

人蔘을 經口投與한 흰쥐 心臟筋의 收縮力 退化率 抑制에 미치는 作用 機轉 研究

申 媛 · 金洛斗 · 吳禹澤 · 高光浩

서울대학교 藥學大學

(Received July 9, 1985)

Study on the Inhibitory Mechanism of Deterioration Rate of
Contractility in Papillary Muscle from Ginseng Treated Rat Heart.

Won Shin, Nak Doo Kim, Uh Taek Oh and Kwang Ho Ko

College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151, Korea

Abstract—It was previously reported that the deterioration rate of contractile force of the isolated heart from ginseng extract treated rat was slower than that from control. Present study was carried out to investigate the mechanism of the action of ginseng on the contractile force of the papillary muscle in terms of calcium metabolism. Rats weighing 200~300g were administered orally with ginseng ethanol extract (100mg/kg/day) for more than 10 days. The isolated papillary muscles from rat hearts were suspended in bath containing Krebs-Henseleit solution. When equilibration of contractile force of papillary muscle was reached, the rates of deterioration of contractile forces of papillary muscle from ginseng component treated rats were determined by washing with Ca-free Krebs-Henseleit solution and compared with that of normal hearts. At the beginning of washing, the rate of deterioration of contractile force of the papillary muscle was slower significantly in ginseng treated rats than in control rats, suggesting that calcium may be somehow involved in sustaining the contractility in ginseng treated hearts. Anoxia of papillary muscle with nitrogen gas to muscles inhibited the contractility, but differences between control and ginseng treated groups in the rate of deterioration were not observed. Influence of diltiazem, calcium blocker, on the contractility of papillary muscle from ginseng treated and control hearts was studied. Contractility of papillary muscle from control and ginseng treated hearts was inhibited by diltiazem in dose dependent manner but the inhibition of the ginseng treated muscles was much weak. The effect was significantly different. From the results, it seemed that slowing in deterioration rate of papillary muscle from ginseng treated hearts might be related to calcium which was mobilized from plasma membrane of internal organelle by ginseng.

인삼이 심장에 미치는 약리학적 효과를 검토한 보고들이 많이 있다. Kim 등은 흰쥐 심장을 langendorff 장치에 현수하고 인삼 saponin을 함유한 Krebs-Henseleit 용액을 관류시 대조군에 비해 심장운동의 양성 변력 효과를 나타내었다고 보고하였으며¹⁾ 또한 인삼 엑기스나 총 saponin을 일주일 이상 경구투여한 후 적출한 흰쥐 심장을 langendorff 장치에 현수하고 자발적인 심장운동을 관찰하였을 때 인삼투여군이 대조군에 비해 시간경과에 따른 심장 수축력 퇴화가 지연됨을 보고하였다.^{2,3)} 심장의 수축력은 박동수에 따라 크게 영향을 받으므로⁴⁾ 적출한 심장에 전기자극을 주어 일정 박동수로 고정된 상태에서 수축력이 퇴화되어지는 것을 관찰하였을 때에도 인삼 투여군이 대조군에 비해 수축력 퇴화가 지연된다고 보고 하였다.⁵⁾ 또한 인삼을 경구투여한 흰쥐에서

분리한 좌심실의 유두근은 대조군의 유두근 보다 force-velocity curve에서 V_{max} 뿐만 아니라 P_0 의 증가를 보임으로써 inotropic agent에 의한 수축력 증강 작용과 유사한 작용이 있다고 보고하였다.^{4,5)}

이러한 인삼성분의 심장수축력 퇴화 지연 현상의 기전을 규명하기 위하여, Kim 등은 인삼을 경구투여한 흰쥐의 심근 Plasma membrane의 Na^+ , K^+ -ATPase 활성이 대조군에 비해 인삼 투여 용량에 비례하여 억제됨을 보여 강심배당체의 강심작용 기전과 유사한 점이 있음을 보였고⁶⁾ 인삼을 장기간 경구 투여한 흰쥐 심장에서 분리한 Sarcoplasmic reticulum (SR)은 대조군에 비하여 시간 경과에 따른 $^{45}Ca^{2+}$ accumulation 능력 퇴화가 지연되어 심근세포의 integrity를 유지 한다는 것을 보고하였다.⁷⁾ 심장의 수축 기전에 있어서 Ca^{2+} 이 절대적으로 중요한 역할을 하고 있음은 잘 알려져 있으며⁸⁻¹⁴⁾ 심근 세포내의 Ca^{2+} 농도 조절에는 sarcolemma, sarcoplasmic reticulum, mitochondria와 같은 membraneous system이 밀접하게 관련되어 있으나¹⁵⁻²⁰⁾, 이 여러 system이 세포 내에서 각각 Ca^{2+} 농도 증감에 관여하고 있는 정도는 아직 정확히 알려지지 않고 있다.²¹⁾

저자는 인삼성분의 심장 수축력 퇴화지연 기전을 밝히는데 있어서, 근 수축에 중요 역할을 하는 Ca^{2+} 의 관여도 여부를 규명하기 위하여 본 연구를 시도하였다.

실 험 방 법

실험재료—1) 홍삼 에탄올 엑기스—한국인삼연조연구소로부터 제공 받은 홍삼을 세절하여 75% 에탄올로 70 °C에서 추출하고, 이 추출액을 rotary evaporator에서 감압 농축하여 분말상태(수분 함량 4~5%)로 조제한 것을 사용하였다.

2) 실험동물—270~310 g의 건강된 웅성 Sprague-Dawley계 흰쥐를 전 실험에 사용하였다.

인삼성분의 투여—투여군에는 전술한 방법으로 얻은 홍삼 에탄올 엑기스를 생리식염수에 용해하여 100 mg/kg 용량을 10~15일간 1일 1회 경구투여 하였으며 대조군에는 생리식염수를 같은 기간동안 같은 방법으로 투여하였다.

유두근 표본제작—흰쥐 두부를 강타하여 출혈, 치사 시킨 후 심장을 재빨리 적출하여 O_2 95%— CO_2 5% 혼합 gas로 포화시킨 Krebs-Henseleit 용액($NaCl$ 118 mM, KCl 4.7 mM, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1.2 mM, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 2.5 mM, $NaHCO_3$ 2.5 mM, $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ 1.2 mM, glucose 11.1 mM)이 들어있는 비이커에 넣고 지방 및 결합조직을 제거하였다. 이 심장을 절개하여 posterior left ventricular papillary muscle을 절취하여 Krebs-Henseleit용액이 들어 있는 organ bath에 넣고 현수하였다. 유두근은 가늘고 긴 것만 선택하였으며 branch가 많거나 두꺼운 유두근은 oxygen diffusion이 잘되지 않으므로 실험에서 제외하였다.⁴⁾ Organ bath 내의 Krebs-Henseleit 용액은 O_2 95%— CO_2 5% 혼합공기를 4.2ml/sec 속도로 실험중 계속 공급하였으며, 온도는 36°C, pH는 7.2~7.4를 유지하도록 하였다. 좌심실 유두근의 밑부분은 2개의 백금전극으로 고정하였고 다른 한 쪽의 tendon이 많은 윗부분은 금으로 합금된 가는 쇠줄에 연결하여 isometric force transducer에 연결하고 수축력의 크기를 Washington MD 400 Physiograph에 기록하였다.

Stimulator는 Gould impuls stimulator를 사용하였으며, 자극은 2개의 백금전극(electrode)을 통해 square wave stimulus를 좌심실 유두근의 밑부분에 주었다. 전기자극의 크기(voltage)는 threshold 크기의 10% 정도를 더 주었고(1.5~2.5V), 지속시간은 5msec, frequency는 30pulses/min으로 하였다. 이상의 조건에서 유두근을 1.5~2시간 평형시켜 수축력의 크기가 거의 일정하여졌을때 모든 실험을 실시하였으며 이때 수축력의 크기가 10mm 이하로 표시되는 유두근은 모

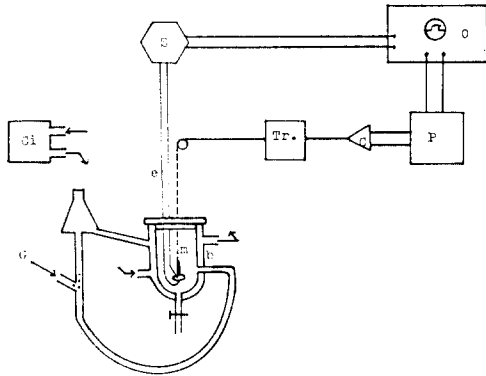


Fig. 1—Apparatus for recording.

S: square wave stimulator O: oscilloscope Tr: transducer C: coupler P: physiograph b: organ bath e: electrodes m: papillary muscle Ci: circulator G: mixed gas with O_2 95%— CO_2 5%

의 수축력 변화—유두근을 organ bath에 걸고 2시간의 평형시간 주어 수축력의 크기가 거의 일정하여졌을때 diltiazem stock solution을 필요량만큼 넣어 organ bath 내의 diltiazem 농도가 각각 $6.25 \times 10^{-6}M$, $1.43 \times 10^{-5}M$, $3.15 \times 10^{-5}M$ 이 되도록 하였다. Diltiazem 용액을 가한후 15분 뒤의 유두근 수축력을 측정하여 평형시의 수축력 크기에 대한 백분율로 환산하였다.

외부 Ca^{+} 농도 변화시 유두근의 수축력 변화—전술한 방법으로 투여군과 대조군에서 muscle preparation을 얻어 organ bath에 걸고 1시간 30분의 평형시간을 준 후 Ca^{+} free Krebs-Henseleit 용액으로 3회 세척하여 유두근의 수축력을 완전히 억제시켰다. 마지막 세척 15분후에 $CaCl_2$ stock solution을 organ bath에 15분 간격으로 누적하여 가해 organ bath내 Ca^{+} 농도가 0.2, 0.4, 0.7, 1.0, 1.5, 2.5, 3.5, 4.5, 6.5, 8.5mM이 되도록 하고 이때의 유두근 수축력을 측정하여 평형시의 수축력에 대한 백분율로 환산하였다.

Anoxia 및 Reoxygenation시 유두근의 수축력 변화—전술한 방법으로 투여군과 대조군의 유두근을 organ bath에 걸고 1시간 30분동안 평형시킨후, 4.2ml/sec 속도로 공급하고 있던 O_2 95%— CO_2 5% 대신 N_2 95%— CO_2 5% 혼합공기를 같은 속도로 바꿔 공급하고 수축력 변화를 40분간 측정하였으며 40분후 다시 O_2 95%— CO_2 5% 혼합공기로 바꿔 같은 속도로 공급하였다. 이때 수축력의 크기를 측정하여 평형시의 수축력에 대한 백분율로 환산하였다.

실 험 결 과

Ca^{+} free Krebs-Henseleit용액에 의한 유두근 수축력 퇴화에 미치는 인삼 효과(Fig. 2.)—

① 대조군에서 얻은 유두근의 수축력 퇴화속도—생리식염수를 투여한 흰쥐 좌심실 유두근을 organ bath에 걸고 Ca^{+} free Krebs-Henseleit용액으로 세척시 수축력은 급속히 퇴화되어 세척 초기 즉 세척 1.17분, 1.22분 후에는 초기 수축력의 $73.9 \pm 3.0\%$, $71.1 \pm 3.45\%$ 로 각각 감소되었으며, 세척 7분 후에는 $22.03 \pm 3.08\%$ 로 감소되었고, 7분 간격으로 두번 더 세척하였을때 수축력은 거의 0%로 되었다.

② 인삼투여군에서 얻은 유두근의 수축력 퇴화속도—유두근의 수축력 퇴화속도는 세척 초기 즉

두 제외하였다.

각각의 유두근에서 developed tension (P)과 rate of tension development (dp/dt)를 같은 physiography상에 기록하였으며 이때 기록 속도는 0.25mm/sec로 하였다.

Ca^{+} free Krebs-Henseleit 용액에 의한 유두근의 수축력 변화—Krebs-Henseleit 용액에서 약 1시간 30분 동안 평형시켜 유두근의 수축력 크기가 거의 일정하여졌을때 Ca^{+} 만 제거된 Krebs-Henseleit 용액 78ml로 7분, 7분, 11분 간격으로 3회 세척하여 유두근의 수축력을 완전히 억제하였다. 이때 측정된 유두근의 수축력 크기를 세척 직전 평형시의 수축력에 대한 백분율로 환산하였다.

Ca^{+} blocker (Diltiazem)에 의한 유두근

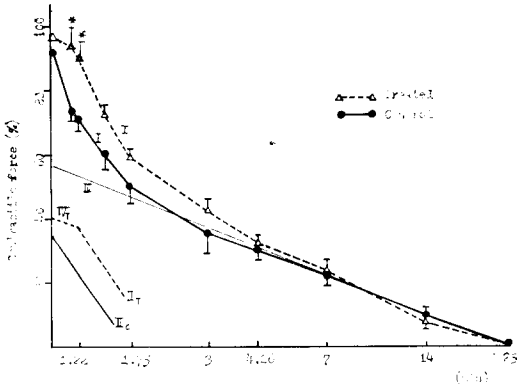


Fig. 2—Effect of orally administered ginseng ethanol extract on the deterioration rate of contractile force of the rat papillary muscle when washed with Ca^{++} free Krebs-Henseleit solution. Bars indicate mean \pm S.E. * : Significantly different from control ($P < 0.05$). The contractile force of I was measured in experiment. II_c, II_r, III and IV_r indicate the compartments of Ca^{++} resolved by graphic analysis. II_r, IV_r: Treated, II_c: Control.

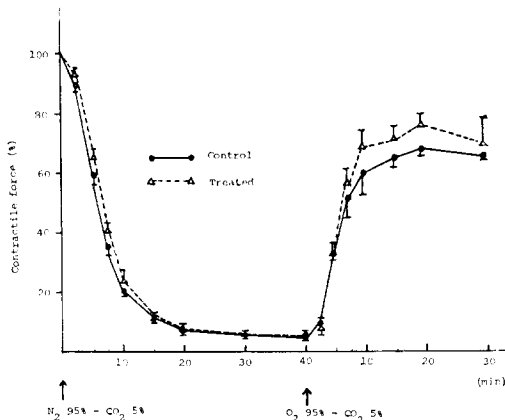


Fig. 4—Contractile force of the papillary muscle from ginseng ethanol extract treated rats and normal rats at various Ca^{++} concentrations. Bars indicate mean \pm S.E.

불 때 유두근 수축력 퇴화속도가 유의성있게 지연됨을 볼 수 있었으며 ($P < 0.05$), 그 이후에서는 대조군에 비해 수축력 퇴화속도가 지연되는 경향은 볼 수 있었으나 그 차이의 유의성은 없었다.

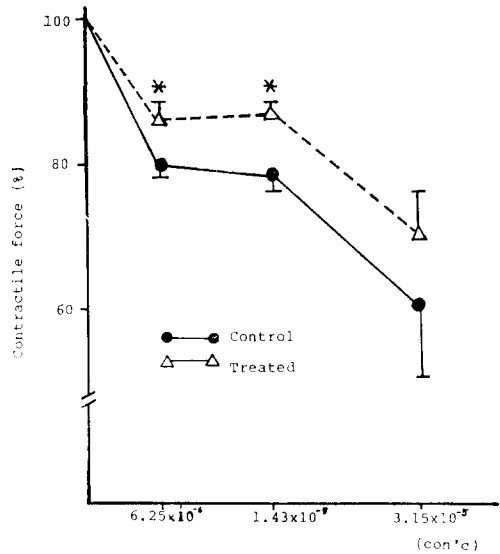


Fig. 3—Effect of diltiazem on the contractile force of the papillary muscle from ginseng ethanol extract treated and normal rats. Bars indicate mean \pm S.E. *Statistically different from control ($P < 0.05$)

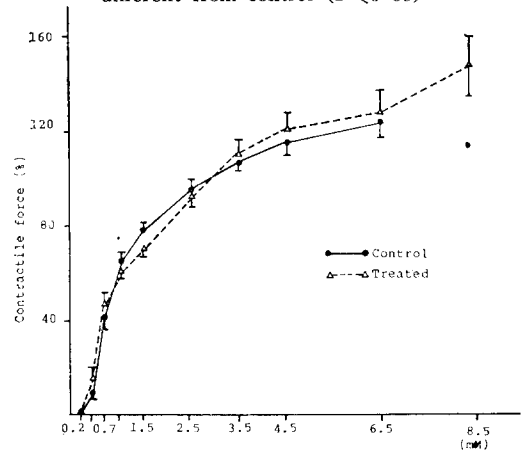


Fig. 5—Contractile force of the papillary muscle from ginseng ethanol extract treated rats and control rats during anoxia and subsequent reoxygenation. Bars indicate mean \pm S.E.

세척 1.17분, 1.22분 후에 각각 $93.4 \pm 5.11\%$, $89.25 \pm 4.76\%$ 로 감소되어 대조군과 비교하여

Diltiazem 사용시 유두근 수축력 퇴화에 미치는 인삼 효과(Fig. 3)—Diltiazem $6.25 \times 10^{-6}M$, $1.43 \times 10^{-5}M$ 에서 대조군은 초기 수축력의 $77.6 \pm 0.71\%$, $76.95 \pm 1.63\%$ 로 각각 감소되었고 인삼 투여군은 각각 $83.33 \pm 1.66\%$, $84.7 \pm 0.21\%$ 로 감소되어 diltiazem에 의한 유두근의 수축력 억제가 대조군에 비해 인삼 투여군에서 유의성있게 약화된 것을 볼 수 있었다($P < 0.05$). $3.15 \times 10^{-5}M$ diltiazem 농도에서는 두군 사이에 유의성 있는 차이를 인정할 수 없었다.

외부 Ca^{+} 농도 변화시 유두근 수축력 변화에 미치는 인삼효과(Fig. 4)—외부 Ca^{+} 농도 0.2, 0.4, 0.7, 1.0, 1.5, 2.5, 3.5, 4.5, 6.5, 8.5mM에서 Ca^{+} 농도 증가에 따라 유두근의 수축력이 증가되는 것을 볼 수 있었으나, 인삼 투여군과 대조군 사이에서 별 차이를 인정할 수 없었다.

Anoxia 및 Reoxygenation시 유두근 수축력에 미치는 인삼효과(Fig. 5)—Equilibrium time이 지난 후 O_2 95%— CO_2 5% 공급을 중지하고 대신 N_2 95%— CO_2 5% 혼합공기를 넣어 주었을 때 유두근의 수축력이 점차 퇴화되었다. 이때 인삼 투여군이 대조군에 비해 퇴화되는 속도가 지연되는 경향은 있었으나 두 군에서 유의성 있는 차이를 볼 수 없었고 무산소 40분 후에 O_2 95%— CO_2 5% 혼합공기를 다시 공급하여 주었을 때 유두근 수축력이 점차 회복되었으나 두군 사이에서 유의성 있는 차이를 인정할 수 없었다.

고 찰

Kim 등²⁻⁵⁾은 인삼 성분을 장기간 경구 투여한 흰쥐로부터 적출한 심장을 langendorff 장치에 현수하고 수축력을 관찰했을 때 시간 경과에 따른 수축력 퇴화가 대조군에 비해 지연되는 것을 보고하였다. 이러한 인삼 성분의 심근 보호작용 기전을 규명하기 위해 먼저 근수축에서 중요한 역할을 하고 있는 칼슘 이온과의 관계를 보고자 하였다.

적출한 심근의 수축력 크기는 external medium에 있는 Ca^{+} 농도에 의존한다는 것은 잘 알려져 있으며²³⁾, bathing solution에서 Ca^{+} 을 제거하면 전기적 활성은 계속되나 수축은 급속히 정지한다.²⁶⁾ 심근세포막의 탈분극시 세포외부에서 세포내부로 Ca^{+} 이 유입해 들어오나 근섬유의 수축을 일으키기에는 불충분하고 이 Ca^{+} 이 세포내 Ca^{+} 저장고(SR, 미토콘드리아)로부터 Ca^{+} 의 유리를 유발하여 근 수축이 일어나게 되는데 이때 수축력의 강도는 유입되는 Ca^{+} 의 양에 비례한다.

심근의 수축 강도는 심근 세포내 이온화된 Ca^{+} 의 양에 직접적으로 관계가 있으며 이 심근 세포내 유리 Ca^{+} 농도의 조절에는 sarcolemma, sarcoplasmic reticulum, 미토콘드리아와 같은 membranous system이 관련되어지고 있으며¹⁷⁻²⁰⁾ 한편, 강심배당체의 강심작용은 이러한 세포 및 내세포 막의 성격을 변화시켜 세포내 유리 Ca^{+} 농도의 증가에 기인된다는 보고가 있다.²²⁾ 칼슘 유량 연구²³⁻²⁵⁾의 그래프분석으로부터 심근내의 칼슘은 여러 compartments로 존재한다는 것이 보고되어 있으며, 세포외와 sarcolemma에 있는 compartments의 칼슘은 coupling 과정에 중요하며, 세포내 compartments (S.R., 미토콘드리아)의 칼슘은 심근 수축력 유지에 밀접하게 관여하고 있다고 알려져 있다.²⁴⁾

또한 Winegrad 등²³⁾은 속도론적 연구에 의해 심방에서 칼슘은 a) rapidly exchanging fraction, b) slowly exchanging fraction, c) inexchangeable fraction의 세가지 성분으로 나누어 진다고 보고하였다. 만약, 인삼투여로 인해 인삼투여군이 대조군에 비해 어떠한 방법으로든 더 많은 Ca^{+} 을 수축 단백질에 공급할 수 있다고 한다면 Ca^{+} 이 제거된 Krebs-Henseleit 용액으로 심근을 세척시 이 Ca^{+} 으로 인해 인삼투여군의 심근 수축력의 퇴화가 지연될 것으로 가정되어지며, 또 Ca^{+} channel 차단제 즉 bathing 용액에 첨가시 역시 이 잉여의 Ca^{+} 으로 인해 인삼투여군이 대

조군에 비해 수축력 억제가 약화되어 지리라고 가정되어진다.

본 실험에서 Ca^{+} free Krebs-Henseleit 용액으로 유두근 세척시의 결과를 보면, 세척 초기에 가정하였던대로 인삼투여군이 대조군에 비해 수축력 퇴화가 지연된 것을 볼 수 있었다. 또한, 실험결과의 그래프 분석에 의하면(Fig. 2) 흰쥐의 심근내에는 적어도 2개 이상의 Ca^{+} compartments (Ⅱ, Ⅲ)가 있음을 보여주는데, 그림에서 compartment IV_T 의 점선은 세척초기(세척~1.22분) 인삼투여군의 수축력 퇴화율이고, II_T 의 점선은 세척 1.22분 이후 수축력 퇴화율이다. 여기서 보는바와 같이 세척 초기에는 인삼투여군이 대조군에 비해 수축력 퇴화율이 상당히 감소된 것을 볼 수 있는데 이는 인삼투여로 인해 심근세포내 triggering Ca^{+} 에 대한 친화력이 매우 큰 Ca^{+} compartment IV_T 가 존재하거나 또는 이 IV_T 점선 부분을, 인삼성분이 심근 세포내 유리 Ca^{+} 농도를 조절하는 sarcolemma, S.R., 미토콘드리아 등의 세포막 성격을 변화시켜 Ca^{+} 동원을 증가시키거나 또는 Ca^{+} 저장고로의 유입을 억제하여 세포내 유리 Ca^{+} 농도를 증가시킨 것에 의한 것이라고도 볼 수 있다. Ca^{+} free Krebs-Henseleit 용액에 의한 세척으로 수축력이 완전히 억제된 후 외부 Ca^{+} 농도 증가에 따른 유두근 수축력 증가는 두 군 사이에서 별다른 차이를 인정할 수 없었는데 이는 세척에 의해 rapidly exchanging Ca^{+} 이 거의 고갈되어 있는 상태이므로 외부에서 Ca^{+} 첨가시 두 군 사이에 별다른 차이를 볼 수 없었다고 사료되어 진다. Ca^{+} channel 차단제인 diltiazem 첨가시에도 인삼투여군이 대조군에 비해 수축력 억제가 상당히 약화된 것을 볼 수 있었는데 이 경우에도 역시 외부에서 유입되는 Ca^{+} 의 량이 감소되었는데도 불구하고 인삼투여로 인해 심근 세포내에서 membrane system 성격변화등에 의한 세포내 유리 Ca^{+} 농도의 증가를 생각하여 볼 수 있다. 즉, triggering Ca^{+} 에 대해 매우 친화력이 큰 잉여의 Ca^{+} compartment 존재, sarcolemma의 성격변화에 의해 triggering Ca^{+} 의 유입증가, S.R., 미토콘드리아 등의 세포막이 triggering Ca^{+} 에 대해 매우 민감하게 변화되어 Ca^{+} 유리의 증가 또는 저장고로의 Ca^{+} 유입 억제 등등에 의해 세포내 유리 Ca^{+} 농도가 증가되는 것을 생각할 수 있다.

산소공급을 질소로 교환하여 유두근에 괴사 효과를 주었을 때 인삼투여군이 대조군에 비해 수축력 퇴화가 지연되는 경향은 있었으나 유의성있는 차이를 인정할 수 없었다.

이상의 결과로 보아 인삼성분이 심근수축력 퇴화 지연에 작용하는 기전에는 인삼투여로 인해 잉여의 Ca^{+} compartment가 존재하거나 membrane system 성격이 변화되어 Ca^{+} 동원이 증가되거나 저장이 억제되어 세포내 유리 Ca^{+} 농도가 증가되거나, 또는 이외 Ca^{+} 이 관여되는 어떤 다른 기전이 관여하고 있다고 사료되어 진다.

결 론

인삼 성분이 심장 수축력 퇴화 지연에 미치는 작용기전을 규명하고자 홍삼 에탄올 엑기스를 장기간 경구투여한 후, 흰쥐에서 분리한 좌심실 유두근에 여러가지 조건을 변경시키고 이때 유두근의 수축력 변화를 정상 유두근과 비교하였을 때 그 결과는 다음과 같다.

- 1) Ca^{+} free Krebs-Henseleit 용액으로 유두근을 세척시 세척 초기에 인삼투여군이 대조군에 비해 수축력 퇴화가 유의성있게 지연되었다.
- 2) Ca^{+} 차단제인 diltiazem에 의한 유두근의 수축력 억제가 대조군에 비해 인삼투여군에서 유의성있게 약화되었다.
- 3) 외부 Ca^{+} 농도 증가에 비례하여 유두근의 수축력은 증가하였지만 인삼투여군과 대조군 사이에서 유의성 있는 차이를 인정할 수 없었다.

4) 산소공급을 질소로 교환하거나 산소를 재 공급시, 유두근의 수축력 퇴화와 수축력 회복에 있어서 두 군 사이에 유의성 있는 차이를 인정할 수 없었다.

문 헌

1. N.D. Kim, C.K. Kim and B.K. Kim, *Yakhak Hoeji* 24(1), 15 (1980).
2. N.D. Kim and B.K. Kim, *29th Annual convention of the pharmaceutical society of Korea.* (1979).
3. N.D. Kim, B.K. Kim and H.S. Lee, *Yakhak Hoeji* 26(4), 239 (1982).
4. E.H. Sonnenblick, *Amer. J. Physiol.* 202, 931 (1962).
5. U.T. Oh and N.D. Kim, *Yakhak Hoeji* 27, 155 (1983).
6. N.D. Kim and J.O. Rhim, *Yakhak Hoeji*
7. B.Y. Sung and N.D. Kim, *Arch. Pharm. Res.* 6, 69 (1983).
8. S. Ringer, *J. Physiol.* 4, 29 (1982).
9. R. Niedergerke, *J. Physiol.* 167, 551 (1963).
10. A. Grossman and R.F. Furchgott, *J. Pharmacol.* 145, 162 (1964).
11. G.A. Langer and J.S. Frank, *J. Cell. Biol.* 54, 44 (1972).
12. S. Winegrad, *J. Gen. Physiol.* 58, 71 (1971).
13. A.M. Katz, *Physiol. Rev.* 50, 63 (1970).
14. R. Niedergerke, *J. Physiol.* 134, 569 (1956).
15. A. Fabiato and F. Fabiato, *J. Physiol.* (London) 249, 469 (1975).
16. H. Affolter, M. Chiesi, R. Dabrowaska and E. Carafoli, *Eur. J. Biochem.* 67, 389 (1976).
17. N.S. Dhalla, P.V. Sulakhe, M. Fedelesova and J.C. Yates, *Advances in cardiology.* Vol. 13, Karger, Basel, pp. 282-300 (1974).
18. G.A. Langer, *Fed. Proc. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 35, 1274 (1976).
19. G. Gergely, *Fed. Proc. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 35, 1283 (1976).
20. A. Schwartz, *Fed. Proc. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 35, 1279 (1976).
21. N.S. Dhalla, A. Ziegelhoffer and J.A.C. Harrow, *Can. J. Pharmacol.* 55, 1211 (1977).
22. K.S. Lee and W. Klaus, *Pharmacol. Rev.* 23, 193 (1971).
23. S. Winegrad and A.H. Shanges, *J. Gen. Physiol.* 45, 371 (1962).
24. S.D. Ong and L.E. Bailey, *Experientia*, 8, 1446 (1972).
25. G.A. Langer, *Physiol. Rev.* 48, 708 (1968).
26. A. Fabiato and F. Fabiato, *J. Physiol. London.* 249, 469 (1975).