

Dalton Valentim Vassallo *
 José Geraldo Mill **
 Antonio Louro Costa ***

CONTRAÇÃO CARDÍACA. I. BASES ULTRA-ESTRUTURAIS E ACOPLAMENTO EXCITAÇÃO-CONTRAÇÃO

BASES ULTRA-ESTRUTURAIS DA CONTRAÇÃO CARDÍACA

Para compreender adequadamente a contração cardíaca é necessário conhecer as estruturas básicas da célula miocárdica que participam mais diretamente da contração: o sistema tubular transverso e longitudinal, as mitocôndrias e os sarcômeros.

Sistema tubular - É formado por 2 componentes: o retículo longitudinal ou retículo sarcoplasmático (RS) e o retículo transverso ou sistema T.

O RS apresenta disposição longitudinal por entre as miofibrilas, dando origem às vesículas das tríades a nível da linha ou disco Z (fig. 1). Sua função tem sido definida como a de sequestrar cálcio, bombeando-o ativamente para o seu interior, reduzindo a concentração de cálcio mioplasmático. Desta forma é capaz de promover o relaxamento de uma contração. Também tem sido descrita sua participação no processo de ativação, posto que, o cálcio fixado ativamente pelo RS durante o relaxamento, pode ser devolvido ao mioplasma: a) por estimulação elétrica^{2,3}, que penetraria via sistema tubular transverso durante a ocorrência do potencial de ação; b) por liberação Ca^{++} induzida pelo próprio Ca^{++} que atravessa a membrana durante a ativação celular. Nesse último caso, o cálcio que penetra na célula durante o platô do potencial de ação, induziria a liberação do cálcio armazenado no RS⁴.

O retículo transverso ou sistema T nasce como uma invaginação da membrana celular e penetra transversalmente na fibrocélula, na altura do disco Z. É, portanto, um sistema contínuo com o meio extracelular, ao contrário do RS, que é estritamente intracelular. A nível do disco Z, o sistema T dá origem à vesícula central da tríade (fig. 1). Seu papel poderia ser o de veicular um estímulo elétrico até o interior da

fibra, de modo que as oscilações elétricas do potencial transmembrana pudessem atuar sobre as vesículas laterais do RS, e então liberassem o Ca^{++} aí armazenado.

Sistema mitocondrial - As mitocôndrias são estruturas geradoras da energia utilizada pela célula. No músculo estriado, as mitocôndrias são de grande tamanho, evidenciando a importância do metabolismo aeróbico para o processo contrátil, já que, a nível mitocondrial, o ATP é gerado com consumo de O_2 . As mitocôndrias do miocárdio obtêm o ATP através da cadeia respiratória. Essa é alimentada pela oxidação de glicídeos e, principalmente, de ácidos graxos, via ciclo de Krebs. O ATP será usado pela ATPase miosínica, fornecendo energia para a contração, ou será armazenado sob a forma de fosfocreatina, por ação da enzima creatinofosfoquinase (CPK) (fig. 2). Mais recentemente, outro papel tem sido definido para as mitocôndrias, o de participar como elemento capaz de sequestrar Ca^{++} e também liberá-lo, mas com velocidade bastante menor que o do RS⁵.

Sarcômero - 1) **Estrutura** - A unidade contrátil do músculo é o sarcômero. Sua visualização ao microscópio óptico mostra que é formado, alternadamente, por bandas claras e escuras. Com a microscopia eletrônica, maior detalhamento é obtido e o sarcômero é descrito como formado pelas seguintes estruturas (fig. 3):

a) Banda I - Banda isotrópica clara, pois não desvia a luz polarizada. Formada por filamentos finos que se unem, na porção mediana da banda, onde ocorre a linha ou disco Z. Seu comprimento varia com o tamanho do sarcômero e também de acordo com a atividade, diminuindo durante a contração.

b) Banda A - Banda anisotrópica ou escura, pois desvia a luz polarizada. Formada por filamentos grossos. De cada lado da banda A os

Conferência proferida no curso "Contração Cardíaca", ministrado durante o XXXVII Congresso da Sociedade Brasileira de Cardiologia, sob o patrocínio do Departamento de Fisiologia Cardiovascular e Respiratória (Coordenador: Prof. Carlos A. M. Gottschal). Patrocinado pelo Departamento de Fisiologia Cardiovascular e Respiratória da Sociedade Brasileira de Cardiologia.

* Professor-Adjunto de Fisiologia da Universidade Federal do Espírito Santo. Doutor em Biofísica.

** Professor-Assistente de Fisiologia da UFES. Mestre em Biofísica.

*** Professor-Assistente de Cardiologia da UFES. Especialista em Cardiologia.

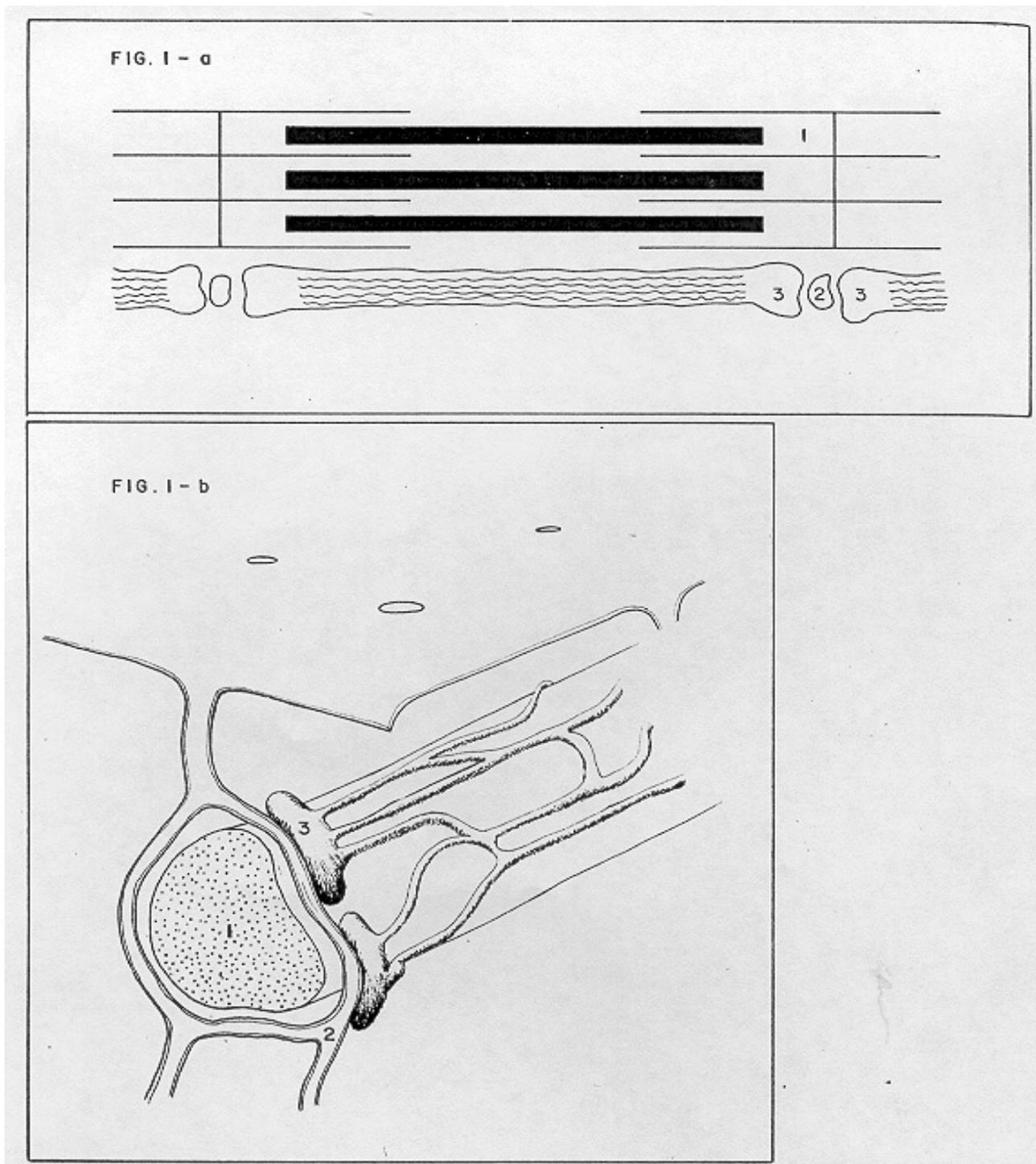


Fig. 1 - a - Corte longitudinal esquemático do sarcômero e sistemas tubulares; b - Aspecto tridimensional esquemático do sarcômero e sistemas tubulares. 1 - Sarcômero; 2 - túbulo transverso; 3 - retículo sarcoplasmático ou longitudinal.

filamentos grossos colocam-se por entre os filamentos finos gerando uma região mais escura devido à superposição dos filamentos. Na porção mediana os sarcômeros, em comprimento natural, apresentam uma região mais clara chamada de banda H (disco de Hensen), onde só existem filamentos grossos. A porção média dos filamentos grossos é geralmente espessada gerando uma linha mediana na banda A, denominada linha M. A banda A apresenta comprimento da ordem de $1,5\mu$. Atualmente

discute-se bastante se o seu comprimento varia durante a contração ou se é dependente do comprimento do sarcômero 6.

Os filamentos grossos e finos têm comprimento da ordem de $1,5\mu$ e $1,6\mu$, respectivamente. As teorias vigentes de contração muscular aceitam que o seu comprimento não varia durante a contração ou com o estiramento dos sarcômeros 7,8; recentemente, entretanto, dúvidas têm sido levantadas quanto a essa invariabilidade 6.

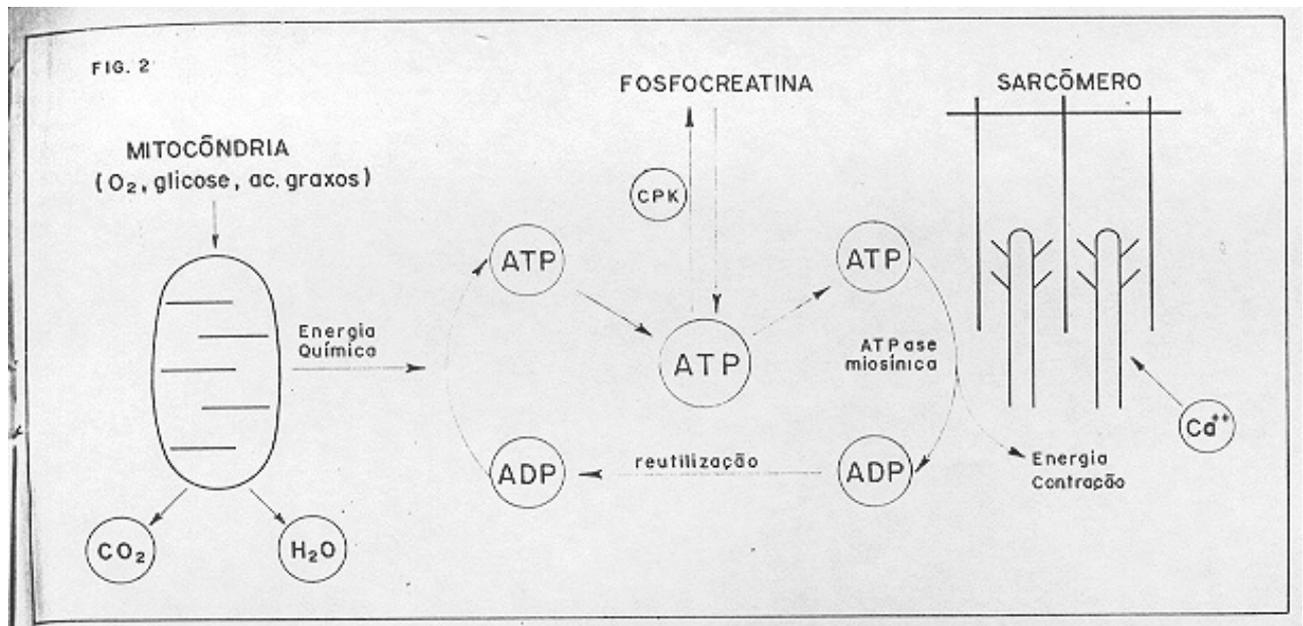


Fig. 2 - Esquema simplificado da obtenção de energia química para a contração.

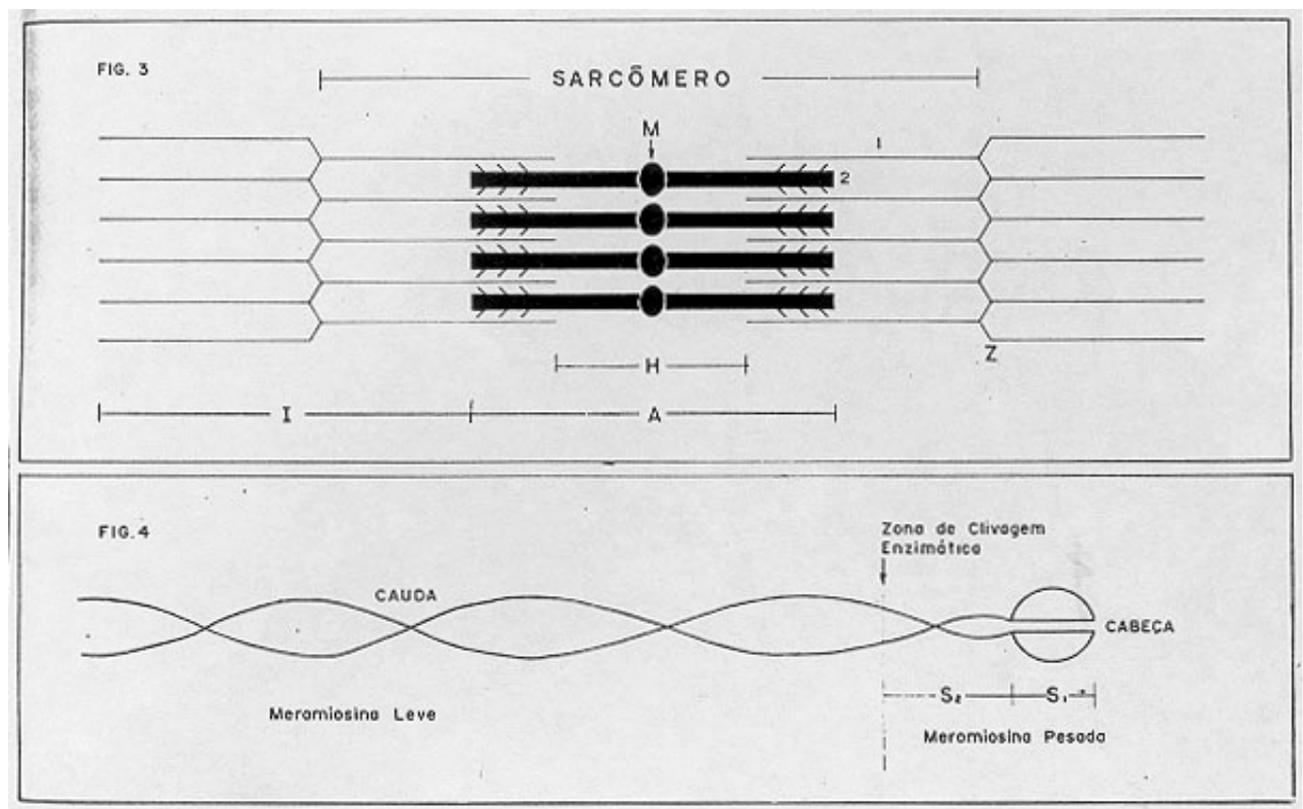


Fig. 3 - Esquema simplificado da estrutura do sarcômero. I - banda I; A - banda A; Z - disco ou banda Z; H - banda H; M - linha M; 1 - filamento fino (actina, tropomiosina e troponina); 2 - filamento grosso (miosina).

Fig. 4 - Estrutura esquemática da molécula de miosina.

A observação direta dos sarcômeros durante a contração permite verificar que eles diminuem de tamanho quando o músculo se encurta 9; isso se faz às expensas de um deslizamento dos filamentos finos 7. A banda I diminui de tamanho e as linhas Z aproximam-se. Esta é a base da teoria do deslizamento por H.E. Huxley em 1953. O fato de que existem projeções que se originam dos filamentos

grossos e que se projetam em direção aos filamentos finos, levou ao aparecimento de outra teoria que explicava o deslizamento devido à movimentação dessas projeções (teoria das pontes-AF. Huxley 1957).

2) **Composição química** - para melhor compreender essas interações, passemos à análise da composição dos diversos componentes dos sarcômeros.

a) Disco Z - Sua composição química tem sido descrita como formada por 3 proteínas, alfa actinina, tropomiosina e actina, constituindo uma rede em zigue-zague. Há indicações de co-polimerização entre a tropomiosina e actina, formando a estrutura filamentososa da linha Z. A alfa-actinina constituiria o material amorfo da linha Z influenciando as ligações entre a actina e tropomiosina 10.

b) Filamentos grossos - Sua unidade básica é a miosina, proteína com PM = 450.000, formada por duas cadeias entrelaçadas em alfa hélice e possuindo uma cabeça conforme o esquema da figura 4. Por hidrólise enzimática, essa molécula pode ser dividida em 2 porções: uma parte leve formada pela cauda (merosina leve), e uma parte pesada, formada pela cabeça (merosina pesada). A merosina pesada ainda pode ser subdividida em 2 subunidades, S1 e S2. A S1 constitui a parte da cabeça que tem atividade ATPásica (ATPase-miosínica). O filamento grosso é formado pela associação de diversas moléculas de miosina. As cabeças estão sempre localizadas nas extremidades (fig. 4) e projetam-se para fora do tronco do filamento. São essas cabeças que dão origem às projeções dos filamentos grossos, em direção aos filamentos finos.

c) Filamentos finos - São formados, principalmente, por 3 proteínas: actina, tropomiosina e troponina. A actina é uma proteína filamentososa formada por 2 cadeias fibrilares associadas em alfa hélice. A unidade básica da actina é a actina globular (G-actina) com PM = 47.000, que se polimeriza formando as cadeias fibrilares (F-actina).

Localizada entre as cadeias fibrilares vamos encontrar a tropomiosina (PM = 70.000) e a troponina (PM = 86.000).

A actina interage com a miosina através dos seus sítios ativos. Durante essa interação a ATPase miosínica é ativada hidrolizando a ATP, liberando a energia necessária à contração 11. A tropomiosina liga-se à actina bloqueando o sítio de interação com a miosina e, ao mesmo tempo, liga-se à troponina. Essa última possui 3 subunidades; a subunidade I, que se liga à tropomiosina provocando a inibição do sítio ativo da actina; a subunidade C, que tem grande afinidade pelo cálcio e a subunidade T, que se liga à tropomiosina quando o Ca está ligado a troponina, deslocando a tropomiosina do sítio ativo e deixando haver a interação actinmiosina 12.

O mecanismo contrátil poderia então ser descrito como sendo formado pelas seguintes etapas (fig. 5):

1 - Ca⁺⁺ penetra no mioplasma durante a ativação elétrica da fibra; 2 - Ca⁺⁺ liga-se à troponina e desloca a tropomiosina (fig. 5b); 3 - o deslocamento da tropomiosina libera os sítios ativos da actina; 4 - interação actinmiosina (fig. 5c). A ATPase miosínica é ativada, hidrolisa ATP e a energia liberada é usada para o deslocamento da ponte de miosina. O movimento associado de milhares de pontes actinmiosina resulta no encurtamento muscular; 5 - o Ca⁺⁺ mioplasmático sendo bombeado para o interior do retículo sarcoplasmático, dissocia-se da troponina (fig. 5d); 6 - a tropo-

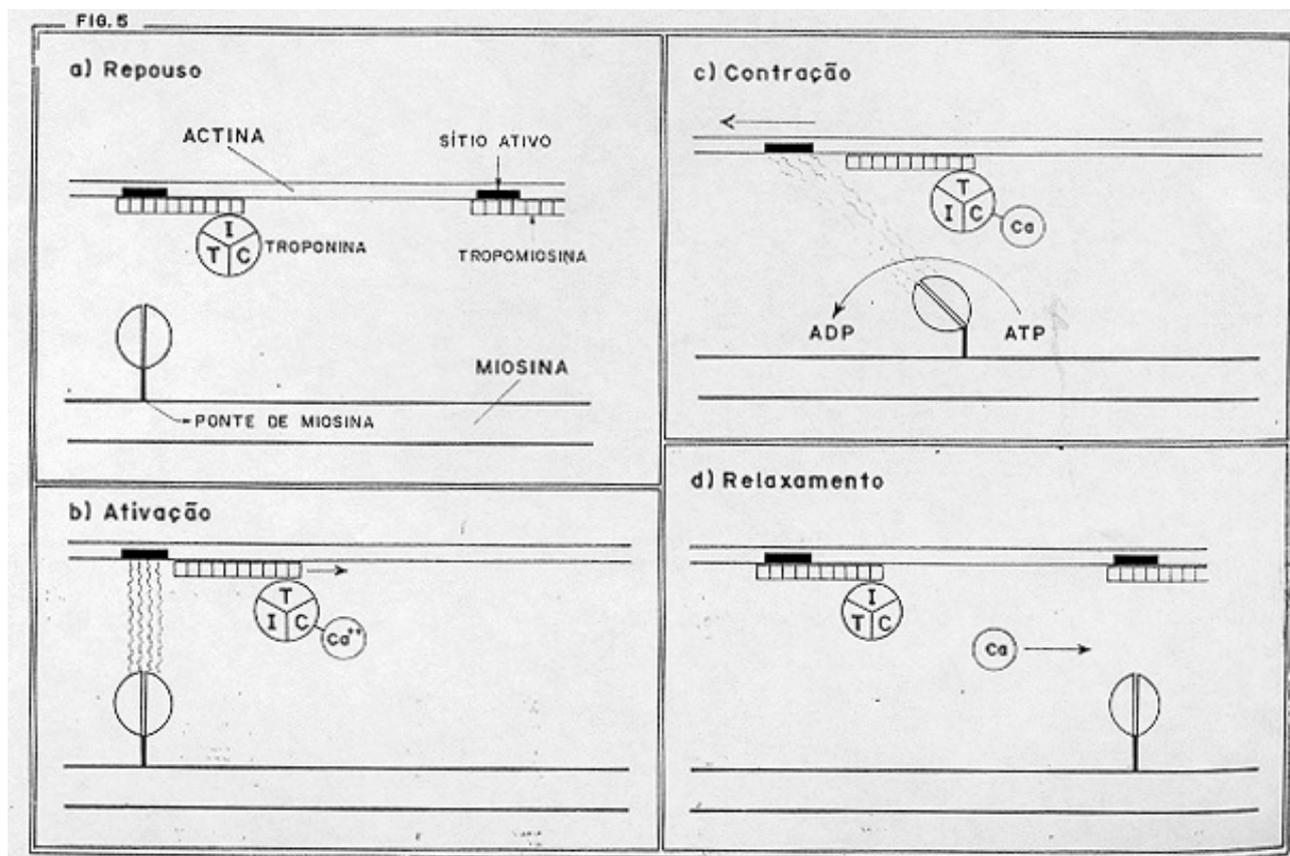


Fig. 5 - Esquema simplificado das diversas fases da contração. Observar os deslocamentos da tropomiosina e o reposicionamento da troponina durante as fases B e C; na fase C o movimento da ponte de miosina fazendo o deslizamento do filamento fino.

miosina retorna à sua posição original, inibindo novamente a interação actinmiosina.

d) Outras proteínas - Proteína C - Presente no filamento grosso. Seu papel provável seria o de promover, durante o estado de relaxamento, uma fraca ligação entre a actina e a miosina. Explicaria a força elástica residual dos sarcômeros e o baixo nível da “ativação de repouso” 13.

Conectina - Localização ainda não perfeitamente definida. Seria a proteína responsável pela elasticidade em paralelo do elemento contrátil 14.

Filamentos desmin - Filamentos citoplasmáticos com 100Å de comprimento e PM aproximadamente 50.000. Sua provável função seria estrutural, interligando os miofilamentos e a membrana celular ao nível da linha Z 15.

Beta actinina - Localizada junto aos filamentos de actina. Ao se ligar à extremidade do filamento fino, limita o seu crescimento.

Características importantes resultam desses dados; a relação entre a atividade da ATPase miosínica e a função miocárdica, e a relação entre o comprimento dos sarcômeros e a força contrátil desenvolvida (lei de Frank-Starling). Com relação à lei de Frank-Starling, observamos que à medida que o comprimento dos sarcômeros aumenta, a força desenvolvida também aumenta 16,17. Tal comprimento atinge valores ótimos para sarcômeros com 2,40µ a 2,45µ e a partir daí a força desenvolvida começa a decrescer. Uma das explicações para tal comportamento se prende ao fato de que, em pequenos estiramentos (sarcômeros menores que 1,65µ), os filamentos finos cruzam a porção média dos sarcômeros durante a contração e interferem com a formação das pontes entre actina e miosina, diminuindo a força desenvolvida. À medida que o comprimento dos sarcômeros se aproxima do valor ótimo a força aumenta, porque aumenta a região de superposição entre actina e miosina, favorecendo a formação de maior número de pontes. O estiramento excessivo desfaz essa superposição ideal e a força desenvolvida declina, caracterizando a região de insuficiência mecânica definida pela relação de Frank-Starling 7,16,18.

A relação entre a atividade enzimática das proteínas contráteis e a função miocárdica normal ou anormal é outro fato que se tem mostrado bastante interessante. Isso porque melhor conhecimento das inter-relações entre atividade bioquímica e mecânica do miocárdio permitirá uma manipulação mais eficaz de inúmeras condições anormais de funcionamento cardíaco.

Considerando que a atividade enzimática das proteínas contráteis se relaciona diretamente com o desempenho cardíaco, tem sido demonstrado que inúmeras situações de “performance” contrátil alterada estão associadas a alterações dessa atividade enzimática. Assim, o exercício físico e o hipertireoidismo aumentam a atividade ATPásica, enquanto que a inatividade física, a idade, a insuficiência aórtico-adrenal, a insuficiência cardíaca com hipertrofia por sobrecarga hemodinâmica e a insuficiência cardíaca espontânea, a diminuem.

ACOPLAMENTO EXCITAÇÃO-CONTRAÇÃO NO MIOCÁRDIO

No coração e em outros músculos, a atividade mecânica é precedida e disparada por um processo bioelétrico, o potencial de ação 2,19. Ao conjunto de mecanismos desencadeados pela atividade elétrica e que vão promover a contração, denominamos acoplamento excitação-contração (AEC). Como veremos a seguir, o cálcio exerce um papel central no processo de AEC. Dessa forma, a dinâmica da contração muscular poderá ser modulada por modificações da concentração do cálcio no mioplasma, ou ainda quando se interfere na cinética dos fluxos de cálcio através da membrana celular 20,24. Essas são as maneiras pelas quais se pode modificar, com drogas e outras intervenções, a contratilidade miocárdica.

O mecanismo de AEC inicia-se quando o potencial de ação excita uma fibra cardíaca promovendo o influxo de cálcio na célula. Isto se faz de 2 maneiras: a) aumentando a permeabilidade da membrana ao cálcio, durante o platô do potencial de ação 21; b) atuando via sistema transversal, estimulando a liberação de Ca++ pelas vesículas laterais da tríades (RS) 4. No coração, uma das funções do potencial de ação é injetar cálcio na fibra, aumentando a sua concentração no mioplasma. O cálcio irá atuar sobre a troponina e disparar o mecanismo de contração.

Interferindo sobre o mecanismo de AEC estaremos interferindo na contração via íon cálcio. O cálcio está compartimentalizado em uma série de sítios, dentro e fora da célula, em diferentes concentrações. As modificações dessas concentrações resultariam na modulação da atividade contrátil. É dessa maneira que atuam diversos medicamentos usados na clínica cardiológica.

Para facilidade de explanação, podemos considerar o cálcio distribuído nos seguintes compartimentos:

A. Ca++ externo - Líquido extracelular

↓↑

B. Ca++ ligado a sítios aniônicos (externos) da membrana (ligação com o mucopolissacarídeo que reveste o sarcolema)

↓↑

C. penetração na célula através da membrana

↔

D. cálcio mioplasmático ↔ cálcio sequestrado pelo RS

↔

proteínas contráteis.

F

É interessante lembrar que o cálcio mioplasmático é o ponto final de convergência do cálcio proveniente das outras localizações, e que daí ativa a maquinaria contrátil.

Passemos então a considerar as intervenções passíveis de serem realizadas na prática médica.

Compartimento A - Ca^{++} externo do líquido extracelular. Esse é o cálcio em solução, livre, e que pode ser aumentado por adição direta de Ca^{++} (gluconato de Ca^{++}) ou diminuindo por quelantes (EDTA).

O cálcio no compartimento A também pode estar aumentando em outras condições tais como uma dieta excessiva de leite, uso de substâncias alcalinas ou excesso de vitamina D, no hiperparatiroidismo, mieloma múltiplo, doença de Cushing, metástases ósseas, insuficiência supra-renal, tireotoxicose, doença de Paget, carcinomas, sarcoidose, doença de Hodgkin etc. O Ca^{++} poderia estar diminuindo no compartimento A no caso de hipoparatiroidismo, acidose crônica, transfusões sanguíneas maciças, nefropatias, pancreatite aguda, hipopotassemia, uremia, sprue, etc.

Compartimento B - Ca^{++} ligado à membrana. Este Ca^{++} está em equilíbrio com o Ca^{++} do compartimento A e é ele que primeiro penetra na célula após sua excitação 22.

Podemos diminuir sua quantidade aumentando Na^{+} extracelular (que compete com o Ca^{++} pelos sítios aniônicos), adicionando-se outros cátions ao meio extracelular, como o La^{3+} ou Co^{3+} , que deslocam o Ca^{++} dos sítios aniônicos da membrana 20, ou com o uso de verapamil, que parece diminuir a afinidade destes sítios pelo Ca^{++} , o que também ocorreria em situações de acidose 23.

Os digitálicos, ao contrário, parecem aumentar a quantidade de Ca^{++} ligado a esses sítios e assim garantir maior oferta de Ca para atravessar a membrana, durante a excitação celular 24, 25.

Compartimento C - Ca^{++} que penetra na membrana. Corresponde ao cálcio que penetra na célula durante a corrente lenta (canal lento) do potencial de ação cardíaco 2, 20.

As aminas simpatomiméticas aumentam a amplitude desta corrente lenta e conseqüentemente a quantidade de Ca^{++} mioplasmático 21.

Esta ação parece estar relacionada ao aumento do AMP cíclico 26. Por outro lado, a acetilcolina deprime a entrada de cálcio, diminuindo a corrente lenta 26. Ainda atuando diretamente para diminuir a corrente de cálcio temos as ações de íons como Mn^{++} e de drogas como o verapamil, D600, prenilamina, nifedipina, cloridrato de fendilina, maleato de perheixline. Fatores de atuação indireta e que diminuem esta corrente de Ca^{++} seriam representados pelos bloqueadores beta-adrenérgicos, que promovem uma diminuição da atividade contrátil do miocárdio, devido ao bloqueio da ação das catecolaminas, normalmente liberadas e atuantes sobre o miocárdio. Indiretamente, aumentando a corrente de Ca^{++} teríamos as xantinas (aminofilina), que bloqueiam a degradação do AMP cíclico, por inibição da fosfodiesterase 21.

Compartimento E - Ca^{++} ligado ao retículo sarcoplasmático. Aqui podemos interferir no processo contrátil aumentando ou diminuindo a capacidade de liberar o Ca^{++} armazenado nas vesículas do RS ou afetando

sua capacidade de captação de cálcio. Como exemplo dessas ações, temos:

Cafeína (xantina) - aumenta a liberação e diminui a captação de Ca^{++} porque bloqueia as fosfodiesterases, enzimas responsáveis pela degradação do AMP cíclico 21.

Propranolol - Bloqueia a captação de cálcio pelo RS. Essa ação ocorre com menor intensidade do que a de bloqueio dos receptores beta-adrenérgicos. Só é percebida em músculos depletados de catecolaminas 27.

Ca^{++} - aumenta a liberação de Ca^{++} (liberação de cálcio induzida).

Dantrolene (Dantrium) - inibe a liberação de Ca^{++} .

Quabaína - potencializa a liberação de Ca^{++} 25.

Estiramento - potencializa a liberação de cálcio 28.

Outros fatores são capazes de modular a atividade contrátil por mecanismos pouco conhecidos. Poderíamos congregá-los como capazes de influenciar a concentração de Ca^{++} mioplasmático o que, na realidade, os demais mecanismos também fazem, e desse modo explicar como modular a contração. Assim teríamos:

Frequência - Quando aumenta dentro de limites fisiológicos, aumenta a força de contração, aumentando o Ca^{++} mioplasmático.

Potenciação pós extra-sistólica - Mecanismo semelhante ao acima.

Estiramento - Muito embora aumente a força de contração, as medidas da concentração de cálcio mioplasmático com fotoprotéínas mostram que esse cálcio diminui com o estiramento 28.

Finalizando, consideramos como ponto central no estudo do acoplamento eletro-mecânico, o papel exercido pelo íon cálcio, já que as medidas terapêuticas intervirão sobre a sua distribuição.

REFERÊNCIAS

1. Weber, A. - Energized calcium transport and releasing factors. *Curr. Top. iBonerg.* 1: 203, 1966.
2. Ebashi, S. - Excitation-contraction coupling. *Ann. Rev. Physiol.* 38: 293, 1976.
3. Ridway, E. B.; Ashley, C. C. - On the relationship between membrane potential and calcium transient and tension in the single barnacle muscle fiber. *J. Physiol. (London)* 209: 105, 1970.
4. Fabiato, A.; Fabiato, F. - Calcium and cardiac excitation-contraction coupling. *Ann. Rev. Physiol.* 41: 473, 1979.
5. Bygrave, F. L. - Mitochondria and the control of intracellular calcium. *Biol. Rev.* 53: 43, 1978.
6. Yarom, R.; Sherman, G.; Robin, G. C. - Thick filament size changes in contraction of human muscles. *Experientia*, 36: 101, 1980.
7. Huxley, H. E. - Electron microscope studies of the organization in striated muscle. *Biochem. Biophys. Acta*, 12: 387, 1953.
8. Huxley, A. F. - Local activation of striated muscle from the frog and the crab. *J. Physiol. (Lond)*, 135: 17, 1956.
9. Kruger, J. W.; Pollack, G. H. - Myocardial sarcomere dynamic during isometric contraction. *J. Physiol. (Lond)*, 251: 627, 1975.
10. Goldstein, M. A.; Schoroeter, J. P.; Sass, R. L. -The Z lattice in canine cardiac muscle. *J. Cell. Biol.* 83: 187, 1979.
11. Schewer, J.; Bhan, A. K. - Cardiac contractile proteins. Adenosine triphosphatase activity and physiological function. *Am. J. Physiol.* 238: H373, 1980.

12. Vianna, A. L. – In Lacaz-Vieira, F., Malnic, G. (eds) *Biofísica*. Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1980.
13. Moos, C., Mason, C. M.; Besterman, J. M.; I-Nan M. Feng; Dubin, J. H. – The binding of skeletal muscle C-protein to F-actin, and its relation to the interaction of actin with myosin subfragment-1. *J. Mol. Biol.* 124: 571, 1978.
14. Matsubara, S.; Maruyama, K. – Role of connection in the length/tension relation of skeletal and cardiac muscles. *Jap. J. Physiol.* 27: 589, 1977.
15. Granger, B. L.; Lazarides, E. – Desmin and vimentin coexist at the periphery of the myofibril Z disc. *Cell*, 18: 1053, 1979.
16. The physiological basis of Starling's law of the heart. *Ciba Foundation Symposium*, 24. Elsevier, 1974.
17. Vassallo, D. V., Tucci, P. J. F. – Intensidade da ação de intervenções inotrópicas em diferentes graus de estiramento da miofibrila – aparente inter-relação entre o mecanismo do Frank-Starling e o inotropismo cardíaco. *Arq. Bras. Cardiol.* 31: 155, 1978.
18. Crozatier, B.; Ashraf, M., Frankling, D.; Ross, J., Jr. Sarcomere length in experimental myocardial infarction: evidence for sarcomere overstretch in dyskinetic ventricular regions. *J. Mol. Cardiol.* 9: 785, 1977.
19. Noble, D. – Le couplage excitation-contraction. Rôle des courants ioniques et des pompes ioniques. *J. Physiol. (Paris)*, 76: 89, 1980.
20. Basic function of cations in myocardial activity. In Flexkenstein, A.; Dhalla, N. S. (eds) *Recent advances in studies on cardiac structure and metabolism*. Vol. 5. Urban & Schwarzenber, 1975.
21. Beresewicz, A.; Reuter, H. – The effect of adrenaline and theophylline on action potential and contraction on mammalian ventricular muscle under "Rested State" and "Steady State" stimulation. *Naunym-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 301: 99, 1977.
22. Philipson, K. D.; Bers, A.; Nishimoto, Y.; Langer, G. L. – Binding of Ca and Na to sarcolemmal membranes: relation to control of myocardial contractility. *Am. J. Physiol.* 238: H373, 1980.
23. Mill, J. G. – Influência do pH e de fatores metabólicos na resposta lenta obtida em trabécula atrial isolada de coelho. Tese de Mestrado, Instituto do Biofísica da UFRJ, 1980.
24. Langer, G. A. – Heart: excitation-contraction coupling. *Ann. Rev. Physiol.* 35: 55, 1973.
25. Fujino, S.; Igarashi, T.; Hoshi, K. – Ouabain potentiation of Ca release from fragmented cardiac sarcoplasmic reticulum. *Japan. J. Pharmacol.* 29: 839, 1979.
26. Keely, S. L., Jr.; Lincoln, T. M.; Corbin, J. D. – Interaction of acetylcholine and epinephrine on heart cyclic AMP-dependent protein kinase. *Am. J. Physiol.* 234: H432, 1978.
27. Vassallo, D. V.; Prates, T. M. A. – Positive inotropic effects of propranolol in heart muscle. *Acta. Biol. Par.* 5: 99, 1976.
28. Allen, D. G.; Jewell, B. R. – Calcium transients in aequori injected frog cardiac muscle. *Nature*, 273: 509, 1978.