

Artigo Original

Amiodarona Causa Vasodilatação Dependente do Endotélio em Artérias Coronárias Caninas

Amiodarone Causes Endothelium-Dependent Vasodilation in Canine Coronary Arteries

Alfredo José Rodrigues, Paulo Roberto Barbosa Evora, Ayako Maruo, Hartzell V. Schaff
Ribeirão Preto, SP / Mayo Clinic - Rochester, MN, USA

Objetivo

Avaliar os efeitos vasodilatadores da amiodarona em artérias coronárias caninas empregando soluções de amiodarona dissolvida em polisorbato 80 ou em água.

Métodos

Anéis de artéria coronária, com e sem o endotélio íntegro, foram imersos em solução de krebs e conectadas a um transdutor para aferição de força isométrica promovida por contração vascular. As artérias foram expostas a concentrações crescentes de polisorbato 80, amiodarona dissolvida em água, amiodarona dissolvida em polisorbato 80 e uma apresentação comercial da amiodarona (Cordarone®). Os experimentos foram conduzidos na presença e na ausência dos seguintes bloqueadores enzimáticos: apenas indometacina, N ω -nitro-L-arginina associada à indometacina e apenas N ω -nitro-L-arginina.

Resultados

O polisorbato 80 causou pequeno relaxamento não dependente do endotélio. O Cordarone®, a amiodarona dissolvida em água e em polisorbato 80 promoveram relaxamento dependente do endotélio, que foi de maior magnitude para a amiodarona dissolvida em polisorbato e para o Cordarone®. Apenas a associação de indometacina com a N ω -nitro-L-arginina foi capaz de abolir o relaxamento dependente do endotélio provocado pela amiodarona dissolvida em polisorbato 80.

Conclusão

Os resultados obtidos indicam que a vasodilatação promovida pela amiodarona em artérias coronárias caninas é causada principalmente pela estimulação da liberação de óxido nítrico e fatores endoteliais relaxantes dependentes das ciclo-oxigenases.

Palavras-chave

endotélio, amiodarona, óxido nítrico, ciclo-oxigenase, circulação coronariana

Objective

To assess the vasodilating effects of amiodarone on canine coronary arteries by using solutions of amiodarone dissolved in polysorbate 80 or water.

Methods

Rings of coronary arteries, with or without intact endothelium, were immersed in Krebs solution and connected to a transducer for measuring the isometric force promoted by a vascular contraction. The arteries were exposed to increasing concentrations of polysorbate 80, amiodarone dissolved in water, amiodarone dissolved in polysorbate 80, and a commercial presentation of amiodarone (Cordarone®). The experiments were conducted in the presence of the following enzymatic blockers: only indomethacin, N ω -nitro-L-arginine associated with indomethacin, and only N ω -nitro-L-arginine.

Results

Polysorbate 80 caused a small degree of nonendothelium-dependent relaxation. Cordarone, amiodarone dissolved in water, and amiodarone dissolved in polysorbate 80 caused endothelium-dependent relaxation, which was greater for amiodarone dissolved in polysorbate and for Cordarone. Only the association of indomethacin and N ω -nitro-L-arginine could eliminate the endothelium-dependent relaxation caused by amiodarone dissolved in polysorbate 80.

Conclusion

The results obtained indicate that vasodilation promoted by amiodarone in canine coronary arteries is mainly caused by stimulation of the release of nitric oxide and cyclooxygenase-dependent relaxing endothelial factors.

Key words

endothelium, amiodarone, nitric oxide, cyclooxygenase, coronary circulation.

Atualmente, a amiodarona é utilizada, exclusivamente, como um anti-arrítmico, todavia, foi primariamente introduzida como um vasodilatador para o tratamento da angina de peito¹. Embora seu efeito vasodilatador, muitas vezes evidenciado como hipotensão após uso intravenoso^{2,3}, seja bem conhecido, os mecanismos responsáveis pela vasodilatação não o são. Demonstrou-se que a amiodarona e o seu metabolito, a N-desetilamiodarona, promovem relaxamento dependente do endotélio em veias humanas^{4,5}. Entretanto, são escassas as informações quanto aos mecanismos envolvidos no relaxamento de artérias sistêmicas, sobretudo as artérias coronárias.

Não obstante os efeitos intrínsecos da amiodarona, sabe-se que o polisorbato 80, solvente utilizado nas apresentações comerciais da amiodarona, pode influenciar o efeito de outras drogas⁶⁻⁸, promover a liberação de histamina⁹, além de ser potencialmente lesivo para o endotélio^{10,11}. Tais efeitos podem ser clinicamente relevantes, levando à procura de apresentações aquosas de amiodarona¹².

A presente investigação foi elaborada com a finalidade de avaliar os efeitos vasodilatadores da amiodarona, bem como do polisorbato 80, em artérias coronárias caninas, empregando solução de amiodarona dissolvida em polisorbato 80, solução de amiodarona diluída em água e solução de polisorbato 80 diluído em água. Para avaliar, separadamente, cada uma das duas principais vias de produção e liberação de fatores endoteliais vasodilatadores (óxido nítrico e prostaciclina), os experimentos foram realizados em presença de inibidor da óxido nítrico sintetase (N ω -Nitro-L-arginina), das ciclo-oxigenases (indometacina) e de ambos.

Métodos

Cães mestiços (25-30 kg), livres de verminoses e de ambos os sexos, foram anestesiados com tiopental sódico intravenoso (30 mg/kg; Abbott Lab., Chicago, IL) e exanguinados mediante secção das carótidas. O tórax foi rapidamente aberto e o coração, ainda em atividade, foi retirado e imerso em solução de Krebs gelada com a composição molar: NaCl- 118,3; KCl- 4,7; MgSO₄- 1,2; KH₂PO₄- 1,22; CaCl₂- 2,5; NaHCO₃- 25,0 e glicose, 11,1. A investigação foi aprovada e realizada de acordo com o estabelecido pelo Guia de Cuidados e Uso de Animais de Laboratório publicado pelo *US National Institutes of Health (NIH Publication No. 85-23, revised 1996)*, e das normas do Comitê Institucional para o Cuidado e Uso de Animais da *Mayo Foundation*, Rochester, MN, EUA.

A artéria coronária circunflexa foi dissecada e um segmento retirado. Anéis vasculares com 4 a 5 mm de comprimento foram cuidadosamente obtidos a partir desse seguimento arterial. Os anéis foram suspensos em câmaras com capacidade de 25 ml, cheias com solução de Krebs a 37 °C e aerada com mistura gasosa composta de 95% de O₂ e 5% de CO₂ (pH=7.4). Cada anel vascular foi suspenso por dois ganchos de aço inoxidável passados através do lúmen dos vasos. Um gancho era preso ao fundo da câmara e o outro ao transdutor de força *Statham UC 2, Gould, Cleveland, Ohio*. Após a estabilização da preparação, os anéis foram estirados progressivamente até a tensão preestabelecida de 10 g.

Em todos os experimentos a ausência ou a presença de endotélio íntegro foi averiguada pela resposta observada à dose única de acetilcolina (10⁻⁶ M), após contração induzida por 20 mM de cloreto de potássio. A remoção do endotélio foi realizada mecani-

camente, introduzindo-se o ramo de uma pinça delicada na luz do vaso e rolando-o sob esse ramo da pinça.

Após a averiguação do estado funcional do endotélio os vasos eram mantidos nas câmaras cheias com solução de Krebs sem drogas por 30 min antes do início dos experimentos.

Todos os experimentos foram realizados em paralelo, utilizando-se pares de anéis vasculares compostos por um anel com endotélio e outro sem o endotélio. Inicialmente foram obtidas curvas concentração-resposta para a amiodarona dissolvida em água destilada (AMA) nas concentrações de 10⁻⁹ M a 10⁻⁴ M, para a solução de amiodarona dissolvida em polisorbato 80 (AMPO) nas concentrações de 10⁻⁹ M a 10⁻⁴ M de amiodarona e de 10⁻¹³ M a 10⁻⁸ M de polisorbato, para a solução de polisorbato 80 (10⁻¹³ M to 10⁻⁸ M of polisorbato) e também para uma apresentação comercial da amiodarona (cordarone®, 10⁻⁹ M a 10⁻⁴ M de amiodarona). Todas as soluções foram testadas simultaneamente em anéis com endotélio e sem o endotélio.

O primeiro grupo de curvas concentração-resposta foi obtido sem o bloqueio das ciclo-oxigenases ou da óxido nítrico sintetase. Subseqüentemente, foram obtidas curvas concentração-resposta para amiodarona em água (AMA) e em polisorbato 80 (AMPO) na presença de indometacina (2x10⁻⁵ M), indometacina (2x10⁻⁵ M) em combinação com a N ω -Nitro-L-arginina (L-NA) (2x10⁻⁴ M) e L-NA (2x10⁻⁴ M) apenas. Os bloqueadores enzimáticos eram adicionados 1h antes do início da obtenção das curvas concentração-resposta. Em todos os experimentos a prostaglandina F₂ α (2x10⁻⁶ M) foi utilizada para contrair os vasos.

A acetilcolina, a indometacina, a prostaglandina F₂ α , a amiodarona, o polisorbato 80 e a N ω -Nitro-L-arginina foram adquiridas da *Sigma Chemical Company (St. Louis, Mo)*. O Cordarone® (150mg/3ml) é do *Wyeth Laboratories, Inc., U.S.A*. Todas as drogas foram preparadas com água destilada, exceto a indometacina que foi dissolvida em solução de NaHCO₃ (10⁻⁵ M), ou a amiodarona quando dissolvida em polisorbato 80.

A solução de amiodarona em polisorbato 80 (AMPO) foi obtida dissolvendo-se polisorbato 80 em água destilada de modo a se obter uma solução com a concentração de inicial de 10⁻⁹ M de polisorbato. A seguir, adicionava-se à solução a amiodarona de modo a se obter concentração de amiodarona de 10⁻⁴ M. Esta solução inicial de amiodarona e polisorbato foi utilizada para obtenção das diluições subseqüentes, e a concentração inicial de polisorbato 80 (10⁻⁹ M) escolhida por ser a concentração de polisorbato 80, obtida ao se diluir 1 frasco de Cordarone® (150mg/3ml, *Wyeth Laboratories, Inc.*) visando uma concentração de amiodarona de 10⁻⁴ M.

Amiodarona dissolvida apenas em água foi obtida diluindo-se a amiodarona em água destilada aquecida a 40°C e agitada com ultra som em banho aquecido até obter-se uma solução límpida.

Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão da porcentagem do platô de contração induzida pela prostaglandina F₂ α . O platô de contração, o ponto inicial da curva de concentração-resposta, foi considerado como 0% de relaxamento. O "n" indica o número de animais dos quais foram tomados os anéis vasculares.

Os seguintes testes estatísticos foram utilizados: *two-way ANOVA* seguido do pós-teste de Bonferroni e o teste de Kruskal-Wallis seguido do teste para comparações múltiplas de Dunn. Utilizou-se o software GraphPad Prism, versão 3.03 (*GraphPad Software, Inc.*). As diferenças foram consideradas significativas se $p < 0.05$.

Resultados

Não houve diferença significativa entre os platôs de contração (tab. I) comparando artérias com e sem endotélio dentro do mesmo grupo experimental ou entre os grupos.

O relaxamento promovido pela AMA (fig. 1, n=9) em artérias com endotélio variou de 0% a $57,0\% \pm 17,9\%$, e de $0,37\% \pm 1,11\%$ a $17,2\% \pm 15,56\%$ em artérias sem endotélio. As diferenças foram significativas ($p < 0,001$) para as concentrações de $3,16 \times 10^{-5}$ M e 10^{-4} M.

O Cordarone® (fig. 1, n=6) provocou relaxamento que variou de $0,4\% \pm 1,02\%$, na concentração mínima, a $94,40\% \pm 10,10\%$, na concentração máxima, em vasos com endotélio. Em vasos sem endotélio o relaxamento variou de 0% a $40,26\% \pm 18,44\%$. As diferenças entre o relaxamento de vasos com e sem endotélio foram significativas ($p < 0,001$) para as concentrações de amiodarona de $3,16 \times 10^{-5}$ e 10^{-4} M.

A solução de amiodarona em polisorbato (AMPO) (fig. 1, n=6) promoveu relaxamento em artérias com endotélio que variou de 0%, na concentração mínima, a $100\% \pm 0\%$ na concentração máxima. Em artérias sem endotélio, o relaxamento variou de 0% a $28,46\% \pm 13,87\%$. As diferenças entre artérias com e sem endotélio foram significativas ($p < 0,001$) para as concentrações de 10^{-5} M a 10^{-4} M.

O polisorbato 80 provocou um discreto relaxamento tanto em artérias com endotélio como naquelas sem endotélio (fig. 2, n=6). O relaxamento máximo em artérias com e sem endotélio foi de $27,43\% \pm 24,10\%$ e $18,35\% \pm 15,08\%$, respectivamente. A diferença não foi significativa. É interessante que a adição de uma dose única de amiodarona dissolvida em água (10^{-4} M) após a última dose da curva concentração-resposta para o polisorbato 80 (10^{-8} M) provocou relaxamento imediato de $99,37\% \pm 1,39\%$ nas artérias com endotélio e de $24,55\% \pm 15,28\%$ nas artérias sem endotélio ($p < 0,001$).

Comparando-se as curvas obtidas com o Cordarone® àquelas obtidas com a amiodarona em polisorbato (AMPO), observamos que apenas para a concentração de 10^{-5} M houve diferença no relaxamento, com a AMPO promovendo relaxamento maior que aquele promovido pela amiodarona comercial ($p < 0,01$), nas artérias com endotélio.

Assim, como o polisorbato 80 provocou relaxamento discreto e independente do endotélio e o relaxamento promovido pela AMPO foi similar àquele promovido pela amiodarona comercial, os experimentos subseqüentes foram realizados apenas com amiodarona dissolvida em água (AMA) e a amiodarona dissolvida em solução de polisorbato 80 (AMPO).

A presença de indometacina (2×10^{-5} M) provocou um desvio significativo para a direita da curva concentração-resposta ($p < 0,05$) para a AMA (fig. 3, n=6), todavia, na máxima concentração (10^{-4} M) o relaxamento observado em vasos com endotélio ainda foi significativamente maior ($38,81\% \pm 15,07\%$, $p < 0,001$) àquele observado em vasos sem o endotélio ($13,35\% \pm 6,63\%$).

A indometacina não afetou significativamente o relaxamento provocado pela AMPO (fig. 3, n=6). O relaxamento em artérias com endotélio variou de 0% a $85,76\% \pm 19,90\%$, e de 0% a $16,75\% \pm 8,30\%$ nos vasos sem endotélio. A diferença de relaxamento entre os vasos com e sem endotélio foi significante ($p < 0,001$) para as concentrações de 10^{-5} a 10^{-4} M.

A N ω -Nitro-L-Arginina (L-NA) (2×10^{-4} M) aboliu o relaxamento dependente do endotélio provocado pela AMA (fig. 4, n=6), desde que diferenças significativas não foram observadas entre o relaxamento de vasos com e sem endotélio. Embora a N ω -Nitro-L-Arginina tenha causado algum desvio à direita da curva concentração-resposta, ela não inibiu o relaxamento dependente do endotélio provocado pela AMPO (n=6, máximo de $88,73\% \pm 15,67\%$). Observou-se que o relaxamento obtido com as concentrações de $3,16 \times 10^{-5}$ M e 10^{-4} M de AMPO foi significativamente maior nas artérias com endotélio ($p < 0,001$).

A combinação da N ω -Nitro-L-arginina (2×10^{-4} M) com a indometacina (2×10^{-5} M) aboliu completamente o relaxamento dependente do endotélio promovido tanto pela AMA como pela AMPO (fig. 5, n=6), uma vez que não se observou diferença significativa entre o relaxamento de artérias com e sem endotélio para ambas as drogas, embora algum relaxamento independente do endotélio ainda tenha ocorrido.

Discussão

Como salientamos, anteriormente, já se demonstrou que a amiodarona e seu metabolito, a N-desetilamiodarona, causam

Tabela I - Platô de contração, em g, das curvas de concentração-resposta

Solução	Platô de contração (g)			
	Sem bloqueadores	Indometacina	L-NA	Indometacina + L-NA
amiodarona comercial				
com endotélio	10,22±4,32	-	-	-
sem endotélio	9,80±3,76	-	-	-
amiodarona em água				
com endotélio	6,75±3,60	8,20±4,36	8,10±2,70	8,68±1,210
sem endotélio	6,93±1,93	8,56±2,70	6,00±3,87	7,28±2,958
amiodarona em polisorbato 80				
com endotélio	10,00±2,88	7,02±2,81	9,26±4,41	7,50±1,57
sem endotélio	8,840±2,39	7,28±2,20	9,22±3,08	7,65±2,03
polisorbato 80				
com endotélio	5,62±2,90	-	-	-
sem endotélio	7,13±2,28	-	-	-

Os resultados estão expressos como média±desvio padrão. As diferenças não são significativas.

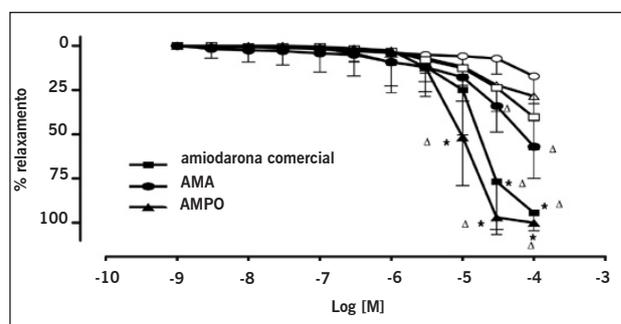


Fig. 1 - Curva concentração-resposta para a apresentação comercial da amiodarona (Cordarone®), amiodarona dissolvida em água (AMA) e em polisorbato 80 (AMPO), em artérias coronárias caninas com (símbolos cheios) e sem (símbolos vazios) endotélio, contraídas com prostaglandina F2 α (2.5×10^{-6} M). Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão. * indica $p < 0.001$ comparado com AMA e Δ indica $p < 0.001$ comparando artérias com e sem endotélio.

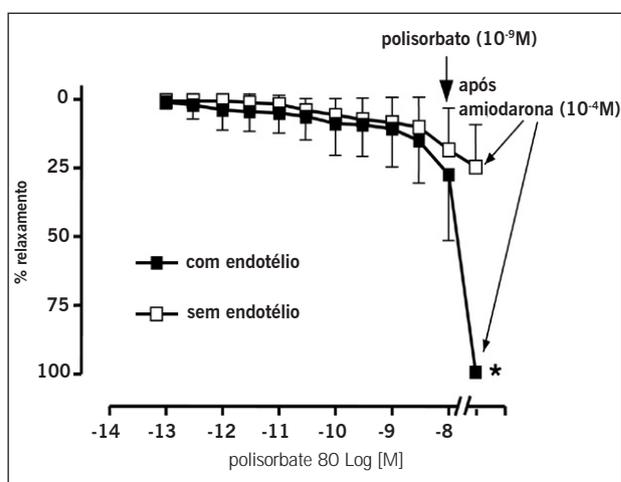


Fig. 2 - Curva concentração-resposta para o polisorbato 80 em artérias coronárias caninas. A seta aponta para o relaxamento promovido por dose única de amiodarona dissolvida em água (10^{-4} M) após a última concentração de polisorbato ter sido adicionada (10^{-9} M). Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão. * indica $p < 0.001$ comparando artérias com e sem endotélio.

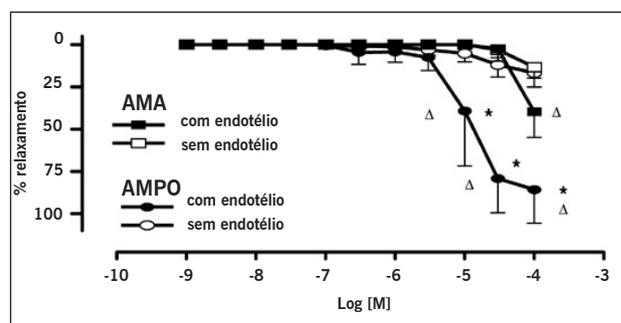


Fig. 3 - Curva concentração-resposta para amiodarona diluída em água (AMA) e em polisorbato 80 (AMPO) em artérias coronárias caninas na presença de indometacina (2×10^{-5} M) e contraídas com prostaglandina F2 α (2.5×10^{-6} M). Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão. * indica $p < 0.001$ comparado com AMA e Δ indica $p < 0.001$ comparando artérias com e sem endotélio.

relaxamento dependente do endotélio em veias humanas de modo similar ao que observamos nas artérias coronárias de cães, embora naquelas investigações apenas a amiodarona dissolvida em polisorbato tenha sido utilizada^{4,5}.

Nossos resultados demonstraram que a amiodarona promove relaxamento que é em sua maior magnitude dependente do endotélio em artérias coronárias de cães. Todavia, parece-nos

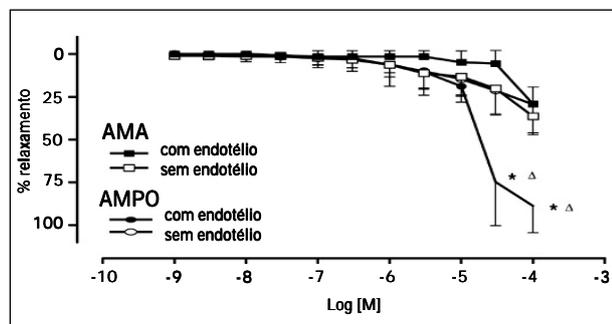


Fig. 4 - Curva concentração-resposta para amiodarona diluída em água (AMA) e em polisorbato 80 (AMPO) em artérias coronárias caninas na presença de N-nitro-L-arginina (2×10^{-4} M) e contraídas com prostaglandina F2 α (2.5×10^{-6} M). Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão. * indica $p < 0.001$ comparado com AMA e Δ indica $p < 0.001$ comparando artérias com e sem endotélio.

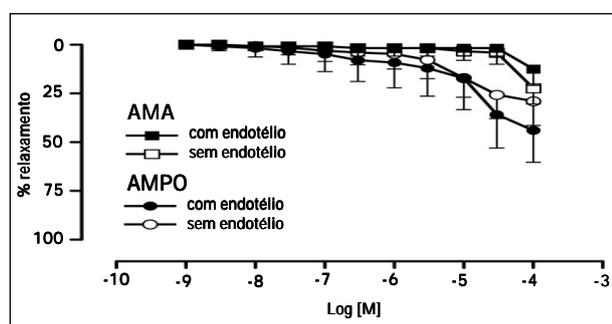


Fig. 5 - Curva concentração-resposta para amiodarona diluída em água (AMA) e em polisorbato 80 (AMPO) em artérias coronárias caninas na presença de N-nitro-L-arginina (2×10^{-4} M) em combinação com a indometacina (2×10^{-5} M) e contraídas com prostaglandina F2 α (2.5×10^{-6} M). Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão. Não há diferenças significativas entre artérias com e sem endotélio.

que a presença do solvente polisorbato influencia tal vasodilatação, uma vez que o polisorbato 80 sozinho não provocou relaxamento dependente do endotélio, mas sua associação com a amiodarona influenciou significativamente a magnitude do relaxamento dependente do endotélio.

Observando-se os resultados obtidos com amiodarona dissolvida em água constata-se que o bloqueio isolado das ciclo-oxigenases diminuiu, mas não aboliu, a vasodilatação. Todavia, o bloqueio isolado da óxido nítrico sintetase bloqueou a vasodilatação promovida pela amiodarona em água. Tal fato salienta a maior importância do óxido nítrico na vasodilatação promovida pela amiodarona. No entanto, somente a inibição simultânea das ciclo-oxigenases e da óxido nítrico sintetase aboliu a vasodilatação promovida pela amiodarona dissolvida em polisorbato 80. Se o polisorbato 80 atuou meramente promovendo melhor solubilização da amiodarona ou se ele também modulou os efeitos da amiodarona, em ambas as situações, propiciando a ampliação do efeito vasodilatador da amiodarona, é matéria para especulações.

Há evidências de que surfactantes, como os polisorbatos, podem influenciar a atividade enzimática do ácido aracônico. Demonstrou-se que os surfactantes reduzem significativamente a inibição promovida pelo substrato das 15-lipoxigenases¹³ e promovem liberação de ácido aracônico^{14,15}. Ademais, demonstrou-se que o polisorbato 80 pode facilitar o transporte de diversos íons (K^+ , Na^+ , NH_4^+ , Ca^{++}) e moléculas inorgânicas através de modelos de membrana¹⁶⁻¹⁹. Há evidências, ainda, de que os polisorbatos também podem modular a sensibilidade a certos agentes anti-



tumorais, aumentando o transporte desses agentes através da membrana ou facilitando sua interação com as mesmas^{6,19}, visto que a amiodarona é uma droga altamente lipofílica²⁰.

Estudos *in vivo* também sugerem que os polisorbatos não são inertes e podem influenciar os efeitos sistêmicos da amiodarona^{7,8,21}, embora outros autores tenham demonstrado que o polisorbato pode lesar o endotélio vascular com concentrações maiores que as utilizadas por nós^{4,5,10,11}.

O mecanismo exato pelo qual a amiodarona promove a liberação de fatores endoteliais relaxantes não é completamente conhecido, mas demonstrou-se que a amiodarona²² e a N-desetilamiodarona²³ promovem um aumento sustentado nas concentrações de cálcio citoplasmático nas células endoteliais. Tal elevação do cálcio pode desencadear a ativação das vias dependentes da calmodulina e que resultam na liberação de fatores vasodilatadores. Ademais, há evidências de que a amiodarona estimula receptores tipo proteína-G²⁴.

Ainda que os resultados demonstrem claramente que a liberação de fatores endoteliais é o principal mecanismo de relaxamento

vascular, os resultados obtidos com a inibição simultânea das ciclo-oxigenases e da óxido nítrico sintetase também demonstram que a amiodarona provoca alguma vasodilatação não dependente do endotélio (fig. 5), pois nota-se discreto relaxamento semelhante entre artérias com e sem endotélio, fato este que pode estar relacionado às suas propriedades bloqueadora de canais de cálcio²⁵.

Embora a hipotensão após o uso intravenoso de amiodarona seja um efeito adverso conhecido^{2,3,26}, vários mecanismos, além da liberação de fatores relaxantes endoteliais, podem ser os responsáveis *in vivo*. Demonstrou-se que a amiodarona pode provocar redução do desempenho cardíaco e/ou induzir a um estado de baixa resistência vascular periférica devido a um efeito bloqueador alfa-adrenérgico^{27,28}. Ademais, o polisorbato, presente na formulação comercial da amiodarona, pode causar liberação de histamina⁹, podendo resultar em hipotensão.

Concluindo, nossos resultados indicam que a vasodilatação promovida pela amiodarona em artérias coronárias caninas é causada principalmente pela estimulação da liberação de óxido nítrico e fatores endoteliais relaxantes dependentes das ciclo-oxigenases.

Referências

1. Singh BN. Amiodarone: historical development and pharmacologic profile. *Am Heart J* 1983;106:788-797.
2. Kowey PR, Marinchak RA, Rials SJ et al. Intravenous amiodarone. *J Am Coll Cardiol* 1997;29:1190-1198.
3. Mets B, Michler RE, Delphin ED et al. Refractory vasodilation after cardiopulmonary bypass for heart transplantation in recipients on combined amiodarone and angiotensin-converting enzyme inhibitor therapy: a role for vasopressin administration. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 1998;12:326-329.
4. Grossmann M, Dobrev D, Himmel HM et al. Local venous response to N-desethylamiodarone in humans. *Clin Pharmacol Ther* 2000;67:22-31.
5. Grossman M, Dobrev D, Kirch W. Amiodarone causes endothelium-dependent vasodilation in human hand veins *in vivo*. *Clin Pharmacol Ther* 1998;64:302-311.
6. Yamazaki T, Sato Y, Hanai M et al. Non-ionic detergent Tween 80 modulates VP-16 resistance in classical multidrug resistant K562 cells via enhancement of VP-16 influx. *Cancer Lett* 2000;149:153-161.
7. Path GJ, Dai XZ, Schwartz JS et al. Effects of amiodarone with and without polysorbate 80 on myocardial oxygen consumption and coronary blood flow during treadmill exercise in the dog. *J Cardiovasc Pharmacol* 1991;18:11-16.
8. Munoz A, Karila P, Gallay P et al. A randomized hemodynamic comparison of intravenous amiodarone with and without Tween 80. *Eur Heart J* 1988;9:142-148.
9. Masini E, Planchenault J, Pezziardi F et al. Histamine-releasing properties of polysorbate 80 *in vitro* and *in vivo*: correlation with its hypotensive action in the dog. *Agents Actions* 1985;16:470-477.
10. Zengil H, Hodoglugil U, Guney Z. Effects of polysorbates and cremophor EL on vascular responses in rat aorta. *Experientia* 1995;51:1055-1059.
11. Uluoglu C, Korkusuz P, Uluoglu O et al. Tween 80 and endothelium: functional reduction due to tissue damage. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 1996;91:173-183.
12. Somborg JC, Bailin SJ, Haffajee CI et al. Intravenous lidocaine versus intravenous amiodarone (in a new aqueous formulation) for incessant ventricular tachycardia. *Am J Cardiol* 2002;90:853-859.
13. Mogul R, Holman TR. Inhibition studies of soybean and human 15-lipoxygenases with long-chain alkenyl sulfate substrates. *Biochemistry* 2001;40:4391-4397.
14. Muller-Decker K, Heinzelmann T, Furstenberger G et al. Arachidonic acid metabolism in primary irritant dermatitis produced by patch testing of human skin with surfactants. *Toxicol Appl Pharmacol* 1998;153:59-67.
15. Moreno JJ. Arachidonic acid release and prostaglandin E2 synthesis as irritant index of surfactants in 3T6 fibroblast cultures. *Toxicology* 2000;143:275-282.
16. Thoman CJ. Ionophoric properties of polysorbate 80. *J Pharm Sci* 1986;75:983-986.
17. Heppel LA, Makan N. Methods for rapidly altering the permeability of mammalian cells. *J Supramol Struct* 1977;6:399-409.
18. Thoman CJ. The versatility of polysorbate 80 (tween 80) as an ionophore. *J Pharm Sci* 1999;88:258-260.
19. Tsujino I, Yamazaki T, Masutani M et al. Effect of tween-80 on cell killing by etoposide in human lung adenocarcinoma cells. *Cancer Chemother Pharmacol* 1999;43:29-34.
20. Kodama I, Kamiya K, Toyama J. Cellular electropharmacology of amiodarone. *Cardiovasc Res* 1997;35:13-29.
21. Gough WB, Zeiler RH, Barreca P, El-Sherif N. Hypotensive action of commercial intravenous amiodarone and polysorbate 80 in dogs. *J Cardiovasc Pharmacol* 1982;4:375-380.
22. Powis G, Olsen R, Standing JE et al. Amiodarone-mediated increase in intracellular free Ca²⁺ associated with cellular injury to human pulmonary artery endothelial cells. *Toxicol Appl Pharmacol* 1990;103:156-164.
23. Himmel HM, Dobrev D, Grossmann M et al. N-desethylamiodarone modulates intracellular calcium concentration in endothelial cells. *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol* 2000;362:489-496.
24. Hagelken A, Nurnberg B, Harhammer R et al. The class III antiarrhythmic drug amiodarone directly activates pertussis toxin-sensitive G proteins. *Mol Pharmacol* 1995;47:234-240.
25. Lubic SP, Nguyen KP, Dave B et al. Antiarrhythmic agent amiodarone possesses calcium channel blocker properties. *J Cardiovasc Pharmacol* 1994;24:707-714.
26. Crystal E, Kahn S, Roberts R et al. Long-term amiodarone therapy and the risk of complications after cardiac surgery: results from the Canadian Amiodarone Myocardial Infarction Arrhythmia Trial (CAMIAT). *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003;125:633-637.
27. Liberman BA, Teasdale SJ. Anaesthesia and amiodarone. *Can Anaesth Soc J* 1985;32:629-638.
28. Djandjighian L, Planchenault J, Finance O et al. Hemodynamic and antiadrenergic effects of dronedarone and amiodarone in animals with a healed myocardial infarction. *J Cardiovasc Pharmacol* 2000;36:376-383.