

Glycine에 의한 가토심방근 및 동방결절세포의 활동전압의 변동

한양대학교 의과대학 생리학교실 및 *연세대학교 원주의과대학 내과학교실

최경훈* · 김진혁 · 고상돈 · 신희기 · 김기순

(1988년 9월 20일 접수)

== Abstracts ==

Effect of Glycine on the Action Potential of the Atrial Muscle and Sinus Node Cells of the Rabbit Heart

Kyung Hoon Choe*, Jin Hyuk Kim, Sang Don Koh
Hong Kee Shin and Kee Soon Kim

Department of Physiology, College of Medicine, Hanyang University, Seoul, Korea

**Department of Internal Medicine, Yonsei University Wonju College of Medicine, Wonju, Korea*

The effect of glycine, structurally the most simple amino acid was investigated on the electrophysiological characteristics of the isolated superfused atrial muscle and sinus node cells of the rabbit heart. Superfusion of the sinus node cell with glycine solution (3, 5 and 8 mM) produced concentration-dependent increments of OS (overshoot potential) and MDP (maximum diastolic potential). Generally action potential amplitude increased as a result of greater increment of OS than that of MDP.

The changes in action potential of the sinus node cell peaked in 7~10 minutes after onset of superfusion. On the contrary to the response to intravenously administered glycine, the rate of spontaneous firing of sinus node cell was invariably increased following superfusion with glycine. Action potential duration manifested as APD₆₀ (time to 60% repolarization) was significantly shortened by glycine. And the electrophysiological effects of glycine on the atrial muscle cell were similar to that on the sinus node cells. The results of present study suggest that glycine can exert direct effects on the atrial muscle and sinus node cells of the rabbit heart.

Key Words: Glycine, Atrial muscle, Sinus node

서 론

일찌기 Winbury등(1947)은 염기성 아미노산이 심장기능에 미치는 효과를 구명한 연구에서 arginine 및 lysine은 양서류 적출 심장기능을 마비시키는데 반하여 histidine은 흥분성 효과를 가지며 마취 고양이에서는 arginine과 lysine을 정맥내로 투여하면 혈압이 하강하고 심박수는 감소된다고 하였

다. 또한 Stanton 및 Woodhouse(1960)도 GABA, β -alanine, taurine 및 butylamine등을 동물의 정맥내로 투여하였는 바 혈압은 하강하였고 특히 GABA는 혈압 강하반응에 선행하여 심박수감소와 아울러 일시적인 혈압상승 및 호흡증강현상을 관찰할 수 있었다고 한다.

Elliott와 Hobbiger(1959)는 GABA가 고농도에서도 가토 및 해명의 적출 심장에는 별 영향을 미치지 못하나 정맥내로 이를 투여하면 서맥과 더불어 혈압

강하반응이 나타나는데 이러한 반응은 동물의 종에 따라 현저한 차이가 있다고 보고한 바 있으며 Bhargava등(1964)은 GABA를 고양이의 동맥을 통하여 투여하면 순환계 기능에 별 변동이 일어나지 않는다고 하였다. GABA를 위시하여 glutamate, taurine 및 kainic acid를 동물의 뇌실내로 투여하면 심맥관계 기능에 변동이 관찰된다는 보고(Gatti et al., 1985)도 있으며 특히 taurine은 항부정맥동 효과가 있다는 주장(Read et al., 1963)도 있다.

일찌기 Werman 및 Aprison은 일련의 실험(Aprison & Shank et al., 1968)을 통하여 glycine은 척수 및 뇌간에서 작용하는 억제성 신경전달물질로서 GABA와는 전연 별개의 물질이라는 사실을 밝힌 바가 있다. Glycine은 대부분의 척수신경의 흥분과 발사를 억제하며 이들 세포를 과분극화한다고 하는데(Werman et al., 1967 & 1968) 이는 glycine이 신경세포막의 특수 수용체와 결합하여 chloride에 대한 conductance를 증가시키기 때문이라 믿어진다(Werman et al., 1967). 최근 보고된 Golde와 Martin(1983)의 연구에 따르면 glycine과 GABA는 receptor가 다를 뿐만 아니라 서로 다른 chloride의 channel을 활성화한다고 한다.

최근 Campistron등(1986)은 면역세포화학적 방법에 의하여 뇌와 척수에 glycine을 함유하고 있는 신경세포가 존재함을 확인할 수 있었다고 하였으며 Marshall(1986)은 chemoreceptor나 말초신경을 자극하므로써 연수에 있는 glycine sensitive area를 흥분시켜 소위 visceral alerting response를 유발할 수 있었다고 하였다.

Glycine은 시상 신경세포의 activity를 억제할 뿐만 아니라 백서의 대뇌 전엽과 lateral hypothalamus를 연결하고 있는 신경회로에서도 억제성 전도물질로 작용한다는 보고가 있다(Kita et al., 1982). 최근 Wang등(1985)은 glycine을 동물의 정맥내로 투여하여 심박출량과 혈압의 변동을 조사한 연구에서 glycine이 순환계 기능에 미치는 영향을 최초로 관찰하였다고 주장하였으나, 사실은 이들 보다 앞서 Guertzenstein과 Silver(1974)는 glycine을 동물의 뇌실내로 투여하면 혈압이 하강함을 관찰할 수 있었다고 한 바 있으며 또한 Persson(1980)은 비마취백서에서도 glycine을 뇌척수액내로 투여하면 혈압은 하

강하고 심박수는 감소된다고 보고한 바 있다.

한편 Drinker등(1963)은 transurethral prostatic resection (TURP) syndrome의 유발과 glycine간에 상관성이 있을 것을 예상하고 동물의 정맥내로 glycine을 투여하여 혈압강하, 심박수감소 및 뇌기능 장애등 소위 TURP syndrome을 유발하는데 성공한 바가 있는데 이러한 혈압 및 심박수 변동 현상은 non-ketotic hyperglycinemia 환자에서도 관찰됨은 주지의 사실(Markand et al., 1982)이다.

이러한 TURP syndrome의 발생원인으로는 hypervolemia, water intoxication, dilutional hyponatremia등이 지목되어(Drinker et al., 1963; Osborn et al., 1980; Roesch et al., 1983)왔으나 최근에 이르러 glycine 및 이의 대사물질인 ammonia의 독성이 더 중요하다는 주장(Hoekstra et al., 1983; Roesch et al., 1983)이 대두된 바 있다. 이상에서 보다시피 사람이나 동물의 심장기능이 glycine에 의해 변동됨은 명확하나 아직 glycine이 심장기능에 미치는 직접적인 영향을 관찰한 연구는 없는 듯하다. 본 실험은 미세전극법을 이용하여 glycine이 동물의 적출 심장 세포에 미치는 효과를 구명하고자 시행되었다.

본 실험에서는 glycine이 동물의 심장기능에 미치는 직접적인 효과를 알아보기 위하여 통상적인 미세전극법을 이용하여 가토의 적출심장세포의 전기생리학적 특성에 미치는 glycine의 영향을 구명하였다.

실험재료 및 방법

1. 동방결절 절편제작

Glycine이 동방결절 세포의 활동전압에 미치는 영향을 관찰하기 위한 실험에서는 체중 1.8~2.5 kg의 가토 15마리를 성의 구별없이 사용하였다. 실험 동물의 후두부를 강타하여 치사케한 후 신속히 개흉하여 적출한 심장을 100% 산소로 포화되어 있는 Tris-Tyrode 용액(NaCl 148, KCl 4.0, CaCl₂ 2.0, MgCl₂ 1.0, glucose 5.5, Tris 10 mM)이 담긴 용기 내로 옮겼다. 적출 심장을 Tyrode 용액이 담긴 용기 내에서 방실 경계를 따라 심실을 제거한 후 심방중격과 평행이 되게 상하행대정맥 방향으로 절개하여 동방결절 부위가 노출되도록 하였다. 그후 분계능

(crista terminalis)과 거의 수직방향으로 조직을 잘라 동방결절이 포함된 절편(2×5 mm)을 만들어 Tyrode 용액 속에 한 시간 이상 방치하였다.

2. 심방근 절편제작

Glycine이 동물의 심방근세포의 막전압에 미치는 변동을 구명하기 위한 실험에서는 체중 2.0~2.6 kg의 가토 22마리를 성의 구별없이 사용하였다. 심방근세포에서 막전압을 기록하기 위하여서는 위에서 기술한 것과 같은 요령으로 조직절편을 만들었으며 활동전압의 크기와 모양으로 부터 심방근세포를 확인하였다.

3. 미세전극의 제작 및 막전압의 측정

모세유리관(Kwik-Fil glass capillary 1B 100 F-6, WPI)의 일단을 vertical pipette puller (David Kopf, Model 700 D)를 이용하여 가늘게 뽑은 다음 3 M KCl 용액을 채워 미세전극을 제작하였으며 이들 중 20 MΩ 이상의 저항을 갖는 것 만을 골라 사용하였다. 막전압을 측정하기 위하여서는 먼저 심장 조직 절편을 Tris buffer-Tyrode 용액 (35.5±0.2°C, pH 7.36~7.40)으로 관류(7~8 ml/min)되고 있는 조직용기의 바닥에 고정된 다음 미세전극을 해부현미경 하에서 micromanipulator (Narishige Mo-15)를 이용하여 동방결절세포나 심방근세포 내로 삽입하였다. 심장세포에 활동전압은 이들 세포의 삽입된 미세전극을 microprobe system (M 707 A, WPI)에 연결하여 oscillograph (Grass Model 7) 상에서 기록하거나 analog digital converter (본교실 제작 ; ADC 0809)

를 이용하여 computer로 분석하였으며 활동전압 변동의 유의성을 판정하기 위하여서는 paired t-test를 시행하였다.

4. Glycine 용액의 관류

Glycine (Sigma 회사제)를 먼저 소량의 Tyrode 용액에 용해한 후 이를 관류 용액 내에 첨가하여 최종 농도가 3, 5 및 8 mM이 되도록 하였으며 동방결절 및 심방근세포를 각 농도의 glycine 용액으로 3분간 관류(superfusion)한 후 Tyrode 용액으로 세척하였다.

결 과

1. Glycine이 가토 동방결절 세포의 활동전압에 미치는 효과

가토의 적출 동방결절세포를 3, 5 및 8 mM의 glycine 용액으로 관류한 후 30분까지 MDP(maximum diastolic potential)의 변동을 관찰하였는 바 그 결과는 표 1에서 보는 바와 같다(그림 1). Glycine은 모든 농도에서 동방결절세포의 MDP를 감소(depolarization)시켰는데 3 및 8 mM 농도에서는 관류시작 후 5분에서 15분 사이에서, 5 mM 농도에서는 3분에서 20분 사이에서 유의한 변동을 유발하였다. MDP의 최대 감소 반응은 glycine 용액으로 관류를 시작한 후 7~10분에서 출현하였으며 glycine에 의한 MDP의 감소 정도는 대체로 관류 glycine 농도에 비례하였다.

또한 모든 농도의 glycine은 가토 동방결절세포의

Table 1. Changes in the maximum diastolic potential (MDP) of the rabbit sinus node cells following superfusion with glycine solution.

Conc. of Glycine	N	control	Change in MDP (mV)						
			Time (min)						
			3	5	7	10	15	20	30
3 mM	8	-75.0 ±2.1	-0.4 ±0.7	-3.6** ±1.0	-4.3** ±1.3	-2.2** ±0.6	-1.5* ±0.5	-0.7 ±1.0	1.2 ±1.8
5 mM	11	-71.0 ±10.5	-1.4* ±0.7	-2.4** ±0.8	-5.2** ±1.7	-5.7** ±1.9	-3.0* ±1.3	-2.1* ±0.9	-1.0 ±0.9
8 mM	10	-74.9 ±2.7	-1.2 ±1.1	-5.6** ±1.5	-7.4** ±2.0	-8.4** ±1.7	-3.1* ±1.1	-0.8 ±1.1	1.3 ±1.7

All values are mean ± SE. N = number of impalements.

*: p < 0.05, **: p < 0.01

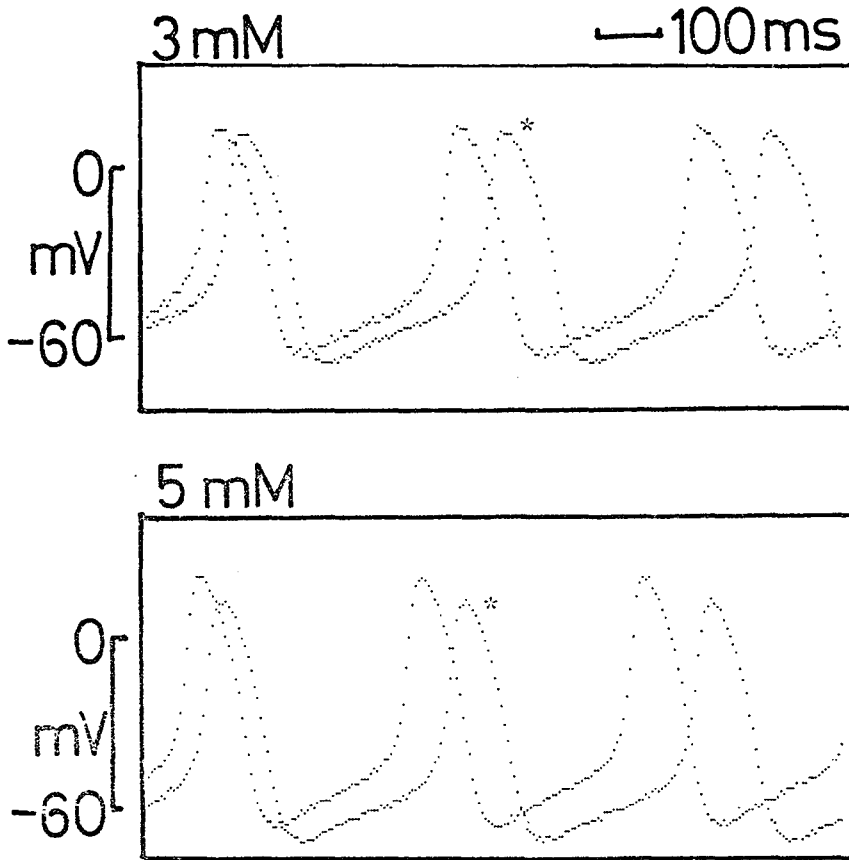


Fig. 1. Effects of glycine on the transmembrane potential of the sinus node cells of the rabbit heart.
*Control

Table 2. Effects of glycine on the overshoot potential (OS) of the sinus node cells of the rabbit heart.

Conc. of Glycine	N	control	Change in OS (mV)						
			Time (min)						
			3	5	7	10	15	20	30
3 mM	8	9.8	0.3	2.6*	4.6**	3.4**	0.3	0.4	-0.1
		±4.4	±0.3	±1.2	±1.5	±1.0	±1.3	±1.0	±0.8
5 mM	11	10.1	0.4	2.5*	7.3**	7.0**	1.4	0.4	0.7
		±1.6	±0.7	±1.3	±1.6	±2.1	±1.4	±1.1	±0.9
8 mM	10	8.0	1.1	8.4**	11.3**	14.4**	6.0**	3.1*	0.6
		±2.4	±0.8	±2.0	±2.6	±2.0	±1.5	±1.4	±1.8

All values are mean ± SE. N = number of impalements.
*: p < 0.05, **: p < 0.01

OS(overshooting potential)를 증가시켰는데 OS의 증가의 정도는 대체로 관류 glycine 농도에 비례하는 경향을 보였다. Glycine 투여 전 약 10 mV 내외이던 동방결절 세포의 OS가 8 mM glycine 용액으로 관류

후에는 최고 24 mV 정도까지 증가되었다. Glycine 용액으로 관류시 관찰된 동방결절 세포 OS의 변동상을 보면 3 및 5 mM 농도에서는 glycine으로 관류를 시작한 후 5분에서 10분까지 유의한 변동을 보였

으나 8 mM 농도에서는 20분까지도 OS가 원상으로 회복되지 못하였다(표 2 및 그림 1).

가토 동방결절세포의 APA(action potential amplitude)는 5 mM 및 8 mM의 glycine 용액으로 관류시 각각 관류 시작후 7분 및 10분에서만 유의하게 증가됨을 볼 수 있었다(표 3 및 그림 1). Glycine에 의한 동방결절세포 AP₁의 변동이 비교적 소폭으로 변동된 것은 glycine에 의해 MDP는 감소하나 OS는 증가하기 때문이다.

Glycine이 가토 동방결절세포의 APD(action potential duration)에 미치는 효과를 관찰한 결과는 표

4에서 보는 바와 같다(그림 2 및 3). 가토 동방결절세포의 APD₆₀(time to 60% repolarization)는 glycine에 의하여 현저하지는 않으나 유의하게 단축되었다. Glycine으로 관류하기전 110 msec 정도이던 동방결절 세포의 APD₆₀는 5 및 8 mM의 glycine 용액으로 관류시 각각 최고 5 및 7 msec 정도 단축됨을 볼 수 있었으며 APD의 유의한 단축은 관류 시작후 5~15분 사이에서 관찰되었다.

한편 모든 농도의 glycine 용액은 가토 동방결절세포의 RSF(rate of spontaneous firing)를 현저하게 증가시킴을 알 수 있었다(표 5, 그림 2 및 3).

Table 3. Changes in the action potential amplitude (APA) of the rabbit sinus node cells following superfusion with glycine solution

Conc. of Glycine	N	control	Change in APA (mV)						
			Time (min)						
			3	5	7	10	15	20	30
3 mM	8	84.8 ±3.1	-0.1 ±0.8	-1.1 ±1.4	0.3 ±0.9	1.3 ±1.1	-1.2 ±1.5	-0.2 ±1.3	1.0 ±1.7
5 mM	11	81.1 ±2.1	-1.0 ±0.8	0.1 ±0.9	2.1* ±0.8	1.3 ±0.8	-1.6 ±1.0	-1.7 ±1.4	-0.3 ±0.5
8 mM	10	82.9 ±3.4	-0.1 ±1.1	2.9 ±3.3	4.0 ±4.4	6.0* ±3.0	2.9 ±2.1	2.3 ±2.0	1.9 ±1.3

All values are mean ± SE. N = number of impalements.

*: p < 0.05, **: p < 0.01

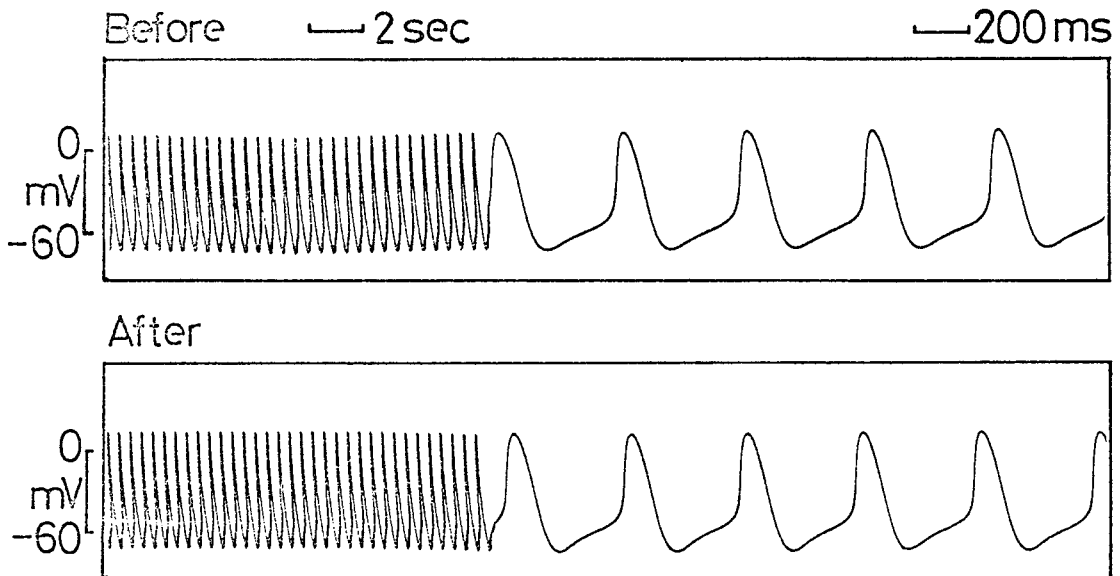


Fig. 2. Effects of glycine (3 mM) on the action potential of the sinus node cells of the rabbit heart.

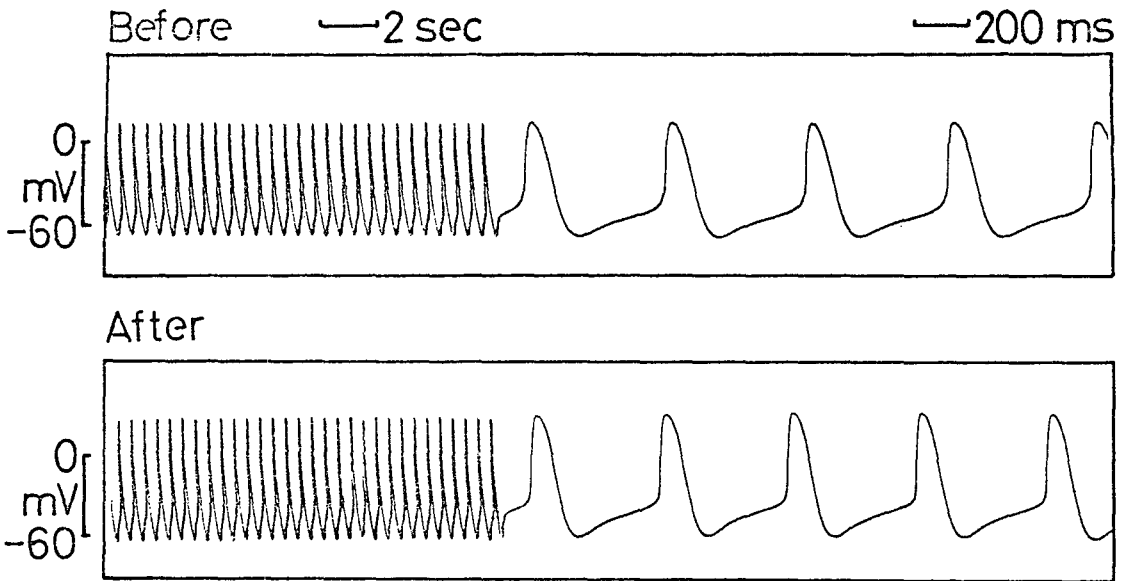


Fig. 3. Effects of glycine (8 mM) on the action potential of the sinus node cells of the rabbit heart.

Table 4. Effects of glycine on the action potential duration (APD₆₀) of the sinus node cells of the rabbit heart

Conc. of Glycine	N	control	Change in APD ₆₀ (msec)						
			Time (min)						
			3	5	7	10	15	20	30
3 mM	8	111.8 ±4.3	0.9 ±3.9	-4.7 ±2.6	-4.3** ±1.3	-4.4 ±3.0	-2.6 ±2.4	-1.7 ±1.5	1.8 ±1.2
5 mM	11	111.4 ±6.7	0.4 ±1.6	-2.1* ±1.2	-4.4** ±1.5	-5.3** ±1.4	-2.6* ±1.3	-0.3 ±0.3	0.0 ±0.6
8 mM	10	108.7 ±11.5	-0.8 ±3.1	-7.1* ±3.5	-6.1* ±3.0	-5.9** ±2.1	-5.6* ±2.9	-3.5 ±2.5	-0.8 ±1.0

All values are mean ± SE. N=number of impalements.

APD₆₀: time to 60% repolarization.

*: p<0.05, **: p<0.01

Table 5. Changes in the rate of spontaneous firing (RSF) from the rabbit sinus node cells during and after superfusion with glycine solution

Conc. of Glycine	N	control	Change in RSF (beats/min)						
			Time (min)						
			3	5	7	10	15	20	30
3 mM	8	140.8 ±6.5	2.8* ±1.0	5.4* ±2.0	10.5* ±4.2	13.6** ±3.4	4.8 ±6.1	-0.1 ±2.7	-1.8 ±2.1
5 mM	11	118.4 ±5.1	2.0* ±0.8	6.2* ±2.4	12.6** ±3.1	17.2** ±4.3	5.1** ±1.5	1.7 ±1.3	1.6 ±1.0
8 mM	10	109.0 ±2.1	8.0* ±3.9	17.6* ±8.5	20.4* ±7.6	23.5** ±5.6	6.9** ±2.3	4.1 ±2.3	1.2 ±1.3

All values are mean ± SE. N=number of impalements.

*: p<0.05, **: p<0.01

Table 6. Changes in the cellular potentials of the rabbit atrial muscle cells following superfusion with glycine solution.

Conc. of Glycine	N	OS (mV)		MDP (mV)		APA (mV)	
		B	A	B	A	B	A
3 mM	13	16.9 ±1.8	24.7** ±2.0	-85.3 ±3.0	-83.4* ±3.4	102.1 ±4.0	108.1** ±3.5
5 mM	21	16.0 ±2.3	26.4** ±2.4	-85.2 ±1.9	-80.6** ±2.3	101.2 ±2.5	107.0** ±3.2
8 mM	20	16.3 ±2.2	30.9** ±2.2	-85.7 ±1.6	-78.7** ±2.3	102.0 ±2.4	109.6** ±2.5

All values are mean ± SE. N = number of impalements.

OS: overshoot, MDP: maximum diastolic potential

APA: action potential amplitude

B: before, A: after

*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$

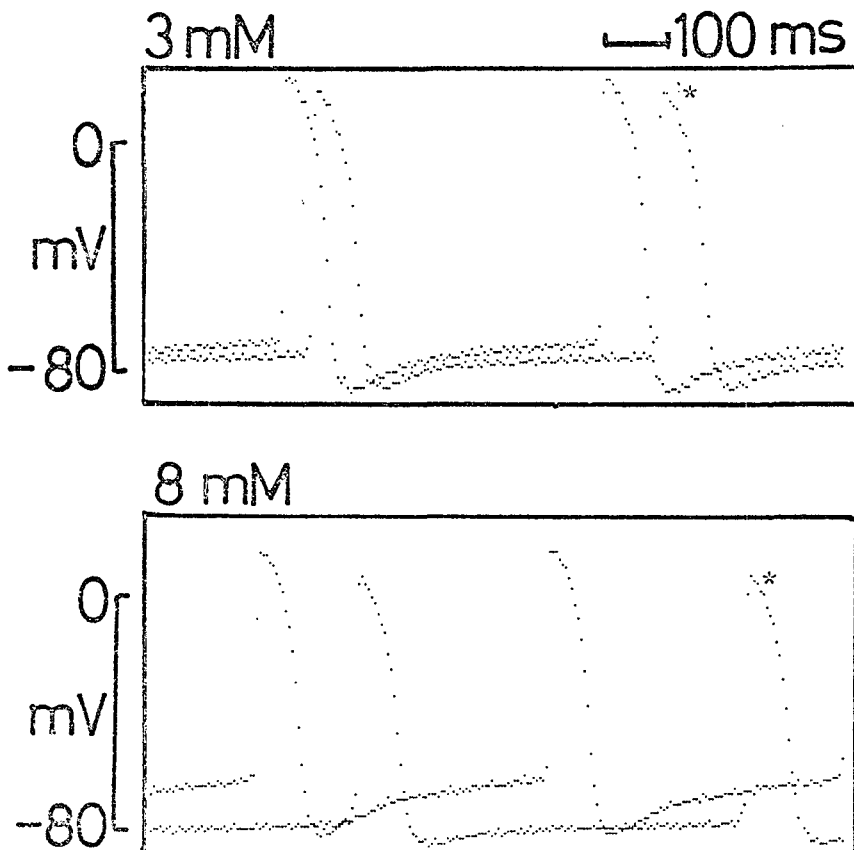


Fig. 4. Effects of glycine on the transmembrane potential of the atrial muscle cells of the rabbit heart.

*Control

Table 7. Effect of glycine on the action potentials of the atrial muscle cells of the rabbit heart.

Conc. of Glycine	N	APD ₆₀ (msec)		RSF (beats/min)	
		B	A	B	A
3 mM	13	85.5 ±5.1	80.1** ±4.9	122.3 ±7.5	126.8* ±7.6
5 mM	21	85.8 ±4.7	74.9** ±3.3	108.8 ±3.6	135.0** ±9.4
8 mM	20	82.3 ±5.8	75.2** ±4.6	111.9 ±5.5	143.6** ±9.1

All values are mean ± SE. N = number of impalements.

APD₆₀: time to 60% repolarization.

RSF: rate of spontaneous firing per minute.

B: before, A: after

*: p < 0.05, **: p < 0.01

Glycine에 의한 RSF 증가는 관류 시작후 10분에 최고치에 달하며 3, 5 및 8 mM의 glycine 용액으로 관류시 최대 반응은 각각 13.6±3.4, 17.2±4.3 및 23.5±5.6 beat/min였다. RSF의 유의한 변동은 glycine 용액으로 관류를 시작한 후 3분에 출현하였으며 3 mM의 경우에는 10분까지 5 및 8 mM의 경우에는 15분까지 지속되었다.

2. Glycine이 가토심방근세포의 활동전압에 미치는 효과

Glycine이 가토 심방근세포의 MDP, OS 및 APA에 미치는 영향을 관찰한 결과는 표 6에서 보는 바와 같다(그림 4). 모든 농도의 glycine에 의하여 가토 심방근세포의 MDP는 감소하고 OS는 증가하였으며 APA도 유의하게 증가하였다. 가토 심방근의 APA에 미치는 glycine의 효과는 glycine 농도에 따른 차이를 별로 볼 수 없었는데 이는 3 mM 및 5 mM 농도의 glycine으로 관류시 동방결절세포에서와는 대조적으로 OS가 현저하게 증가된 때문이라고 믿어진다.

한편 가토 심방근세포를 각 농도의 glycine 용액으로 관류한 후 관찰된 APD₆₀ 및 RSF의 변동을 보면 표 7과 같다(그림 5 및 6). 가토 심방근세포의 APD는 glycine에 의하여 단축되었는데 5 mM 및 8 mM의 glycine 용액으로 관류시 APD₆₀는 각각 85.8±4.7 msec 및 82.3±5.8 msec에서 74.9±3.3 msec 및 75.2

±4.6 msec로 변동되었다. Glycine에 의한 심방근 APD의 변동에 있어서는 관류 glycine 농도에 따른 차이를 명확히 발견할 수가 없었다. Glycine은 가토 심방근의 자발성 흥분과 발생빈도를 예외없이 증가시켰는데 특히 5 및 8 mM의 glycine 용액으로 관류 후에 현저한 증가현상을 볼 수 있었다.

고 찰

Glycine은 포유동물의 대부분의 조직에서 발견되는 비필수 아미노산으로서 중추신경 중에서는 특히 척수(4.20±0.25 μM/g) 및 뇌간(4.15±0.8 μM/g)에 가장 많이 함유되어 있으며 혈장내 농도는 0.1~0.7 μM/ml의 범위에 있다고 알려져 있다.

본 실험에서 가토 동방결절세포를 glycine 용액(3, 5 및 8 mM)으로 관류하였을 때 OS는 관류 시작후 5분부터 유의하게 증가하여 15~20분까지 지속되었으나 APA는 5 mM 및 8 mM glycine으로 관류시 각각 7분 및 10분에서만 유의하게 증가하였는데 이러한 현상은 동방결절세포의 MDP는 glycine에 의하여 감소(탈분극)되기 때문이라 믿어진다. Glycine 투여후 SAN의 활동전압의 모양에는 별 변동이 없었으나 diastolic depolarization(pacemaker potential)의 경사가 증가하며 V_{max}(maximum rate of depolarization)도 커졌음을 볼 수 있었다. 또한 glycine은 가토 동방결절세포의 APD₆₀를 유의하게

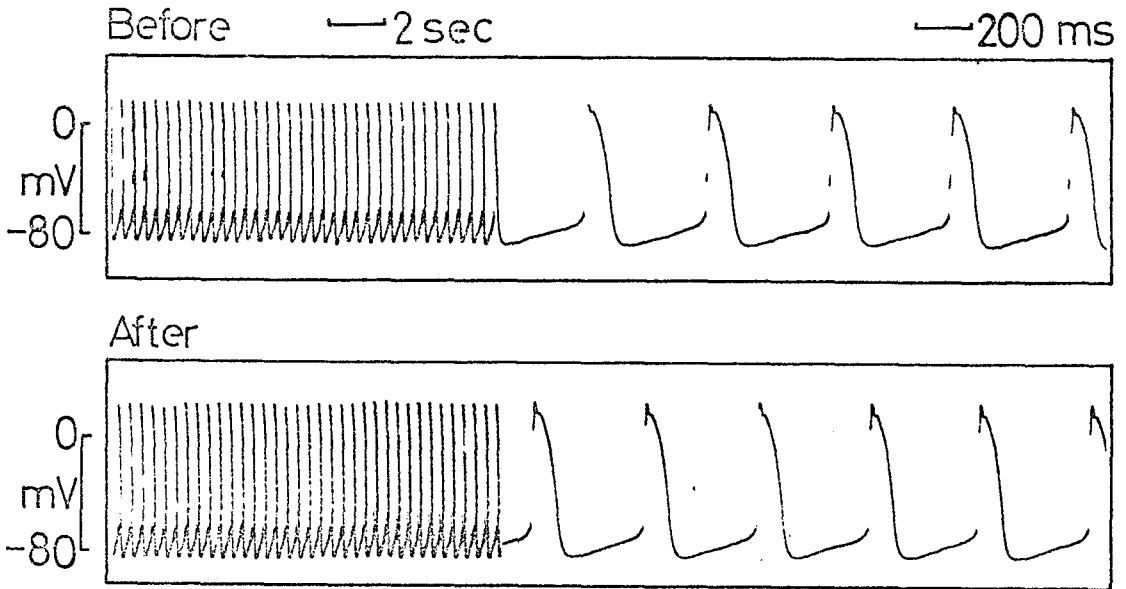


Fig. 5. Effects of glycine (3 mM) on the action potential of the atrial muscle cells of the rabbit heart.

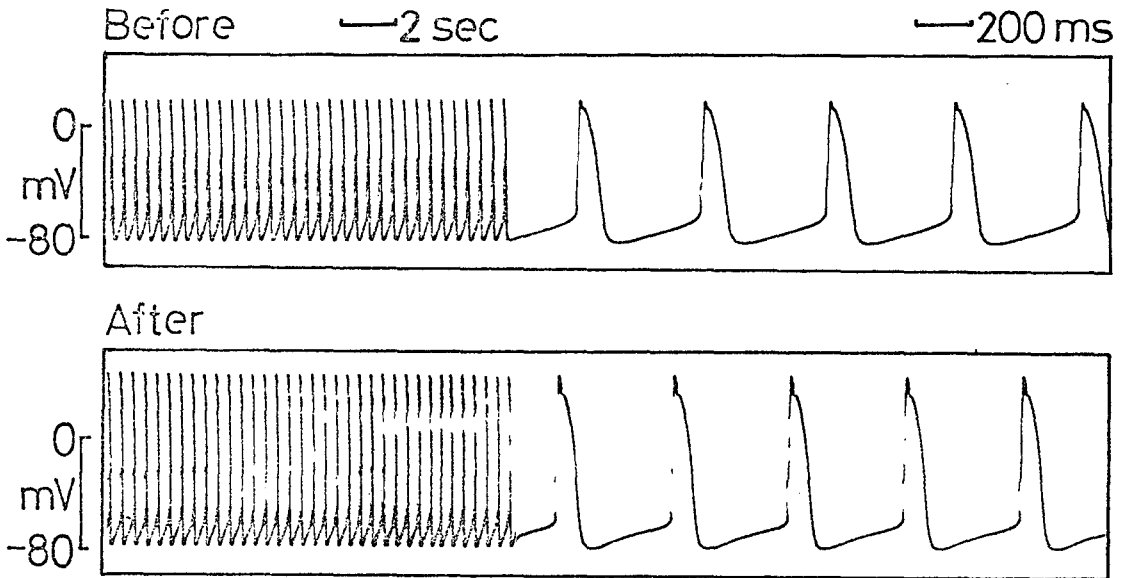


Fig. 6. Effects of glycine (8 mM) on the action potential of the atrial muscle cells of the rabbit heart.

단축시켰으며 RSF는 현저하게 증가시켰다.

지금까지 glycine이 동물의 적출 심장에 직접 작용하여 활동전압에 변동을 초래한다는 사실을 관찰한 연구보고는 찾아볼 수 없다. 먼저 적출 심장세포를 glycine 용액으로 관류하였을때 유발된 막전압의 변동이 과연 glycine의 작용에 의한 것인지 하는 의문

이 제기된다. 본 실험에서 심장세포를 관류한 glycine 용액(3, 5 및 8 mM)의 pH는 Tris-Tyrode 용액보다는 다소 산성(7.1)이었으나 osmolarity는 큰 차이가 없었다. 물론 본 실험에서 glycine 용액은 사용전에 미리 pH를 교정하였다. 일반적으로 산성용액이 심장세포의 막전압에 미치는 영향을 보면

APD의 연장, APA의 감소 및 RSF의 저하를 들 수 있는데 이는 본 실험에서 관찰한 glycine의 효과와는 상반된다(Grant et al., 1980; Nattle et al., 1981).

Glycine이 심장세포의 막전압 변동을 초래하는 기전에 관하여서는 명확히 알 수가 없으나 glycine으로 관류 후 동방결절세포의 막전압이 변동되었다는 사실은 glycine에 의해 세포막을 통한 ion의 이동(ionic current)에 변동이 일어났음을 의미한다. 일반적으로 심장세포에서 기록할 수 있는 활동전압에는 fast response와 slow response가 있는데 심방근세포에서는 phase 0~4로 구성된 fast response가 동방결절 세포에서는 phase 1 및 2가 결여된 slow response가 일어난다. 또한 slow response에서는 phase 4에 diastolic depolarization이 일어나 자발적으로 흥분 파가 발생되는데 이 pacemaker potential의 생성에는 K-current가 결정적인 역할을 한다고 믿어졌으나 최근의 연구에 따르면 주로 Na^+ 및 Ca^{2+} 의 이동 증가가 더 중요하다고 한다(Coraboeu, 1982; Noble, 1985). Glycine이 세포막의 투과성에 영향을 미치는 방법에는 두가지를 생각할 수 있는데 첫째는 세포막에 직접 작용하는 것이고 둘째는 자율신경말단으로부터 catecholamine을 유리시켜 간접적으로 작용한다는 것이다. 아직 심장세포막에 glycine receptor가 존재한다는 사실이 증명된 바는 없으나 중추신경계에서는 glycine에 대한 별개의 receptor가 있어 GABA와는 다른 Cl channel을 활성화한다고 알려져 있다. 골격근세포에서는 평상시 세포막을 통한 Cl의 투과성이 커서 안정막전압 생성에 있어 Cl은 K못지 않은 구실을 한다고 하나 아직 심장세포에서는 이러한 현상이 밝혀진 바가 없다.

한편 catecholamine이나 acetylcholine은 심장세포의 Ca^{2+} 에 대한 투과성을 각각 증가 및 감소시킨다는 사실은 voltage-clamp technique이나 Ca^{2+} influx 측정에 의해 확인한 바(Grossman et al., 1964; Reuter, 1965; Reuter, 1967)가 있다. 특히 catecholamine은 심장세포에 존재하는 receptor와 결합하거나 cyclic-AMP(dependant protein kinase)를 통하여 slow inward current(i_{s1})를 증가시키므로써 phase 4의 경사를 증가시킨다고 한다(Reuter, 1974; Watanabe et al., 1974). Catecholamine은 심장세포의 APA를 증가시키며(Reuter, 1974; Reuter, 1974) 이

것이 APD에 미치는 효과는 세포 외액 내의 K^+ 나 Ca^{2+} 의 농도에 따라 차이가 있다는 보고도(Quadbeck et al., 1975) 있다.

일찌기 Niedergreke와 Orkard(1966)는 양서류 심장을 고농도의 Ca 용액으로 관류하면 overshoot potential이 증가된다고 한데 이어 Temte 및 Davis(1967)는 관류액 내의 Ca 농도가 저하시 적출 Purkinje 섬유의 APD는 연장된다고 한 바 있다. 최근 Morad와 Maylie(1980)는 동물의 방실결절의 RSF는 관류 용액 내의 Ca의 함량이 커질수록 증가되며 Purkinje 섬유에서도 세포 외액의 Ca 및 K의 농도저하에 의하여 RSF의 감소와 아울러 APD가 연장됨을 관찰할 수 있었다고 한다. 본 실험에서 glycine의 심장세포의 막전압에 미치는 영향은 catecholamine 투여 효과 및 세포 외액 내의 Ca 증가 효과와 유사하나 본 실험의 결과만으로는 정확한 기전을 밝힐 수는 없다.

한편 본 실험에서 glycine은 모든 농도에서 가토 심방근세포의 MDP는 감소시키고 OS는 증가시켰는데 대체로 전자의 감소보다는 후자의 증가폭이 커서 결과적으로 APA는 유의하게 증가되었으며 glycine에 의한 APA의 변동은 동방결절세포에서 보다 심방근세포에서 더 현저하였다. 또한 가토 심방근 활동전압의 APD_{60} 는 glycine에 의해 현저하지는 않으나 유의하게 단축되었으며 RSF는 특히 5 mM 및 8 mM 농도의 glycine이 RSF에 미치는 영향은 동방결절세포에서 보다 심방근세포에서 더 현저함을 알 수 있는데 이는 심방근세포가 대체로 glycine에 더 민감함을 의미한다.

본 실험에서 얻은 glycine이 가토 적출 심장의 동방결절 및 심방근세포의 RSF를 증가시킨다는 결과는 non-ketotic hyperglycinemia 나 transurethral prostatic resection syndrome 환자에서는 심박수가 감소된다는 현상과는 상반된다. Glycine은 정맥내로 투여되거나 뇌실내로 투여되어도 혈압을 하강시키며 심박수를 감소시킨다고 하는데 이는 자율신경 반사에 의해 glycine이 심장에 분포한 교감신경의 흥분성을 억제한 결과(Backman et al., 1983)라고도 분석할 수 있다.

결 론

Glycine이 동물의 심장세포에 미치는 효과를 구명하고자 가토 동방결절 및 심방근 세포를 glycine 용액(3, 5 및 8 mM)으로 관류하기 전, 후에 이들 심장세포에서 활동전압을 기록하여 서로 비교하였는바 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) Glycine은 모든 농도에서 가토 동방결절 세포의 MDP(maximum diastolic potential)를 유의하게 감소시켰으며 MDP의 감소폭은 대체로 관류 glycine 농도에 비례하였다. Glycine의 MDP 감소 효과는 관류시작후 5분에 출현하여 약 20분까지 지속되었으며 최대효과는 7~10 분에서 관찰되었다.

2) 가토 동방결절 세포 활동전압의 OS(overshooting potential)는 관류 glycine의 농도에 비례하여 증가하였다. 동방결절 세포를 8 mM glycine 용액으로 관류시 OS는 최고 14.4 ± 2.0 mV나 증가하였다.

3) 동방결절 세포의 APA(action potential amplitude)는 5 및 8 mM의 glycine 용액으로 관류시 관류시작후 각각 7분 및 10분에서만 유의하게 증가되었다.

4) Glycine은 모든 농도에서 동방결절 세포의 APD₆₀(action potential duration manifested as time to 60% repolarization)를 현저하지는 않으나 유의하게 단축시켰다.

5) TUPR(transurethral prostatic resection) syndrome이나 non-ketotic hyperglycinemia 환자에서와 달리 동방결절 세포의 RSF(rate of spontaneous firing)는 glycine에 의해 현저하게 증가되었다.

6) 가토 심방근 세포의 활동전압에 미치는 glycine의 효과는 대체로 동방결절 세포에서와 유사하나 APD 및 RSF의 변동이 더 현저하였다.

이상의 결과로부터 glycine은 동물의 심장기능에 직접적인 영향을 미치며 정맥내로 투여시와는 달리 심박수 증가작용이 있음을 알 수 있다.

REFERENCES

Aprison MH, Shank RP, Davidoff RA & Werman R (1968). The distribution of glycine, neurotransmitter

suspect, in the central nervous system of several vertebrate species. *Life Sci* 7, 583-590
Aprison MH & Werman R (1968). A combined neurochemical and neurophysiological approach to identification of central nervous system transmitters. *Neurosci Res* 1, 143-174
Backman SB & Henry JL (1983). Effects of GABA and glycine on sympathetic preganglionic neurons in the upper thoracic intermediated nucleus of the cat. *Brain Res* 277, 365-369
Bhargava KP, Bhattacharya SS & Srimal RC (1964). Central cardiovascular actions of γ -aminobutyric acid. *Brit J Pharmacol* 23, 383-390
Campistron G, Buijs RM & Geffard M (1986). Glycine neurons in the brain and spinal cord. Antibody production and immunocytochemical localization. *Brain Res* 376, 400-405
Coraboeuf E (1982). Ionic basis of electrical activity in cardiac tissues. In: Excitation and neuronal control of the heart. ed. Levy MN, Vassalle M, Waverly and Baltimore 1-35
Drinker HR, Sr Schields T, Grayhack JT & Laughlin L (1963). Simulated Transurethral resection reaction in the dog: Early signs and optimal treatment. *J Urol* 89, 595-602
Elliott KAC & Hobbiger F (1959). Gamma aminobutyric acid: Circulatory and respiratory effects in different species: Re-investigation of the antistrychnine action in mice. *J Physiol* 146, 70-84
Gatti PJ, Taveira Da Silva AM & Hamosh P et al (1985). Cardiorespiratory effects produced by application of L-glutamic and kainic acid to the ventral surface of the cat hindbrain. *Brain Res* 330, 21-29
Gold MR & Martine AR (1983). Analysis of glycine-activated inhibitory post-synaptic channels in brainstem neurons of the lamprey. *J Physiol* 342, 99-117
Grant AD, Strauss LJ, Wallace AG & Strauss MC (1980). The influence of pH on the electrophysiological effects of lidocaine in guinea pig ventricular myocardium. *Circ Res* 47, 542-550
Grossman A & Furchgott RF (1964). The effect of various drugs on calcium exchange in the isolated guinea-pig left auricle. *J Pharmacol Exp Ther* 145, 162-172
Guertzenstein PG & Silver A (1974). Fall in blood pressure produced from discrete regions of the ventral

- surface of the medulla by glycine and lesions. *J Physiol* 242, 489-503
- Hoekstra PT, Kahnoski R & McCamish MA et al (1983). Transurethral prostatic resection syndrome-A new perspective: Encephalography with associated hyperammonemia. *J Urol* 130, 704-707
- Kita H & Oomura Y (1982). Evidence for a glycinergic cortico-lateral hypothalamic inhibitory pathway in the rat. *Brain Res* 235, 131-136
- Markand ON, Garg BP & Brandt IK (1982). Nonketotic hyperglycinemia: Electroencephalographic and evoked potential abnormalities. *Neurology* 32, 151-156
- Marshall JM (1986). The role of the glycine sensitive area of the ventral medulla in cardiovascular responses to carotid chemoreceptor and peripheral nerve stimulation. *Pflügers Arch* 406, 225-231
- Morad M & Maylie J (1980). Calcium and cardiac electrophysiology, some experimental considerations. *Chest* 78, 166-171
- Nattle SV, Elharrar V, Jipes DP & Baley JC (1981). pH-dependent electrophysiological effects of quinidine and lidocaine on canine Purkinje fibers. *Circ Res* 48, 55-61
- Niedergerke R & Orkand RK (1966). The dual effect of calcium on the action potential of the frog heart. *J Physiol* 184, 291-311
- Noble D (1985). Ionic basis of rhythmic activity in the heart. In cardiac electrophysiology and arrhythmias. ed. Zipes DP, Jalife J, Grune and Stratton New York part I. 3-11
- Osborn DE, Rao PN, Greene MJ & Barnard RJ (1980). Fluid absorption during transurethral resection. *Brit Med J* 281, 1549-1550
- Persson B (1980). Cardiovascular effects of intracerebroventricular GABA, glycine and muscimol in the rat. *Naunyn-Schmiedberg's Arch Pharmacol* 313, 225-236
- Quadbeck J & Rieter M (1975). Cardiac action potential and inotropic effect of noradrenaline and calcium. *Naunyn-Schmiedbergs Arch Exp Path Pharmacol* 286, 337-351
- Read WO & Welty JD (1963). Effect of taurine on epinephrine and digoxin induced irregularities of the dog heart. *J Pharmacol* 139, 283-289
- Reuter H (1974). Exchange of calcium ions in the mammalian myocardium. Mechanisms and physiological significance. *Circ Res* 34, 99-105
- Reuter H (1974). Localization of beta adrenergic receptors and effects of noradrenaline and cyclic nucleotides on action potentials, ionic currents and tension in mammalian cardiac muscle. *J Physiol* (London) 242, 429-451
- Reuter H (1967). The dependence of slow inward current in Purkinje fibers on the extracellular calcium-concentration. *J Physiol* (Lond) 192, 479-492
- Reuter H (1965). Über die wirkung von Adrenalin auf den Cellularen Ca-Umsatz des Meerschweinchenvorhofs. *Naunyn-schmiedbergs Arch Exp Path Pharmacol* 251, 401-412
- Roesch RP, Stoelting RK & Lingeman JE, et al (1983). Ammonia toxicity resulting from glycine absorption during a transurethral resection of the prostate. *Anesthesiology* 58, 577-579
- Stanton HC & Woodhouse FH (1960). The effect of Gamma-amino-n-butylic acid and some related compounds on the cardiovascular system of anesthetized dogs. *J Pharmacol* 128, 233-242
- Temte JV & Davis LD (1967). Effect of calcium concentration on the transmembrane potentials of Purkinje fibers. *Circ Res* 20, 32-44
- Wang JM, Wang KC & Creel DJ, et al (1985). Effects of glycine on hemodynamic responses and visual evoked potentials in the dog. *Anesth Analg* 64, 1071-1077
- Watanabe AM & Besch HR (1974). Cyclic adenosine monophosphate modulation of slow calcium influx channels on guinea pig heart. *Circ Res* 35, 316-324
- Werman RD, Davidoff RA & Aprison MH (1968). Inhibitory actions of glycine on spinal neurons in the cat. *J Neurophysiol* 31, 81-95
- Werman RD, Davidoff RA, Aprison MH (1967). Inhibition of motoneurons by iontophoresis of glycine. *Nature* 214, 681-683
- Winbury MM & Criftenden PJ (1947). The action of the basic amino acids on the heart and intestine. *J Pharmacol* 90, 293-303