筋代謝. *nanoGIGA* 12: 68-75, 1993
- 4) Murohara Y, Yui Y, Hattori R, et al: Effects of superoxide dismutase on reperfusion arrhythmias and left ventricular function in patients undergoing thrombolysis for anterior wall acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 67: 765-767, 1991
- 5) Bernier M, Hearse DJ, Manning AS: Reperfusion-induced arrhythmias and oxygen-derived free radicals. Studies with "anti-free radical" interventions and a free radical-generating system in the isolated perfused rat heart. *Circ Res* 58: 331-340, 1986
- 6) Bernier M, Manning AS, Hearse DJ: Reperfusion arrhythmias: dose-related protection by anti-free radical interventions. *Am J Physiol* 256: H 1344-H 1352, 1989
- 7) Teshigawara K, Maeda M, Nishino K, et al: Adult T leukemia cells produce a lymphokine that augments interleukin 2 receptor expression. *J Mol Cell Cardiol* 2: 17-26, 1985
- 8) Mitsui A, Hirakawa T, Yodoi J: Reactive oxygen-reducing and protein-refolding activities of adult T cell leukemia-derived factor/human thioredoxin. *Biochem. Biophys Res Commun* 186: 1220-1226, 1992
- 9) 淀井淳司: 酸化ストレスと細胞活性化 *Molecular Medicine* 30: 454-462, 1993
- 10) 榎田高士, 田中一彦, 中村正人ほか: ラット摘出心における虚血時間と再灌流不整脈との関係. 循環制御投稿中
- 11) Walker MJA, Curtis MJ, Hearse DJ, et al: The Lambeth Conventions: Guidelines for the study of arrhythmias in ischemia, infarction, and reperfusion. *Cardiovasc Res* 22: 447-455, 1988
- 12) Opie LH: Reperfusion injury and its pharmacologic modification. *Circulation* 80: 1049-1062, 1989
- 13) Murdock DK, Loeb JM, Euler DE, et al: Electrophysiology of coronary reperfusion: A mechanism for reperfusion arrhythmias. *Circulation* 61: 175-182, 1980
- 14) Garlic PB, Davies MJ, Hearse DJ, et al: Direct detection of free radicals in the reperfused rat heart using electron spin resonance spectroscopy. *Cir Res* 61: 757-760, 1987
- 15) 山本文雄, 田中一彦, 藤原 良ほか: Reperfusion-induced arrhythmiaに対するHuman SODの効果に関する検討. 循環制御 9: 69-72, 1988
- 16) 小川 聡: 再灌流不整脈の予防・治療. *ICUとCCU* 16: 513-520, 1992
- 17) 松田光弘, 入交清博, 堀内清ほか: 新しい酸化ストレス防御因子としてのADF/thioredoxin. *フリーラジカルの臨床* 7: 65-70, 1993
- 18) Matsuda M, Matsutani H, Nakamura H, et al: Protective activity of adult T cell leukemia-derived factor (ADF) against tumor necrosis factor-dependent cytotoxicity on U937 cells. *J Immunol* 147: 3887-3841, 1991
- 19) Nakamura H, Matsuda M, Furuue K, et al: Adult T cell leukemia-derived factor/human thioredoxin protects endothelial F-2 cell injury caused by activated neutrophils or hydrogen peroxide. *Immunol lett (in press)*

## Effects of ADF on the Reperfusion-Induced Arrhythmias in Isolated Perfused Rat Hearts

Takashi Umeda, Kazuhiko Tanaka, Masato Nakamura,  
Manabu Takura, Takafumi Izumi, Keita Suekane and Yoshihisa Koga

Department of Anesthesiology, Kinki University School of Medicine,  
Osaka, Japan

Using the isolated perfused rat heart, we have investigated the influence of adult T cell leukemia-derived factor (ADF) on the reperfusion induced ventricular arrhythmias.

Isolated rat hearts (n = 12 per group) were subjected to regional ischemia (occlusion of left anterior descending coronary artery for 11 minutes) and reperfusion. ADF (0 (control), 0.01, 0.1, 0.25, 0.5, 0.75, 1.0, 2.5, 5.0, 10.0, 15.0, or 50.0 mg/l added to the perfusate) were given from 10 minutes prior to the ischemia and throughout the experiment. ADF did not affect the heart rate or the coronary flow of the perfused ratheart. ADF reduced the duration of

ventricular fibrillation (VF) and the incidence of sustained VF, describing an asymmetric U-shaped curve in the dose-response characteristic. The optimal dose of ADF (0.5 and 0.75 mg/l) reduced the duration of VF from the control value of  $159.3 \pm 2.1$  (mean  $\pm$  SEM) to  $78.3 \pm 23.2$  sec ( $P < 0.01$ ) and the incidence of sustained VF from its control value of 91.7 to 33.3% ( $P < 0.05$ ).

These results indicate that ADF has an inhibitory effect on reperfusion-induced ventricular arrhythmias and that there is an optimal dose for the inhibitory action.

**Key words** : ADF, Arrhythmia, Reperfusion, Ischemia, Reperfusion-induced arrhythmia.