

심근에 작용하는 수중 약물이 쥐의 심근의 "Regenerative Ca⁺⁺ Release"에 미치는 영향*

연세대학교 의과대학 생리학교실

강 두 희 · 이 중 우

=Abstract=

Effects of Several Cardioactive Agents on the Regenerative Ca⁺⁺ Release in the Mechanically Disrupted Cardiac cells

Doo Hee Kang and Joong Woo Lee

Department of Physiology Yonsei University College of Medicine

The present experiment was conducted to see whether or not several cardioactive agents influence the "regenerative Ca⁺⁺ release" in the mechanically disrupted cardiac cells. The mechanically disrupted cardiac cells were prepared by the method of Kerrick and Best from the ventricle of rat. The tension development of the disrupted cardiac cells was measured with a mechanoelectric transducer (RCA 5734).

The results were summarized as follows.

- 1) 2 mM caffeine enhanced the regenerative Ca⁺⁺ release, whereas 2 mM procaine inhibited the Ca⁺⁺ release as reported by other investigators.
- 2) Epinephrine at concentrations of 10⁻⁷, 10⁻⁶ and 10⁻⁵M increased the regenerative Ca⁺⁺ release significantly but showed a poor dose response on the Ca⁺⁺ release.
- 3) Propranolol showed no effect on the regenerative Ca⁺⁺ release when studied alone. Furthermore, it showed no antagonistic effect on an increased regenerative Ca⁺⁺ release induced by epinephrine.
- 4) Other cardioactive agents such as acetylcholine, ouabain, isoproterenol and c-AMP at concentrations of 10⁻⁶M showed no effect on the regenerative Ca⁺⁺ release.

From the above results, it may be concluded that the cardioactive actions of these agents are not related directly to the process of regenerative Ca⁺⁺ release.

서 론

근래에 Endo 등 (1970)과 Ford 및 Podolsky (1970)

는 근막을 제거한 골격근(skinned fiber)에서 sarcoplasmic reticulum 과 같은 Ca⁺⁺의 저장부위로부터 Ca⁺⁺이 Ca⁺⁺을 재생성하여 유리시킬 수 있다는 사실을 발견하였다.

*본 연구를 위하여 지원하여 주신 China Medical Board(CMB 74-334-1)와 실험장치의 제작에 도움을 주신 Dr. M. Endo에 감사를 드립니다.

Procaine은 이러한 재생성 Ca⁺⁺ 유리과정을 억제하며(Ebashi, 1976) 또한 caffeine은 이 과정을 촉진시키는 것으로 알려졌다(Endo, 1970, Ebashi, 1976). 이

러한 소견은 골격근에 국한된 것이 아니라 쥐의 심근에서도 증명되었다. 즉 Kerrick 및 Best (1974)는 Fabiato 및 Fabiato (1972)가 시도한 방법으로 쥐의 심실근을 기계적으로 파괴한 후 직경 10~100 μm 되는 작은 근육절편을 이용하여 regenerative Ca⁺⁺ release를 증명하였고 이는 용액내에 caffeine이나 Na⁺의 첨가에 의하여 항진된다는 사실을 보고하였다.

더욱 근래에 와서 이 regenerative Ca⁺⁺ release가 excitation-contraction coupling에 절대적인 역할을 하는가에 대한 의문이 제시되어 오기도 했으나(Ebashi, 1976), caffeine 등 심근 수축력에 영향을 주는 물질이 regenerative Ca⁺⁺ release에 역시 영향을 준다는 사실은 이 과정에 영향을 주는 물질이 적어도 심근수축력에 영향을 줄 수 있다는 가능성을 제시하고 있다.

본 실험에서는 심근 수축력에 영향을 주는 것으로 알려진 수중 약물이 이 regenerative Ca⁺⁺ release에 어떻게 영향을 주는지를 구명하고자 하였다.

실험재료 및 방법

실험에 사용한 용액의 조성 : 본 실험을 시행함에 있

Composition of incubation mixture

Solution Composition	Relaxing	Loading	Washing	Test
K (propionate)	70	"	"	"
MgCl ₂	4	"	"	"
ATP	5	"	"	"
Tris-Maleate	20	"	"	"
glucose	7	"	"	"
pH	7.0	"	"	"
PCa	9.0	3.3	7.5	5.0

어 Ca⁺⁺의 농도가 다른 여러 종류의 용액을 사용하였는데 그 조성은 제 1 표에 나타내었다. 이 Ca⁺⁺의 농도는 EGTA (Ethylene glycol tetraacetic acid)의 농도를 변화시켜

$$\frac{[Ca^{++}] [EGTA]}{[Ca^{++}\cdot EGTA]} = 2 \times 10^{-7}$$

에 의하여 계산하든지(Weber and Winicur, 1961) 또는 도표에 의하여 얻었다(Fabiato and Fabiato 1972).

기계적으로 파괴한 심근표본의 제작 : 성숙한 흰쥐를 두부감타하여 곧 심장을 절제한 후 이 심장을 미리 약 4°C로 냉각시킨 이완용액에 담그었다가 Virtis homogenizer 로써 Fabiato 및 Fabiato (1972)가 시도한 요령으로 심근조직을 파괴하였다. 이때 homogenizer의 회전속도와 시간을 조절하여 적당한 크기의 심근 절편을 얻었다. 이러한 조각후 homogenate를 낮은 회전속도로 원심침전시키고, 이것을 냉각된 세척용액으로 2회 세척한 후 동일용액에 넣어 사용때까지 보관하였다.

장력의 측정장치 : 위의 방법으로 파괴한 심근 절편 중 넓이 약 200 μm, 길이 3 mm 되는 것을 골라서 제 1도에 나타낸 장력측정장치에 걸어서 여러 용액을 바꿀 때 나타나는 장력을 측정하였다. 이때 mechanoelectronic transducer인 RCA 5734의 끝에 길이 6 cm 정도의 stainless 관을 접착제를 이용하여 고정하고 다른 끝에 백금선을 고정하여 여기에 근육절편의 일단을 고정하던 그 감도가 증가된다. 근육절편의 다른 끝은 micro-manipulator에 부착시킨 안과용 forcep에 고정하였다. RCA 5734로부터의 출력은 Grass의 polygraph의 기록장치에 연결하든지 또는 oscilloscope에 나타내어 사진을 촬영하기도 하였다.

실험조작 : 위의 장치에 근육을 고정한 후 근육속의 sarcoplasmic reticulum내로 Ca⁺⁺을 축적시키기 위하여 근육절편이 담긴 bath에 이미 들어있던 세척용

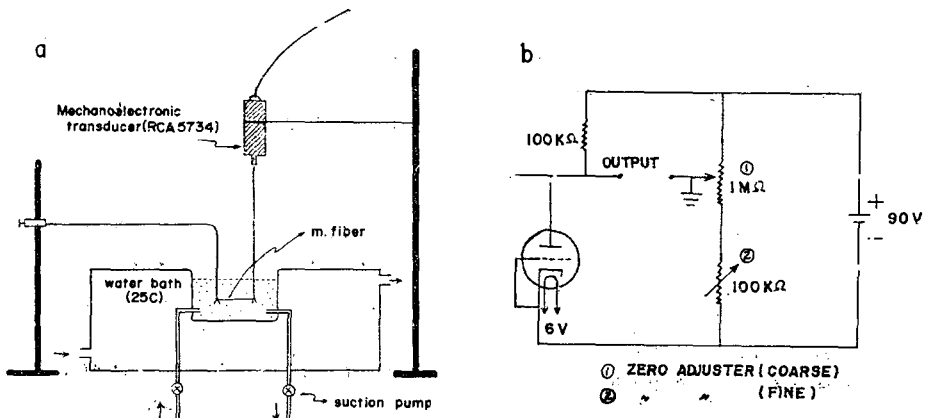


Fig. 1. Schematic representation of experiment (a) and circuit diagram of mechanoelectronic transducer (b)

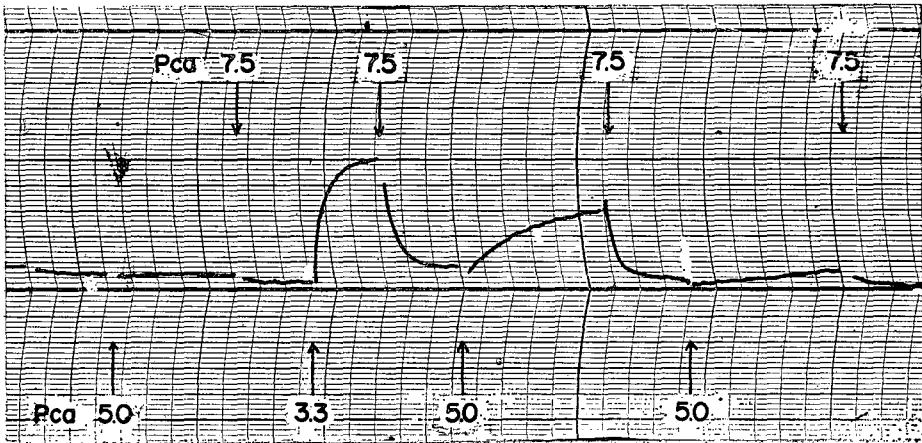


Fig. 2. Course of muscle contraction at various Ca^{++} concentration.

액을 suction으로 제거한 후 Ca^{++} loading solution을 넣었다. 이때에는 sarcoplasmic reticulum 내로 Ca^{++} 이 축적되는 동시에 용액내의 높은 농도의 Ca^{++} 때문에 근육의 장력이 발생된다. 이 장력이 최고도에 달한 후 용액을 세척용액으로 다시 바꾸어주면 장력이 원래의 크기로 거의 회복한다. 그 후에는 EGTA가 포함되지 않고 contamination된 Ca^{++} 이 들어 있는(즉 증류수의 pCa = 5.0) test solution으로 bath의 용액을 바꾸어 주면 다시 장력이 발생되는데 이때는 Ca^{++} loading solution을 주입했을 때에 비하여 낮은 경향이 있고 그후 다시 세척용액을 주입할 때는 이 장력은 다시 소실된다(제 2도).

이 마지막 조작 즉 test solution과 세척용액을 교대로 주입할 때에는 장력의 발생은 점차 감소하는데 이러한 반복을 계속하면 장력발생이 소실된다. 이점으로 보아 test solution만으로는 장력발생이 되지 않으며, Ca^{++} loading solution을 먼저 작용시켜 Ca^{++} 을 축적시킬 때만 test solution으로 장력이 발생되므로 sarcoplasmic reticulum에 Ca^{++} 의 축적후 test solution으로 인한 장력의 크기는 regenerative Ca^{++} release의 크기에 비례한다고 볼 수 있다.

그리고 실험에 사용한 근육표본의 크기가 일정하지 않으므로 그 수축곡의 크기를 정규화(normalization)하기 위하여 편의상 Ca^{++} loading solution을 가했을 때의 tension에 대한 test solution을 가했을 때의 tension의 비(T_t/T_l)로써 regenerative Ca^{++} release의 크기로 삼았다.

약물의 영향에 대하여 관찰한 실험군에서는 그 중간 중간에 정상대조군의 실험을 수회 반복하여 시행하였다.

본 실험에 사용한 시약은 다음과 같다.

- Epinephrine (Sigma Chemical Company, U.S.A)
- Ouabain (Sigma Chemical Company, U.S.A)
- Isoproterenol (Sigma Chemical Company, U.S.A)
- Propranolol (Sigma Chemical Company, U.S.A)
- Cyclic adenosine monophosphate (Sigma Chemical Company, U.S.A)
- Caffeine. (Sigma Chemical Company, U.S.A)
- Procaine (Hoei pharmaceutical Company, Japan)
- Acetylcholine(Merk, Germany)

실험 결과

1) Regenerative Ca^{++} release를 반복시킬 때의 그 감퇴현상

Ca^{++} 을 sarcoplasmic reticulum에 일단 축적시킨 후 test solution을 반복하여 주입했을 때의 장력크기의 감퇴현상은 제 3도에 나타났다. 비교할 목적으로 caffeine이 2 mM 들어 있는 test solution을 반복시켰을 때의 감퇴현상도 동시에 나타났다. 이 그림에서 명백히 나타난 것과 같이 장력의 크기(또는 regenerative Ca^{++} release의 크기)는 test solution을 주입한 회수에 따라 지수 함수적으로 감소하며 이를 semilog 그래프상에 나타낼 때는 직선적으로 감퇴하는 것을 볼 수 있다. 어느 경우이든 caffeine이 포함된 test solution을 주입할 때는 장력의 크기가 증가되어 있지만 양 실험군에서 장력감퇴곡선의 slope에는 변동이 없음을 알 수 있다.

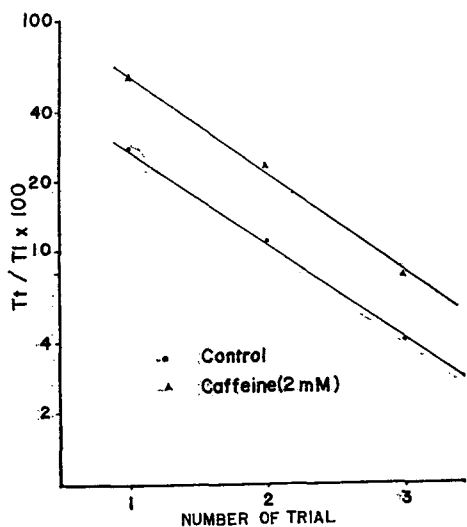


Fig. 3. Decay curve of regenerative Ca⁺⁺ release.

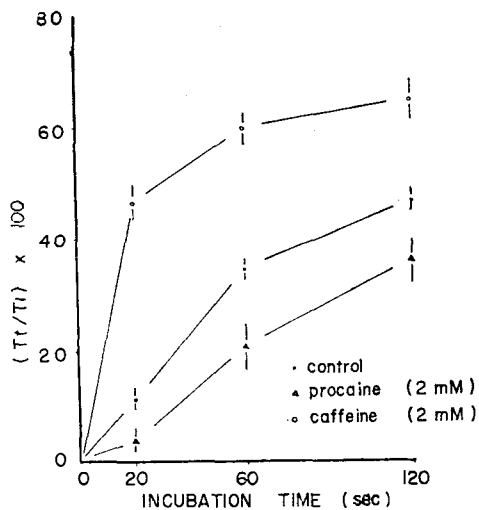


Fig. 4. Effects of caffeine and procaine on the regenerative Ca⁺⁺ release.

2) Caffeine 및 procaine 의 영향

이는 서론에서 논술한대로 다른 연구자들에 의하여 이미 보고된 사실이지만 본 실험에서 사용한 장치 및 방법에서 얻은 결과가 다른 보고자들의 결과에 부합되는지를 확인하고자 본 실험을 시행하였다. 이 방법에서 논술한대로 caffeine 또는 procaine이 포함된 test solution에 의하여 발생한 심근장력의 크기와 정상 test solution에 의한 장력의 크기를 비교한 것인데 이 장력의 크기를 Ca⁺⁺ loading solution을 가했을때의 장력의 크기의 백분비로써 나타냈으며 제 4도와 같다. 이 그림에 나타난 것처럼 2 mM의 caffeine이 test

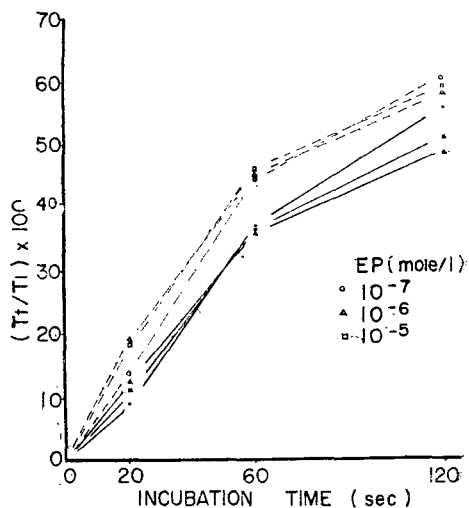


Fig. 5. Effects of epinephrine on the regenerative Ca⁺⁺ release.

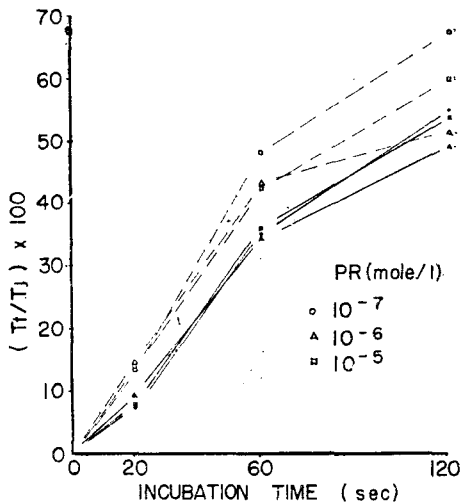


Fig. 6. Effects of propranolol on the regenerative Ca⁺⁺ release.

solution에 함유되었을 때는 정상군에 비하여 이 solution 주입 후 20, 60 및 120초에서 언제나 유의있는 증가를 보였고 ($p < 0.01$), 2 mM의 procaine이 test solution에 함유되었을 때는 유의있는 감소를 보였다 ($p < 0.01$).

3) Epinephrine 및 propranolol 의 영향

Epinephrine이 regenerative Ca⁺⁺ release에 미치는 영향은 그 농도 10⁻⁷, 10⁻⁶ 및 10⁻⁵, 에서 관찰하였는데 이를 제 5도에 나타냈다. 그림에서 보는 바와 같이, epinephrine은 비록 dose response는 잘 나타나지 않았으나 regenerative Ca⁺⁺ release를 유의있게 항진사

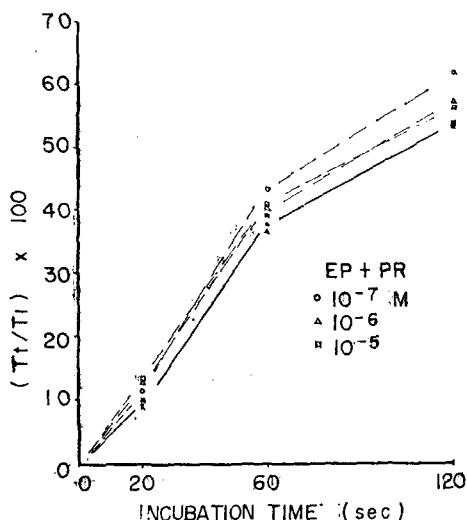


Fig. 7. Effects of epinephrine plus propranolol on the regenerative Ca^{++} release.

켰다($p < 0.01$).

Epinephrine의 심근에 대한 수축 항진작용을 억제하는 것으로 알려진 propranolol의 영향을 관찰한 바 이 결과를 제 6도에 도시하였는데 regenerative Ca^{++} release를 억제하지 않았으며 오히려 약간 증가시키는 경향을 보였다($p < 0.1$). 더 나아가서 epinephrine과 propranolol을 동시에 첨가했을 때도 역시 propranolol이 epinephrine의 작용에 영향을 주지 않았다(제 7도).

이 점은 적어도 이제까지 보고된 사실 즉 심근에 대한 epinephrine의 수축항진작용에 propranolol이 주는 영향과는 판이한데 이에 관해서는 고찰에서 다시 논술하겠다.

4) 심근의 수축력에 영향을 주는 다른 약물의 영향

심근의 수축력에 영향을 주는 것으로 알려진 몇가지 약물들중 acetylcholine, ouabain, isoproterenol, c-AMP 등의 regenerative Ca^{++} release에 대한 영향을 관찰하였다. 이들 약물의 농도 $10^{-6}M$ 에서는 어느 것이든 regenerative Ca^{++} release에 유의 있는 영향을 준 것이 없다. 이 결과는 제 8도에 나타났다.

고찰

Heilbrum 및 Wiercinski (1947)는 골격근내에 여러 cation을 주입하여 본결과 Ca^{++} 만이 소량 주입될 때 이 근육에서 수축이 오는 것을 관찰하여 근육수축에 Ca^{++} 이 필수적인 것임을 알아냈다. 그 후 여러 학자들

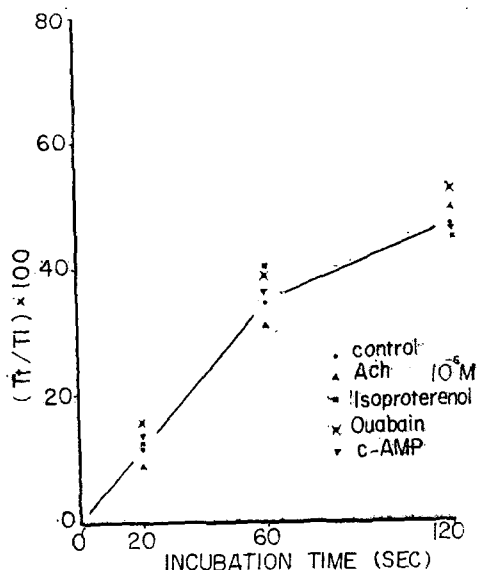


Fig. 8. Effects of some cardioactive agents on the regenerative Ca^{++} release.

은 이 Ca^{++} 이 근육내의 sarcoplasmic reticulum에 저장되어 있다가 근육이 흥분될 때 이 흥분파가 T-tubule을 통하여 sarcoplasmic reticulum에 전달되면 이곳에서 Ca^{++} 을 유리시켜 근육섬유 근처의 Ca^{++} 농도를 증가시켜 근육이 수축되는 것임을 밝혀냈다(Ebashi, 1976; Ebashi and Lipmann, 1962; Hasselbach and Makinose 1961; Constantin, 1972; Constantin and Podolsky, 1967; Winegrad, 1965; Sandow, 1965; Weber et al., 1964).

그러나 심근에서는 위의 과정외에 적지 않은 양의 Ca^{++} 이 심근의 plasma membrane을 통하여 이동되는 것으로 알려졌고, 또 어떤 원인으로든지 심근의 수축력이 항진되는 경우는 이 plasma membrane을 통한 Ca^{++} 의 이동량이 증가되는 것으로 알려졌다(Grossman and Furchgott, 1964a; Grossman and Furchgott, 1964 b; Grossman and Furchgott, 1964 c; Winegrad and Shanes, 1962; Govier and Holland, 1965).

심근의 수축력을 증가시키는 물질중 caffein은 sarcoplasmic reticulum에서 Ca^{++} 의 능동적 이동을 억제하며(Weber and Herz, 1968) Ca^{++} 의 efflux를 증가시키는 것으로 알려져 있으므로(Scarpa et al., 1972; Schwartz et al., 1974; Entman et al., 1972) 아마도 이들 약물의 이런 작용이 심근내의 유리된 Ca^{++} 농도를 증가시켜 positive inotropy를 일으킨다고 해석할 수도 있다.

그러나 다른 positive inotropy를 일으키는 물질에

관하여는 심근의 plasma membrane 을 통한 Ca⁺⁺ 이동에 영향을 준다는 사실만이 일치된 소견이고 sarcoplasmic reticulum 이나 mitochondria 등 심근내부의 Ca⁺⁺ pool 에 대한 작용에서는 꼭 일치되지 않는 점이 있다 (Besch, et al., 1970; Chimoskey and Gergley, 1968; Pretorius et al., 1967; Chipperfield and Nayler, 1969; Lee and Choi 1966, Entman et al., 1969; Hess, 1968; Katz and Repke 1973; Lee and Klaus, 1971).

이 점에 관하여 연구자에 따라 서로 다른 보고를 한 것은 실험동물, 방법 및 사용한 시약들에 의한 차이도 있겠으나 심근조직을 파괴한 후 isolation 하는 조직표본의 신선도에 의해서도 많은 영향을 받을 것이다. 그런 의미에서 수축기구나 sarcoplasmic reticulum 의 기능이 비교적 잘 보존되어 있을 것으로 추측되는 Natori 의 skinned fiber (Natori, 1954) 또는 Fabiato 및 Fabiato 등이 시작한 부분적으로 파괴된 심근을 사용함이 바람직하다.

더 나아가서 Endo 등 (1970) 및 그 외의 연구자들에 의하여 밝혀진대로 Ca⁺⁺ store 에서 Ca⁺⁺의 유리가 Ca⁺⁺에 의하여 증가된다고 하면 plasma membrane 을 통한 Ca⁺⁺의 이동량의 작은 변동이 일련의 연관된 link 에 의하여 Ca⁺⁺ store 에서 유리되는 Ca⁺⁺량의 큰 변동으로 확대될 수도 있어 위의 여러 심근에 작용하는 약물들의 작용기전을 규명하는데 좋은 실험방법일 것으로 사료되어 본 실험에 착수하였다.

그러나 이제까지, test 한 약물중 regenerative Ca⁺⁺ release 에 영향을 주는 것은 epinephrine 뿐이며 그 외의 약물은 효과가 없었다. 더구나 epinephrine 도 그 dose response 가 뚜렷치 못할 뿐 아니라 심근의 수축력에 대한 antagonist 로 알려진 propranolol 자체가 regenerative Ca⁺⁺ release 를 억제시키지 않고 오히려 약간 증가시키는 경향을 나타낸 것으로 보아 적어도 이 regenerative Ca⁺⁺ release 가 심근에서 볼 수 있는 inotropy 에 영향을 주는 기전의 전부라고는 규정지을 수가 없다. 한편 Quinidine 은 심근의 수축력을 감소시키지만 sarcoplasmic reticulum 에서 Ca⁺⁺의 이동을 억제하는 물질로 알려졌는데 (Parmley and Braunwald, 1967; Thorpe, 1973), 이는 regenerative Ca⁺⁺ release 를 촉진시키는 결과를 얻었으므로 (강동, 미발표) 역시 심근의 수축력에 영향을 주는 것은 plasma membrane 을 통한 Ca⁺⁺이동량인 것 같다.

그러나 plasma membrane 을 통한 Ca⁺⁺의 이동이 sarcoplasmic reticulum 에서의 Ca⁺⁺ induced Ca⁺⁺ release 에 영향을 주기까지의 일련의 link 가 이 심근표본에서 차단되어 위의 효과가 잘 나타나지 않을 가능성도 있

다. 그러므로 본 실험결과만으로 inotropic agent 의 작용기전을 설명하기는 곤란한 점이 있을 것으로 사료된다.

결 론

Kerrick 및 Best (1974)가 쥐의 심근에서 시도한 regenerative Ca⁺⁺ release 관찰방법으로 수중의 심근에 작용하는 약물들의 영향을 본 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. Caffeine 은 regenerative Ca⁺⁺ release 를 촉진하였으며 procaine 은 이를 억제하였다.
 2. Epinephrine 은 10⁻⁷M, 10⁻⁶M 및 10⁻⁵M 에서 모두 regenerative Ca⁺⁺ release 를 증가시켰으나 dose response 는 없었다.
 3. Propranolol 은 regenerative Ca⁺⁺ release 에 영향을 주지 않았다.
 4. Epinephrine 과 propranolol 을 함께 투여했을 때 도 propranolol 은 epinephrine 의 작용을 억제하지 않았다.
 5. 다른 약물 즉 Acetylcholine, ouabain, isoproterenol, 및 c-AMP 등은 그 농도 10⁻⁶M 에서 어느 것이든 regenerative Ca⁺⁺ release 에 영향을 주지 않았다.
- 이상의 성적으로 미루어 보아 이들 약물이 심근에 나타내는 수축력의 변화는 regenerative Ca⁺⁺ release 와는 직접적인 상관관계가 없는 것 같다.

REFERENCE

- 1) Besch, H.R., J.C. Allen, G. Glick, and A. Schwartz: *Correlation between the inotropic action of ouabain and its effects on subcellular enzyme systems from canine myocardium.* J. Pharmac. Exp. Ther. 171:1, 1970.
- 2) Chimoskey, J.E. and J. Gergley: *Effect of norepinephrine, ouabain and pH on cardiac sarcoplasmic reticulum.* Arch. Int. Pharmacodyn. 176:289, 1969.
- 3) Chipperfield, D. and W.G. Nayler: *The effect of ouabain on calcium in subcellular fractions in cardiac muscle.* J. Pharmac. Exp. Ther. 170:131, 1969.
- 4) Constantin, L.L.: *The role of sodium current in the radial spread of contraction in frog*

- muscle fibrils. J. Gen. Physiol.* 55:703-1970.
- 5) Constantin, L.L. and R.J. Podolsky: *Depolarization of internal membrane system in the activation of frog skeletal muscle. J. Gen. Physiol.* 50:1101, 1967.
 - 6) Ebashi, S.: *Excitation-contraction coupling. Ann. Rev. Physiol.* 38:293, 1976.
 - 7) Ebashi, S. and F. Lipmann: *Adenosine triphosphate-linked concentration of calcium ions in a particulate fraction of rabbit muscle. J. Cell. Biol.* 14:389, 1962.
 - 8) Endo, M., M. Tanaka, and Y. Ogawa: *Calcium induced release of calcium from the sarcoplasmic reticulum of skinned skeletal muscle fibers. Nature.* 228:34, 1970.
 - 9) Entman, M.L., P.C. Gillette, E.T. Wallick, B.C. Pressman and A. Schwartz: *Study of calcium binding and uptake by isolated cardiac sarcoplasmic reticulum. Use of a new inophore (4537 A). Biochem. Biophys. Res. Commun.* 48:847, 1972.
 - 10) Entman, M.L., G.S. Levey, and S.E. Epstein: *Mechanism of action of norepinephrine and glucagon on the canine heart. Evidence for increase in sarcotubular calcium stores mediated by cyclic 3'5'-AMP. Circ. Res.* 25:429, 1969.
 - 11) Fabiato, A. and F. Fabiato: *Excitation-contraction coupling of isolated cardiac fibers with disrupted or closed sarcolemmas calcium-dependent cyclic and tonic contractions. Circ. Res.* 31:293, 1972.
 - 12) Ford, L.E., and R.J. Podolsky: *Regenerative calcium release within muscle cells. Science.* 167:58, 1970.
 - 13) Govier, W.G. and W.C. Holland: *The relationship between atrial contractions and the effect of ouabain on contractile strength and calcium exchange in rabbit atria. J. Pharmac. Exp. Ther.* 148:284, 1965.
 - 14) Grossman, A. and R.F. Furchgott: *The effect of external calcium concentration on the distribution and exchange of calcium in resting and beating guinea-pig auricle. J. Pharmac. Exp. Ther.* 143:107, 1964a.
 - 15) Grossman, A. and R.F. Furchgott: *The effect of frequency of stimulation and calcium concentration on Ca^{45} exchange and contractility on the isolated guinea-pig auricle. J. Pharmac. Exp. Ther.* 143:120, 1964b.
 - 16) Grossman, A. and R.F. Furchgott: *The effect of various drugs on calcium exchange in the isolated guinea-pig left auricle. J. Pharmac. Exp. Ther.* 145:162, 1964c.
 - 17) Hasselbach, W. and M. Makinose: *Die Calcium Pumpe der "Erschlaffungsgrana" des Muskels und ihrer abhängigkeit von der ATP-satung. Biochem. Z.* 333:518, 1961.
 - 18) Heilbrunn, L.V. and E.G. Wiercinski: *The action of various cations on muscle protoplasm. J. Cell. Comp. Physiol.* 29:15, 1947.
 - 19) Hess, M. L., N. Briggs, E. Shinebourne and J. Hamer: *Effect of adrenergic blocking agents on the calcium pump of the fragmented cardiac sarcoplasmic reticulum. Nature.* 220:79, 1968.
 - 20) Katz, A.M., and D.I. Repke: *Calcium-membrane-interactions in the myocardium: Effects of ouabain, epinephrine and 3'5'-cyclic AMP. Am. J. Cardio.* 31:193, 1973.
 - 21) Kerrick W.G.L. and P.M. Best: *Calcium ion release in mechanically disrupted heart cells. Science.* 183:435, 1974.
 - 22) Lee, K.S. and S.J. Choi: *Effects of the cardiac glycosides on the Ca^{++} uptake of cardiac sarcoplasmic reticulum. J. Pharmac. Exp. Ther.* 153:114, 1966.
 - 23) Lee, K.S. and W. Klaus: *The subcellular basis for the mechanism of inotropic action of cardiac glycosides. Pharmacol. Rev.* 23:193, 1971.
 - 24) Natori, R.: *The property and contraction process of isolated myofibrils. Jikei Med. J.* 1:119, 1954.
 - 25) Pharmley, W.W. and E. Braunwald: *Comparative myocardial depressant and antiarrhythmic properties of d-propranolol, dl-propra-*

- nolol, and quinidine. J. Pharmacol. Exp. Ther.* 158:11, 1968.
- 26) Pretorius, P.J., W.G. Pohl, C.S. Smithen and G. Inesi: *Structural and functional characterization of dog heart microsome. Circ. Res.* 25:487, 1967.
- 27) Sandow, A.B.: *Excitation-contraction coupling in skeletal muscle. Pharmacol. Rev.* 17:265, 1965.
- 28) Scarpa, A., J. Baldassare and G. Inesi: *The effect of calcium ionophores on fragmented sarcoplasmic reticulum. J. Gen. Physiol.* 60:735, 1972.
- 29) Schwartz, A., R.M. Lewis, H.G. Hanley, R.G. Munson, F.D. Dial and M.V. Ray: *Hemodynamic and biochemical effects of a new positive inotropic agent, antibiotic inophore RO 2-2985. Circ. Res.* 34:192, 1974.
- 30) Thorpe, W.R.: *Some effects of caffeine and quinidine on sarcoplasmic reticulum of skeletal and cardiac muscle. Can. J. Pharmac* 51:499, 1973.
- 31) Weber, A. and R. Herz: *The relationship between caffeine contracture of intact muscle and the effect of caffeine on reticulum. J. Gen. Physiol.* 52:750, 1968.
- 32) Weber, A., R. Herz and I. Reiss: *The regulation of myofibrillar activity by calcium. Proc. Roy. Soc. B.* 160:489, 1964.
- 33) Weber, A. and S. Winicur: *The role of calcium in the superprecipitation of actomyosin. J. Biol. Chem.* 236:3198, 1961.
- 34) Winegrad, S.: *Autoradiographic studies of intracellular calcium in frog skeletal muscle. J. Gen. Physiol.* 48:455, 1965.
- 35) Winegrad, S. and A.M. Shanes: *Calcium flux and contractility in guinea pig atria. J. Gen. Physiol.* 45:371, 1962.