

Higenamine이 단일심근세포의 Ca-전류 및 활동전압에 미치는 효과

서울대학교 의과대학 생리학교실

김 영 덕 · 서 인 석 · 엄 용 의

(1987년 11월 12일 접수)

== Abstract ==

Effects of Higenamine on the Calcium Current and the Action Potential in the Guinea-pig Myocytes

Young Duck Kim, In Suk So and Yung E Earm

Department of Physiology, College of Medicine, Seoul National University

The effects of higenamine were investigated in the single atrial and ventricular myocyte of the guinea pig by using patch clamp method.

The results obtained were as follows:

- 1) Isoprenaline which is known to be β -agonist increased the duration of action potential and calcium current in ventricular cells.
- 2) Higenamine also increased the duration of action potential and calcium current in ventricular myocytes. And its effect was blocked by propranolol.
- 3) In the atrial cells, isoprenaline showed β -agonist effects, which were increasing the duration of action potential and calcium current same as in ventricular cells.
- 4) Higenamine, however, showed the opposite effects of β -agonist which were decreasing the duration of action potential and calcium current.

The above results suggest that higenamine has the typical β -agonist effect in ventricular cells but inhibitory effect in atrial cells and this effect on atrium could be due to the reduction of calcium current.

Key Words: Single atrial and ventricular myocyte, Ca-current, Isoprenaline, Higenamine

서 론

심장근에 대한 교감신경 즉 adrenaline 동작성 신경의 자극은 심근 수축력의 증가, 심박수의 증가 등 큰 작용을 가지고 있다. 이러한 심근 자극 효과는 주로 Ca-통로를 통한 효과로서 설명되고 있고 (Reuter, 1979) 이러한 Ca-통로에 대한 효과는 신경전달물질이 voltage gated ion channel을 조절하는 좋은 예로

알려져 왔다 (Reuter, 1983; Tsien, 1983; Siegelbaum & Tsien, 1983).

그러나 최근까지 심장근 세포에서의 Ca-전류에 대한 연구는 심근의 특이한 다세포 조직으로서의 복잡한 구조와 막전류 중에서 Ca-전류만을 독립적으로 분리하는 것이 대단히 어려웠기 때문에 난관이 많았다 (Noble, 1979; Matsuda & Noma, 1984). 그러나 collagenase를 이용한 단일 심근 분리법은 막전압을 균등하게 조절할 수 있을 뿐만 아니라 (Isenberg & Klöckner, 1982) 세포속의 내환경을 관류법에 의하여 조절할 수 있게 되어 (Lee & Tsien, 1982, 1983)

*본 연구는 1984년도 서울대학교 병원 임상연구비로 이루어졌음.

Ca-전류 연구에 큰 진보를 이루게 되었다.

따라서 본 연구에서는 심근 조직을 단일 심근으로 분리하여 β -agonist로 알려진 isoprenaline 과 higenamine의 효과를 심방근 세포 및 심실근 세포에서 활동전압 및 Ca-전류를 중심으로 관찰하여 그 효과를 좀 더 정확하게 분석하고자 하였다.

실 험 방 법

300~500 g 가량 되는 guinea-pig을 사용하여 실험하였다. 단일 심근 세포의 분리는 guinea-pig을 pentobarbital sodium (60 mg/kg) 과 heparin (2000 IU/kg)을 복강 내로 주사하여 마취한 다음 경동맥을 절단하여 실험시키고 가슴을 열어 심장을 적출하였다. 적출한 심장을 100% O₂로 포화시킨 30°C 내외의 정상 Tyrode 용액 속에 옮겨 대동맥에 cannula를 삽입하여 관상동맥을 통하여 정상 Tyrode 용액으로 80 cm H₂O의 압력으로 관류시켰다 (Langendorff perfusion). 수분동안 관류시킨 다음 Ca이 없는 Tyrode 용액으로 다시 관류하였다. 그런후 0.04% collagenase (Sigma, type 1)가 포함된 Ca 없는 Tyrode 용액으로 약 30분간 관류하였다. Collagenase 소화 후에 높은 K과 낮은 Cl를 함유한 저장용액으로 관류하여 collagenase를 씻어내었다. 소화된 심장을 KB 용액 속에서 forceps를 사용해서 계속 흔들어서 주어 떨어져 나온 세포만을 4°C에 보관 사용하였다. 단일 심근은 현탁액을 실험 용기에 옮겨 도립현미경 시야에서 실험하였고 용액은 계속 흘러 관류시켰으며 관류 속도는 2 ml/min로 하였고 용액 온도를 35°C로 유지하였다.

Patch clamp 방법

단일 심방근 세포를 대상으로 patch clamp 증폭기 (List EPC-7)를 이용하여 whole cell clamp 방법 (Hamill et al., 1981)으로 기록하였다. 활동전압은 막전류 고정 방식 (current clamp mode)으로 기록하였고 막전류는 막전압 고정 방식으로 기록하였다. Patch 전극은 borosilicate capillary (내경 1.0 mm)를 두 번 뽑아 전극 저항이 2~4 M Ω 되는 것을 사용하였다. 일반적으로 심실근 세포에서는 저항이 낮은 것을 사용하였고 심방근 세포의 경우에는 저항이 높

은 것을 사용하였다. 전극 내는 활동전압 기록을 위해서 K이 주성분인 용액으로 채워 사용하였고 심실근 세포의 막전압 고정 실험에서는 K대신 Cs으로 대체하여 사용하였다.

실험용액

정상 Tyrode 용액의 조성은 NaCl 140 mM, KCl 5.4 mM, CaCl₂ 1.8 mM, MgCl₂ 1.0 mM, HEPES 5 mM, glucose 5.5 mM, NaH₂PO₄ 0.3 mM이고 pH는 NaOH로 적정하여 7.4로 맞추었다. Ca 없는 Tyrode 용액은 단순히 Ca만을 넣지 않고 만들었다. 저장용액은 glutamic acid 70 mM, KCl 25 mM, taurine 10 mM, oxalic acid 10 mM, KH₂P0₄ 10 mM, HEPES 10 mM, glucose 11 mM, EGTA 0.5 mM의 조성으로 하였고 pH는 KOH를 가하여 7.4로 맞추었다. 전극내를 채우는 용액은 활동전압 및 심방근 세포 막전압 고정 실험에서는 K-aspartate 110 mM, Mg-ATP 5 mM, creatine phosphate 5 mM, HEPES 5 mM, MgCl₂ 1 mM, KCl 20 mM이 포함된 용액 (pH 7.4)을 사용하였으며 심실근 막전압 고정 실험에서는 Cs-aspartate 110 mM, Mg-ATP 5 mM, creatine phosphate 5 mM, HEPES 5 mM, MgCl₂ 1 mM, TEA-Cl 20 mM이 포함된 용액 (pH는 CsOH로 적정하여 7.4로 유지)으로 채워 사용하였다.

실험 성적의 기록

Patch clamp 증폭기를 통한 실험 성적은 digital 오실로스코프로 관찰하면서 PCM Data Recorder에 저장하였다. 모든 실험 결과는 동일한 경향의 성적이 3~5회 반복해서 얻어진 것만을 X-Y recorder로 뽑아 분석하였다.

실 험 성 적

1. 심실근 세포에서의 isoprenaline의 효과

단일 심실근 세포에서 gigaohm 방법으로 안정막 전압을 기록하면 대략 -75 mV에서 -85 mV의 범위에 있었으며 current clamp mode에서 자극을 가하여 활동전압을 일으켰을 때 활동전압의 크기, 모양은 세포에 따라 달랐고, 특히 활동전압의 기간은 큰 차이를 보였다. 따라서 실험 조건은 동일한 세포에서만

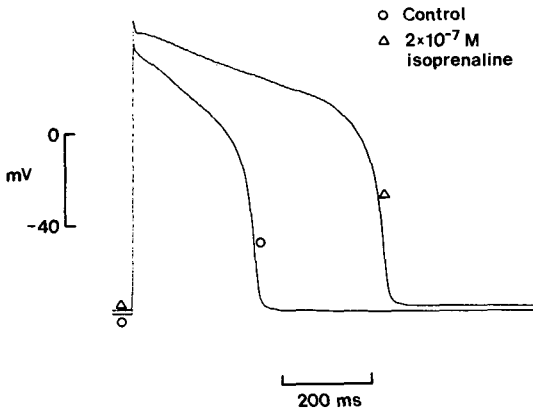


Fig. 1. Effect of 2×10^{-7} M isoprenaline on the action potential of ventricular cell. Resting membrane potential was depolarized and overshoot was increased. The duration of the action potential (95% repolarization) was increased from 280 ms of control (O) to 560 ms by isoprenaline (Δ).

의 결과를 비교하였다. 먼저 심실근 세포에 β -agonist로 잘 알려진 isoprenaline을 투여하여 그 효과를 관찰하였다. 그림 1은 정상 조건 하에서 기록한 활동전압 (O)과 여기에 2×10^{-7} M의 isoprenaline을 첨가하여 얻은 활동전압을 중첩하여 그린 것이다. 안정막 전압은 -77 mV에서 isoprenaline의 투여로 -75 mV로 약간 저분극 되었고 활동전압의 지나치기 전압(overshoot)은 $+40$ mV에서 $+50$ mV로 증가하였다. 한편 활동전압의 95% 재분극되는 기간은 280 ms에서부터 560 ms로 2배나 증가하였다. 이러한 isoprenaline의 활동전압에 미치는 효과를 세포막을 통한 이온 전류의 변화로서 설명하기 위하여 막전압 고정 실험을 하였다. 이 경우 세포내 용액은 K 대신 Cs를 사용하여 K-전류를 차단하여 Ca-전류만을 주로 기록하였다.

그림 2에 막전압 고정에 의하여 Ca-전류를 기록하고 이들에 대한 isoprenaline의 효과를 기록하였다. a) 그림은 대표적으로 -30 mV에서 holding potential(H.P.)을 유지하고 있다가 300 ms 동안 $+10$ mV의 저분극 pulse를 준 것을 나타내고 b) 그림은 $+10$ mV에서 활성화되는 Ca-전류를 나타낸 것이다. 정상 조건(O)에서의 Ca-전류와 isoprenaline 투여

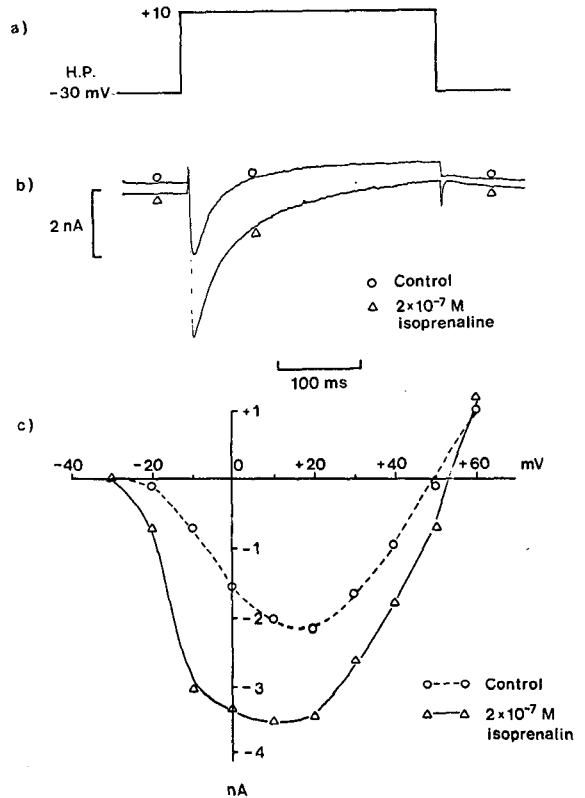


Fig. 2. Current-voltage relationship of Ca-current by isoprenaline.

- depolarizing pulse from holding potential -30 mV to $+10$ mV for 300 ms.
- Ca-current activation by a pulse in control (O) and in 2×10^{-7} M isoprenaline (Δ). Holding current level was shifted to inward direction and the magnitude of Ca-current increased by isoprenaline.
- current-voltage diagram of Ca-current in control (O) and in isoprenaline (Δ) Isoprenaline increased Ca-current in whole potential range (-30 mV \sim $+60$ mV).

시에 활성화되는 Ca-전류(Δ)를 중첩하여 그린 것이다. Isoprenaline에 의하여 유지 전류(holding current) 수준은 약간 내향 방향(inward direction)으로 이동하였고 Ca-전류는 크게 증가하였다. -30 mV부터 $+60$ mV에 이르는 범위내 매 10 mV 간격으로 pulse를 주었을 때 활성화되는 Ca-전류를 정상 대조시(O)와 isoprenaline투여시(Δ)로 구분하여

전류-전압 관계 곡선 (current-voltage curve, IV curve)을 그림 c)에 도시하였다. 모든 범위에서 isoprenaline은 Ca-전류를 증가시켰다.

2. 심실근 세포에서 higenamine의 효과

앞에서와 같은 방식으로 심실근 세포의 활동전압을 기록하고 2×10^{-7} M의 higenamine을 투여하여 그 변화를 관찰하였다. 그림 3의 a) 그림은 대조 활동전압과 higenamine을 투여했을 때의 활동전압을 보인 것이다. 안정막 전압은 -75 mV에서 higenamine 투여에 의해 -73 mV로 약간 저분극 되었으며 활

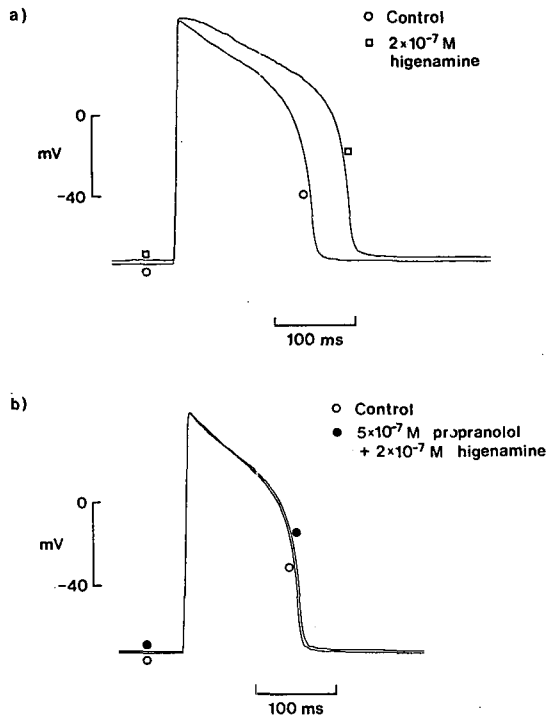


Fig. 3. Effect of 2×10^{-7} M higenamine on the action potential of ventricular cells.
 a) effect of higenamine on the action potential (\circ : control, Δ ; higenamine). Resting membrane potential was depolarized and the duration of the action potential increased by higenamine.
 b) Propranolol, 5×10^{-7} M blocked the effect of higenamine on the action potential. Very little change was noticed in the presence of propranolol and higenamine.

동전압의 지나치기 전압은 $+46$ mV에서 $+48$ mV로 약간 증가하였다. 한편 활동전압의 기간은 185 ms에서 220 ms로 증가하였다. 전반적인 변화 경향은 isoprenaline과 동일하였으나 다만 그 정도가 약간 적은 듯하였다.

b) 그림은 higenamine이 β -수용체를 통하여 효과를 나타내는지 여부를 밝히고자 5×10^{-7} M의 propranolol을 전처치한 다음 2×10^{-7} M의 higenamine을 투여한 결과이다. 대조 활동전압과 비

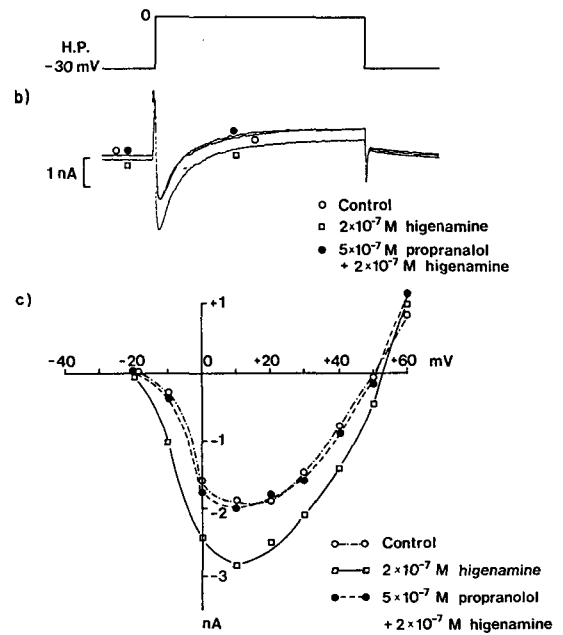


Fig. 4. Current-voltage relationship of Ca-current by higenamine.
 a) depolarizing pulse from holding potential, -30 mV to 0 mV for 300 ms.
 b) Ca-current activation by a) pulse in control (\circ), in 2×10^{-7} M higenamine (\square) and in 5×10^{-7} M propranolol and 2×10^{-7} M higenamine (\bullet). Higenamine itself shifted the holding current level to the inward direction and increased Ca-current but its effect was completely reversed by propranolol.
 c) current voltage diagram of Ca-current in control (\circ), in higenamine (\square) and in propranolol and higenamine (\bullet). Higenamine increased Ca-current in most voltage ranges and its effect was completely blocked by propranolol.

교하여 거의 비슷한 결과를 얻었다. 이로서 higenamine은 β -수용체를 통하여 그 효과를 나타낸 것을 알 수 있었다.

Isoprenaline의 경우에서와 마찬가지로 막전압 고정 실험을 하여 higenamine이 Ca-전류에 미치는 효과를 관찰하였다.

그림 4에 higenamine의 효과를 분석하였다. a) 그림은 H.P. -30 mV로부터 0 mV까지 30 mV 크기의 저분극 pulse를 나타낸 것이고 b) 그림은 이러한 pulse에 의하여 활성화되는 Ca-전류를 대조, higenamine 투여 그리고 propranolol 전처치 후 higenamine을 투여한 세 가지 결과를 중첩시킨 것이다. 대조시에 비하여 higenamine은 유지 전류를 내향 방향으로 이동시켰고 Ca-전류 또한 증가시켰다. 그러나 propranolol 전처치에 의하여 그 효과가 소실되었다. 그림 c)에 -30 mV부터 +60 mV에 이르는 범위를 매 10 mV간격으로 pulse를 주어 활성화된 Ca-전류의 IV curve를 보였다. 대조시에 비하여 higenamine은 전 범위에서 Ca-전류를 증가시켰다. 그러나 증가폭은 직접 비교하기는 어려우나 isoprenaline보다는 작은 편이었다. 또 higenamine의 효과는 propranolol의 전처치에 의하여 완전히 차단되었다.

3. 심방근 세포에 대한 higenamine의 효과

동일한 방법으로 isoprenaline 및 higenamine의 효과를 심방근 세포에서 관찰하였다.

그림 5의 a) 그림은 정상 대조시의 활동전압과 2×10^{-7} M의 isoprenaline을 투여했을 때의 활동전압을 중첩시켜 그린 것이다. 심방근 세포에서의 활동전압에 비하여 기간이 짧고 특히 plateau가 거의 없는 특징을 보이고 있다. Isoprenaline의 효과는 심방근 세포에서와 비슷하게 안정막 전압을 -73 mV에서 -72 mV로 약간 저분극 시켰고 지나치기 전압의 크기는 +50 mV에서 +53 mV로 약간 크게 하였으며 95% 재분극 되는 시점까지의 활동전압 기간은 192 ms로부터 265 ms로 길게하였다. 그러나 b) 그림에서처럼 대조시에 각 pulse에 대하여 활성화되는 Ca-전류를 2×10^{-7} M의 higenamine은 심방근에서와는 반대의 효과를 나타내었다. 안정막 전압은 거의 변화없이 -73 mV를 유지하였으나 지나치기 전압의 크기는

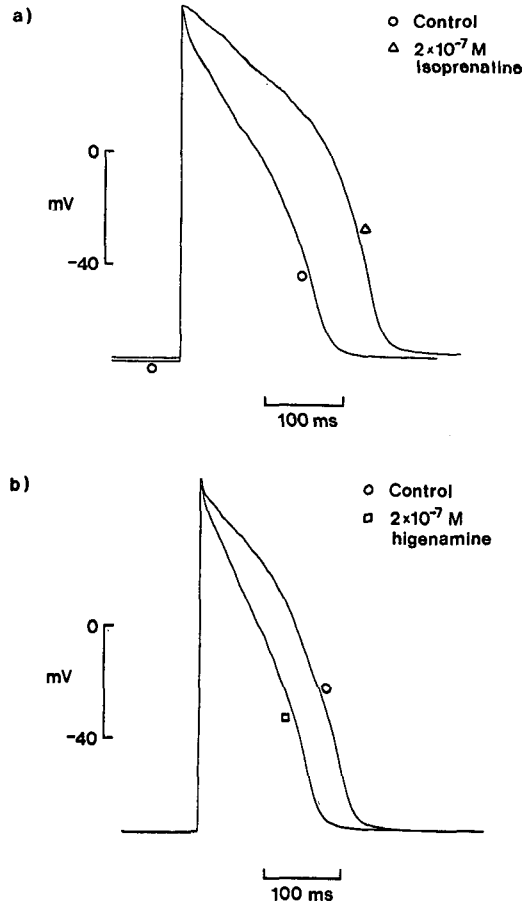


Fig. 5. Effects of 2×10^{-7} M isoprenaline (a) and 2×10^{-7} M higenamine (b) on the action potential of atrial cells.

- a) isoprenaline (Δ) increased the plateau, and the duration of the action potential and depolarized the resting membrane potential (\circ : control).
- b) the effect of higenamine on the atrial action potential. Higenamine reduced the plateau and the duration of the action potential (200 ms vs. 152 ms).

는 +52 mV에서 부터 +48 mV로 오히려 약간 감소시켰고, 활동전압의 기간은 200 ms로부터 152 ms로 현저히 단축시켰다. 이와 같은 결과는 β -agonist로 생각해진 higenamine의 작용으로서는 아주 예상 밖의 효과였다. 이러한 higenamine의 효과는 실험 기간(1시간 가량) 동안에는 다시 돌아오지 않는 비가

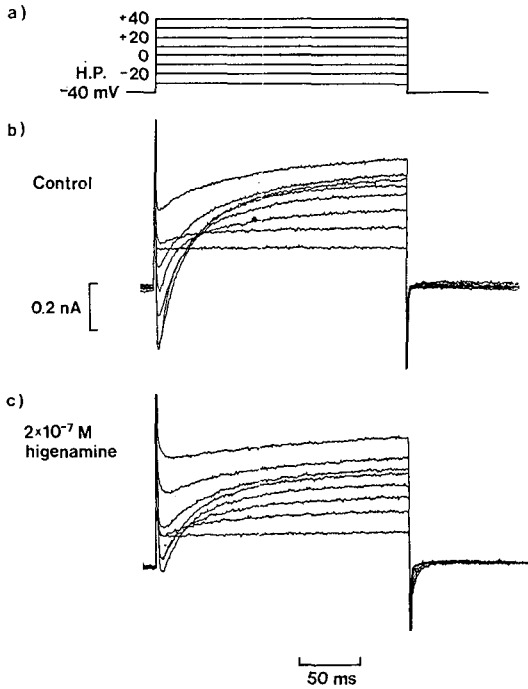


Fig. 6. Ca-current activation by various depolarizing pulses in control and in 2×10^{-7} M higenamine.
 a) pulse protocol for the activation of Ca-current from holding potential -40mV to $+40\text{mV}$ in 10mV steps.
 b) current activation in control condition
 c) Ca-current in higenamine. Inward Ca-currents were reduced in most step pulses.

역적인 변화였다.

어떻게 higenamine이 isoprenaline과 달리 활동전압의 크기와 시간을 감소시켰는 지를 알기 위하여 막전압 고정 실험을 하였다. 그림 6은 그 결과를 보인 것이다. a) 그림은 H.P. -40mV 로 부터 매 10mV 간격으로 $+40\text{mV}$ 까지 pulse를 200ms 동안 가하는 protocol이고 b) 그림은 대조시에 각 pulse에 대하여 활성화되는 Ca^{2+} 전류를, c) 그림은 2×10^{-7} M의 higenamine 존재하에 활성화 되는 양상을 보인 것이다. Higenamine에 의하여 Ca^{2+} 전류가 현저히 감소한 것을 알 수 있다.

이와 같은 higenamine의 효과를 좀 더 분명히 하

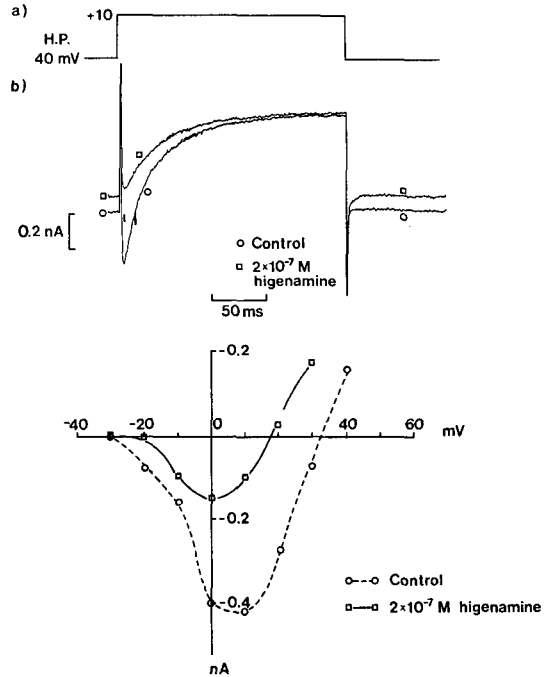


Fig. 7. Current-voltage relationship of Ca-current by higenamine in atrial cells.
 a) voltage record from holding potential -40mV to $+10\text{mV}$ for 200ms .
 b) Ca-current activation by a) pulse in control (\circ) and in 2×10^{-7} M higenamine (\square). Higenamine decreased the peak current and shifted the holding current level to the outward direction.
 c) I-V diagram of Ca-current in control (\circ) and in higenamine (\square).

기 위하여 그림 7에 다시 그려 보았다. a) 그림은 H.P. -40mV 에서 $+10\text{mV}$ 까지 50mV 의 저분극 pulse를 주었을 때 b) 그림에 Ca^{2+} 전류 활성화를 대조시 및 higenamine 투여시를 중첩시켰고 c) 그림은 그림 6에 보인 Ca^{2+} 전류의 활성화를 IV curve로 표시한 것이다. Higenamine은 Ca^{2+} 전류를 모든 막전압 범위에서 감소시켰고 유지 전류를 외향 방향으로 이동시켰다. 그러나 활동전압의 크기의 감소나 기간의 단축이 Ca^{2+} 전류의 감소에 의하여 일어난 것임에는 틀림없으나 Ca^{2+} 전류 외의 전류계의 관여 여부는 이 결과만으로 단정할 수는 없었다.

고 찰

1. 단일 심근에서 기록되는 Ca-전류

Ca-전류에 관한 지식은 막전압 고정법(voltage clamp technique)의 발전에 크게 의존하여 왔고(Hagiwara & Byerly, 1981; Tsien, 1983) 또 근래에 알려진 단일 심근 분리 및 internal dialysis를 이용한 조절에 의하여 순수한 Ca-전류를 분리할 수 있게 되었다(Kostyuk & Krishtal, 1977; Akaike et al., 1978). 단일 심근 세포에서 기록되는 Ca-전류는 종래의 심근 조직에서 기록되었던 결과와는 상당한 차이점을 나타내었다. 즉 단일심근에서의 Ca-전류는 조직 절편에서 얻었던 기록으로 예상했던 것보다 훨씬 그 크기가 컸고(Isenberg & Klöckner, 1982; Tsien, 1983) 활성화되는 시간이나 비활성화되는 시간 경과가 더욱 빨랐다(Isenberg & Klöckner, 1982; Tsien, 1983; Hume & Giles, 1983). 이러한 차이점은 아마도 조직 절편에서는 직렬저항 성분이 크기때문에 생긴 것으로 추측되나 세포와 세포사이의 간격에서의 전기화학적 평형이 시간에 따라 변화할 가능성도 제시되고 있다(Levis et al., 1983).

본 실험에서는 patch electrode 속을 활동전압 기록시에는 K-aspartate를 사용하였고 심실근 세포에서의 막전류 기록시에는 Cs-aspartate를 사용하여 보통 1시간 가량은 아주 안정된 기록을 보였고 경우에 따라서는 2~3시간까지도 유지되었다. Cl 대신 aspartate를 사용한 것은 활동전압의 plateau나 Ca-전류가 Cl 사용시 빨리 소멸된다는 실험 결과(Irisawa & Kokubun, 1983)를 이용한 것으로 효과가 있었던 것 같다.

Ca-전류의 크기, 시간 경과, 활성화 범위 등은 대체적으로 다른 연구자들의 보고(Isenberg & Klöckner, 1982; Matsuda & Noma, 1984)와 유사하였다.

2. β -agonist의 효과

본 연구의 중요 결과는 isoprenaline은 심방근 세포에서나 심실근 세포에서 모두 활동전압의 기간을 연장시키고 Ca-전류를 증가시키는 전형적인 β -agonist의 효과(Reuter, 1974; Reuter & Scholz, 1977; Bean et al., 1984)와 동일하였으나 higena-

mine의 효과가 심실근 세포에서 정도는 약간 적은듯 했지만 isoprenaline과 비슷한 결과를 보였으나 심방근 세포에서는 오히려 반대의효과를 보인 점이다.

일반적으로 β -agonist들은 종래 조직 절편에서 얻어졌던 결과(Vassort et al., 1969; Reuter & Scholz, 1977; Reuter, 1979; Reuter, 1983)와 비슷하게 단일 심근에서도 활성화 혹은 비활성화의 시간 경과에 변함없이 단순히 Ca-전류만을 증가시키는 것으로 밝혀졌다(Isenberg & Klöckner, 1982). 더우기 β -agonist의 작용 효과는 세포 내로의 c-AMP의 투석(dialysis) (Trautwein et al., 1982; Irisawa & Kokubun, 1983)이나 혹은 c-AMP 의존성 protein kinase의 catalytic unit를 단일 심근 내로 주입하였을 때(Osterrieder et al., 1982)의 효과와 동일함이 밝혀졌다. 이 결과는 β -adrenergic neurotransmitter나 β -agonist의 Ca-통로에 대한 작용은 c-AMP 의존성 인 단백질의 phosphorylation에 의한다는 가설을 더욱 뒷받침하게 되었다. 이러한 β -agonist의 작용 이전에 의하면 심방근이나 심실근에 따른 차이점을 볼 수가 없으며 실제로 본 실험의 isoprenaline의 결과가 이를 뒷받침한다. 그러나 β -agonist의 작용을 가진 것으로 알려진 higenamine은 동방결절에서 Ca-전류를 증가시키고(Rhee et al., 1987), 심방 및 유두근 절편에서도 Ca-전류를 증가시킨다는 보고(Kwon et al., 1981; Chang et al., 1981)에 의한 결과들이 이를 뒷받침한다. 그러나 이들 결과는 모두 활동전압의 모양이나 dV/dt 로서 추정된 것이고 막전압고정법에 의하여 직접 Ca-전류를 측정된 것은 아니었다.

심실근 세포에서의 결과는 종래의 조직 절편에서 얻었던 결과와 대체적으로 유사한 것이나 심방근에서의 효과는 전혀 예상하지 못했던 반대의 결과를 얻었다. 심방근 세포에서 활동전압의 기간이 단축되고 Ca-전류가 감소한 효과는 β -agonist의 작용과는 반대로 acetylcholine의 효과와 매우 흡사하였다.

본 실험에서는 주로 Ca-전류에 대한 효과만을 관찰하였으나 higenamine은 심방근 세포에서 holding current level을 외향성 방향으로 이동시키고, Ca-전류가 있어도 전체적으로 내향방향보다는 외향 방향으로 치우친 것으로 미루어 보아 K-전류를 변화시킨 효과로 해석할 수 있겠다. 그러나 좀 더 정확한 것은 K-전류를 분석해야 가능할 것 같다. 따라서 Ca

-전류가 단순히 K-전류 증가에 의해 차폐되어 감소된 것으로 나타났는지 혹은 K-전류 증가와 Ca-전류의 감소가 같이 존재하는지 여부는 앞으로 추구해야 할 과제라고 생각된다.

결 론

Guinea-pig 심장을 collagenase를 사용하여 단일 심근으로 분리한 뒤 심방근 세포 및 심실근 세포에서 patch clamp 방법을 이용하여 활동전압 및 Ca-전류를 기록하고 β -agonist로 알려진 higenamine의 효과를 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 심실근 세포에서 β -agonist인 isoprenaline은 활동전압의 기간을 현저하게 연장시켰으며 Ca-전류도 증가시켰다.

2) Higenamine은 심실근 세포에서 isoprenaline과 비슷하게 활동전압의 기간을 연장시키고 Ca-전류를 증가시켰다. 이러한 higenamine의 효과는 propranolol에 의하여 억제되었다.

3) 심방근 세포에서 isoprenaline은 심실근 세포에서와 마찬가지로 활동전압의 기간을 연장시켰고 Ca-전류를 증가시켰다.

4) 심방근 세포에서 higenamine은 심실근 세포와는 반대로 활동전압의 기간을 단축시켰으며 Ca-전류도 현저히 감소시켰다.

이상의 결과로 보아 higenamine은 심실근 세포에 대해서는 전형적인 β -agonist로 작용하여 Ca-전류를 증가시키고 활동전압 기간을 연장시켰으며 β -blocker에 의하여 그 효과가 차단되었으나, 심방근에서는 활동전압 기간의 단축과 Ca-전류의 감소라는 β -agonist의 작용과는 반대 효과를 보였다. 이러한 higenamine의 작용은 주로 Ca-전류의 감소 효과에 의한 것으로 사료된다.

REFERENCES

Akaike N, Lee KS & Brown AM (1978). The calcium current of helix neurones. *J Gen Physiol* 71, 509-531

Bean BP, Nowycky M & Tsien RW (1984). β -adrenergic modulation of calcium channels in frog ventricular heart cells. *Nature* 307, 371-375

Brum G, Osterrieder W & Trautwein W (1984). β -adrenergic increase in the calcium conductance of cardiac myocytes studied with the patch clamp. *Pflügers Arch* 401, 111-118

Chang KC, Lim JK, Park CW & Kim MS (1981). Studies on the mechanism of positive inotropic action of higenamine - interrelationship with calcium. *Kor J Pharmacol* 17 (2), 7-16 (in Korean)

Hagiwara S & Byerly L (1981). Calcium channel. *Ann rev Neurosci* 4, 69-125

Hamill OP, Marty A, Neher E, Sakmann B & Sigworth J (1981). Improved patch-clamp techniques for high-resolution current recording from cells and cell-free membrane patches. *Pflügers Arch* 391, 85-100

Hume JR & Giles W (1983). Ionic currents in single isolated bullfrog atrial cells. *J Gen Physiol* 81, 153-194

Irisawa H & Kokubun S (1983). Modulation by intracellular ATP and cyclic AMP of the slow inward current in isolated single ventricular cells of the guinea-pig. *J Physiol* 338, 321-337

Isenberg G & Klöckner U (1982). Calcium currents of isolated bovine ventricular myocytes are fast and of large amplitude. *Pflügers Arch* 395, 30-41

Kostyuk PG & Krishtal OA (1977). Separation of sodium and calcium currents in the somatic membrane of mollusc neurones. *J Physiol* 270, 545-568

Kwon PJ, Cho SI, Uhm DY & Rhee SD (1981). Effects of higenamine on action potential and contractility of cardiac muscle. *Chung-Ang J Med* 6 (4), 543-550 (in Korean)

Lee KS & Tsien RW (1982). Reversal of current through calcium channels in dialysed single heart cells. *Nature* 297, 498-501

Lee KS & Tsien RW (1983). Mechanism of calcium channel blockade by verapamil, D 600, diltiazem and nitrendipine in single dialysed heart cells. *Nature* 302, 790-794

Levis RA, Mathias RT & Eisenberg RS (1983). Electrical properties of sheep Purkinje strands. Electrical and chemical potentials in the cleft. *Biophys J* 44, 225-248

Matsuda H & Noma A (1984). Isolation of calcium current and its sensitivity to monovalent cations in dialysed ventricular cells of guinea-pig. *J Physiol*

- 357, 553-573
- Noble D (1979). *The initiation of heartbeat*. Oxford university Press, Oxford
- Osterrieder W, Brum G, Hescheler J & Trautwein W (1982). Injection of subunits of cyclic AMP-dependent protein kinase into cardiac myocytes modulates Ca-current. *Nature* 298, 576-578
- Reuter H (1974). Localization of β -adrenergic receptors and effects of noradrenaline and cyclic nucleotides on action potentials, ionic currents and tension in mammalian cardiac muscle. *J Physiol* 242, 429-451
- Reuter H (1979). Properties of two inward membrane currents in the heart. *Ann Rev physiol* 41, 413-424
- Reuter H (1983). Calcium channel modulation by neurotransmitters. *Nature* 301, 569-574
- Reuter H & Scholz H (1977). The regulation of the Ca conductance of cardiac muscle by adrenaline. *J Physiol* 264, 49-62
- Rhee SD, Uhm DY, Cho SI, Bang HW & Yoon BM (1987). Effects of higenamine on the electrical properties of the rabbit sinoatrial node. *Chung-Ang J Med* 12 (2), 195-203 (in Korean)
- Siegelbaum SA & Tsien RW (1983). Modulation of gated ion channels as a mode of transmitter action. *Trends Neurosci* 6, 303-313
- Trautwein W, Taniguchi J & Noma A (1982). The effect of intracellular cyclic nucleotides and calcium on the action potential and acetylcholine reponse of isolated cardiac cells. *Pflügers Arch* 392, 307-314
- Tsien RW (1983). Calcium channels in excitable cell membranes. *Ann Rev Physiol* 45, 341-358
- Vassort G, Rougier O, Garnier D, Sauviat MP, Coraboeuf E & Gargouil YM (1969). Effects of adrenaline on membrane inward currents during the cardiac action potential. *Pflügers Arch* 309, 70-81