

学位申請論文

ラット梗塞心におけるノルエピネフリンの 左室血行動態に及ぼす影響

獨協医科大学 内科学 (心血管・肺内科)

小田 和彦

要 旨 梗塞心におけるノルエピネフリンの血行動態に及ぼす影響を明らかにするために、Wistar系成熟雄性ラット (n = 18) を用い検討した。左冠状動脈前下行枝を結紮し、10-13週間後に、梗塞群と非梗塞 (sham-ope) 群に、ノルエピネフリン 40 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{分}$ を20分間投与した。梗塞群の梗塞サイズは $29.8 \pm 13.4\%$ であった。非梗塞群、梗塞群で、左室収縮期圧と最大陽性 dP/dt がともに有意に増加した。しかし、梗塞群ではノルエピネフリン投与後、左室拡張期最小圧 ($p < 0.005$) および左室拡張末期圧 ($p < 0.005$) が有意に上昇し、最大陰性 dP/dt が有意に低下した ($p < 0.05$)。非梗塞群ではこれらのパラメーターの有意な変化を認めなかった。梗塞サイズと左室拡張末期圧との関係は有意な正の相関関係を示した ($R^2 = 0.764$, $p < 0.005$)。イソプロテレノール 0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{分}$ を20分間投与した梗塞群 (梗塞サイズ, $31.3 \pm 5.1\%$) では左室拡張末期圧および左室拡張期最小圧の上昇を認めなかった。これらの結果から、梗塞心においてノルエピネフリンは左室拡張障害を起こすこと、その作用機転として、 β アドレナリン受容体刺激作用より α アドレナリン受容体刺激作用が関与している可能性が示唆された。

Key Words : 心筋梗塞, 左室拡張障害, ノルエピネフリン, α アドレナリン受容体刺激

緒 言

心不全患者では血中ノルエピネフリン値が高いほど、生命予後が悪いことが指摘されている¹⁾。また、血中ノルエピネフリン濃度は、左室機能障害患者において、最も重要な予後規定因子であると報告されている²⁾。心不全患者における血中ノルエピネフリン濃度の上昇は全身の交感神経系の亢進状態を反映していると考えられているが、何故、ノルエピネフリンが心不全患者の予後を規定しているのかは不明である。ノルエピネフリンは α および β アドレナリン受容体刺激作用を有し、 α アドレナリン受容体刺激作用は主として血管平滑筋を収縮させ、 β アドレナリン受容体刺激作用は心筋収縮を増強させる。しかしながら、ノルエピネフリンが心不全に対してどのように影響を及ぼすのか、殆んどわかっていない。

最近、我々は、ラットを用いてカルシウム負荷下でノ

ルエピネフリンを投与すると著しい拡張障害が起こり、拡張期に大動脈弁が開放することを報告した³⁾。

狭心症や実験的虚血心筋の拡張期拘縮の原因として、細胞内カルシウムの増加が関係していることが報告されている^{4,5)}。虚血心筋における細胞内カルシウムの蓄積は、細胞内カルシウム流入の増加、拡張期の筋小胞体への Ca^{2+} 再摂取 (calcium reuptake) の低下、 $\text{Na}^+-\text{Ca}^{2+}$ 交換の低下などによると考えられている⁶⁾。虚血心で拡張期拘縮を起こすことは、慢性期の梗塞心においても、ノルエピネフリンにより、左室拡張障害を起こすことが推定される。本研究は、ラットを用い心筋梗塞を作成し、慢性期の梗塞心に対するノルエピネフリンの左室血行動態、拡張機能に及ぼす影響を検討した。また β アドレナリン受容体刺激作用を有するイソプロテレノールを投与し、比較検討した。

方 法

1. 実験プロトコール

8-9週の雄性ラット (体重260-310 g) を用いた。実験は獨協医科大学の動物実験倫理規定に基づき、本学実験動物委員会の許可を得て行った。ラットは購入後、飼

平成18年10月31日受付, 平成18年12月5日受理

別刷請求先: 小田和彦

〒321-0293 栃木県下都賀郡壬生町北小林880
獨協医科大学 内科学 (心血管・肺内科)

料と水が自由に摂取できる環境下で1週間、飼育し実験を行った。

動物は、4%イソフルラン（メルク社）を吸入麻酔後、ポリエチレンチューブ（SP102, Natsume社）を用いて挿管し、人工呼吸器（SN-480-7, シナノ社）を用い、1.7%イソフルランの吸入麻酔下で呼吸管理（60回/分、1回換気量2 ml）した。前胸部を剃毛し、左第3肋間で開胸し、心嚢膜を切開した。動物を梗塞群と非梗塞（sham-ope）群に分け、梗塞群は左冠動脈前下行枝を絹糸（6.0, Ethicon）で完全結紮後、閉胸した。非梗塞群は上記と同じ方法で開胸し、左冠動脈前下行枝に糸をかける操作のみとし、結紮せずに閉胸した。両群とも、気管内チューブを抜管し覚醒後、飼育室に戻した。その後、上記と同様の環境下で飼育し、経過中死亡した動物は除外し、本研究では10-13週間経過した18匹のラットを用いた。

各群のラットに対し、上記と同様に、麻酔し気管内挿管した。右総頸動脈から圧測定チップ付カテーテル（2F, SPC-320, ミラー社）を左室内に挿入した。また、各種溶液を注入するため、右大腿静脈から試験薬注入用ポリエチレンチューブ（SP10）を挿入し、持続注入器（CFV-3200, 日本光電社）を設置した。心電図（MC9800, フクダ電子社）は四肢に電極を装着し、生体アンプ（P55, GRASS Inc.）で第2誘導をモニターした。10分間の血行動態の安定化を図った後、非梗塞群（n = 4）、梗塞群（n = 6）にノルエピネフリン（Sigma）を40 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{分}$ で20分間注入した。また、別に非梗塞群（n = 4）と梗塞群（n = 4）に対して β アドレナリン受容体刺激薬イソプロテレノール（Sigma）を0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{分}$ で20分間注入した。各群でノルエピネフリンまたはイソプロテレノール投与前及び20分投与後の心拍数、左室収縮期圧、左室拡張末期圧、左室拡張期最小圧を測定し、左室圧一次微分の最大陽性dP/dt（+dP/dt）、左室圧一次微分の最大陰性dP/dt（-dP/dt）を算出した。左室拡張末期圧の測定は左室等容収縮期の開始時で、この点が特定できない場合は心電図のR波に一致する圧とした⁷⁾。ノルエピネフリンおよびイソプロテレノールは5%ブドウ糖に溶解し、注入速度は17 $\mu\text{l}/\text{分}$ とした。イソプロテレノール投与群も同様に測定、解析した。実験終了後、屠殺し心臓を摘出した。

2. 組織標本の作成と心筋梗塞サイズの測定

摘出した心臓を脂肪や結合組織などを除去後、10%ホルマリン溶液に2昼夜で固定後、心中央部で横断し、パラフィン包埋後、厚さ6 μm の切片を作成し、型のごとく脱水脱脂し、ヘマトキシリンエオシンとマッソントリクロム染色を行った。

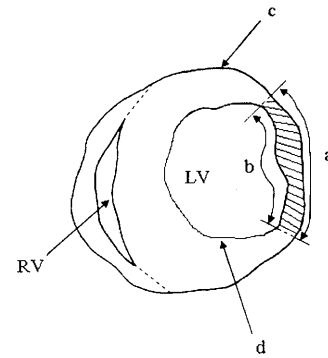


図1 心臓横断面の模式図。斜線は梗塞領域を示す。

LV：左心室、RV：右心室、a. 心筋梗塞外周囲径、b. 心筋梗塞内周囲径、c. 左心室外周囲径、d. 左心室内周囲径。心筋梗塞サイズ（%）= $\{(a + b)/2\} / \{(c + d)/2\} \times 100$

左室中央部の横断切片をコンピューターに取り込み、心筋梗塞の大きさ（梗塞サイズ：%）をSandmannらの方法⁸⁾をもとに求めた（図1）：

心筋梗塞サイズ（%）= $\{(\text{梗塞外周囲径} + \text{梗塞内周囲径}) \div 2\} \div \{(\text{左室外周囲径} + \text{左室内周囲径}) \div 2\} \times 100$

3. 統計解析

測定値は平均値 \pm 標準偏差で示した。各指標の群間比較はpaired *t*-testおよびunpaired *t*-testで行い、危険率5%未満を有意差ありとした。

結 果

非梗塞群、梗塞群における体重、心重量、体重に対する心重量比は表1のごとくで両群間に有意差はなかった。梗塞群の梗塞サイズは29.8 \pm 13.4%であった。ノルエピネフリン投与前の血行動態では、両群間で左室収縮期圧、左室拡張期最小圧、左室拡張末期圧、+dP/dtに有意差はなかったが、心拍数、-dP/dtは梗塞群が有意に低値であった（表2）。

心拍数は非梗塞群、梗塞群でノルエピネフリン投与により有意な変化を認めなかった（図2）が、左室収縮期圧はノルエピネフリンにより有意に増加した（図3）。左室拡張期最小圧は梗塞群でノルエピネフリン投与前7.4 \pm 3.0 mmHg、投与後20.9 \pm 7.7 mmHgで有意に上昇した（ $p < 0.005$, 図4）。左室拡張末期圧は非梗塞群では上昇しなかったが、梗塞群で投与前8.1 \pm 3.1 mmHgから投与後23.2 \pm 7.8 mmHgと有意に上昇した（ $p < 0.005$, 図5）。+dP/dtは非梗塞群、梗塞群ともに有意に増加した（図6）が、-dP/dtは非梗塞群では有意差はなかったが、梗塞群で有意に低下した（ $p < 0.05$, 図7）。非梗塞群および梗塞群のノルエピネフリン投与前後の左

表1 ノルエピネフリン投与群の体重, 心重量および梗塞サイズ

	非梗塞群 (n = 4)	梗塞群 (n = 6)	p 値
体重 (g)	518 ± 48.1	512 ± 34.6	ns
心重量 (g)	1.4 ± 0.1	1.5 ± 0.2	ns
心重量/体重 (mg/g)	2.7 ± 0.2	2.8 ± 0.3	ns
梗塞サイズ (%)	0	29.8 ± 13.4	

ns ; 有意差なし

表2 ノルエピネフリン投与前の非梗塞群および梗塞群の血行動態

	非梗塞群 (n = 4)	梗塞群 (n = 6)	p 値
心拍数 (心拍/分)	413.9 ± 45.9	345.0 ± 42.4	<0.05
左室収縮期圧 (mmHg)	121.6 ± 14.3	113.6 ± 11.8	ns
左室拡張期最小圧 (mmHg)	3.3 ± 2.6	7.4 ± 3.0	ns
左室拡張末期圧 (mmHg)	4.7 ± 1.7	8.1 ± 3.1	ns
+ dP/dt	10978 ± 4673	5819 ± 1368	ns
- dP/dt	8463 ± 842	5293 ± 1316	<0.005

ns ; 有意差なし

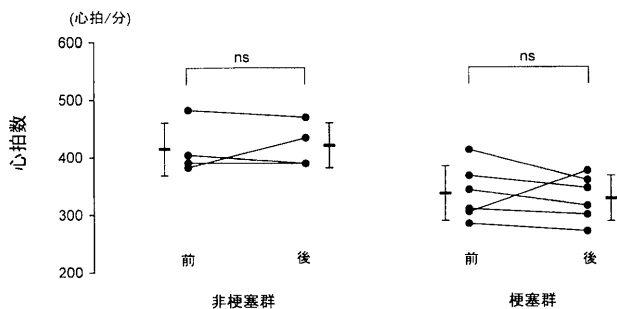


図2 ノルエピネフリン投与前後の非梗塞群, 梗塞群の心拍数. ns ; 有意差なし.

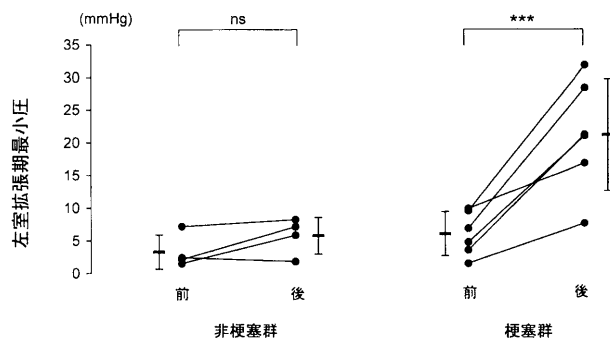


図4 ノルエピネフリン投与前後の非梗塞群, 梗塞群の左室拡張期最小圧. ns ; 有意差なし, *** ; p < 0.005.

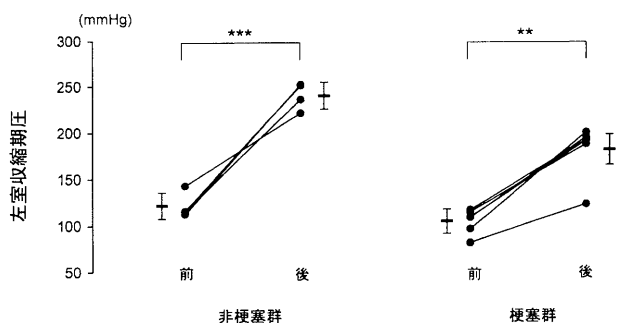


図3 ノルエピネフリン投与前後の非梗塞群, 梗塞群の左室収縮期圧. ** ; p < 0.01, *** ; p < 0.005.

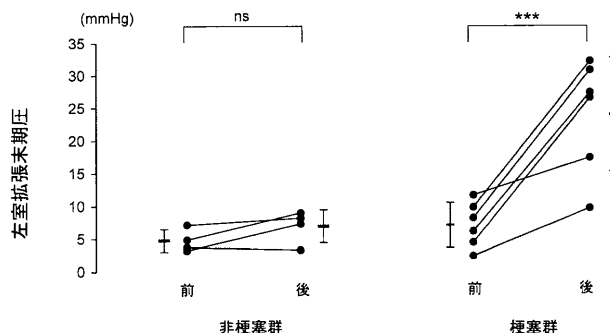


図5 ノルエピネフリン投与前後の非梗塞群, 梗塞群の左室拡張末期圧. ns ; 有意差なし, *** ; p < 0.005.

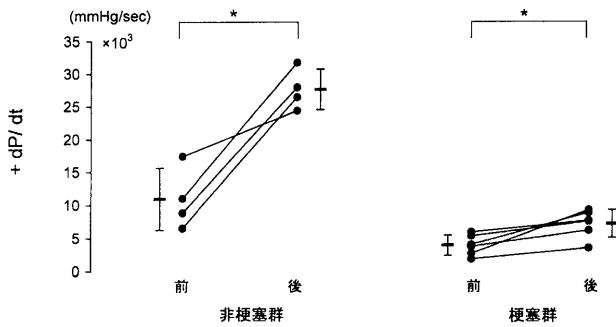


図6 ノルエピネフリン投与前後の非梗塞群、梗塞群の +dP/dt. * : $p < 0.05$.

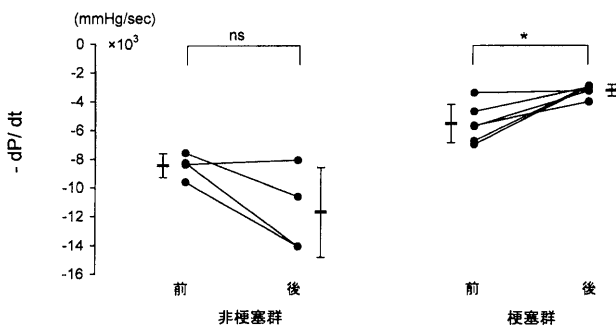


図7 ノルエピネフリン投与前後の非梗塞群、梗塞群の -dP/dt. ns : 有意差なし, * : $p < 0.05$.

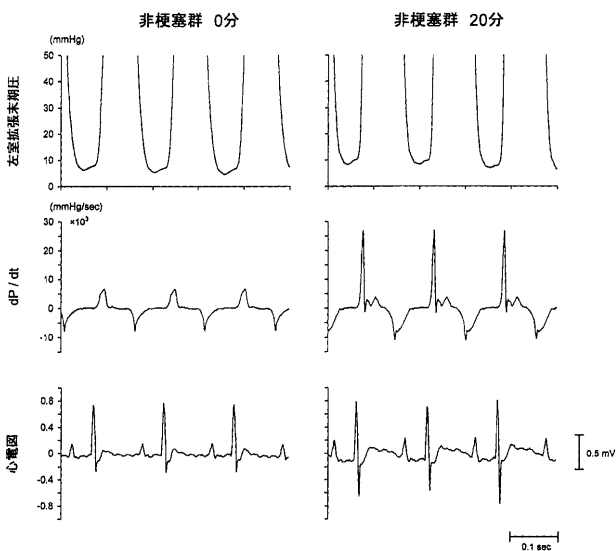


図8 非梗塞群におけるノルエピネフリン投与前後の左室内圧曲線, dP/dt, 心電図.

室圧曲線, dP/dt, 心電図を図8と9に示す.

ノルエピネフリン投与前では梗塞サイズと左室拡張末期圧には有意の相関を認めなかったが, ノルエピネフリン投与後, 梗塞サイズと左室拡張末期圧は有意の正の相関を示した ($R^2 = 0.764$, $p < 0.005$, 図10).

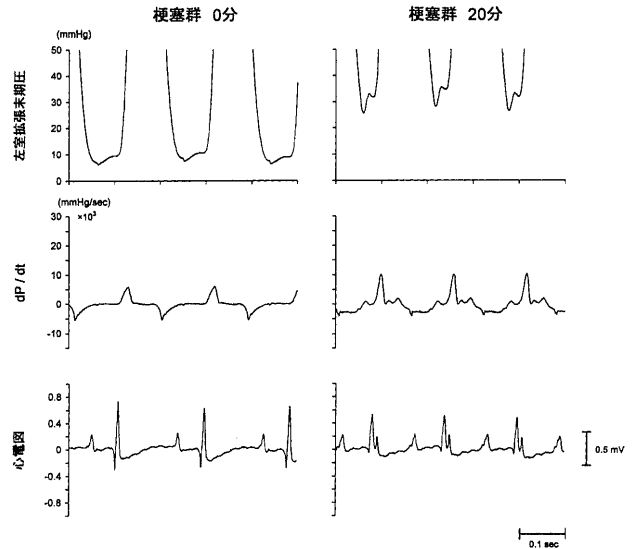


図9 梗塞群におけるノルエピネフリン投与前後の左室内圧曲線, dP/dt, 心電図.

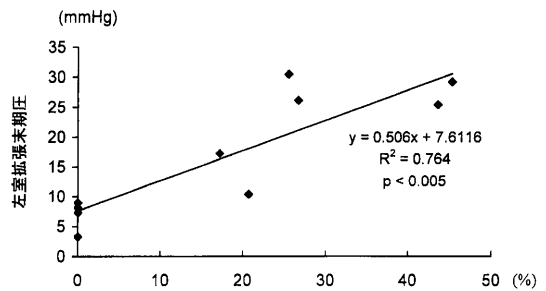
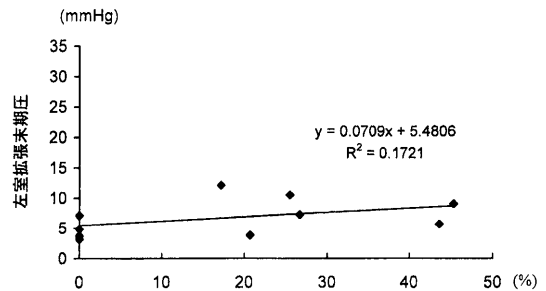


図10 ノルエピネフリン投与群における左室拡張末期圧と梗塞サイズの関係.

ノルエピネフリン投与前は左室拡張末期圧と梗塞サイズに相関を認めなかったが, 投与後, 両者に正の相関を認めた.

上段: ノルエピネフリン投与前, 下段: ノルエピネフリン投与後.

イソプロテレノール投与群はノルエピネフリン投与群と同様に非梗塞群, 梗塞群の体重, 心重量, 体重に対する心重量比で両群間に有意差はなく, 梗塞サイズは $31.3 \pm 5.1\%$ であった (表3). 左室拡張末期圧はイソプロテレノール投与前後で有意差を認めず (図11), その他の

表3 イソプロテレノール投与群の体重, 心重量および梗塞サイズ

	非梗塞群 (n = 4)	梗塞群 (n = 4)	p 値
体重 (g)	489 ± 45	584 ± 67	ns
心重量 (g)	1.3 ± 0.2	1.5 ± 0.1	ns
心重量/体重 (mg/g)	2.7 ± 0.2	2.6 ± 0.1	ns
梗塞サイズ (%)	0	31.3 ± 5.1	

ns: 有意差なし

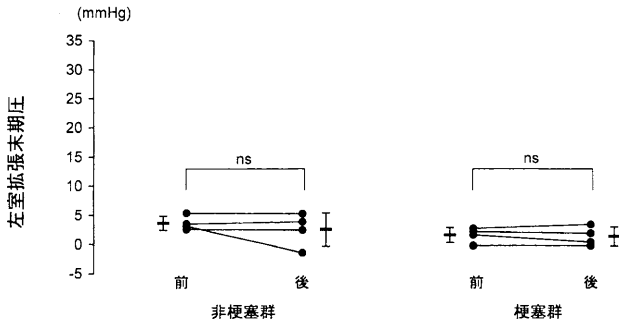


図11 イソプロテレノール投与後の非梗塞群, 梗塞群の左室拡張末期圧.
ns: 有意差なし.

血行動態パラメーターも, イソプロテレノール投与前後で有意差を認めなかった. また, イソプロテレノール投与前後で, 梗塞サイズと左室拡張末期圧との間に相関を認めなかった (図12).

考 察

心不全の予後が血中ノルエピネフリン濃度と密接に関連していることはこれまでも報告されてきた. 1984年, Cohnらは, 急性左心不全のNYHA機能分類Ⅲ~Ⅳ度の患者において, 血中ノルエピネフリン濃度が800 pg/ml以上の患者では予後が不良であると報告した¹⁾. また, 1996年, Benedictらは左室機能障害駆出率35%以下の無症状の患者において, ノルエピネフリンが393 pg/ml以上の患者では, それより低い濃度の患者に比べ, 全死亡率, 心血管死亡率, 心不全による入院率, 発生率, 虚血性心疾患イベント率のいずれも有意に高く, 独立した予後規定因子であると述べている²⁾. しかしながら, ノルエピネフリンと心不全との因果関係はこれまで不明であった.

最近我々は, ラットを用いCa²⁺負荷がない場合にノルエピネフリン単独では拡張障害を起こさないが, Ca²⁺負荷下でノルエピネフリンを投与すると, 拡張期に大動脈弁が開放する高度の拡張障害を起こすことを報告した³⁾. 本研究では, ラットに心筋梗塞を作成し慢性期において, ノルエピネフリンを投与すると拡張障害が起こるか否か

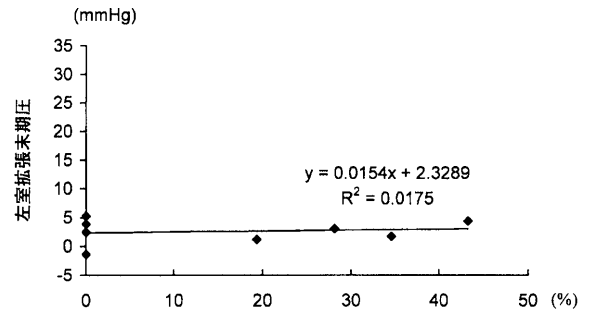
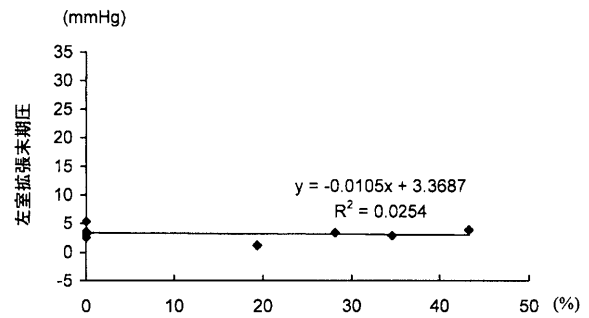


図12 イソプロテレノール投与群における左室拡張末期圧と梗塞サイズの関係.
イソプロテレノール投与前後において, 左室拡張末期圧と梗塞サイズに相関を認めなかった.
上段: イソプロテレノール投与前, 下段: イソプロテレノール投与後.

を調べた. その結果, 収縮機能を反映する+dP/dtは増加したが, 左室拡張末期圧, 左室拡張期最小圧は上昇し, -dP/dtが低下することが明らかとなった.

今日, 心不全は収縮不全と拡張不全に分けられて, 病態や予後が論じられるようになってきた⁹⁾. 拡張不全は左室駆出率が保たれているにもかかわらず心不全が見られるもので, 臨床的には高血圧, 心肥大, 高齢者に多くみられる^{10,11)}. 全心不全患者の1/3~1/2に認められ, 収縮不全患者と拡張不全患者の死亡率はほぼ等しいことが報告されている¹²⁾.

心臓は収縮期と拡張期を一定間隔で繰り返す心周期を有する. 収縮期は僧帽弁閉鎖から大動脈弁閉鎖まで, 拡張期は大動脈弁閉鎖から僧帽弁閉鎖まで, さらに, 拡張期は大動脈弁の閉鎖から僧帽弁の開放までの等容弛緩

期, 早期血液流入期, 緩徐血液流入期, 心房収縮による血液流入期の4相に分けられる。-dP/dtは必ずしも弛緩障害を反映していないが, 左室拡張期最小圧や左室拡張末期圧の上昇は, ノルエピネフリンにより拡張障害が起こることを示す。虚血心では拡張期の細胞内Ca²⁺が増加しており, 狭心症の患者における拡張期圧の増加に左室の拡張性 (distensibility) と弾力性 (compliance) の減少が関与していると報告されている¹³⁾。また, 心筋梗塞後, 心臓は機械的因子や神経ホルモン因子により心筋の大きさ, 形, 機能が変化する心筋リモデリングが起こる¹⁴⁾。心筋リモデリングは梗塞サイズが大梗塞におこり, 4~30%の小, 中梗塞においては心機能に変化はないと報告されている¹⁵⁾。本研究における梗塞サイズは平均値29.8%で小, 中梗塞に該当するが, ノルエピネフリン投与により有意に左室拡張末期圧が増加し, また, 梗塞サイズと左室拡張末期圧との間には正の相関を示した。

なぜ, 虚血心にノルエピネフリンを投与すると左室拡張障害を起こすのであろうか。拡張期の心筋拘縮と細胞内カルシウムとの因果関係はまだ充分にはわかっていない。虚血による心筋拘縮と細胞内カルシウムの増加とは明らかな乖離があるとする報告がある。Eberliらは実験的に虚血性の拡張障害を作成し, Ca²⁺を冠動脈内に投与した場合, 拡張期Ca²⁺濃度は増加しても, 拡張末期圧は増加しなかったと報告している¹⁶⁾。

最近, 心不全では, β アドレナリン受容体刺激を介したリン酸化により, 心筋細胞内の筋小胞体リアノジン受容体とFK506結合蛋白 (FKBP) との結合の不安定化が起こり, 拡張期筋小胞体のCa²⁺再摂取の低下により細胞内Ca²⁺の増加が起こっていることが報告された¹⁷⁾。今回の実験では, イソプロテレノールによる β アドレナリン受容体刺激では, 左室機能は悪化せず, β と α アドレナリン受容体刺激作用も有するノルエピネフリンが左室拡張機能を悪化させることがわかった。本研究ではラットのノルエピネフリン血中濃度を測定していないため, ノルエピネフリンが濃度依存的に左室拡張障害が起こすのか否かは今後, 検討が必要である。

ノルエピネフリンのもつ α 刺激はprotein kinase C (PKC) を介し, また, β 刺激はprotein kinase A (PKA) を介し, 心筋細胞内カルシウム濃度を制御している¹⁸⁾。 α , β 刺激はいずれも, 心筋収縮調節タンパク質, トロポニンIのリン酸化を制御しており, 特にトロポニンIは, アクチン, トロポミオシンと複合体を作り, 心筋の収縮, 弛緩と密接に関わっていることが報告されている¹⁹⁾。今後, α 刺激による筋収縮調節蛋白質と拡張障害発生との関連が重要と思われる, 今後更なる検討が必要と

考えられた。

結 論

1. 梗塞心におけるノルエピネフリンの血行動態に及ぼす影響を明らかにするために, Wistar系成熟雄性ラット (n=18) を用い, 10-13週間後, 梗塞群 (左冠状動脈前下行枝結紮) と非梗塞群 (sham-ope) に, ノルエピネフリン40 μ g/kg/分を20分間投与した。
2. 非梗塞群, 梗塞群 (梗塞サイズ, 29.8 \pm 13.4%) で, 左室収縮期圧と最大陽性dP/dtがともに有意に増加した。しかし, 梗塞群ではノルエピネフリン投与後, 左室拡張期最小圧 (p<0.005) と左室拡張末期圧 (p<0.005) が有意に上昇し, 最大陰性dP/dtが有意に低下した (p<0.05)。非梗塞群ではこれらのパラメーターの有意な変化を認めなかった。梗塞サイズと左室拡張末期圧との関係は有意な正の相関関係を示した (R²=0.764, p<0.005)。
3. イソプロテレノール0.1 μ g/kg/分を20分間投与した梗塞群 (梗塞サイズ, 31.3 \pm 5.1%) では左室拡張末期圧と左室拡張期最小圧の上昇を認めなかった。
4. これらの結果から, 梗塞心においてノルエピネフリンは左室拡張障害を起こすこと, その作用機転として, β アドレナリン受容体刺激作用より α アドレナリン受容体刺激作用が関与している可能性が示唆された。

謝 辞 稿を終えるにあたり, ご協力いただいた臨床共同研究員, 篠崎誠氏, 浅石理恵氏, 教室員の皆様, またご助言を賜りました金子昇教授に深謝いたします。

文 献

- 1) Cohn JN, Levine TB, Olivari MT, et al : Plasma norepinephrine as a guide to prognosis in patients with chronic congestive heart failure. *N Engl J Med*, **311** : 819-823, 1984.
- 2) Benedict CR, Shelton B, Johnstone DE, et al : Prognostic significance of plasma norepinephrine in patients with asymptomatic left ventricular dysfunction. *Circulation*, **94** : 690-697, 1996.
- 3) Kaneko N, Matsuda R, Nakajima T, et al : Norepinephrine-induced diastolic dysfunction with aortic valve opening under calcium-loading in rats. *Drug Dev Res*, **67** : 511-518, 2006.
- 4) Mohabir R, Lee H-C, Kurz RW, Clusin W. : Effects of ischemia and hypercarbic acidosis on myocyte calcium transients, contraction, and pH_i in perfused rabbit

- hearts. *Circ Res*, **69** : 1523-1537, 1991.
- 5) Meissner A, Morgan JP. : Contractile dysfunction and abnormal Ca^{2+} modulation during postischemic reperfusion in rat heart. *Am J Physiol*, **268**(Heart Circ Physiol 37) : H100-111, 1995.
 - 6) Morgan JP, Erny RE, Allen PD, et al : Abnormal intracellular calcium handling, a major cause of systolic and diastolic dysfunction in ventricular myocardium from patients with heart failure. *Circulation* **81**(suppl III) : III-21-III-32, 1990.
 - 7) Davidson CJ, Bonow RO. : Cardiac Catheterization. In "Braunwald's Heart Disease. A Textbook of Cardiovascular Medicine" 7th ed. by Zipes DP, Libby P, Bonow RO, Braunwald E. Elsevier Inc., Philadelphia, PA, pp409, 2005.
 - 8) Sandmann S, Claas R, Cleutjens JPM, et al : Calcium channel blockade limits cardiac remodeling and improves cardiac function in myocardial infarction-induced heart failure in rats. *J Cardiovasc Pharmacol*, **37** : 64-77, 2001.
 - 9) Redfield MM, Jacobsen SJ, Burnett JC, et al : Burden of systolic and diastolic ventricular dysfunction in the community. Appreciating the scope of the heart failure epidemic. *JAMA*, **289** : 194-202, 2003.
 - 10) Gandhi SK, Powers JC, Nomeir A-M, et al : The pathogenesis of acute pulmonary edema associated with hypertension. *N Engl J Med*, **344** : 17-22, 2001.
 - 11) Aronow WS. : Left ventricular diastolic heart failure with normal left ventricular systolic function in older persons. *J Lab Clin Med*, **137** : 316-323, 2001.
 - 12) Owan TE, Hodge DO, Herges RM, et al : Trends in prevalence and outcome of heart failure with preserved ejection fraction. *N Engl J Med*, **355** : 251-259, 2006.
 - 13) Apstein CS, Grossman W. : Opposite initial effects of supply and demand ischemia on left ventricular diastolic compliance : The ischemic-diastolic paradox. *J Moll Cell Cardiol*, **19** : 119-128, 1987.
 - 14) Sutton MGJ, Sharpe N. : Left ventricular remodeling after myocardial infarction. Pathophysiology and therapy. *Circulation*, **101** : 2981-2988, 2000.
 - 15) Pfeffer MA, Pfeffer JM, Fishbein MC, et al : Myocardial infarct size and ventricular function in rats. *Circ Res*, **44** : 503-512, 1979.
 - 16) Eberli FR, Stro mer H, Ferrell MA, et al : Lack of direct role for calcium in ischemic diastolic dysfunction in isolated hearts. *Circulation*, **102** : 2643-2649, 2000.
 - 17) Wehrens XHT, Marks AR. : Novel therapeutic approaches for heart failure by normalizing calcium cycling. *Nat Rev Drug Discov*, **3** : 565-573, 2004.
 - 18) Bers DM. : Cardiac inotropy and Ca mismanagement. In "Excitation-Contraction Coupling and Cardiac Contractile Force" 2nd ed. by Bers DM. Kluwer Academic Pub., Dordrecht, Neth., pp275-285, 2001.
 - 19) Opie LH, Solaro RJ. : Myocardial contraction and relaxation. In "Heart Physiology. From Cell to Circulation" 4th ed. by Opie LH. Lippincott Williams Wilkins, Philadelphia, PA, pp221-246, 2004.