

동방결절에서 Ouabain 에 의하여 발생하는 일과성 내향전류 (TI) 에 관한 연구*

서울대학교 의과대학 생리학교실

최 정 연** · 홍 창 의** · 엄 용 의

=Abstract=

A Study on the Ouabain-induced Transient Inward Current(TI) in the Rabbit Sinoatrial Node

Jung Yun Choi**, Chang Yee Hong**, and Yung E Earm

Department of Physiology and Prediatrics**, College of Medicine Seoul National University

Transient inward current (TI) was studied by the two micro-electrode voltage clamp technique in the sinoatrial node of the rabbit. The author confirmed that in 10^{-6} M ouabain TI was found in the SA node and investigated the effects of ions, (Na^+ , K^+ , Ca^{2+}), β -agonist (isoprenaline), local anesthetics (quinidine, lidocaine) and Ca-blockers (Co^{2+} , verapamil, diltiazem) on the TI recorded during depolarizing voltage clamp pulses to -40 and -20 mV.

The results obtained were as follows;

- 1) 10^{-6} M ouabain increased the frequency of sinus action potential and decreased the amplitude, especially overshoot of action potential. TI was induced by the depolarizing voltage clamp pulses and the magnitude of the slow inward current (i_{si}) decreased and the time course was slowed by the same depolarizing pulses.
- 2) 30% Na^+ and 24mM K^+ decreased by 10^{-6} M ouabain and 6mM Ca^{2+} and 10^{-7} M isoprenaline increased TI, i_{si} and current oscillations.
- 3) Quinidine (5×10^{-7} M) reduced TI and i_{si} but lidocaine (10^{-6} - 10^{-5} M) didn't reduced or increase TI. Current oscillations increased and i_{si} decreased by lidocaine.
- 4) Ca-blockers decreased the amplitude and the frequency of sinus action potential. TI and i_{si} decreased significantly but were not abolished completely at the concentrations used in this experiment. Verapamil and diltiazem had inhibitory action on TI in 2×10^{-7} M concentration and showed very slow recovery after washing out with normal Tyrode solution.

서 론

정상 심장에서의 규칙적인 박동은 동방결절에서의 pacemaker 활동에 의한 전기적 변화가 정하여진 전도

*본 연구는 1983년도 한국과학재단 연구비 보조로 이루어졌음.

**서울대학교 의과대학 소아과학교실

로(conduction pathway)를 따라 빠르고 균일하게 흥분전도가 일어나고 그리고 전체적으로 심근의 활동전압기간이 길어서 그 결과 불응기가 오래 지속될 수 있는 특성에 의하여 유지된다(Hauswirth & Singh, 1979). 위의 기전중에서 어느 과정 하나라도 정상 범위를 벗어나면 자동능의 이상으로 또는, 흥분성이 변화하거나 흥분전도의 변화로 인하여 여러가지 부정맥 현상이 생길 수 있다.

이러한 부정맥이 발생하는 원인 중에서 자동능의 이상으로 초래되는 원인으로 낮은 전압의 oscillation 현상이 주목을 끌어왔는데 이런 현상은 전해질대사 이상시(low-Na, high-Ca 용액 : hypokalemia)에, 혹은 어떤 원인에 의한 심근의 허혈시, 그리고 강심제로 사용하는 digitalis 의 과다 혹은 장기투여시에 나타난다(Rosen et al., 1975; Hauswirth & Singh, 1979).

이중 digitalis 중독에 의하여 나타나는 막전압의 oscillation 은 주로 저분극방향의 후전압(afterpotential)이 발생하여 이들의 크기가 어느 역치(threshold)를 넘게 되면 ectopic beat 가 나타나게 된다(Cranefield, 1977).

이와같이 digitalis 에 의하여 발생하는 후전압은 정상적으로 발생하는 pacemaker 탈분극과는 달라서 일과성 저분극(transient depolarization, TD)이라 칭하며(Ferrier et al., 1973) 이 TD의 원인이 되는 세포막 이온투과의 성질에 대해서는 1976년 Lederer & Tsien 이 Purkinje 섬유에서 일과성 전류, transient inward current(i_{Ti} 혹은 TI)에 의하여 발생하는 사실을 막전압고정법을 이용하여 밝혔다.

이러한 TI는 심장근 중에서 주로 Purkinje 섬유에서 많이 연구되어 왔다. Purkinje 섬유가 쉽게 extrasystole 을 일으키기 때문에 digitalis 중독에 의한 부정맥을 Purkinje 섬유에서 시작하는 부정맥으로 생각하여 왔으나 근자에 심실근에서도 보고되어(Karagueuzian & Katzung, 1982), 모든 심장근에서 TI 가 발생하고 이것에 의해 다른 상태의 부정맥이 생길 가능성을 제시하였다. 그러나 정상 심장에서 pacemaker 역할을 하는 동방결절에 대한 digitalis 중독효과를 보고한 실험결과는 그리 많지 않고 막전압고정법에 의한 TI의 존재보고는 오직 한 예에서 보고되었다(Brown 등, 1984). 대부분의 digitalis 에 의한 부정맥의 근원이 되는 국소부위는 Purkinje 섬유일 가능성은 많으나 동방결절에서의 pacemaker 활동이 digitalis 에 의하여 영향을 받지 않는다고 생각하기는 어렵고 또한 동방결절에서의 digitalis 영향이 다른 부위와 마찬가지로 ectopic beat 가 잘 일어날 수 있는 상태로 만들 가능성 또한 적지 않다.

이에 저자는 동방결절을 작은 절편으로 만들고 여기에 두개의 미세전극법으로 막전압을 고정한 다음 ouabain 투여 효과를 관찰하였는데 높은 농도의 ouabain ($10^{-6}M$) 투여에 의하여 TI 를 기록할 수 있었다. 이때 나타나는 TI 에 영향을 주리라고 생각되는 이온, 국소 마취제 및 Ca-차단제를 투여하여 그 효과를 관찰하여

동방결절에서 발생하는 TI의 특성을 비교 분석하였다.

실 험 방 법

1) 동방결절의 절편

1~1.5 kg 정도의 토끼의 머리를 강타하고 실험시킨 후 심장을 꺼내서 100% O₂로 포화되어 있는 Tyrode 용액에 넣고 심실부분을 절개하여 혈액을 씻어내고 심실을 분리제거하여 방실개구 부분을 노출시켰다. 우심방을 나머지 부분에서 분리하고 상대정맥(superior vena cava, SVC)부분과 하대정맥(inferior vena cava, IVC) 부분을 절개하여 동방결절을 노출시켰다. 1시간 가량 회복시킨 후 면도날로 crista terminalis 에 수직 방향으로 폭 0.3 mm, 길이 5~8 mm 되는 절편 2~3 개를 우심방근이 일부 붙어있는 채로 잘라내어 stainless steel 핀으로 양끝을 고정하였다.

그 후 10 mM 의 Ca²⁺ 이 포함된 30°C 내외의 Tyrode 용액에 1~2분 방치 후 다시 정상 Tyrode 용액으로 바꿔 1~1.5시간 방치 회복시켰다. 대개의 절편은 5분이내에 자동능이 회복되었다. 회복된 절편을 무명실 한 가닥으로 0.3 mm 의 폭이 되게 두곳을 묶었다. 다시 10 mM Ca²⁺ 이 든 Tyrode 용액에 1~2분 방치 후 정상 Tyrode 용액으로 되돌려 1시간 가량 회복시켰다. 위의 절편조작은 입체현미경(Prior)의 시야($\times 14$)에서 하였다(엄, 1983; 엄등 1984).

2) 실험장치 및 용액

실험용기는 perspex 로 만든 0.2 ml 가량의 용량을 가진 것으로 바닥은 Sylgard 를 부어 핀이 쉽게 뽑힐 수 있게 하였으며, LKB peristaltic pump 를 이용하여 1 ml/min 의 일정한 관류속도를 유지하였다. 실험장치는 두개의 미세전극은 미세전극전지증폭기(micro-electrode preamplifier)를 통하여 전극하나로는 막전압을 기록하고 다른 하나로는 전류를 흘려 막전압을 고정시켰다. 막전류는 virtual ground amplifier 를 통하여 측정하였고 유리미세전극은 3 M KCl 로 채워 저항이 15 M Ω 정도인 것을 골라서 사용하였다.

모든 기록은 Grass polygraph 와 Apple II micro-computer 에 하였고 oscilloscope(Tektronix)를 통해서 계속 monitor 하였다.

실험용액 : 정상 Tyrode 용액의 조성은 NaCl 140 mM, KCl 3 mM, CaCl₂ 2 mM, MgCl₂ 1 mM, Glucose 5 mM 이었고 Tris-HCl 5 mM 을 가하여 35°C 에

서 pH가 7.4가 되게 하였으며 100% O₂로 포화시켰다. Na 대체실험은 NaCl 대신 동일한 농도의 LiCl를 사용하였고 K, Ca 농도를 높이는 실험은 삼투질농도를 고려하지 않고 첨가하였다.

Ca 차단제로 무기차단제로는 Ca²⁺를 사용하였으며 유기차단제로 verapamil과 diltiazem을 사용하였고 부정맥 치료제로는 lidocaine과 quinidine를 사용하였다. 이런 약물들의 농도는 치료용량 혹은 효과를 나타내는 낮은 수준의 농도만을 사용하여 비교하였다.

실험 성적

1) Ouabain에 의한 TI의 발생

정상적인 규칙박동을 보이는 동상결절 절편에서 기록되는 활동전압 및 막전류의 양상을 Fig. 1에 나타내었다. A는 활동전압 기록이고 B는 저분극 pulse에 의해 활성화되는 완간내향전류(i_{si})의 기록이다. i_{si}는 저분극 pulse의 크기에 따라서 활성화되는 정도가 변화한다. 이와같은 절편에서 10⁻⁶M ouabain이 함유된 Tyrode 용액으로 관류시켰을 때 digitalis 중독효과가 나타난다. 동방결절은 정상적으로 pacemaker가 되고 pacemaker 탈분극을 나타내는 부위이기 때문에 활동전압의 모양은 변화(overshoot가 없어지고 sine파 비슷하며 빈도수가 증가하는) 하나 digitalis의 효과로 나타나는 특징적인 일과성 저분극(transient depolarization, TD) 혹은 후전압은 볼 수가 없었다.

막전압 고정법에 의하여 유지전압(holding potential, HP) -40 mV에서 저분극 pulse를 주었을 때 i_{si}의 크기가 작아지고 시간경과가 매우 느리게 변화한다. 이러한 저분극 pulse 후에 일과성인 내향전류가 나타났다. TI는 보통 ouabain 투여 후 20~30분 사이에서 나타났다. Fig. 1에서 보이는 B의 오른쪽 TI는 20분 지나서 나타나기 시작하는 시점에서의 기록이다.

이와같이 ouabain에 의하여 발생하는 TI는 저분극 pulse의 크기에 따라라도 영향을 받는다. Fig. 2는 여러 크기의 pulse에 의하여 나타나는 TI를 보인 것이다. 저분극 pulse가 끝나는 다음에 TI가 나타나는 때 나타나는 TI의 크기와 시기가 약간씩 차이가 있다. pulse가 저분극 쪽으로 갈수록 TI의 크기는 커지고 나타나는 시기는 늦어지는 경향을 보이고 있다. 그러나 본 실험에서 행한 저분극 pulse의 범위내에서 TI의 방향이 역전(reversal)되거나 막전압 크기와 TI의 크기사이에 분명한 비례관계는 발견하기 어려웠다.

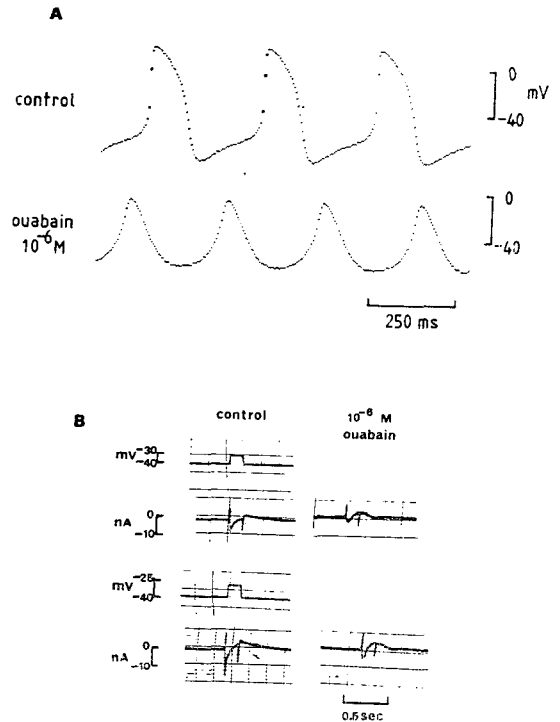


Fig. 1. Effects of ouabain on the action potential (A) and the membrane current(B). The rate of action potential increased and the amplitude decreased by ouabain. Voltage clamp records in B shows that the slow inward current was reduced and slowed its time course by ouabain at two different clamp pulses (upper one at -30 mV and lower one at -25 mV) and transient inward current (TI) appeared after termination of pulses.

2) TI에 대한 이온들의 영향

TI가 어떤 이온(들)에 의하여 일어나는지에 대해서는 아직도 분명하지 않다. 본 실험에서 Na⁺, K⁺, Ca²⁺ 농도를 변화시켜 이들이 직접 이온전류로서 참여해서 든가 혹은 간접적인 영향에 의해서든 TI에 어떤 영향을 주는지를 관찰하였다.

먼저 Na⁺의 영향을 본 것이 Fig. 3의 결과이다. 70%의 Na⁺을 Li⁺으로 대체하여 그 효과를 관찰하였다. 세가지 경우 모두(+5, +15, +25 mV pulse)에서 i_{si}가 현저히 감소하였고 net current가 의향성이었으며 저분극 pulse 후에 나타났던 TI가 거의 완전히 소실되었다.

두번째로 K⁺농도가 TI에 미치는 영향을 보았다.

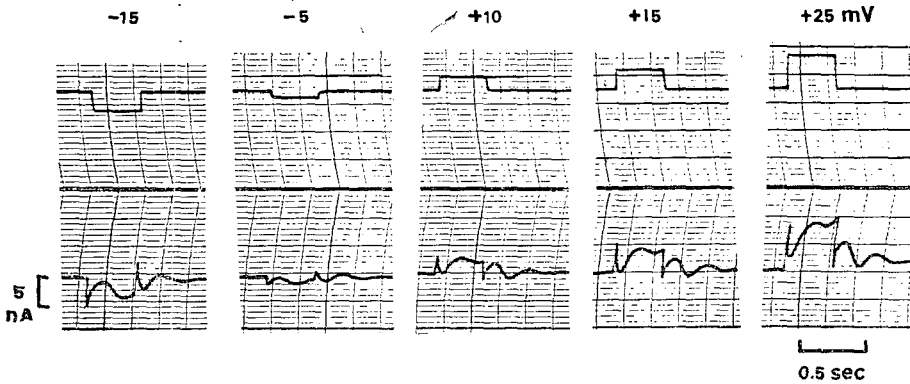


Fig. 2. Voltage dependent activation of TI. Activation pattern of TI was different in hyperpolarizing pulses.

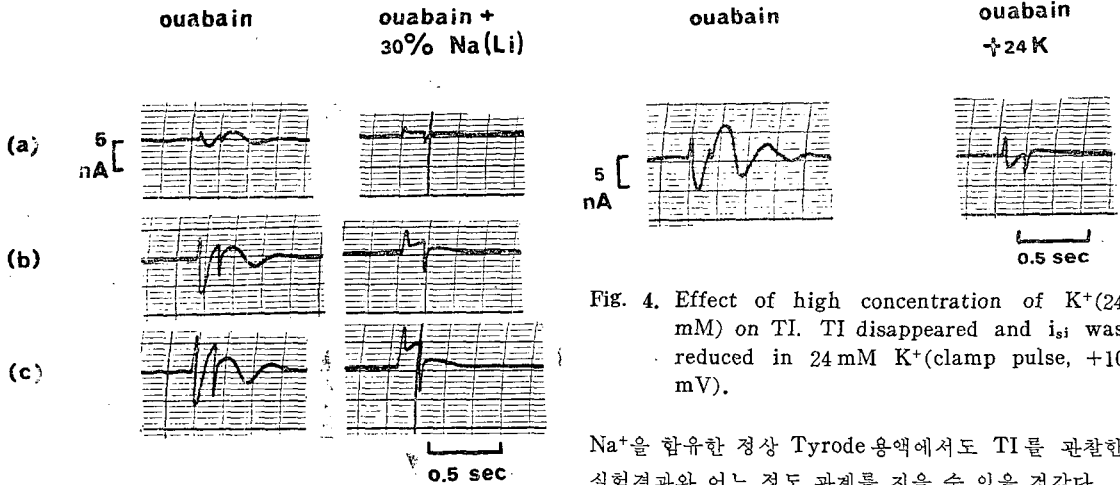


Fig. 3. Effect of Na reduction on TI. Na reduction almost abolished i_{si} and TI in three different potentials (a), +5; b), +15; c), +25 mV).

Fig. 4에서 볼 수 있듯이 삼투질 농도를 고려하지 않고 K^+ 을 첨가하여 24 mM로 농도를 올렸을 경우에 i_{si} 도 감소하고 TI는 완전히 소실되었다. 24 mM K^+ 에 의해서 발생하리라 예견되었던 holding current의 내향 이동(inward shift)은 보이지 않았다.

세번째로는 일반적으로 TI를 일으키는데 직접, 간접으로 크게 관여한다고 알려진 세포막 Ca^{2+} 농도를 변화시켜 보았다. 정상 2 mM Ca^{2+} 에서 6 mM Ca^{2+} 으로 올렸을 때 i_{si} 의 증가와 더불어 TI의 현저한 증가를 보았다(Fig. 5). 이와같이 높은 농도의 Ca^{2+} 에 의하여 TI가 커지는 결과는 높은 농도의 Ca^{2+} 과 낮은 농도

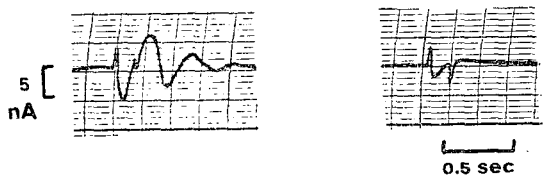


Fig. 4. Effect of high concentration of K^+ (24 mM) on TI. TI disappeared and i_{si} was reduced in 24 mM K^+ (clamp pulse, +10 mV).

Na^+ 을 함유한 정상 Tyrode 용액에서도 TI를 관찰한 실험결과와 어느 정도 관계를 지을 수 있을 것 같다.

3) β -agonist가 TI에 미치는 영향

β -agonist는 일반적으로 심근에서 i_{si} 를 증가시키는 것으로 알려져 있다. 이와같은 효과가 TI에는 어떻게 나타나는지를 보기 위하여 순수한 β -agonist라 할 수 있는 isoprenaline을 투여하여 그 효과를 관찰하였다. Fig. 6-A는 isoprenaline($10^{-7}M$)이 동방결절의 활동전압에 미치는 효과를 나타낸 결과이다. 활동전압의 크기를 감소시켰으나 빈도수는 빠르게 하였다. 막전압 고정 실험결과를 보면(Fig. 6-B) +10, +15 mV의 pulse에 의하여 나타나는 TI는 isoprenaline에 의하여 현저히 증가된 것을 보여준다. 물론 i_{si} 또한 증가하였다.

이상의 결과는 isoprenaline이 i_{si} 를 통하여 혹은 다른 경로를 통하여 TI를 더욱 잘 발생하게 하였음을

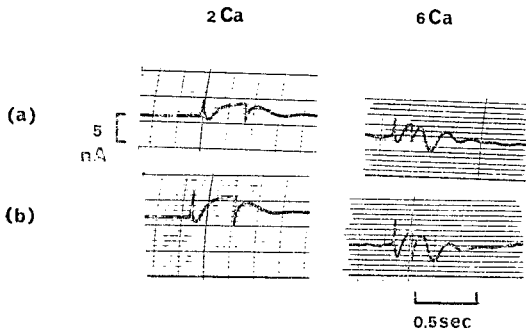


Fig. 5. Effect of 6 mM Ca^{2+} on TI. Holding current level was shifted to inward direction and i_{si} and TI increased significantly by 6 mM Ca^{2+} (a), +10; b), +15 mV pulse).

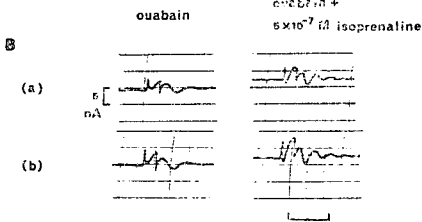
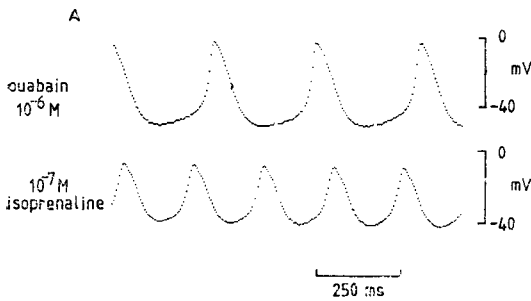


Fig. 6. Isoprenaline effects on the action potential (A) and voltage clamp records (B). Isoprenaline increased the rate and reduced the amplitude of action potential. TI and i_{si} increased and current oscillations appeared by depolarizing clamp pulses (a), +10 mV; b), +15 mV).

알 수 있고 adrenaline이 부정맥을 더욱 악화시킨다는 일반적인 지식을 확인할 수 있었다.

4) 국소마취제가 TI에 미치는 효과

일반적으로 심근에 발생하는 부정맥에 효과가 많은

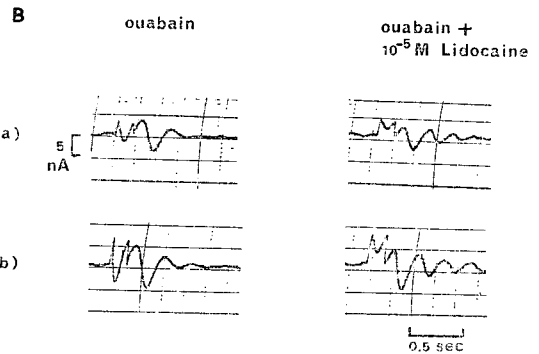
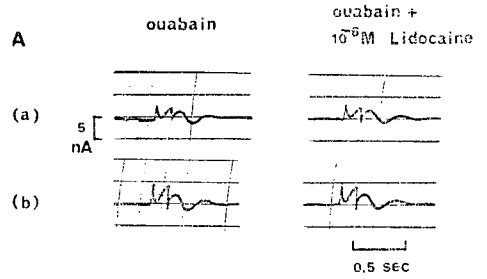


Fig. 7. Effects of lidocaine on TI and i_{si} . No detectable changes in amplitude of TI in A (10^{-6} M) and B (10^{-5} M) but current oscillations increased in B (a), +10; b), +15 mV respectively).

것으로 알려진 국소마취제를 TI가 발생된 동방결절절면에 투여하여 그 효과를 관찰하였다. 먼저 ouabain에 의해 TI가 유발된 절편에 10^{-6} M의 lidocaine을 투여하여 보았다. Fig. 7-A에서 볼 수 있는 것처럼 두 경우 모두 i_{si} 와 TI가 약간 감소한 듯한 인상을 받는다. 그리하여 10배의 농도를 투여하여 보았더니 Fig. 7-B에서 볼 수 있는 결과처럼 lidocaine 10^{-6} M 농도에서 i_{si} 는 현저한 감소를 보였으나 TI는 오히려 커진 듯하고 안정시 막전류의 oscillation이 심하여진 결과를 나타내었다.

지금까지 보아왔던 결과에서처럼 i_{si} 를 줄이는 경우에는 모두 TI도 줄어들었으나 lidocaine의 경우에는 이 원칙이 성립되지 않았다. 다음에는 거의 동일한 효과를 갖는 것으로 알려진 quinidine을 투여하여 보았다. Fig. 8에 보인 것처럼 5×10^{-7} M의 낮은 농도에서도 quinidine은 i_{si} 를 현저히 감소시켰고 TI도 많이

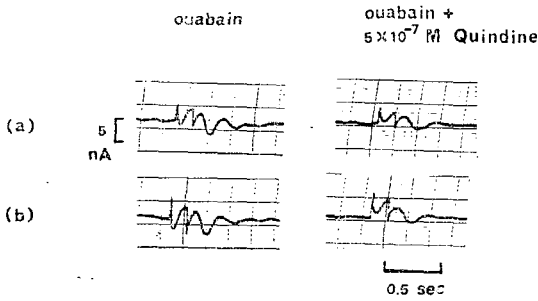


Fig. 8. Effect of quinidine on TI. In the concentration of 5×10^{-7} M, quinidine reduced i_{si} and TI significantly (a), +10; b), +15 mV pulse).

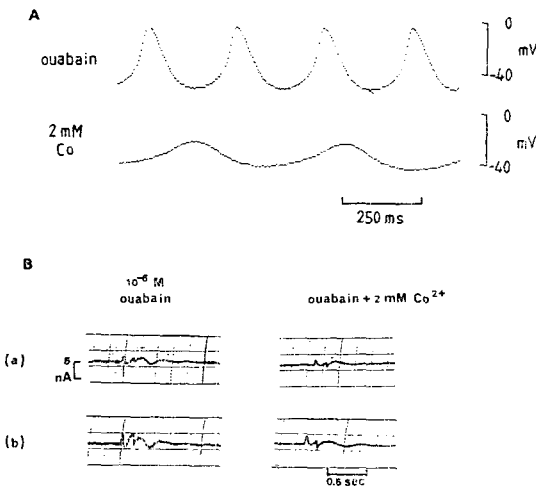


Fig. 9. Effects of cobalt ion on the action potential(A) and TI(B). Cobalt decreased the rate and amplitude of action potential. Also i_{si} and TI decreased by Co^{2+} (a), +5; b), +10 mV pulse).

감소시켰다. 그리고 이러한 quinidine의 억제 효과는 정상 Tyrode 용액으로 돌린 후에도 쉽게 회복되지 않았다.

5) TI에 대한 Ca-차단제의 영향

다음에는 비교적 최근에 개발되어 여러가지 부정맥을 비롯한 심장질환 치료에 사용되고 있는 Ca-차단제(소위 Ca-antagonist들)를 투여하여 TI에 대한 효과를 분석하여 보았다.

먼저 Fig. 9에 일반적으로 실험실에서 Ca-차단제로 많이 사용되어 온 무기 2가이온 중에서 Co^{2+} 를 투여하여 본 결과를 나타내었다. Fig. 9-A에서 볼 수

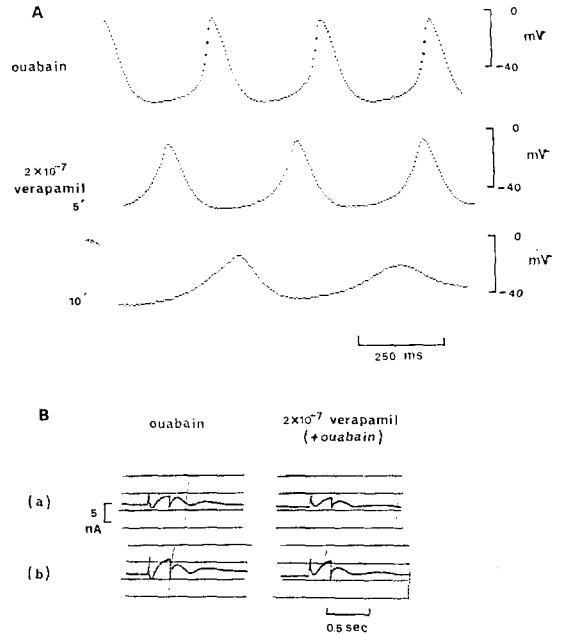


Fig. 10. Effects of verapamil on the action potential(A) and membrane current(B). The rate and amplitude of action potential were reduced and i_{si} and TI also reduced but not abolished completely in this concentration(a), +10; b), +15 mV pulse).

있는 것처럼 2 mM의 Co^{2+} 를 투여하였을 때 활동전압의 크기가 대단히 감소하고 나중에는 거의 없어질 정도가 되었으며 활동전압의 빈도수 또한 감소하였다. 이런 상황에서 막전압고정에 의한 이온전류를 기록한 것이 Fig. 9-B이다. ouabain에 의하여 발생한 TI가 Co^{2+} 에 의하여 현저히 감소되었으며 i_{si} 또한 감소되었다.

다음에는 실제로 임상에서 치료약으로 널리 쓰이는 Ca-차단제중 verapamil과 diltiazem의 효과를 보았다. Fig. 10은 verapamil의 효과를 나타낸 것이다. Fig. 10-A는 비교적 치료용량으로서도 낮은 농도인 2×10^{-7} M의 농도에서 verapamil은 동방결절의 활동전압의 크기를 감소시키고 빈도수 또한 줄여서 10분후에는 자동능이 완전 소실되었다. 이런 상태에서 막전압고정 실험을 시행해 본 결과가 Fig. 10-B이다. ouabain에 의하여 발생한 TI 그리고 i_{si} 가 verapamil에 의하여 현저히 감소되었다. 그러나 Fig. 10-A에서 본 활동전압처럼 완전히 소실되지는 않았다. 즉 verapamil은 i_{si} 를 줄여서 자동능을 완전히 억제하였으나

고 찰

1) Ouabain에 의해 나타나는 TI

Digitalis 등 여러 조건하에서 심장근에 발생하는 비정상적인 전기적 변화는 일찍부터 일과성 저분극(TD) 혹은 후전압이라는 이름으로 불리워 왔다(Ferrier et al., 1973; Cranefield, 1977). TD이 생기는 원인은 TI로 밝혀졌고(Lederer & Tsien, 1976; Kass et al., 1978 a, b) 주로 Purkinje 섬유에서 많이 기술되었으며 발생기전은 주로 Na-K pump의 억제작용에 기인하는 것으로 생각되어 왔다. Ellis 등이 Na⁺에 예민한 미세전극을 사용하여 digitalis를 5×10⁻⁷M 이상의 농도로 투여하였을 때 심근세포내 Na⁺활동도가 증가함을 관찰하였고(Ellis, 1977; Deitmer & Ellis, 1978 a, b; Ellis & Deitmer, 1978) Na⁺농도의 증가는 세포내 Ca²⁺저장고로부터의 Ca²⁺유리를 촉진시킨다고 생각하였다(Kass et al., 1978; Kass et al., 1978; Matsuda et al., 1982). 이와같은 생각은 Ca²⁺에 선택적인 유리 미세전극을 직접 심근세포에 삽입하여 digitalis 투여 후 세포내 Na⁺, 그리고 Ca²⁺의 활동도가 증가함이 증명되었고(Lee & Dagostino, 1982) 세포내 Ca²⁺ 저장고에서 Ca²⁺유리를 촉진시키는 것으로 알려진 caffeine 투여로 심근에서 TI가 나타남을 발견하여(Clusine, 1983) 앞서의 생각들이 실험적인 사실로 증명되었다.

본 실험에서는 동방결절이기 때문에 활동전압의 불규칙성은 없었으나 최대 이완기 전압이 저분극되고, 크기가 감소하며 빈도수가 증가하는 형태로 효과가 나타났다. 막전압고정 실험에서 보였듯이 ouabain 투여 후 i_{si}가 줄어들었는데 이것은 세포내 Ca²⁺농도의 증가로 세포내외의 농도경사가 감소되어 초래된 결과로 해석할 수 있을 것 같으며 pulse 후에 나타나는 TI는 바로 oscillatory Ca²⁺유리의 결과인 것으로 해석된다. 그러나 분명한 원인을 알 수 없는 것은 ouabain 투여 후 i_{si}의 시간경과가 대단히 느려진 점이다. 이것은 ouabain이 직접적으로 i_{si} channel에 영향을 준 결과인지 혹은 새로운 느린 channel이 활성화되는지 잘 알 수가 없다.

2) TI에 대한 이온들의 영향

다음에 TI에 직접 혹은 간접으로 영향을 주는 이온들을 살펴보면 어느정도 TI의 ionic nature를 짐작할 수 있다. Kass 등(1978)의 실험에 의하면 세포밖 Na⁺농도를 1/3이하로 낮추었을 때 TI는 일시적으로 커지

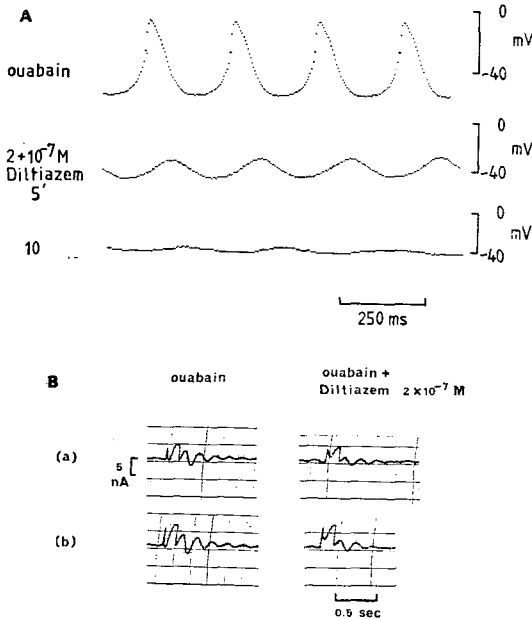


Fig. 11. Effects of diltiazem on the action potential (A) and membrane currents(B). Similar findings were noticed as verapamil in Fig. 10 (a), +10; b), +15 mV pulse).

이 경우에도 TI를 완전히 소실시키지는 못하였다.

다음 Fig. 11에 verapamil과 여러가지 작용이 유사한 diltiazem의 효과를 나타낸 결과를 보인다. Fig. 11-A에서는 verapamil의 경우에서와 거의 동일하게 동방결절 활동전압의 크기를 감소시켰다. 그러나 빈도수의 감소는 verapamil에 비하여 덜하였다. diltiazem의 경우에도 결국에는 자동능이 중단되었다. 마찬가지로 막전압고정 실험결과를 나타낸 것이 Fig. 11-B이다. verapamil의 경우와 비슷하게 i_{si}를 감소시키고 TI 또한 현저히 감소시켰으나 완전소실시키지는 못하였다.

위의 3가지 Ca-차단제의 효과는 모두 비슷하였다. 그러나 정상 Tyrode 용액으로 되돌렸을 경우 회복되는 시간과 정도가 무기이온인 Co²⁺의 경우에는 거의 가역적이고 시간경과도 빨랐으나 유기 Ca-차단제인 verapamil과 diltiazem의 경우는 1시간이 지나도 회복은 되지만 완전가역적이지는 못하였다.

다가 작아진다고 하였고 Karagueuzian & Katzung (1982)은 심실근에서의 결과를 보고한 실험에서 Na^+ 을 완전히 Tris 로 대체하니 TI가 소실되었다고 하였다. 마찬가지로 Henning(1983)도 Na^+ 농도를 낮추니 TI도 감소함을 보고하였다. 이러한 결과들은 본 실험결과와 잘 일치하는 것으로 Na^+ 이 어떤 방식으로든 TI에 관여함을 알 수 있었다. 세포밖 Na^+ 농도 감소는 세포속 Na^+ 농도를 감소시키고(Ellis, 1977), 그 결과 세포내 Ca^{2+} 농도도 감소되리라 생각된다. 여기에 Kass 등(1978)의 주장대로 Na^+ 이 TI의 운반체(carrier)라면 세포밖 Na^+ 농도의 감소는 세포안팎의 Na^+ 농도경사를 줄이게 되어 결국 driving force가 감소되어 TI가 감소되리라 예상된다. Na^+ 농도 감소가 TI를 줄이는 것은 driving force의 감소와 세포내 Na^+ 농도 및 Ca^{2+} 농도의 감소에 기인한다고 볼 수 있겠다.

두번째로 세포밖 K^+ 농도 변화가 TI에 미치는 영향을 보면 K^+ 농도를 0 mM로 하였을 때는 TI가 증가하고 많은 경우 digitalis 투여없이도 TI를 일으킬 수 있다고 하였다(Vassalle & Mugelli, 1981; Hennings & Verecke, 1983). 그러나 0 mM 농도가 아닌, 농도에서는 특히 높은 농도에서의 영향은 거의 없다고 하였다(Hennings & Verecke, 1982). 그러나 본 실험에서 24 mM K^+ 에 의하여 TI가 거의 완전히 소실되었다. 이러한 결과는 Ellis의 실험결과(1977)를 토대로 생각하면 당연한 결과라고 생각된다. 그의 실험결과에 따르면 세포외액의 K^+ 농도를 높였을 때 세포내 Na^+ 농도가 상당히 감소하였다. 세포내 Na^+ 농도 감소는 세포내 Ca^{2+} 농도를 낮추어 결국 TI를 없앴을 것이라는 생각을 가능하게 한다.

세번째 Ca^{2+} 농도 변화가 TI에 주는 영향을 보면 Ca^{2+} 증가는 심실근에서(Hiroaka et al, 1981), Purkinje 섬유(Hennings, 1983)에서 모두 TI를 증가시켰다. 이러한 결과는 본 실험결과와 잘 일치하며 그 기전은 Ca^{2+} 농도증가는 i_{si} 의 증가를 가져오고 따라서 세포속의 Ca^{2+} 농도 증가를 가져올 수 있을 것으로 생각할 수 있다. 그러나 Ellis(1977)의 결과에 의하면 세포밖 Ca^{2+} 농도 증가는 세포속 Na^+ 농도를 감소시킨다고 하였으므로 Ca^{2+} 농도의 TI에 대한 영향은 Na^+ 농도 변화를 통해서 일어난 것은 아니라고 할 수 있을 것이다. 또 β -agonist인 isoprenaline의 TI 증가 효과는 Ca^{2+} 과 마찬가지로 i_{si} 의 증가와 세포내 Ca^{2+} 농도 증가로서 설명될 수 있을 것 같다.

3) TI channel의 특성

TI channel의 특성에 대한 것은 본 실험에서 본격적으로 다루지는 않았으나 지금까지의 경향을 보면 대개 두가지 방향으로 생각하고 있다.

첫째의 가능성은 TI channel과 Na-Ca 교환 channel이 같으리라는 주장이다. Na-Ca 교환기전이 electrogenic하고 심근에서 대단히 중요한 역할을 담당할 것이라는 주장(Mullins, 1979) 이래로 Na-Ca 교환기전의 중요성을 다룬 실험결과들이 대단히 많다. 또 digitalis 처리실험은 아니지만 동방결절에서 i_{si} 가 단일성분이 아니고 적어도 두가지 성분이라는 주장(Brown et al., 1983; 엄등, 1984)과 단일심근세포에서 Cd^{2+} 같은 Ca-차단제 처리 후에도 남아있는 시간경과가 대단히 느린 i_{si} 가 발견되어(Lee et al, 1983) 이들이 Na-Ca 교환기전에 의한 전류($i_{Na, Ca}$)가 아닌가 추구하고 있다. 그리고 이런 느린 성분의 i_{si} 와 TI가 동일한 것이라는 추측이 가능하나 이 모든 가능성은 $i_{Na, Ca}$ 를 선택적으로 억제할 수 있는 물질이 출현될 때까지는 결론지을 수 없을 것 같다.

두번째 가능성은 최근에 개발된 patch clamp 결과를 근거로 하여 제시된 것으로 비선택적인 양이온 channel 일 것(Reuter, 1984)이라는 주장이다. 이 channel은 세포내 Ca^{2+} 농도 증가에 의하여 활성화된다는 것, 그리고 Na^+ 과 K^+ 에 동시에 투과성을 보이고 있는 점이 TI와 아주 유사하다. 어쨌든 TI의 특성은 좀더 많은 실험결과가 나와야 밝혀질 수 있을 것이다.

4) 국소마취제와 Ca-차단제의 효과

일반적으로 국소마취제는 세포막의 급속내향전류(fast inward current), i_{Na} 를 억제하여 전도속도도 어느정도 느리게 하고 불응기를 연장시켜 부정맥치료 효과를 나타내는 것으로 생각하고 있으며(Hauswirth & Singh, 1979), digitalis 중독때 나타나는 TI에도 어느정도 효과가 있는 것으로 알려져 왔다. Lidocaine이나 quinidine은 정상 Purkinje 섬유의 활동전압을 단축하는 효과가 있고(Carmeliet & Saikawa, 1982) 막전압고정 실험에서 i_{Na} 를 줄이며 quinidine은 i_{Na} 를 줄이는 효과 외에 i_K 를 감소시켜 활동전압을 길게 한다고 하였다(Colatsky, 1982). 또한 심실근 단일세포 막전압고정 실험결과 lidocaine과 quinidine은 모두 i_{Na} 를 감소시킨다는 결과를 얻었다. 이러한 i_{Na} 감소 및 i_K 감소 효과가 TI에 주는 영향에 관해서는 아직은 실험결과들이 그리 많지 않다. Benzocaine과 procaine

등은 Purkinje 섬유에서 TD를 감소시킨다는 보고 (Bhattachayya & Vassalle, 1981)가 있고 또 lidocaine이 digitalis에 의한 혹은 0 mM K⁺에 의하여 발생하는 TI를 억제한다(Eisner et al., 1983)고 하였다. 그러나 동방결절에서 발생하는 TI에 대한 실험결과는 없다. 본 실험결과에 따르면 quinidine은 TI를 감소시켰으나 lidocaine은 10⁻⁶M에서는 거의 효과가 없었고 10⁻⁵M 농도에서는 오히려 TI를 혹은 oscillation을 증가시켰다. quinidine 및 lidocaine 모두 저분극 pulse에 의해서 활성화되는 i_{si}를 감소시켰으나 TI에 대해서는 작용양상이 서로 달랐다. 이러한 차이는 quinidine이 i_k를 감소시키는 효과가 있기 때문에 나타난 것인지 혹은 lidocaine이 동방결절의 TI에 효과가 없는 것인지를 자세한 기전에 대해서는 더 많은 추구가 있어야 되리라 생각된다.

한편 근래에 부정맥에도 많이 사용되는 Ca²⁺-차단제의 경우를 보면 소위 Ca-antagonist라는 말은 적당한 용어가 아니라는 의견들이 대두되어 왔다. 그 이유는 Ca-antagonist라 칭하는 verapamil, diltiazem 등이 Ca-channel을 억제하고 높은 농도의 Ca²⁺을 가하면 일부 i_{si}크기가 회복되기 때문에 붙여진 이름이었으나 Ca-antagonist의 작용이 무기이온(예를 들어 Mn²⁺, Co²⁺ 등)과는 달리 특유하지 못하고 Ca²⁺과 Ca-channel에 대해 경쟁적(competitive)으로 작용하는 것이 아니기 때문이다(Lee & Tsien, 1983). Digitalis 중독에 대한 Ca-차단제의 영향을 연구한 실험결과 또한 그리 많지 않다. Hiroaka 등(1981)은 심실에서 발생한 TD에 verapamil과 Mn²⁺이 감소효과를 나타낸다고 하였다. 본 실험결과에서 보면 무기 Ca-channel 차단제인 Co²⁺나 유기차단제인 verapamil, diltiazem 모두 TI를 감소시켰으나 낮은 농도에서 완전 소실시키지는 않았다. 또 모두 i_{si}를 현저하게 감소시켰다. 자발적인 활동전압이 소실된 후에도 TI가 여전히 존재하는 것으로 보아 TI channel은 i_{si} channel과 다르다는 것을 시사한다. 유기 및 무기 Ca-차단제 사이의 차이는 무기차단제의 효과는 바로 회복되나 유기차단제의 효과는 1시간 이상 씻어내도 회복되지 않은 점이라 할 수 있겠다.

결 론

토끼 동방결절에서 두개의 미세전극법을 이용하여 막전압을 고정하고 일과성 내향전류(transient inward current, TI)에 대하여 실험하였다. 10⁻⁶M의 ouabain

을 가하고 20~30분 후에 저분극 pulse에 의하여 TI가 기록되었다. -40~-20 mV의 저분극 pulse를 주어 TI를 기록하고 이 TI에 대한 Na⁺, K⁺, Ca²⁺ 및 isoprenaline의 효과를 관찰하고 부정맥 치료제로 쓰이는 국소마취제(lidocaine, quinidine) 및 Ca-차단제(Co²⁺, verapamil, diltiazem)의 효과를 관찰 분석하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) 10⁻⁶M의 ouabain은 동방결절 활동전압의 빈도수를 증가시켰고 크기는 감소시켰다. 막전압고정후 저분극 pulse에 의하여 TI가 나타났으며 완만내향전류(i_{si})는 현저히 감소하였고 시간경과가 느려졌다.

2) 30% Na⁺용액 및 24 mM K⁺용액은 ouabain에 의해 나타난 TI를 현저히 감소시켰고 6 mM Ca²⁺ 및 10⁻⁷M의 isoprenaline 용액에서는 TI는 오히려 증가되었다.

3) 국소마취제 중 quinidine(5×10⁻⁷M)은 TI를 감소시켰으나 lidocaine(10⁻⁶~10⁻⁵M)은 거의 효과가 없거나 오히려 TI를 증가시켰다.

4) Ca-차단제로 사용한 Co²⁺, verapamil과 diltiazem은 모두 활동전압의 크기 및 빈도수를 감소시켰고 마침내는 거의 소실시켰다. 이때 i_{si} 및 TI도 현저히 감소되었으나 완전 소실되지는 않았다. Verapamil 및 diltiazem은 2×10⁻⁷M의 낮은 농도에서도 TI를 감소시켰으나 정상으로 되돌렸을 때 회복이 대단히 느리게 나타났다.

REFERENCES

- 엄용의 : 토끼 동방결절에서 *pacemaker* 전류(과분극에 의해 활성화되는 내향전류, *i_f*)의 동력학적 특성에 관한 연구. 대한생리학회지, 17, 1-11, 1983.
- 엄용의, 황상익, 김기환 : 토끼 동방결절에서 완만내향전류의 *slow component*에 관한 연구. 대한생리학회지, 18:9-17, 1984.
- Bhattachayya, M.L. and Vassalle, M.: *The effect of local anesthetics on strophanthidin toxicity in canine cardiac Purkinje fibre.* J. Physiol., 312:125-142, 1981.
- Brown, H.F., Kimura, J., Noble, D., Noble, S.J. and Taupignon, A.I.: *Two components of second inward current in the rabbit SA-node.* J. Physiol., 334:56P, 1983.
- Brown, H.F., Noble, D., Noble, S.J. and Taupignon, A.: *Transient inward current and its*

- relation to very slow inward current in the rabbit SA node. *J. Physiol.*, 349:47p, 1984.
- Carmeliet, E. and Saikawa, T.: Shortening of the action potential and reduction of pacemaker activity by lidocaine, quinidine and procainamide in sheep cardiac Purkinje fibers. *Circ. Res.*, 50:257-272, 1982.
- Clusin, W.T.: Caffeine induces a transient inward current in cultured cardiac cells. *Nature*, 301: 248-250, 1983.
- Colatsky, T.: Mechanisms of action of lidocaine and quinidine on action potential duration in rabbit cardiac Purkinje fibers. *Circ. Res.*, 50: 17-27, 1982.
- Cranefield, P.F.: Action potentials, afterpotentials and arrhythmias. *Circ. Res.*, 41:415-423, 1977.
- Deitmer, J.W. and Ellis, D.: Changes in the intracellular sodium activity of sheep heart Purkinje fibres produced by calcium and other divalent cations. *J. Physiol.*, 277:437-453, 1978a.
- Deitmer, J.W. and Ellis, D.: The intracellular sodium activity of cardiac Purkinje fibres during inhibition and reactivation of the Na-K pump. *J. Physiol.*, 284:241-259, 1978b.
- Eisner, D.A., Lederer, W.J. and Sheu, S-S.: The role of intracellular sodium activity in the anti-arrhythmic action of local anesthetics in sheep Purkinje fibres. *J. Physiol.*, 340:239-257, 1983.
- Ellis, D.: The effects of external cations and ouabain on the intracellular sodium activity of sheep heart Purkinje fibres. *J. Physiol.*, 273, 211-240, 1977.
- Ellis, D. and Deitmer, J.W.: The relationship between the intra- and extracellular sodium activity of sheep heart Purkinje fibres during inhibition of the Na-K pump. *Pflügers Arch.*, 377:209-215, 1978.
- Ferrier, G.R., Saunders, J.H. and Mendez, C.: A cellular mechanism for the generation of ventricular arrhythmias by acetylcholinesterase. *Circ. Res.*, 33:508-515, 1973.
- Hauswirth, O. and Singh, B.N.: Ionic mechanisms in heart muscle in relation to the genesis and the pharmacological control of cardiac arrhythmia. *Pharmacol. Rev.*, 30:5-63, 1979.
- Henning, B.: Properties of the transient inward current in cardiac Purkinje fibres from the sheep and dog. *J. Physiol.*, 334, 77p, 1983.
- Hennings, B. and Verecke, J.: Effects of Cs and Ba on the transient inward current of sheep Purkinje fibres. *J. Physiol.*, 345, 149p, 1983.
- Hiroaka, M., Okamoto, Y. and Sano, T.: Oscillatory afterpotentials in dog ventricular muscle fibers. *Circ. Res.*, 48:510-518, 1981.
- Karagueuzian, H.S. and Katzung, B.G.: Voltage-clamp studies of transient inward current and mechanical oscillations induced by ouabain in ferret papillary muscle. *J. Physiol.*, 327:255-271, 1982.
- Kass, R.S., Lederer, W.J., Tsien, R.W. and Weingart, R.: Role of calcium ions in transient inward currents and aftercontraction induced by strophanthidin in cardiac Purkinje fibres. *J. Physiol.*, 281:187-208, 1978a.
- Kass, R.S., Lederer, W.J., Tsien, R.W. and Weingart, R.: Ionic basis of transient inward current induced by strophanthidin in cardiac Purkinje fibres. *J. Physiol.*, 281:209-226, 1978b.
- Lederer, W.J. and Tsien, R.W.: Transient inward current underlying arrhythmogenic effects of cardiotonic steroids in Purkinje fibres. *J. Physiol.*, 263:73-100, 1976.
- Lee, C.O. and Dagostino, M.: Effect of strophanthidin on intracellular Na activity and twitch tension of constantly driven canine cardiac Purkinje fibers. *Biophys. J.*, 40:185-198, 1982.
- Lee, K.S., Hume, J.R., Giles, W. and Brown, A. M.: Sodium current depression by lidocaine and quinidine in isolated ventricular cells. *Nature*, 291:325-327, 1981.
- Lee, E.W., Lee, K.S., Noble, D. and Spindler, A. J.: A very slow inward current in single ven-

- tricular cells. J. Physiol.*, 345, 6P, 1983.
- Lee, K.S. and Tsien, R.W. *Mechanism of calcium channel blockade by verapamil, D600, diltiazem and nitrendipine in single dialysed heart cells. Nature.*, 302:790-794, 1983.
- Matsuda, H, Noma, A., Kurachi, Y. and Irisawa, H.: *Transient depolarization and spontaneous voltage fluctuations in isolated single cells from guinea pig ventricles. Circ. Res.*, 51: 142-151, 1982.
- Mullins, L.J.: *The generation of electric currents in cardiac fibers by Na/Ca exchange. Am. J. Physiol.*, 236:C103-C110, 1979.
- Reuter, H.: *Ion channels in cardiac cell membranes. Ann. Rev. Physiol.*, 46:473-484, 1984.
- Rosen, M.R., Wit, A.L. and Hoffman, B.F.: *Electrophysiology and pharmacology of cardiac arrhythmias. IV. Cardiac antiarrhythmic and toxic effects of digitalis. Am. Heart J.*, 89: 391-399, 1975.
- Vassalle, M. and Mugelli, A.: *An oscillatory current in sheep cardiac Purkinje fibers. Circ. Res.*, 48:618-631, 1981.