

토끼 동방결절에서의 완만내향전류 (i_{si}) 에 관한 연구*

서울대학교 의과대학 생리학교실

안광필 · 이영균** · 엄웅의 · 김우겸

= Abstract =

Properties of Slow Inward Current in the Rabbit Sinoatrial Node

Kwang Pil Ahn, Young Kyun Lee**, Yung E Earm and Woo Gyeum Kim

Department of Physiology, College of Medicine, Seoul National University

The voltage clamp studies were undertaken to elucidate the properties of the slow inward current, i_{si} in the small preparations of the rabbit sinoatrial node. The slow inward current, i_{si} which is known to be responsible for the late one-third of pacemaker potential and whole range of upstroke phase of action potential was analysed with the effects of isoprenaline, cobalt, ouabain and higenamine.

The results obtained are as follows;

- 1) Voltage of SA node preparation was held at zero current level, usually -40mV and the slow inward current, i_{si} was activated by depolarizing clamp pulses. Peak values of i_{si} in steady state were at -10 ~ 0mV in most preparations.
- 2) Isoprenaline, β -agonist increased i_{si} and no shift was noticed in voltage-dependency.
- 3) Cobalt ion in the concentration of 1 mM abolished i_{si} in entire range of membrane potential and the difference of two current levels before and after Co^{2+} treatment could be considered as pure i_{si} magnitude.
- 4) In the therapeutic concentration of ouabain ($5 \times 10^{-8}M$) slightly increased i_{si} and reduced the time to reach the peak value.
- 5) Higenamine ($10^{-6}M$) changed the configurations of action potential (i. e. rapid upstroke phase and notch in the spike) and increase spontaneous rate. It also increased i_{si} and the effect of higenamine was blocked by β -blocker, propranolol ($10^{-6}M$).

서 론

여러 종류의 심장조직에서의 완만내향전류(slow inward current, i_{si}) 및 이들의 시간과 막전압에 따른 전도도가 기술되어 왔는데(Reuter, 1973), 이들 전도도의 변화는 주로 Ca^{2+} 에 투과성을 보이는 channel의 개폐

(opening & closing)에 의해서 나타나며(Reuter, 1973; Trautwein, 1973) 보통 Hodgkin-Huxley type의 gating variable d(activation)와 f(inactivation)의 변화로써 기술된다.

동방결절은 정상심장에서 pacemaker로서 작용하고 활동전압이 매우 느린 rising phase를 갖고 TTX(tetrodotoxin)에 거의 영향을 받지 않으며 완만내향전류(i_{si})의 억제제에 의하여 현저히 억제되는 특징을 갖고 있다(Irisawa, 1978).

이러한 소견은 동방결절 활동전압의 rising phase가

*본 연구는 1984년 서울대학교 병원 특진연구비의 보조로 이루어졌음.

**서울대학교 의과대학 흉부외과학교실

slow channel을 통한 Ca^{2+} 의 유입으로 생각하게 되었고 (Noma et al., 1977) 또한 동방결절 활동전압의 특징으로서 pacemaker potential을 들 수 있는데, 이 전압이 생기는 원인은 느린 K-외향전류의 decay와 과분극에 의하여 활성화되는 내향전류, i_r 의 활성화(Brown, 1982) 그리고 나중 부분에서부터 i_{sr} 가 주로 관여하리라는 (Yanagihara & Irisawa, 1980) 생각으로 요약할 수 있다. 어쨌든 pacemaker potential의 나중부분(후 1/3)에서부터 upstroke부분은 거의모두 i_{sr} 가 관여한다는 사실은(Irisawa & Yanagihara, 1980) 연구자들의 공통된 의견이다(Irisawa and Noma, 1982; Brown et al., 1982). 그러나 동방결절의 i_{sr} 가 정상 pacemaker리듬을 관장하는 중요한 이온전류임에도 불구하고 주로 방법상의 난점(Brown, 1982) 때문에 잘 알려져 있지 않는 점이 많다.

이에 저자는 두개의 미세전극법(two microelectrode technique)에 의하여 동방결절의 작은 절편에서 막전압 고정을 하고 거기에서 기록되는 이온전류중 i_{sr} 를 기록하는 방법을 사용하여 정상상태에서의 i_{sr} 의 활성화를 기록하고, i_{sr} 를 변화시킨다고 알려진 물질들을 투여하여 어떤 변화를 일으키는 지 기록분석하여 i_{sr} channel의 특성을 좀더 밝혀보고자 하였다.

실험 방법

1) 동방결절의 절편

1.5 kg 내외의 토끼를 머리를 강타하고 출혈시킨후 심장을 꺼내서 100% O_2 로 포화시킨 25°C정도의 Tyrode 용액에 넣고, 심실부분을 빨리 절개하여 혈액을 씻어내고 심실을 분리·제거하여 방실개구부분을 노출시켰다. 우심방을 나머지 부분에서 분리하고 상대정맥(superior vena cava, SVC)부분과 하대정맥(inferior vena cava, IVC)을 절개하여 그림 1에 보이는 것처럼 동방결절부분을 노출시켰다. 30분~60분 가량 회복시킨다음 먼도날로 crista terminalis에 수직방향으로 폭 0.3 mm×길이 5~8 mm 되는 절편 2~3개를 우심방근이 일부 붙어있는 채로 잘라내어 핀으로 양쪽끝을 고정하였다. 이 절편에서 crista terminalis에 가까운 부분은 상당히 두껍기 때문에 두께 0.3 mm 이하가 되도록 잘라내었다. 그후 10~12 mM의 Ca^{2+} 이 포함된 30°C가량의 Tyrode 용액에 1~2분 방치한 후 다시 2 mM Ca^{2+} 이 든 정상 Tyrode

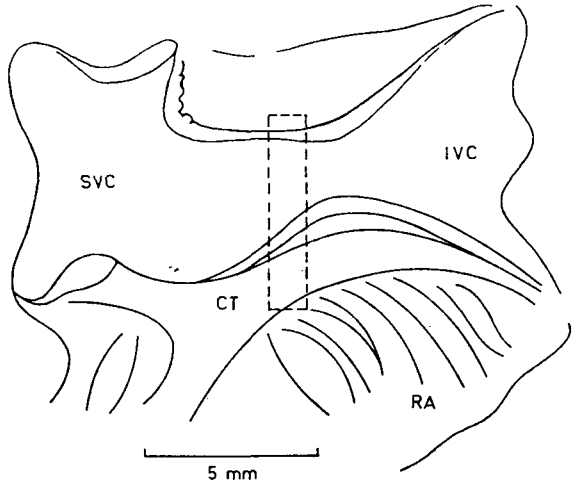


Fig. 1. A diagram of the rabbit sinoatrial node. Preparations were usually taken within 2~3 mm of the ring bundle. CT: crista terminalis, IVC: inferior vena cava, RA: right atrium, SVC: superior vena cava.

용액에서 1~2시간가량 회복시켰다. 이때 대개의 절편은 자동능이 5분이내에 회복되었다. 회복된 절편을 무명실을 풀어서 그 한가닥으로 ring bundle에서 약 2 mm 정도 떨어진 부위에서 길이 0.3 mm되게 두곳을 묶었다. 다시 10~12 mM의 Ca^{2+} 이 들어있는 Tyrode용액에 1~2분 방치한 후 정상 Tyrode용액으로 되돌려 1시간가량 회복시켰다. 모든경우 용액은 100% O_2 로 포화시켰고 절편을 만드는 것은 입체 현미경 시야에서 하였다.

실험용기는 Perspex로 만든 0.2 ml 가량의 용량을 갖는 것으로 바닥은 sylgard를 부어서 핀이 쉽게 꼽힐 수 있도록 만들었으며 peristaltic pump(LKB)를 이용하여 1 ml/min의 관류속도를 유지하였으며 출구에서 음압을 이용하여 관류용액을 빨아내었다. 회복된 절편을 100% O_2 로 포화시키며 35°C를 유지하고 있는 실험용기에 옮겨 두개의 핀과 집게로서 고정하였다.

기준전극(reference electrode)은 agar bridge 혹은 Ag/AgCl을 사용하였고, 전류측정은 Ag/AgCl전극으로 virtual ground amplifier를 통하여 측정하였다.

막전압고정은 두개의 유리미세전극으로 행하였는데 유리미세전극은 3 M KCl로 채웠으며 저항이 45~55 MΩ 인것을 미세전극연마기(microelectrode beveller)로 잘라 15 MΩ 정도까지 낮춰서 사용하였다. 한전극을 통하여 막전압을 측정하고, feedback amplifier에 연결된 다

른전극을 통하여서 전류를 흘려 막전압을 고정하였다. Commanding pulse는 pulse generator를 통하여 주었으며 두 미세전극은 미세조정기(Micromanipulator, Prior)에 연결하여 각각 세포내에 삽입하였고 결과기록은 Grass Polygraph와 Tektronix Oscilloscope에 하였다. 그리고 Apple II computer를 사용하여 최소 1 ms 간격으로 digitize하여 floppy diskette에 모든 data를 저장한후 나중에 분석하였다.

용액-정상 Tyrode용액의 조성은 NaCl 140 mM, KCl 3 mM, CaCl₂ 2 mM, MgCl₂ 1 mM, Glucose 5 mM 이었고, Tris-HCl 5 mM을 가하여 35°C에서 pH 7.4가 되게 하였다.

실험 성적

동방결절을 0.3×0.3 mm의 작은 크기로 만들었을때 경우에 따라서는 전혀 박동을 하지 않는 절편도 있었다. 이런 절편들은 막전압을 -40 mV 가량 유지하고 있었으며 오랜 회복기간 혹은 i_{s_i} 를 촉진시키는 물질(예, adrenaline)에 의하여 박동이 살아나기도 하였으며 막전압이 -40 mV 이하로 저분극된 것들에서는 다시 살아나지 않았다.

본 실험에서는 i_{s_i} 의 촉진제를 투여하지 않고 자발적박동을 계속하는 절편만을 골라서 사용하였다. 상당한 경

우에서 두개의 미세전극을 반복삽입하는 것만으로도 상처를 주어 자발적인 박동이 중지되고 죽어버리는 수도 있었다.

그림 2의 (a)그림은 자발적 박동이 있는 절편에서 기록되는 활동전압을 보인 것이다. 이와같은 자발적 박동이 있는 절편에 전류를 흘려 막전압고정법에 의한 실험을 하는 protocol을 overlap하여 보였다. 막전압고정은 내·외향으로도 전류가 흐르지 않는 수준을 택하였는데, -40 mV 내외였다. 이 지점에서 저분극 방향으로 보통 5 mV 간격으로 pulse를 주어서 나타나는 전류를 기록한 것이 (b)의 전류기록이다. Pulse를 크게 줄수록 전류(i_{s_i})가 점점 커지다가 -10 mV~0 mV되는 점을 경계로 오히려 peak i_{s_i} 가 감소되었다. 일단 i_{s_i} 기록이 성공적으로 된 다음과 관류용액에 거의 순수한 β -agonist인 isoprenaline의 10⁻⁶ M 용액을 투여하여 그 변화를 기록한 것이 그림 3이다.

모든 전압범위에서 isoprenaline은 i_{s_i} 를 증가시켰으며 시간적인 변화가 아주 뚜렷하지는 않으나 pulse의 크기가 큰부분에서는 peak에 도달하는 시간을 단축시킨 양상을 보였다. 즉 isoprenaline은 i_{s_i} 의 크기를 증가시키는 이외에 peak에 도달하는 시간을 짧게하여 활동전압의 upstroke를 빠르게 하고 기간을 단축시키는 효과를 일으키는, 일반적인 adrenaline의 작용을 뒷받침하여 준 결과였다. 이상의 결과를 peak i_{s_i} 값을 막전압축에 plot

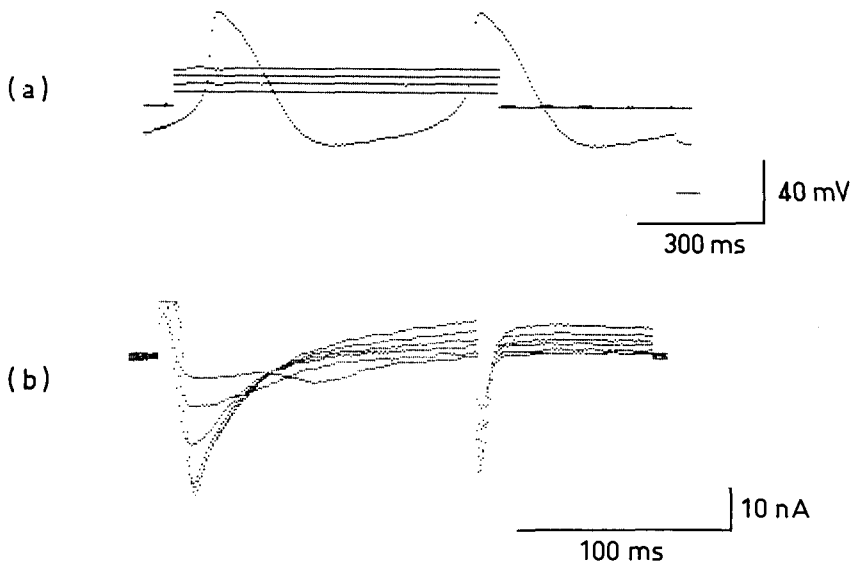


Fig. 2. Typical action potential superimposed with voltage clamp pulses(a) and slow inward currents(i_{s_i}) (b)

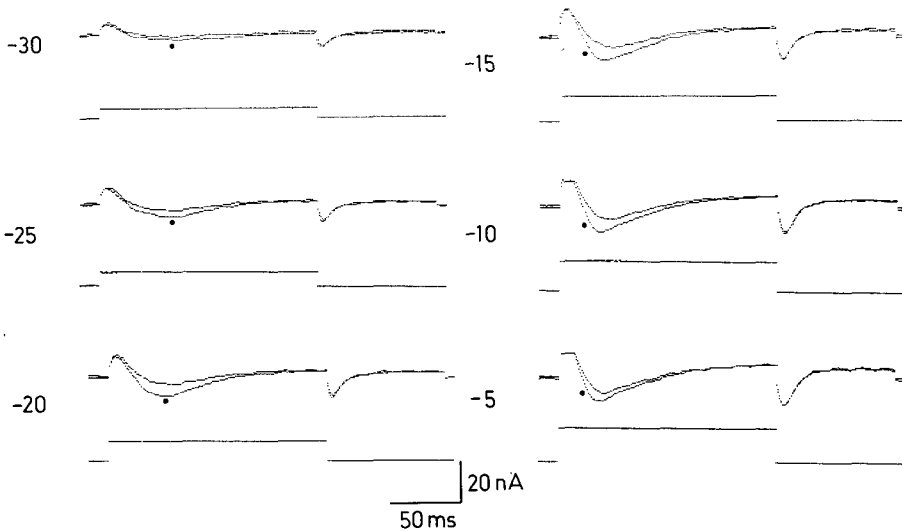


Fig. 3. Slow inward currents recorded in sinoatrial node in response to depolarizing pulses. Dots (•) indicate isoprenaline($10^{-7}M$) treatment comparing with control i_{s_i} record.

하여 보았더니 그림 4와 같다.

다음 i_{s_i} channel을 억제하는 Co^{2+} 을 사용하여 i_{s_i} 억

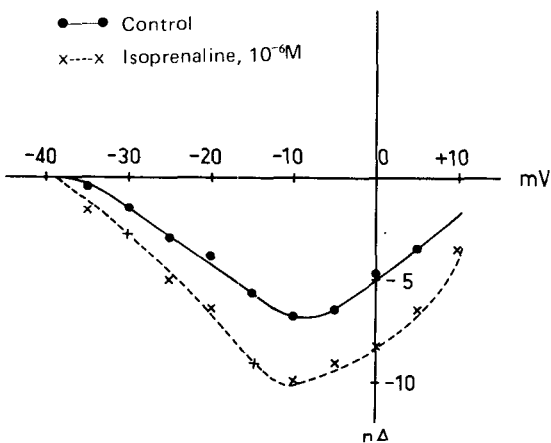


Fig. 4. Current-voltage diagram of steady state i_{s_i} . Abscissa: membrane potential. Ordinate: membrane current. Negative values of current indicate inward flow of positive charged ions. Isoprenaline (x---x) increased i_{s_i} at all potentials and maximum i_{s_i} was around -10 mV.

제양상을 살펴본 결과 i_{s_i} 를 전 실험범위에서 억제하였으며, 느리게 활성화되는 K-외향전류(delayed outward current, i_{k^+}) 또한 억제되었다(그림 5). i_{k^+} 의 억제현상은 Co^{2+} 자체가 i_{k^+} 를 억제시킨다기 보다는 i_{s_i} 억제에 따른 i_{k^+} 의 억제로 생각된다.

앞에서와 같은 방법으로 peak i_{s_i} 를 plot한 current-voltage diagram이 그림 6이다.

Co^{2+} 에 의하여 거의 모든 i_{s_i} 가 억제됨을 잘 보여준다. 이러한 Co^{2+} 의 i_{s_i} 억제는 가역적 변화로서 정상 Tyrode 용액에서 다시 회복되었다.

그림 7은 일반적으로 강심제로 알려진 digitalis제제 ouabain을 소위 치료용량인 $10^{-8}M$ 정도를 투여하였을 때 나타나는 효과를 각 pulse크기별로 기록한 것이다.

Ouabain은 약간 i_{s_i} 를 증가시켰으며 peak에 도달하는 시간 또한 빠르게 하였다. ouabain에 활동전압에 미치는 효과는 뚜렷한 것이 없었다. i_{s_i} 의 증가와 이에 수반하여 i_{k^+} 의 증가를 볼 수 있었다. 이러한 일련의 효과는 활동전압에 약간의 영향이 있을 것으로 예상되었으나 실제 활동전압사이에 차이점을 볼 수 없었다.

그림 8은 그림 7에서 보인 peak i_{s_i} 를 다시 plot한 current-voltage diagram으로서 아주 근소한 i_{s_i} 의 증가

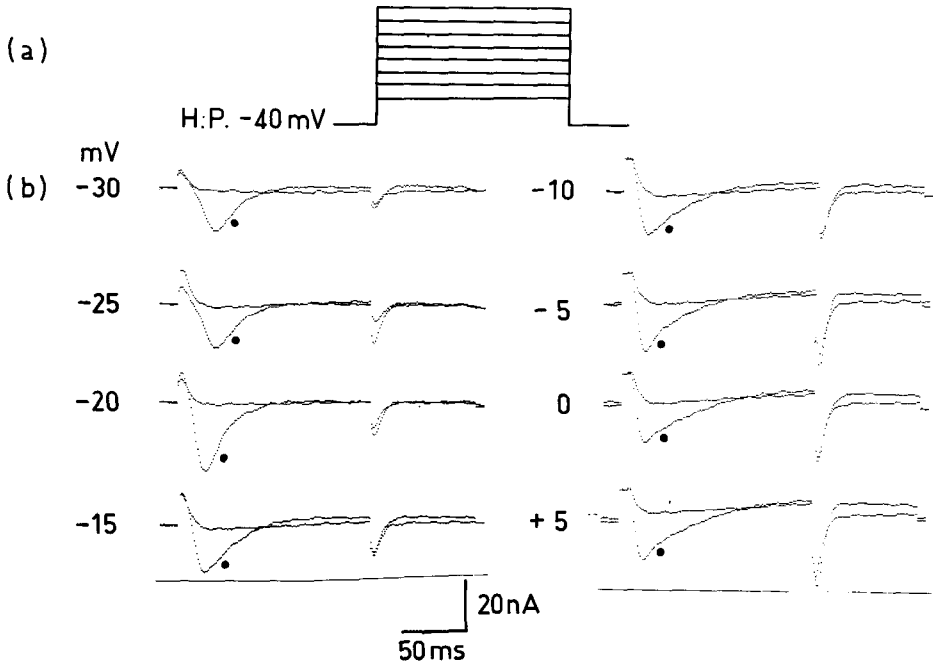


Fig. 5. Pulse protocol (a) and i_{sT} records (b) before (•) and after treatment of 1 mM Co^{2+} . Co^{2+} abolished most of i_{sT} and i_{kT} .

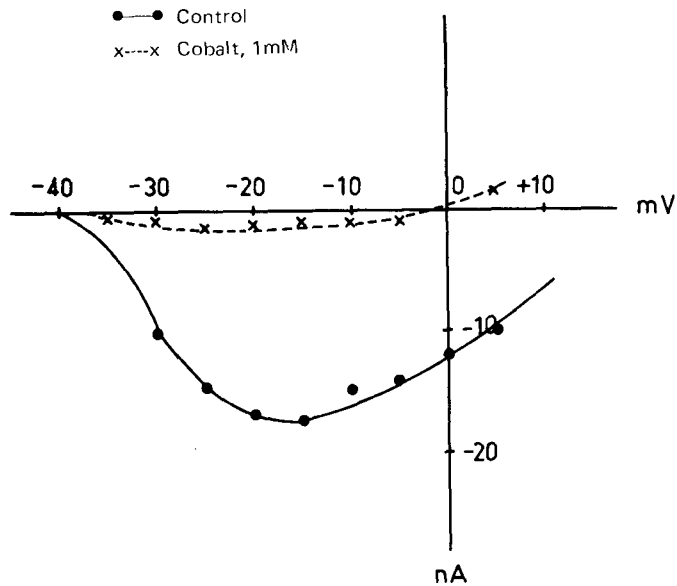


Fig. 6. Plot of current-voltage relationship of steady state i_{sT} before (●—●) and after (x---x) treatment of Co^{2+} . Very small amount of current left after treatment of Co^{2+} .

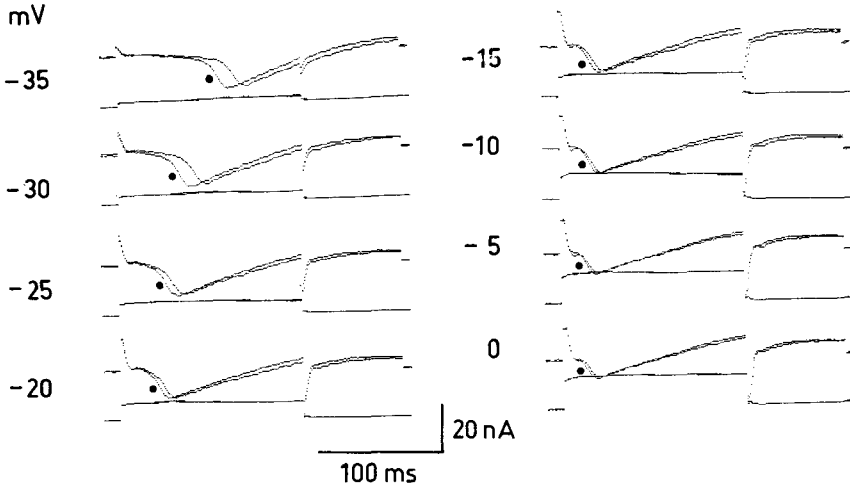


Fig. 7. Current records before and after (•) treatment of ouabain ($5 \times 10^{-8} M$). Ouabain increased i_{si} and made faster to reach the peak level.

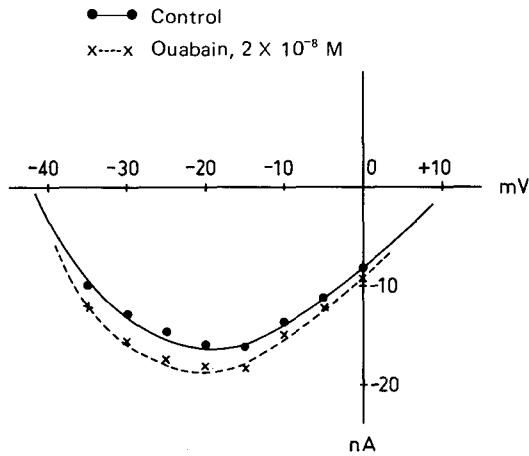


Fig. 8. Current-voltage diagram of i_{si} before (●) and after (x---x) ouabain treatment.

를 주로 $-30 \sim -10$ mV 사이에서 볼 수 있다.

다음은 부자(Aconitum)에서 강심작용을 나타내는 성분으로 추출된 higenamine의 효과를 분석하였다.

먼저 higenamine은 정상 동방결절의 활동전압의 모양 및 빈도에 큰 변화를 일으켰다. 그림 9에서 보여주듯이 (a)는 정상대조 활동전압, (b)는 $10^{-6} M$ 의 higenamine 처치군으로 cycle length를 상당히 짧게 하고 모양이 바뀐 것을 알 수 있다. higenamine에 의하여 활동전압의 모양이 현저하게 변화하였는데 동방결절의 특이한, 완만

한 pacemaker potential이 상당히 그 경사가 급하여졌고 overshoot에서 심방이나 심실 혹은 Purkinje섬유에서 보는것같은 spike와 notch를 볼 수 있었다.

이와같은 변화가 교감신경계의 수용체를 통한 것인가의 여부를 밝히기 위하여 (b)의 조건에 $10^{-6} M$ 의 propranolol을 첨가하였을 때 나타난 결과를 (c)에 나타내었다. (a)에서의 정상대조군과 대단히 비슷한 모양과 비슷한 빈도수로 돌아온 것을 알 수 있었다. (d)는 (a)와 (b)를 중첩시킨 그림이고 (e)는 (b)와 (c)의 그림을 중

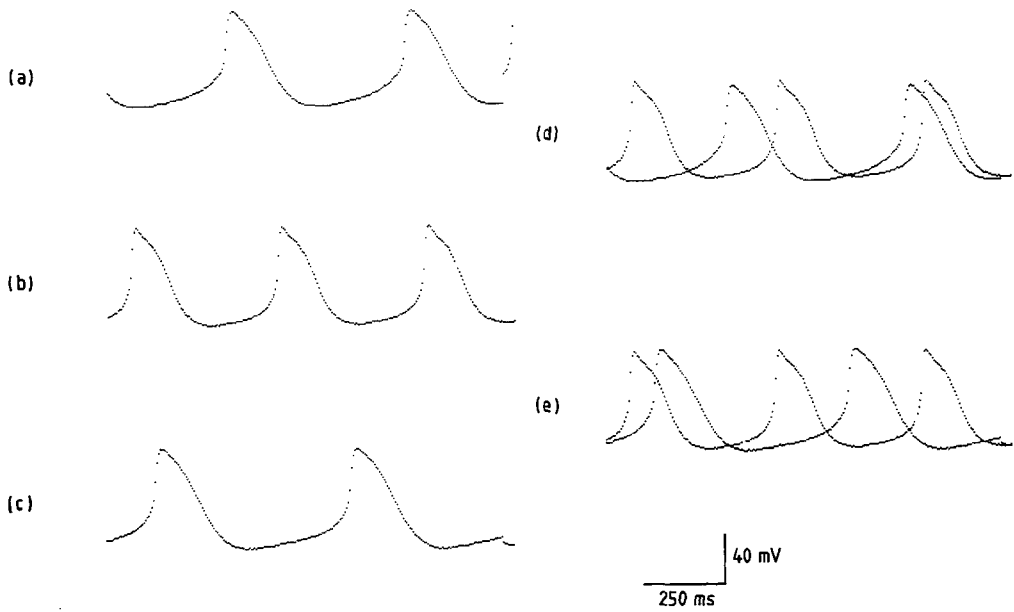


Fig. 9. Action potential records of control(a), in higenamine(10^{-6} M) (b) and higenamine+propranolol(10^{-6}) (c) treatment. (d) is superimposed records of (a) and (b) and (e) is superimposed record of (b) and (c).

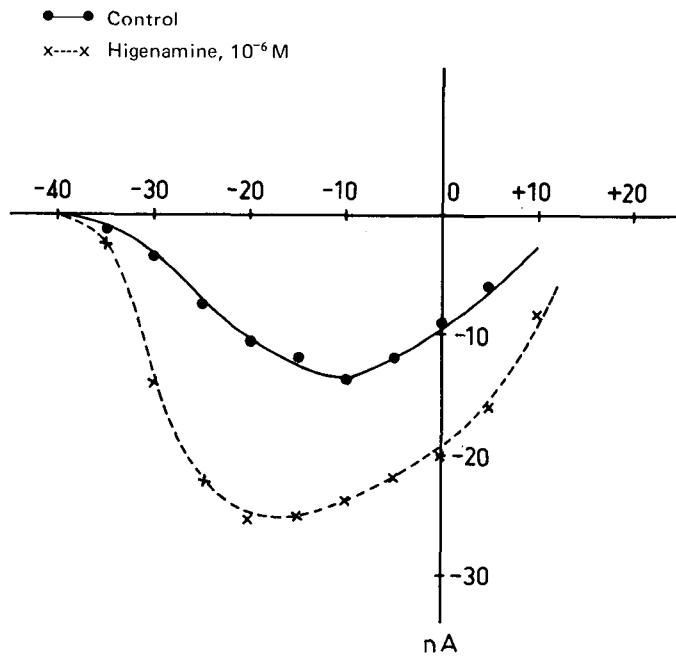


Fig. 11. Current-voltage plot of i_{Si} in control (●—●) and higenamine treatment (×---×). Peak steady values of i_{Si} was near -10 mV in control but higenamine shifts it to -20 mV.

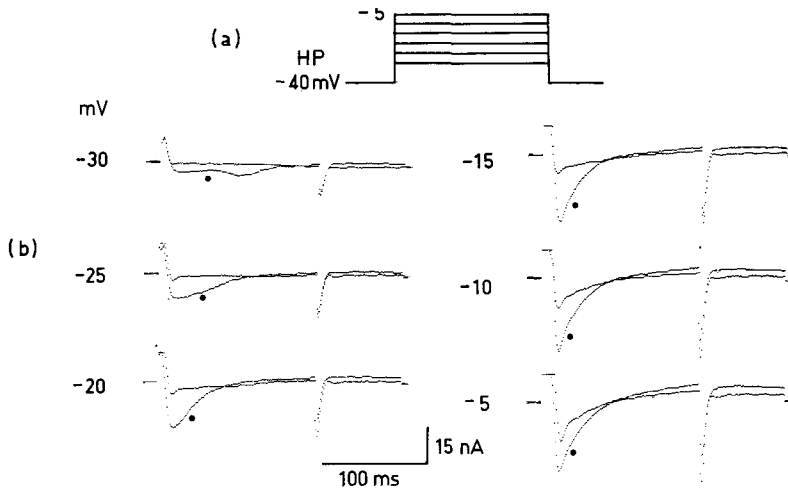


Fig. 10. Current record (b) in response to depolarizing voltage clamp steps (a). Records with dots (•) indicate increased i_{s_i} by higenamine ($10^{-6}M$).

침시킨 것이다.

이와같은 변화의 원인으로서 i_{s_i} 에 대한 효과로서 분석하고자 한 것이 그림 10의 결과이다. higenamine (•)은 i_{s_i} 를 현저히 증가시켰고 i_{k^+} 도 증가시켰다. i_{s_i} 증가를 그림 11에서와 같이 current voltage diagram에 plot하였다. i_{s_i} 의 증가는 막전압이 $-30 \sim -10$ mV인 범위에서 더욱 현저하였다.

이러한 i_{s_i} 의 증가는 diagram에는 표시하지 않았으나 $10^{-6}M$ 의 propranolol에 의하여 정상상태로 회복되었다.

고 찰

1. 막전압 고정에서의 문제점

흥분성 세포의 막전압을 실험자의 의도대로 고정해서 여러가지 종류의 이온 전류를 밝히는 막전압고정 방법은 몇가지가 알려져 있다. 심장에서 널리 쓰이는 방법으로는 단일 (single) 혹은 이중 (double) sucrose gap 방법으로 주로 심방 혹은 심실근에서 이용되고 (Noble, 1979; Beeler and McGuigan, 1978) 두개의 미세전극방법은 Purkinje 섬유에서 널리 이용되어 왔었다 (New and

Trautwein, 1972). 어느 방법이든 장단점이 있다.

Sucrose gap 방법은 기술적으로 비교적 쉽고 전류를 흘리기 쉬운 반면 artefact인 누출전류 (leak current)가 많이 기록되는 단점을 가지고 있으며, 두개의 미세전극방법은 전류를 흘리는데 제한이 있고 기술적으로 성공하기 어려운 단점은 있으나 artefact가 섞일 염려가 없어 방법 자체로는 가장 좋은 방법으로 알려져 있다 (Beeler & McGuigan, 1978).

동방결절에서의 두개의 미세전극 방법은 Noma와 Irisawa (1976)가 시도하여 성공하였는데 동방결절이 갖는 여러가지 특수성에도 불구하고 절편을 작게 만들면 균등한 막전압을 유지할 수 있다고 하였다. 본 실험에서도 작은 크기 (0.3 mm 이하)의 절편에서 두개의 전극을 100 μm 이하의 사이를 두고 세포내에 다 같이 삽입하는 것이 대단히 어려웠고 상당한 경우에 $15 M\Omega$ 정도의 전극을 통하여 충분한 전류를 흘리는데 제한을 받아서 완만내향전류 (i_{s_i})가 대단히 큰 경우 혹은 절편의 크기가 약간만이라도 큰 경우에는 균등한 막전압 고정을 할 수 없었다. 그리고 일부 경우 저분극쪽으로 길고 큰 pulse를 주었을 때는 전류를 흘리는 세포가 망가져서 막전압고정이 불가능하기도 하였다. 본 연구에서는 막전압이 균등하게 고정된 것을 i_{s_i} 의 깨끗한 기록과 Voltage pulse의 모양이 square인 것만을 골라서 분석에 사용하였다.

2. I_{s_i} 에 대한 isoprenaline, Co^{+2} 및 ouabain의 작용

I_{s_i} 는 isoprenaline($10^{-7}M$)에 의하여 증가되었으며 항상 일정한 소전은 아니었지만 상당한 경우 i_{s_i} 의 증가와 함께 peak level에 도달하는 시간을 빨리하게 하였다. 이와 같은 효과는 isoprenaline이 동방결절이 활동전압의 빈도를 증가시키고 upstroke phase 즉 dV/dt 를 증가시키는 현상을 설명할 수 있으며 다른 연구자들이 결과와 비슷하다(Brown et al., 1979; Noma et al., 1981). 다만 peak level에 도달하는 시간을 빠르게 하는 결과는 다른 보고에서는 없었던 것이었다.

i_{s_i} 는 -40 mV에서부터 활성화 되기 시작하였으며 최대 i_{s_i} 값은 절편에 따라 많은 차이를 보였으나 보통 $-10 \sim 0$ mV 사이에 있었다. 일반적으로 Co^{2+} , Mn^{2+} 등은 Ca^{2+} 이 slow channel을 통하여 들어가는 i_{s_i} 를 비교적 선택적으로 억제함이 알려져 있다(Reuter, 1973).

1 mM의 농도에서도 Co^{2+} 는 동방결절의 i_{s_i} 를 거의 완전히 억제하였으며 정상 Tyrode용액에 매우 빨리 억제현상이 소실되었다. 일반적으로 digitalis는 강심작용을 나타내는 물질로서 치료에 많이 이용되고 있다. 그러나 digitalis의 강심효과에 대한 약리기전에는 이견이 많다(Lee & Klaus, 1971; Weingart et al., 1978). 치료효과를 나타내는 낮은 농도($10^{-8}M$)에서는 ATPase억제효과가 거의 없고(Akera et al., 1969) 따라서 이때의 강심효과를 설명하기 어렵다.

Tsien & Marban(1982) 및 Weingart(1978) 등은 Purkinje섬유에서 i_{s_i} 의 증가를 기록한 바 있으며 일부 실험결과에서는 낮은 농도의 ouabain이 ATPase를 오히려 촉진한다는 주장(Noble, 1979)도 있다. 동방결절 절편에서 낮은농도의 ouabain에 의한 i_{s_i} 의 증가는 동방결절이 비록 순수 수축기구가 아니라는 점은 있으나 digitalis작용기전의 새로운 점을 일깨워 준 결과라고 생각된다. 그러나 i_{s_i} 의 증가가 대단히 적은 양이기 때문에 결론을 내리기는 어려울 것 같다.

3. Higenamine의 작용

Higenamine은 $10^{-7}M$ 에서부터 동방결절에서 i_{s_i} 를 증가시켰다. 또한 higenamine는 활동전압의 모양을 크게 변화시켰고 빈도수를 증가시켰다. 빈도수의 증가는 i_{s_i} 의 증가 때문으로 설명이 가능하나 upstroke가 대단히 빨

라지고 동방결절의 활동전압의 모양이 마치 심방에 가까운 모양으로 변한 것은 매우 흥미로운 것이었다. 이러한 변화는 단순히 i_{s_i} 의 증가로만 설명하기는 어려울 것 같다. higenamine에 의한 i_{s_i} 의 증가는 β -blocker인 propranolol에 의하여 억제되는 것으로 보아 adrenaline과 비슷한 adrenergic receptor를 통한 작용으로 해석할 수 있겠다.

결 론

토끼 동방결절을 0.3×0.3 mm의 작은 절편으로 만들어 두개의 미세전극으로 막전압을 고정하고 동방결절 활동전압의 pacemaker potential과 upstroke에 주로 관여하는 완만내향전류 i_{s_i} 를 기록 분석하였다. i_{s_i} 에 영향을 주는 것으로 알려진 isoprenaline, Co^{2+} , ouabain 및 higenamine의 효과를 분석하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) 막전압고정은 내·외향전류의 합이 0인 전압을 택하였는데, 대개 -40 mV 근처였고 이 전압에서 저분극 pulse에 의하여 활성화 되었다. 항정상태에서의 i_{s_i} 의 크기는 -10 mV \sim 0 mV에서 최고값을 보였고 그 이상의 전압에서는 오히려 감소하였다.

2) isoprenaline($10^{-6}M$)은 i_{s_i} 를 크게하였고 막전압에 따른 i_{s_i} 의 증가는 거의 비슷하였다.

3) Co^{2+} (1 mM)는 i_{s_i} 를 거의 억제하였으며 막전압에서 따른 변화 또한 없었다.

4) 낮은 농도의 ouabain($5 \times 10^{-8}M$)은 i_{s_i} 를 약간 크게하고 항정상태에 이르는 시간을 빨리하였다.

5) $10^{-6}M$ 의 higenamine은 활동전압의 모양을 크게 변화시켰고 빈도수도 증가시켰다. higenamine에 의하여 i_{s_i} 의 증가도 아주 현저하였으며 $10^{-6}M$ 의 propranolol에 의하여 거의 완전히 억제되었다.

참 고 문 헌

- Akera, T., Larsen, F.S. and Brody, T. M.: *The effect of ouabain on sodium and potassium-activated adenosine triphosphatase from the hearts of several mammalian species. J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 170: 17-26, 1969.
- Beeler, G. W. and McGuigan J. A. S.: *Voltage clamping of multicellular myocardial preparations: capabilities*

- and limitations of existing methods. *Prog. Biophys. Mole. Biol.*, 34: 219-254, 1978.
- Brown, H. F.: *Electrophysiology of the sinoatrial node. Physiol. Rev.*, 62: 505-530, 1982.
- Brown, H. F., DiFrancesco, D. and Noble, S. J.: *How does adrenaline accelerate the heart? Nature*, 280: 235-236, 1979.
- Brown, H. F., Kimura, J. and Noble, S. J.: *The relative contribution of various time-dependent membrane currents to pacemaker activity in the sino-atrial node. In: Cardiac rate and rhythm, ed. Bouman, L. N. and Jongasma, H. J., pp. 53-68. The Hague. Martinus Nijhoff, 1982.*
- Irisawa, H.: *Ionic currents underlying spontaneous rhythm of the cardiac pacemaker cells. In: The sinus node, structure, function and clinical relevance. ed., Bonke FIM, pp. 368-375. The Hague. Martinus Mijhoff, 1978.*
- Irisawa, H. and Noma, A.: *Pacemaker mechanisms of rabbit sino-atrial node cells. In: Cardiac rate and rhythm. ed. Bouman, L. N. and Jongasma, H. J., pp. 35-52. The Hague. Martinus Nijhoff, 1982.*
- Irisawa, H. and Yanagihara, K.: *The slow inward current of the rabbit sino-atrial node cells. In: The slow inward current and cardiac arrhythmias. ed. Zipes, D. P., Bailey, J. C. and Elharra, V., pp. 265-284. The Hague Martinus Nijhoff, 1980.*
- Lee, K. S. and Klaus, W.: *The subcellular basis for the mechanism of inotropic action of cardiac glycosides. Pharmacol. Rev.*, 23, 193-261, 1971.
- New, W. and Trautwein, W.: *Inward membrane currents in mammalian myocardium. Pflügers Arch.*, 334: 1-23, 1972.
- Noble, D.: *The initiation of the heartbeat. 2nd edition. Oxford. Clarendon Press, 1979.*
- Noma, A. and Irisawa, H.: *Membrane currents in the rabbit sino-atrial node cell as studied by double microelectrode method. Pflügers Arch.*, 364: 45-52, 1976.
- Noma, A., Yanagihara, K. and Irisawa, H.: *Inward current of the rabbit sino-atrial node cell. Pflügers Arch.*, 372: 43-51, 1977.
- Noma, A., Kotake, H., Kokubun, S. and Irisawa, H.: *Kinetics and rectification of the slow inward current in the rabbit sino-atrial node cell. Jpn. J. Physiol.*, 31: 491-500, 1981.
- Reuter, H.: *Divalent cations as charge carriers in excitable membranes. Prog. Biophys. Mole. Biol.*, 26: 1-43, 1973.
- Tsien, R. W. and Marban, E.: *Digitalis and slow inward current in heart muscle: Evidence for regulatory effects of intracellular calcium or calcium channels. Adv. in Pharmacol. Thereap.*, 3: 217-225, 1982.
- Trautwein, W.: *Membrane currents in cardiac muscle fibers. Physiol. Rev.*, 53: 793-835, 1973.
- Weingart, R., Kass, R. S. and Tsien, R. W.: *Is Digitalis inotropy associated with enhanced slow inward calcium current? Nature*, 273: 389-392, 1978.
- Yanagihara, K. and Irisawa, H.: *Inward current activated during hyperpolarization in the rabbit sino-atrial node cell. Pflügers Arch.*, 385: 11-19, 1980.