

심근 수축력 저하를 유발하는 Ryanodine의 작용 기전

연세대학교 의과대학 생리학교실

안 덕 선 · 서 창 국 · 강 두 희

(1987년 8월 19일 접수)

= Abstract =

Mechanism of Inhibition of Cardiac Muscle Contractility by Ryanodine

Duck Sun Ahn, Chang Kook Suh and Doo Hee Kang

Department of Physiology, College of Medicine,

Yonsei University, Seoul, Korea

Since it has been known that ryanodine has a potent negative inotropic effect on the cardiac muscle contractility (Jenden and Fairhurst, 1968), ryanodine has been a subject of intensive research (Frank and Sleator, 1975; Jones et al, 1978; Sutko et al, 1985). However, the underlying mechanism for the ryanodine dependent negative inotropic effect is still uncertain.

In this study, the effects of ryanodine on the generation and relaxation of contracture due to Na-withdrawal and on the force-frequency relationship of heart muscles isolated from rats and guinea pigs were measured in an effort to understand the underlying mechanism of the ryanodine-induced negative inotropy. Results are summarized as follows:

- 1) Ryanodine significantly reduced the contractility of heart muscles produced at low frequency of stimulation, but showed a little effect on the contractility at high frequency stimulation.
- 2) Ryanodine, at the concentrations ranging from 10^{-6} M to 10^{-8} M, had no significant effect on the Na-dependent relaxation of Na-withdrawl contracture.
- 3) Ryanodine significantly reduced the amplitude of the Na-withdrawl contracture, and this inhibitory effect was reinforced by procaine, antiagonized by caffeine and high potassium.

From these results, it may be concluded that the negative inotropic effect of ryanodine is mainly due to an inhibition of calcium release from sarcoplasmic reticulum.

Key Words: Cardiac muscle, Ryanodine, Contracture, Sarcoplasmic reticulum, Sodium-calcium exchange

서 론

Ryanodine은 *rynia speciosa*에서 추출된 plant alkaloid로서 심근 및 골격근의 수축양상에 커다란 영향을 끼침이 보고되었다(Jenden & Fairhurst, 1969). 특히 심근 수축력의 저하가 아주 낮은 농도 (10^{-9} M)의 ryanodine에 의해 유발되는 것으로 보

아 심근 세포 내에 ryanodine이 작용하는 특정부위가 존재하리라 추측되었고 이에 대한 많은 연구가 진행되어 왔으나 아직 그 기전은 명확히 밝혀지지 않았다(Penefsky, 1974a, b; Frank & Sleator, 1975; Jones et al, 1979; Sutko & Kenyon 1983).

그런데 심근의 수축력은 세포 내에서의 이용이 가능한 free calcium ion(Ca^{2+})양에 의해 결정되며 이 같은 Ca^{2+} 양은 세포막을 통한 Ca^{2+} 이동량과

sarcoplasmic reticulum (SR)의 활성도에 의해 영향을 받게 됨은 이미 잘알려져 있다(Weber and herz, 1968; Lee & Dagonisto, 1982; Marban & Tsien, 1982; Lin & Vassalle, 1983). 따라서 ryanodine 투여시 나타나는 심근 수축력 저하 현상을 이들 통해서 설명하고자하는 많은 시도가 있었다.

이제까지 ryanodine에 의한 심근 수축력 저하 현상에 관여한다고 거론된 연구 결과를 종합해 보면 Ca^{2+} channel blocker를 이용하여 세포내로의 Ca^{2+} 유입량을 저하시킬때 심근의 수축력은 감소하게 되는데 (Fleckenstein, 1983), ryanodine에 의해 수축력이 저하된 상태에서도 심근세포 내로의 slow inward current에는 변화가 없거나 오히려 증가됨을 보고하였다 (Sutko & kenyon, 1983; Mitchell et al., 1984). 또 심근막을 통한 Ca^{2+} 유출량이 변하는 경우에도 심근의 수축력은 변화하게 되는데 (Park et al., 1986), 저농도의 ryanodine에 의해 심근 수축력 저하와 심근으로부터의 Ca^{2+} 유출이 동시에 증가하는 것이 보고되었다(Naylor et al., 1970; Frank & Sleator, 1975). 그런데 심근 세포로부터의 Ca^{2+} 유출은 주로 Na^+-Ca^{2+} exchange과정을 통해 이루어 지게 된다(Mullins, 1981). 따라서 이같은 Ca^{2+} 유출의 증가는 ryanodine이 Na^+-Ca^{2+} 교환과정을 증가시켜서 심근세포로부터의 Ca^{2+} 유출을 증가시켜주고 이결과 심근 수축력의 저하가 일어남을 시사한다(Hilgemann et al., 1983). 또한 분리된 SR vesicle과 skinned muscle fiber를 이용한 실험에서 ryanodine이 SR로부터의 Ca^{2+} release를 억제함을 관찰할 수 있었다

(Jones et al., 1978; Chamberlain et al., 1984; Fabiato, 1985). 또 근수축에 SR의 참여가 많은 동물이나 심근에서 ryanodine에 의한 수축력 저하효과가 큼이 보고되었다(Sutko & Willerson, 1980). 이같은 결과를 토대로 Sutko등은 ryanodine이 SR에 작용하여 그로부터의 Ca^{2+} release를 억제해서 심근 수축력이 감소한다고 추측하였으나(Sutko et al., 1984) 이를 위하여 필요한 ryanodine의 농도는 심근 수축력 저하에 필요한 ryanodine농도보다 1000배 이상의 높은 농도를 필요로 하는 단점이 제기되는 등(Fabiato, 1985) 아직 ryanodine에 의해 나타는 수축력 저하현상에 대한 명확한 기전은 제시되지 못하였다.

이에 본 연구에서는 rat과 guinea pig의 좌심방근을 사용하여 Na-withdrawal contracture의 발생 및 이와에 미치는 ryanodine의 영향과 심근의 force-frequency relationship에 미치는 ryanodine의 영향을 관찰하고, 또 이미 작용 부위 및 기전들이 잘 알려진 몇 가지 약물, 즉 caffeine이나 local anesthetics (procaine)등과 ryanodine을 함께 사용하여 이들이 ryanodine의 효과에 미치는 영향을 관찰하여 심근 수축력 저하를 유발하는 ryanodine의 작용기전의 일부를 살펴보고자 하였다.

실험 방법

1. 실험동물 및 시약

실험 동물은 체중 200~300 gm 정도의 성숙한 흰 쥐와 guinea pig를 사용하였으며 실험 용액으로는

Table 1. Composition of experimental solutions (mM)

	NaCl	Sucrose	KCl	K_2SO_4	$CaCl_2$	$MgSO_4$	NaH_2PO_4	Tris	Glucose
N	137	—	4	—	2.5	1.2	0.3	10	10
R1	87.5	—	—	25	—	1.2	0.3	10	10
R2	137	—	4	—	—	1.2	0.3	10	10
R3	112	—	32	—	—	1.2	0.3	10	10
R4	112	—	4	—	—	1.2	0.3	10	10
R5	30	164	4	—	—	1.2	0.3	10	10
L1	—	175	—	25	2.5	1.2	0.3	10	10
L2	—	274	4	—	10	1.2	0.3	10	10
L3	—	224	32	—	10	1.2	0.3	10	10

N, Tyrode solution ; R, relaxing solutions ; L, loading solutions.

Tris-buffered Tyrode 용액을 사용하였다. 경축유발 및 이완에 사용한 용액은 Table 1과 같다. 필요에 따라 ryanodine과 vanadate를 buffer 용액에 첨가하여 사용하였다.

2. 표본제작

흰쥐 및 guinea pig의 두부를 강타한 후 심장을 신속히 적출하여 이를 100% 산소로 포화된 Tris-buffered Tyrode 용액에 넣은 후 좌심방을 분리하여 이를 실험에 사용하였다.

3. 장력측정

준비된 좌심방근의 양끝을 실로 묶은 후 그의 한 끝은 100% 산소로 포화된 실험 용액이 10 ml/min 속도로 관류되는 수평형 chamber 바닥에 고정하였고 다른 한 끝은 force transducer (FT-03)에 연결하여 physiograph (Narco Biosystems)를 이용하여 좌심방근의 장력을 기록하였다. 이때 chamber내의 온도는 temperature-controlled water bath를 이용하여 37°C로 일정하게 유지하였다.

이같이 준비된 좌심방근을 역치전압보다 10% 큰 자극 강도와 1 contraction per second(cps)의 빈도로 자극을 가하면서 표본제작 과정에서 발생한 손상에서 회복되도록 하였다. 이때 근육의 길이를 단계적으로 늘려가면서 최적 길이를 결정하였고 그 상태에서 약 20~30분간 안정시킨 후 실험을 시작하였다.

1) Force-frequency relationship의 측정 : 자극 빈도를 0.2cps에서 4 cps까지 단계적으로 바꿔가면서 각 자극 빈도에서 guinea pig 좌심방근의 steady-state 수축력을 측정하였고, ryanodine을 첨가하여 이에 미치는 영향을 관찰하였다.

2) 경축 발생 및 이완의 측정 : 실험표본이 안정된 후 자극을 중단한 상태에서 Table 1과 같은 조성을 갖고 있는 경축 유발 및 이완 용액으로 좌심방근을 관류시키면서 각각의 경축 발생 및 이완되는 과정을 측정하여 이를 대조군으로 삼았다. 이 경우 guinea pig 좌심방근은 경축유발이 용이하지 않았고, 그의 구입에도 어려움이 있어서 rat 좌심방근을 사용하여 실험하였다. 결과 분석은 경축의 크기 및 이완의 시간 경과 등에 중점을 두고 시행하였는데 시간 경과

에 따른 이완 과정의 변화는 semilog paper의 가로축에 시간을, 세로축에 최대 경축 장력에 대한 백분율로 표시된 장력치를 도시하여 나타내었고 이를 이용하여 compartment analysis를 시행하였다. 통계처리에는 student t-test를 이용하였다.

이같은 경축의 발생 및 이완 과정에서의 세포 막전압의 변화를 측정하였으나 실험과정 동안 막전압이 일정하게 유지되지 않아서 본 실험결과에는 보고하지 않았다.

3) Steady-state contractile tension에 미치는 ryanodine의 영향 : Rat 좌심방근을 1 cps와 0.1 cps의 자극빈도로 자극하여 그의 수축력이 평형상태에 도달한 것을 확인한 후 ryanodine을 첨가하여 ryanodine의 효과가 나타나는 시간과 시간경과에 따른 수축력의 변화를 측정하였다. 비교의 목적으로 caffeine과 verapamil을 사용하여 같은 방법으로 이들의 효과를 관찰하였다.

실 험 성 적

1. Force-frequency relationship에 미치는 ryanodine의 영향

Guinea pig 좌심방근의 전기 자극 빈도수에 따른 등장성 수축력의 변화양상(O)과 이에 미치는

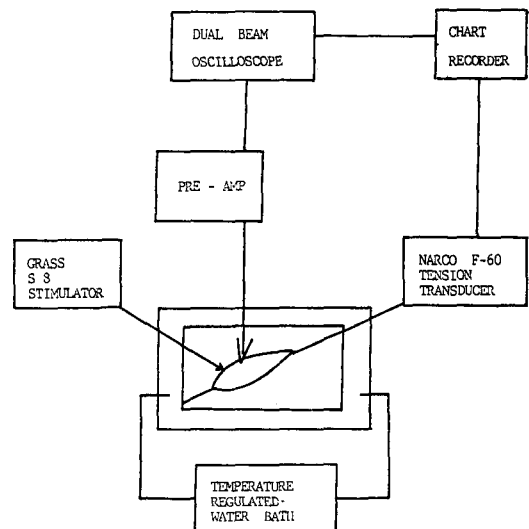


Fig. 1. Schematic diagram of experimental set-up.

ryanodine의 영향(●)을 Fig. 2에 나타내었다. 대조군의 경우 자극 빈도를 0.5 cps에서 0.2 cps로 감소시 수축력이 증가하였고, 또 0.5 cps에서 4 cps로 자극 빈도를 증가시 수축력의 크기가 증가하는 전형적인 포유류 심방근의 자극-수축 양상을 볼 수 있다 (Gibbons, 1985).

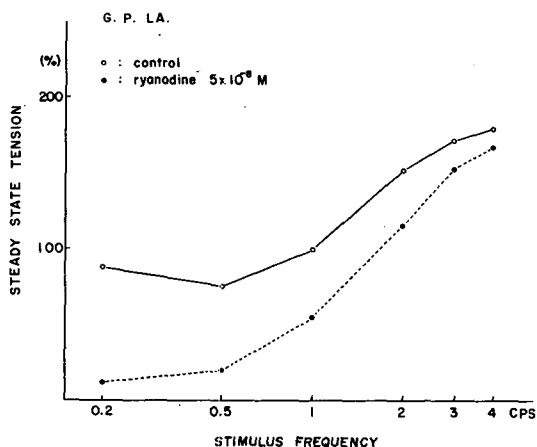


Fig. 2. Effects of ryanodine on the force-frequency relationship of guinea pig left atrium. Ryanodine (○) suppressed the contractility of guinea pig left atrium, especially at lower stimulation rates. The steady-state contractility was presented as the percentile of the steady-state contractility of 1 cps.

이때 ryanodine (5×10^{-8} M)을 첨가하여 같은 조작을 반복한 결과 높은 자극 빈도에서의 수축력의 크기에는 별영향이 없었으나 낮은 자극 빈도 (0.2 cps)에서의 수축력의 크기는 현저히 감소하였다.

2. 세포 외 Na^+ 농도와 경축 이완 정도

50 mM K^+ , 50 mM caffeine 존재하에서 Na^+ -free

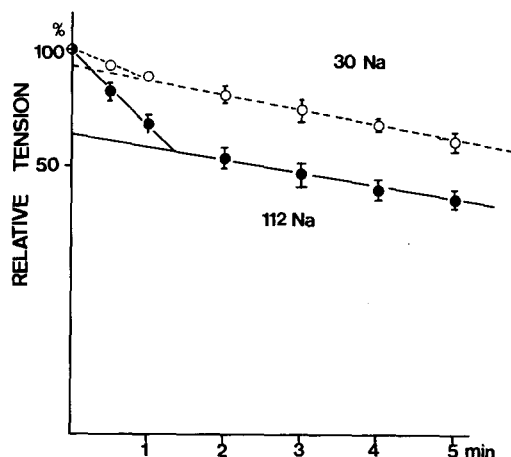


Fig. 4. Effects of external Na^+ on the relaxation of normal K^+ -contracture.

In the presence of 4 mM K^+ and 50 mM caffeine, the relaxations induced by 30 mM and 112 mM Na^+ relaxing solutions were plotted as functions of time. Each data represent mean and standard error.

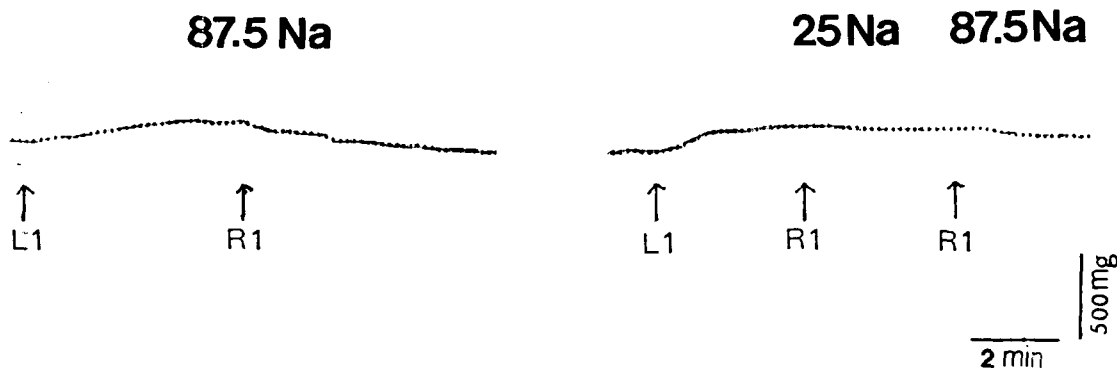


Fig. 3. Relaxing effects of external Na^+ on the high K^+ -contracture. In the presence of 50 mM K^+ and 50 mM caffeine, 87.5 mM Na^+ -relaxing solution induced the relaxation of contracture. See Table 1 for the specific solutions used. L1, loading solution; R1, relaxing solution, R1', relaxing solution with 25 mM Na^+ .

용액으로 경축을 유발시킨 후 관류액 내의 Na 농도만을 증가시키면서 경축 이완에 미치는 외부 Na⁺의 효과를 관찰하였다 (Fig. 3). 이때 사용한 caffeine의 농도는 2 mM에서 부터 그 농도를 높여서 실험하였으나 2-10 mM에서는 그 효과가 크지 않아 실험결과에는 SR로부터의 Ca²⁺ 유리가 최대가 되는 50 mM때

의 성적을 나타내었다. 25 mM Na⁺에선 거의 이완이 유발되지 않다가 외부 Na⁺ 농도를 87.5 mM으로 증가시켜주자 급격히 경축이완이 일어남을 볼 수 있다. 이같은 효과를 외부 K⁺를 감소시켜준 상태(4 mM K⁺)에서 관찰하였다 (Fig. 4). 이 경우 경축 이완 양상이 2가지 성분(2 components)으로 분리되었

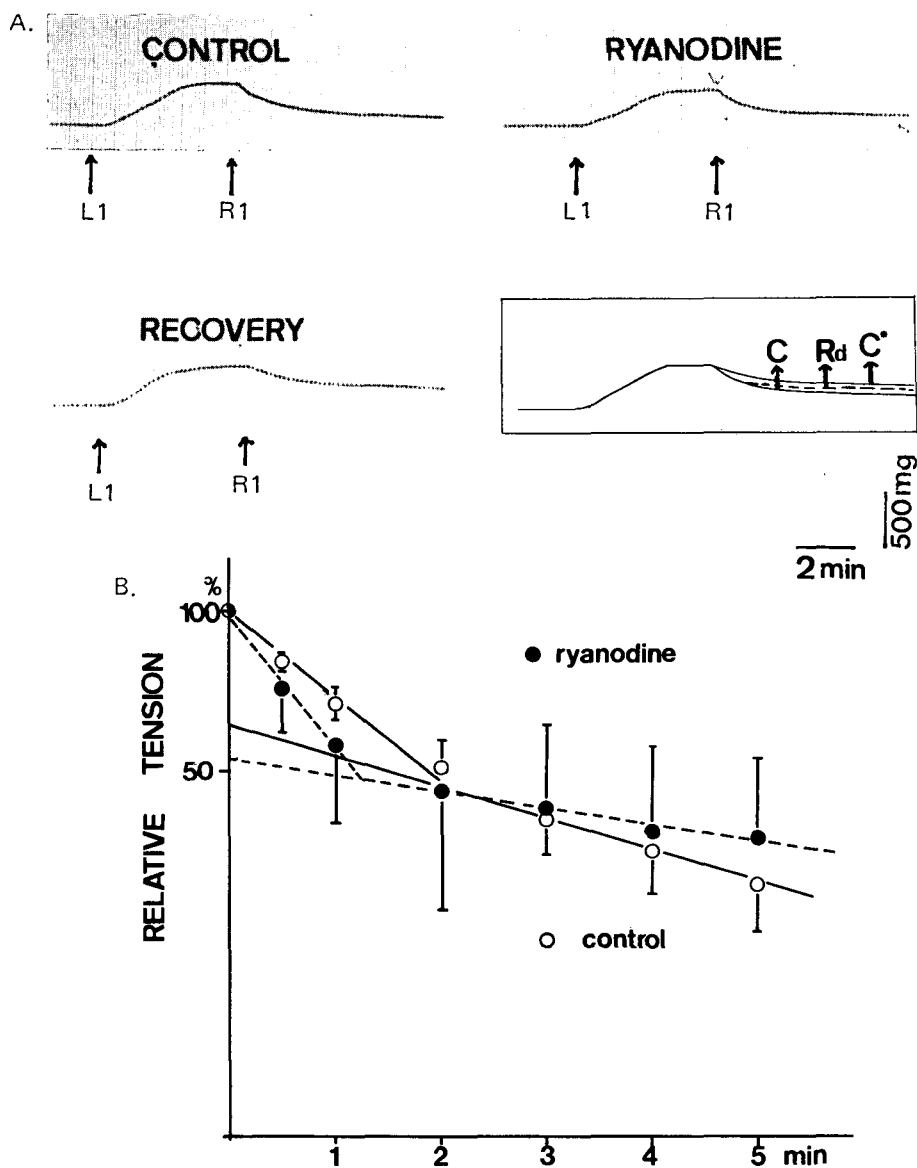


Fig. 5. Effect of ryanodine on the relaxation of high K⁺-contracture. In the presence of 50 mM K⁺ and 50 mM caffeine, ryanodine did not cause any significant changes in relaxations induced by 87.5 mM Na⁺ relaxing solution. Inset represents the superposition of three records in A. A, chart recordings ; B, relative tensions vs relaxation time.

으며 외부 Na^+ -농도가 높은 경우 초기성분(initial component)의 기울기가 현저히 증가하였으나 뒷 성분(second component)의 기울기에는 별변화가 없었다.

3. 경축 이완 과정에 미치는 ryanodine의 영향

1) 고농도 K^+ 상태(50 mM)에서 경축 이완 과정에 미치는 ryanodine의 영향 : 50 mM K^+ , 50 mM caffeine 존재하에서 외부 Na^+ 농도만을 87.5 mM로 증가시켜 경축이완을 유발하여 이를 대조군으로 삼았고, 같은 방법으로 ryanodine의 효과를 관찰하였다 (Fig. 5-A). 이때 시간 변화에 따른 경축 이완의 변화를 semilog paper에 도시하여 ryanodine의 효과를 살펴보았으나 유의한 차이가 없었다 (Fig. 5-B).

2) 정상 K^+ 상태(4 mM)에서 경축 이완 과정에 미치는 ryanodine의 영향 : 외부 K^+ 농도가 증가된 경우 막전압이 탈분극되고 SR로부터의 Ca^{2+} 유리가 증가하게 된다 (Martonosi, 1984). 그런데 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환과정은 electrogenic한 과정이므로 (Mullins, 1981) $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환과정을 통한 Ca^{2+} 배출은 막전

압에 의해 영향을 받게된다. 따라서 고농도 K^+ 상태에서 경축의 이완 정도에 ryanodine이 유의한 효과를 나타내지 못한 이유가 탈분극에 의해 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환과정에 의한 Ca^{2+} 유출이 억제되어 나타난 것인지를 알아보기 위해 외부 K^+ 농도를 감소시킨 상태

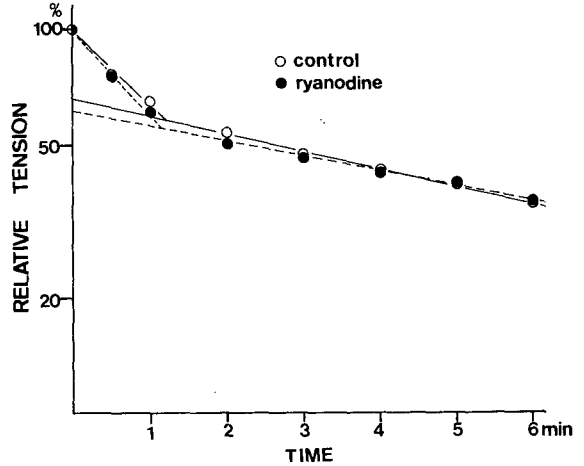


Fig. 6. Effect of ryanodine on the relaxation of normal K^+ -contracture. See the legend of Fig. 4.

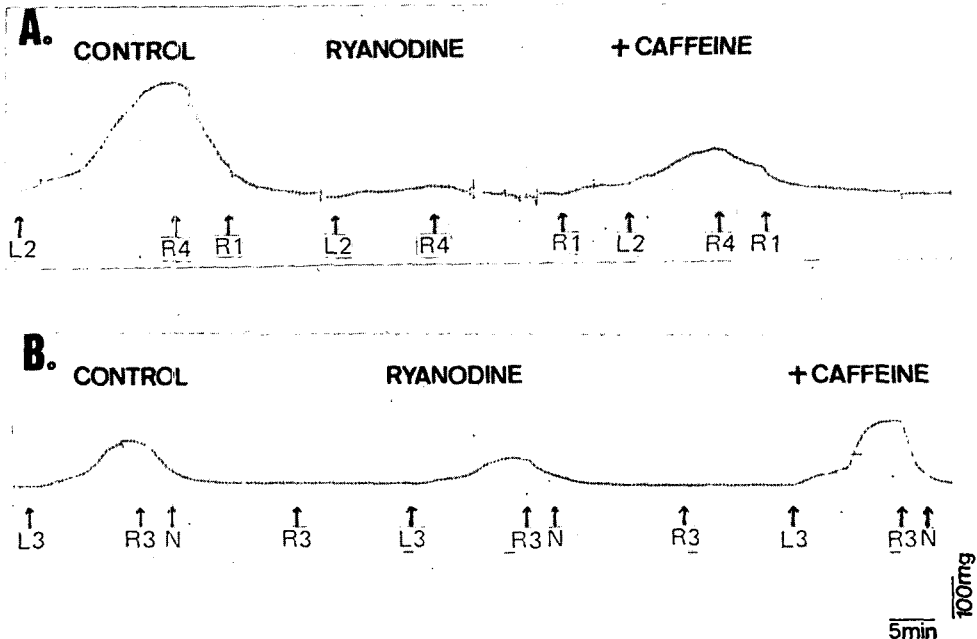


Fig. 7. Effect of ryanodine on the contracture amplitude. A, in the normal K^+ concentration, B, in the high K^+ concentration (32 mM). See the Table 1 for specific solutions used.

에서 ryanodine의 효과를 관찰해 보았다. 즉 4 mM K^+ , 50 mM caffeine 존재하에서 외부 Na^+ 농도를 112 mM로 증가시켜 경축 이완을 유발하여 이를 대조군으로 삼았고, 같은 방법으로 ryanodine의 효과를 살펴보았으나 어떤 유의한 차이가 없었다 (Fig. 6). Ryanodine 농도를 증가시켜 (10^{-6} M) 그 효과를 살펴보았으나 역시 유의한 차이가 없었다.

4. 경축 크기에 미치는 ryanodine의 영향

Tyrode 용액의 Na^+ 을 sucrose로 대체하여 유발시킨 경축의 크기에 미치는 ryanodine의 효과를 관찰한 결과 경축 크기가 대조군에 비해 현저히 감소하였고, 이 상태에서 caffeine (10 mM)을 첨가하자 경축 크기가 일부 회복되었다 (Fig. 7-A). 이후 외부 K^+

농도를 증가시킨 상태 (32 mM)에서 같은 조작을 반복하여 ryanodine의 효과를 살펴본 결과 정상 K^+ 상태에서 (4 mM) 보다는 그의 경축 크기 감소 효과가 미미하였고 이상태에서 caffeine 첨가시 대조군보다 경축의 크기가 더욱 커졌다 (Fig. 7-B).

5. 경축 크기에 미치는 procaine과 lanthanum의 효과

Tyrode 용액의 Na^+ 을 sucrose로 대체하여 경축 유발시 그 경축 양상이 2 components로 분리되는 것을 간혹 관찰할 수 있었고, 이때 procaine (0.5 mM) 투여시 초기 부분의 크기는 별변화가 없었으나 뒷부분의 크기는 감소하였다. Ryanodine을 병행해서 투여하자 뒷부분 감소 효과가 더욱 현저하였다 (Fig. 8

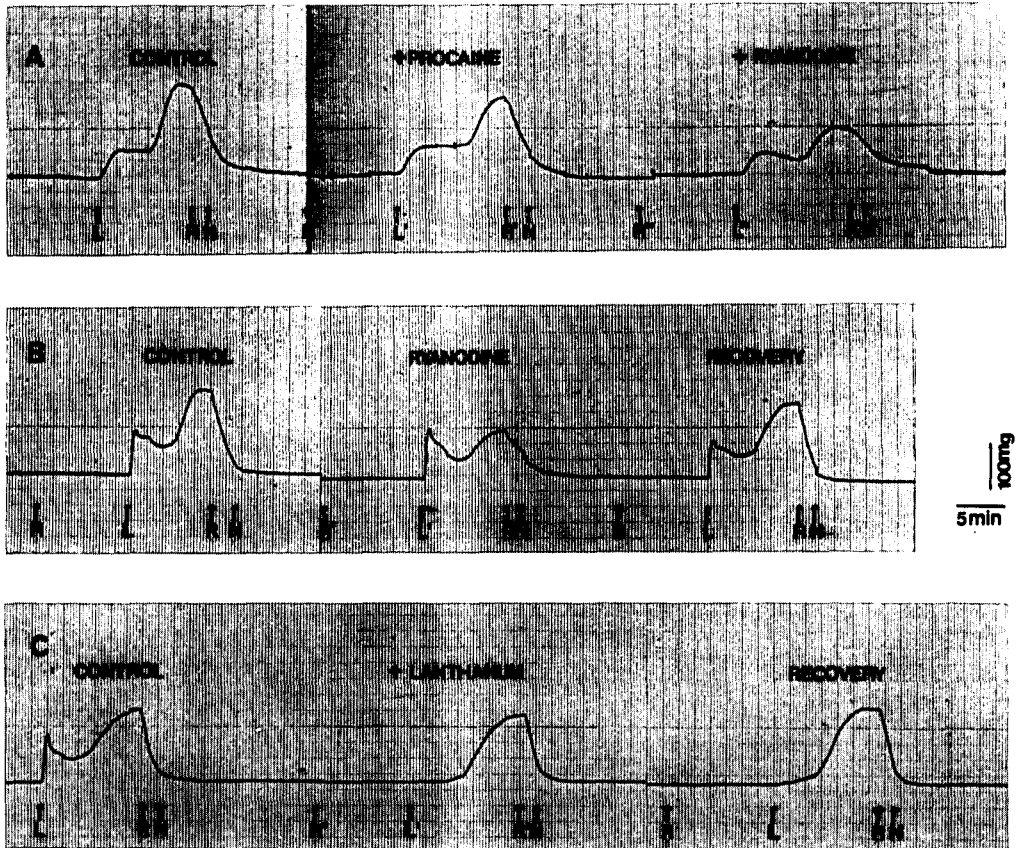


Fig. 8. Effects of procaine and lanthanum on the contracture amplitude. Following the superfusion of Tyrode solution (N), drugs were added into R2 and L2 solutions. A, procaine (0.5 mM) and ryanodine (5×10^{-6} M); B, 10 mM caffeine and ryanodine (5×10^{-6} M), C, lanthanum (0.1 mM) after B. See Table 1 for specific solutions used.

-A). 또 ryanodine만을 투여하였을때도 procaine 전 처치때와 같이 뒷부분의 크기가 감소하였다 (Fig. 8 -B). 이와는 달리 lanthanum(0.1 mM)을 첨가한 경우 초기 부분은 소실되었으나 뒷부분의 크기에는 별 다른 차이가 없었다 (Fig. 8-C)

6. Steady-State 수축력에 미치는 ryanodine의 영향

자극 빈도 0.1 cps와 1 cps에서 공히 ryanodine 투여 5분후 부터 장력 감소 효과가 뚜렷하게 나타나기 시작하였고 약 15분 후에 50%의 장력 감소 효과가 나타났다 (Fig. 9). Verapamil의 경우 자극빈도 0.1 cps에서의 장력 감소효과는 미미하였으나 1 cps의 자극 빈도에서는 약 30초후부터 수축력 감소 효과가 나타났다 (Fig. 11). Caffeine의 경우는 verapamil과는 달리 0.1 cps의 자극 빈도에서 caffeine 투여 후 약 30 초 부터 수축력 감소 효과가 나타났다. 1 cps의 자극빈도로 자극한 경우, 초기의 일시적인 수축력 증가후에 약 3분후부터 수축력이 다시 증가하여 8분 경에 최대치에 이른 후 서서히 감소하였다 (Fig. 10).

고 찰

1. 경축 양상에 미치는 ryanodine의 영향

심근 세포로부터의 Ca^{2+} 유출은 대부분 세포막에 존재하는 Ca^{2+} -ATPase와 Na^+/Ca^{2+} 교환 과정에 의

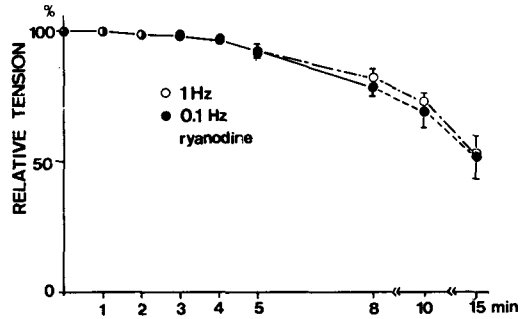


Fig. 9. Effect of ryanodine on the steady-state contractility of rat left atrium. Relative strengths of steady-state contractions at 0.1 and 1 cps were plotted as a function of ryanodine ($5 \times 10^{-6}M$) treatment time.

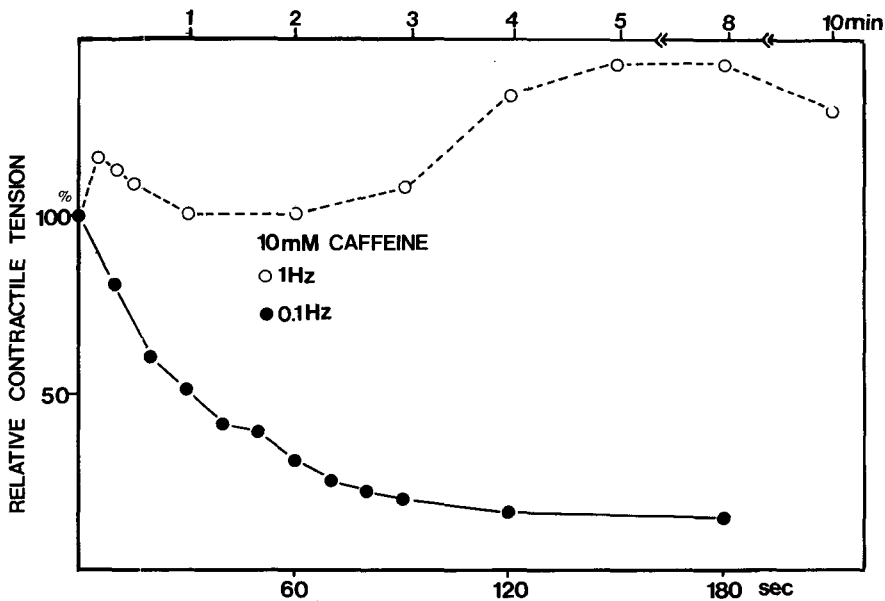


Fig. 10. Effect of caffeine on the steady-state contractility of rat left atrium. Relative strengths of steady-state contractions at 0.1 and 1 cps were plotted as a function of caffeine (10 mM) treatment time.

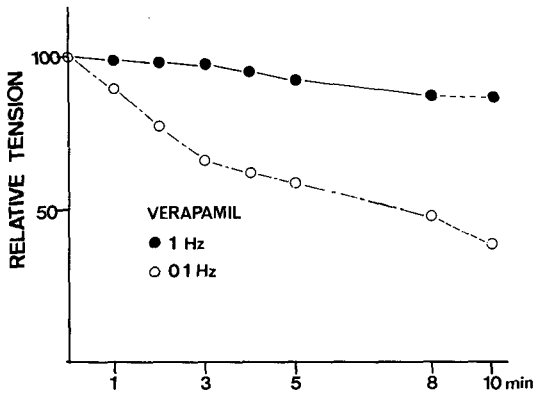


Fig. 11. Effect of verapamil on the steady-state contractility of rat left atrium. Relative strengths of steady-state contractions at 0.1 and 1 cps were plotted as a function of verapamil (5 mg/l) treatment time.

해 일어나게 되며 (Langer, 1982; Eisner et al., 1984) 이들 양자의 비중에 관해선 아직 확실치 않다 (Caroni & Carafoli, 1980; Champman, 1983). Fig. 4에서 외부 Na^+ 농도를 증가시켜 경축이완을 유발하는 경우 그의 이완 양상이 2 component로 분리되었으며 이때 외부 Na^+ 농도 변화에 따라 초기성분의 기울기가 함께 변화하는 것으로 보아 경축 이완 용액 관류시 나타나는 초기의 장력 감소는 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환 과정을 통한 Ca^{2+} 유출에 의한 것임을 시사한다. 이에 비해 후기의 장력 감소율은 Na^+ 농도 변화에 무관하게 나타났으며 이는 sarcolemmal Ca^{2+} -ATPase나 SR Ca^{2+} -ATPase 등에 의존하는 non-sodium dependent process에 의한 것임을 시사해준다. 이같은 결과는 다른 이들의 보고와도 일치한다 (Rasmussen et al, 1985).

이같이 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환 과정과 밀접한 관계를 갖고 있는 초기성분의 기울기에 미치는 ryanodine의 영향을 살펴본 결과 (Fig. 5, 6) 유의한 차이가 없었고 이는 ryanodine 농도를 10^{-6} M로 증가시킨 경우 (Fig. 6-B)에도 마찬가지였다 ($p > 0.05$). 이같은 초기 성분 기울기에 변화가 없는 본 실험 결과는 ryanodine이 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환 과정에 별효과가 없음을 시사한다.

경축 유발 용액에서 caffeine을 제거한 후 sodium

을 sucrose로 대체하여 경축을 유발시킨 경우 ryanodine을 첨가하자 그의 경축 크기가 대조군에 비해 현저히 감소하였고 (Fig. 7-A), 이때 caffeine 첨가나 탈분극 같은 SR로부터 Ca^{2+} 을 유리시켜주는 조작을 시행하는 경우 (Martonosi, 1984; Fabiato, 1985) ryanodine의 효과가 억제되는 것을 관찰할 수 있었다 (Fig. 7-B). 이같은 실험결과는 양서류 심근 같이 SR의 발달이 빈약한 조직에서는 ryanodine의 수축력 감소 효과가 미미하다는 보고와 일치한다 (Penefsky, 1974a).

2. 경축 양상에 미치는 lanthanum과 procaine의 영향

Lanthanum은 intact cell에서 세포막 바깥 부위에만 존재하면서 그의 surface-bound Ca^{2+} 을 구속하는 잘 알려져 있다 (Burton et al., 1977; Langer et al., 1979). 경축 양상에 미치는 lanthanum의 영향을 살펴본 결과 경축의 초기 부분은 소실되었으나 뒷부분의 크기에는 별 영향이 없었다 (Fig. 8-C). 따라서 경축 유발 용액으로 교환 시에 나타나는 초기 부분은 surface-bound Ca^{2+} pool로부터 유입되는 Ca^{2+} 양을 반영하며 뒷 부분은 SR에서 유리되는 Ca^{2+} 양을 반영한다고 생각된다. 이때 SR로부터의 Ca^{2+} 유리를 억제해주는 procaine (Kang & Lee, 1977)을 투여하거나 (Fig. 8-A) ryanodine을 투여한 경우 (Fig. 8-B) 초기부분의 크기에는 별 영향이 없었고 뒷부분의 크기는 감소시켜주었다. Ryanodine과 procaine을 함께 투여시에 뒷부분의 크기 감소가 더욱 현저해졌으며 (Fig. 8-A) 이는 ryanodine과 procaine이 서로 synergistic 하게 SR으로부터의 Ca^{2+} 유리를 억제시킴을 시사한다.

3. Steady-State 수축력에 미치는 ryanodine의 영향

세포막에 작용하여 심근 세포 내로의 유입을 억제시켜주는 verapamil의 경우 (Fleckenstein, 1983) 높은 자극 빈도 (1 cps)에서의 steady-state 수축력이 약물 투여 후 30초 이내에 감소하기 시작하였고 (Fig. 11), 세포내 Ca^{2+} 저장소로 알려진 SR로의 Ca^{2+} uptake을 억제하다고 알려진 caffeine 역시 낮은 자극 빈도 (0.1 cps)에서의 steady-state 수축력을 투여 초기부터 (30초 이내) 현저히 감소시켰다 (Fig. 10).

이와는 달리 ryanodine은 약물투여 후 분명한 수축력 감소 현상이 나타나기까지 오랜 시간을(5분) 필요로 하였다 (Fig. 9). 이같이 ryanodine의 효과가 나타나는데에 필요로하는 시간이 긴 것은 ryanodine의 작용 부위가 적어도 세포 외부가 아닌 세포 내부에 있음을 간접적으로 시사해준다.

이상과 같은 실험결과는 ryanodine이 SR으로부터의 Ca^{2+} 유리를 감소시킴을 강력히 시사한다. 그러나 ryanodine에 의해 Ca^{2+} 유출이 증가된다는 많은 보고와(Naylor et al., 1970; Frank & Sleator, 1975) 본 실험의 결과에는 기록하지는 않았으나 관찰된 결과로 보아 ryanodine에 의해 Ca^{2+} 유출이 증가된다는 사실자체를 부인할 수는 없다. 단지 Na^+/Ca^{2+} 교환 과정에 의한 Ca^{2+} 유출의 증가는 본 실험에서 증명되지 않았으므로 ryanodine이 SR에서 직접 세포 밖으로의 Ca^{2+} 유출을 증가시켜줄 가능성도 있을 것이다. 즉 Allen등은 활동전압 기간중에 들어온 Ca^{2+} 은 terminal cisternae에 저장되었다가 수축에 이용되거나 또는 바로 세포밖으로 유출된다고 추측하였으며 이는 다른 이들에 의해서도 역시 제시되었다(Allen et al., 1976; Hilgeman, 1982; Hilgemann et al., 1983). 따라서 ryanodine이 terminal cisternae로부터의 Ca^{2+} 유출을 직접 증가시킬 가능성이 있으며 이는 차후의 연구에서 추구하고자 한다.

결 론

Ryanodine에 의해 나타나는 심근 수축력 저하 현상의 기전의 일부를 밝히고자 guinea pig과 rat의 좌심방근을 이용하여 그들의 자극-수축 양상과 경축이완 정도에 미치는 ryanodine의 영향을 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) 낮은 자극 빈도에서의 심근 수축력은 ryanodine에 의해 현저히 감소하였으나 높은 자극 빈도에서의 수축력에는 큰 영향이 없었다.

2) Na^+ 이 결핍된 용액으로 일단 유발된 경축에서 Na^+ 농도에 의존하는 이완 과정이 ryanodine에 의해 영향을 받지 않았으며 ryanodine 농도를 10^{-6} M로 증가시킨 경우에도 같은 결과를 얻었다. 즉 이는 Na^+/Ca^{2+} 교환 과정에 ryanodine의 효과가 없음을 시사해 준다.

3) 경축 크기는 ryanodine에 의해 현저히 감소하였고, 이같은 ryanodine의 효과는 procaine에 의해 더욱 증가되었으며 caffeine이나 고농도 K^+ 에 의해 억제되었다.

이상과 같은 결과로 보아 ryanodine에 의해 나타나는 심근 수축력 저하현상은 ryanodine이 세포내 Ca^{2+} 저장소(sarcoplasmic reticulum)에 작용하여 그로부터의 Ca^{2+} 유출을 억제시켜 나타난 결과라고 생각된다.

REFERENCES

Allen DG, Jewell BR & Wood EH (1976). Studies of the contractility of mammalian myocardium at low rates of stimulation. *J Physiol* 254, 1-17

Burton KP, Hagler HK, Templeton GH, Willerson JT & Buja LM (1977). Lanthanum probe studies of cellular pathophysiology induced by hypoxia in isolated cardiac muscle. *J Clin Invest* 60, 1289-1302

Caroni P & Carafoli E (1980). An ATP-dependent calcium pumping system in dog heart sarcolemma. *Nature* 283, 765-767

Chamberlain BK, Volpe P & Fleisher S (1984). Inhibition of calcium-induced calcium release from purified cardiac sarcoplasmic reticulum vesicles. *J Biol Chem* 259, 7547-7553

Chapman RA (1983). Control of cardiac contractility at the cellular level. *Am J Physiol* 245, H535-H552

Eisner DA, Orchard CH & Allen DG (1984). Control of intracellular ionized calcium concentration by sarcolemmal and intracellular mechanisms. *J Mol Cell Cardiol* 16, 137-146

Fabiato A (1985). Effects of ryanodine in skinned cardiac cells. *Fed Proc* 44, 2970-2976

Fleckenstein A (1983). *Calcium antagonism in heart and smooth muscle*. John Wiley & Sons Inc

Frank M & Sleator WW (1975). Effect of ryanodine on myocardial calcium. *Naun-Schm Arch Pharmacol* 290, 35-47

Gibbons WR (1986). Cellular control of cardiac function. In: *Heart and Cardiovascular System*. Vol 1, Raven Press

Hilgemann DW (1982). Discrete simulation of inotropic actions of ryanodine on guinea pig atrium in terms of a refined "one way" model of E/C coupling. *J Mol*

- Cell Cardiol* 14 (supplement), 39
- Hilgemann DW, Delay MJ & Langer GA (1983). Activation dependent cumulative depletions of extracellular free calcium in guinea pig atrium measured with antipyrilazo III and tetramethyl murexide. *Cir Res* 53, 779-793
- Jenden DJ & Fairhurst AS (1969). The pharmacology of ryanodine. *Pharmacol Rev* 21, 1-25
- Jones LR, Besch HR, Sutko JL & Willerson JT (1979). Ryanodine-induced stimulation of net calcium uptake by cardiac sarcoplasmic reticulum vesicles. *J Pharmacol Exp Ther* 209, 48-55
- Kang DH & Lee JW (1977). 심근에 작용하는 수중 약물이 쥐의 심근의 "regenerative Ca^{2+} release"에 미치는 영향. *Kor J Physiol* 11, 9-16
- Langer GA, Frank JS & Nudd LM (1979). Correlation of calcium exchange, structure, and function in myocardial tissue culture. *Am J Physiol* 237, H239-H246
- Langer GA (1982). Sodium-calcium exchange in the Heart. *Ann Rev Physiol* 44, 435-449
- Lee CO & Dagostino M (1982). Effect of strophanthidin on intracellular sodium ion activity and twitch tension of constantly driven canine cardiac purkinje fiber. *Biophys J* 40, 185-198
- Lin CI & Vassalle M (1983). Role of calcium in the inotropic effects of caffeine in cardiac purkinje fiber. *Inter J Cardiol* 3, 421-434
- Marban E & Tsien RW (1982). Enhancement of calcium current during digitalis inotrophy in mammalian heart muscle: positive feedback regulation by intracellular calcium. *J Physiol* 329, 589-614
- Martonosi AN (1984). Mechanism of calcium release from sarcoplasmic reticulum of skeletal muscle. *Physiol Rev* 64, 1240-1329
- Mitchell MR, Powell T, Terrar DA & Twist VW (1984). Ryanodine prolongs the Ca-current while suppressing contraction in rat ventricular muscle cell. *Br J Pharmacol* 81, 13-15
- Mullins LJ (1981). *Ion transport in heart*. Raven Press
- Maylor WG, Danile P, Chipperfield D & Gan K (1970). Effects of ryanodine on calcium in cardiac muscle. *Am J Physiol* 219, 1620-1626
- Park YS, Ahn DS & Kang DH (1986). Vanadate가 심근막을 통한 calcium의 유입 및 유출에 미치는 영향. *Kor J Physiol* 20, 175-183
- Penefsky ZJ (1974a). Studies on mechanisms of inhibition of cardiac muscle contractile tension by ryanodine: mechanical response. *Pflügers Arch* 347, 173-184
- Penefsky ZJ (1974b). Ultrastructural studies of the site of action of ryanodine on heart muscle. *Pflügers Arch* 347, 185-198
- Rasmussen CA, Bridge JHB, Ishida H & Barry W (1985). Non sodium dependent relaxation and calcium efflux in cultured chick embryo ventricular cells. *Circulation* 72 (suppIII), 326
- Sutko JL & Willerson JT (1980). Ryanodine alteration of the contractile state of rat ventricular myocardium: comparison with dog, cat, and rat ventricular tissues. *Cir Res* 46, 332-343
- Sutko JL & Kenyon JI (1983). Ryanodine modification of cardiac muscle response to potassium-free solutions. *J Gen Physiol* 82, 385-404
- Sutko JL, Ito K & Kenyon JL (1985). Ryanodine, a modifier of sarcoplasmic reticulum calcium release in striated muscle. *Fed Proc* 44, 2984-2988
- Weber A & Herz R (1968). The relationship between caffeine contracture of intact muscle and the effect of caffeine on sarcoplasmic reticulum. *J Gen Physiol* 52, 750-759