

# 암모니아가 가토심방근 및 동방결절세포의 활동전압에 미치는 효과

한양대학교 의과대학 생리학교실

조용수 · 강석한 · 김진혁 · 고상돈 · 김기순

(1989년 10월 27일 접수)

== Abstract ==

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

Yong Soo Cho, Sok Han Kang, Jin Hyuk Kim, Sang Don Koh and Kee Soon Kim

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

Electrophysiological effects of ammonia was studied in the isolated superfused sinus node and atrial muscle cells of the rabbit heart. No significant changes were observed in the overshoot potential (OS), maximum diastolic potential (MDP), and action potential amplitude (APA) of the sinus node cells following superfusion with 3.0 mM ammonia, fifty times upper limit of the normal human plasma level. However the action potential duration (APD) of sinus node cells were significantly prolonged after superfusion with 0.6 mM ammonia for 20 min or with 1.2 and 3.0 mM ammonia for 5 minutes.

Ammonia in all the concentrations tested decreased the rate of spontaneous firing (RSF) from the sinus node cells. After superfusion of sinus node cells with 0.3 mM ammonia for 20 min, the RSF significantly decreased from 20 min to 25 min after onset of superfusion while a significant decrement in the RSF was observed from 7 min to 30 min following superfusion with 3.0 mM ammonia for 5 min.

On the other hand, the effects of ammonia on the action potential of the rabbit atrial muscle cell were much similar to those on pacemaker cells except that the atrial cell was generally less sensitive to ammonia. The results suggest that ammonia may cause changes in the action potential of the rabbit cardiac cells by the direct action, and that the cardiac effects of ammonia are generally opposite to those of glycine.

**Key Words:** Ammonia, Action potential, Sinus node cells, Rate of spontaneous firing

## 서 론

생체에 중요한 영양소의 하나인 아미노산중에는 neurotransmitter나 neuromodulator로 작용하는 것도 있으며 신경세포의 흥분성이나 순환계기능에 영향을 미치는 것이 있음은 주지의 사실(Curtis & Watkin, 1965; Wermain et al, 1968; Monaghan et al, 1985)이다. Winbury등(1947)은 염기성 아미노산이

생체 기능에 미치는 작용을 구명한 연구에서 arginine 및 lysine은 적출동물의 심장수축을 억제할 뿐만 아니라 마취동물의 정맥내로 투여시 혈압강하 및 심박수 감소반응을 유발한다고 하였다.

한편 아미노산을 실험동물에 단독 및 복합적으로 투여하는 경우 세포독성을 유발할 수 있으며(Handler et al, 1949; Doolan et al, 1956; Guillino et al, 1955a; Gullino et al, 1956; Harper et al, 1956) L-arginine은 아미노산에 의한 독성을 감약시키

는 효과가 있음은 잘 알려진 사실(Guillino et al, 1955b; Najarian & Harper, 1956)이다. 일찌기 Guillino등(1955)은 백쥐에서 필수 아미노산의 LD<sub>50</sub>을 결정하여 보고한 바 있으며 또한 복합 아미노산을 정맥내 주입시 arginine이 결여되면 실험동물은 한시간 이내에 치사케된다는 주장(Kamin & Handler, 1951)에 대해 동물체에서 음성 질소평형을 유발할 뿐 무해하다는 기술(Fahey et al, 1958)도 있다.

일찌기 Pitts (1943)는 glycine용액(2~10%)을 실험동물에 투여하면 사구체여과율 및 심혈류량의 감소 및 구토등이 유발된다고 한데 이어 Handler등(1949)은 glycine (1.0 mg N/Kg/min)이 호흡중추의 기능을 억제하여 동물을 치사케하는데 이러한 경우 아미노산의 독성은 주입 지속시간보다 총 투여용량과 상관성이 깊다고 하였다.

1956년 Doolan등(1956)은 glycine을 인체내에 투여한 후 관찰되는 조직독성은 암모니아의 생성 때문이라 하였으며 du Ruisseau등(1956)은 동물에 아미노산과 초산암모니아를 투여하면 혈중 암모니아 및 urea농도가 증가하고 마침내 동물은 사망한다고 하였다. 또한 Harper등(1956)은 실험적으로 암모니아 중독을 유발하기 위해서는 암모니아 화합물보다는 glycine을 투여하는 편이 더 생리적이고 정확한 방법이라고 하였으며 Najaran등(1956)은 glutamine보다는 arginine이 glycine에 의한 암모니아의 생성을 더욱 효율적으로 억제한다고 하였다.

1948년 Nesbit (1948)가 최초로 경뇨도 전립선절제술시 관류용액으로 glycine용액의 사용을 추천한지 10년 후 Hoyt등(1958)은 glycine이 체내에서 암모니아를 생성할 수 있는 가능성을 지적하며 glycine용액의 사용이 위험함을 경고한 바 있다.

최근에 이르기까지 TUPR (transurethral prostatic resection)-syndrome에 관해서는 많은 보고(Creevy & Webb, 1947; Harrison et al, 1956; Drinker et al, 1963; Osborn et al, 1980; Hoekstra et al, 1983; Roesch et al, 1983)가 있으며 이의 발생기전에 glycine 및 이의 대사물인 암모니아의 관련성이 강조되기에 이르렀다(Hoekstra et al, 1983; Roesch et al, 1983). Hoekstra등(1983)은 간질환 환자가 경뇨도 전립선절제를 받을때 glycine용액으로 관류한다면 hyperammonia encephalopathy에 대한 위험도가 높

아진다고 하였다.

최근 Choe등(1988)은 적출가토 동방결절세포의 활동전압에 미치는 glycine의 효과를 조사하였는바 APA (action potential amplitude)는 증가하고 APD (action potential duration)는 단축되며 TUPR-syndrome (Drinker et al, 1963)이나 non-ketotic hyperglycemia (Markand et al, 1982) 환자에서와는 달리 RSF (rate of spontaneous firing)는 현저히 증가됨을 관찰할 수 있었다고 한다.

이상으로 보아 특히 TUPR-syndrome이 있는 경우에는 glycine과 암모니아가 다같이 심장기능에도 영향을 미칠 것이 예상되나 아직 암모니아가 동물의 적출심장의 전기 생리학적 특성에 미치는 효과등에 관하여서는 알려진 바가 없다.

본 실험은 암모니아가 적출심장세포의 막전압에 직접적인 영향을 미치는가를 구명함과 아울러 이를 이미 알려진 glycine이 심장세포의 활동전압에 미치는 효과와 비교해 보기 위하여 시행하였다.

## 실험재료 및 방법

### 1. 동방결절 절편제작

암모니아가 동방결절세포의 활동전압에 미치는 효과를 관찰하기 위한 실험에서는 체중 1.6~2.2 Kg의 가토 20마리를 성의 구별없이 사용하였는데 먼저 실험동물의 후두부를 강타하여 치사케한 후 개흉하여 심장을 적출하여 이를 Tris-Tyrode용액(NaCl 148, KCl 4.0, CaCl<sub>2</sub> 2.0, MgCl<sub>2</sub> 1.0, glucose 5.5 및 Tris 10 mM)이 담긴 용기내로 옮겼다. 그 후 Tyrode용액이 담긴 용기내에서 적출심장을 방실경계를 따라 절개하여 심실을 제거하고 다시 심방중격과 평행이 되게 상·하 대정맥방향으로 심방을 절개하여 동방결절부가 노출되게 한 다음 분계릉(crista terminalis)과 거의 수직방향으로 심방조직을 세절하여 동방결절이 포함된 절편(2×5 mm)을 만들어 Tyrode용기속에 한시간 이상 방치하여 회복시켰다.

### 2. 심방근 절편제작

암모니아가 동물의 심방근세포의 막전압에 미치는 영향을 구명하기 위한 실험에서는 체중 1.8~2.3 Kg의 가토 9마리를 역시 성의 구별없이 사용하였

다. 심방근세포의 막전압을 기록측정하기 위하여서는 위에서 기술한 것과 같은 요령으로 조직절편을 만들었으며 활동전압의 특성에 따라 심방근세포를 확인하였다.

### 3. 미세전극의 제작 및 활동전압의 측정

Vertical pipette puller (David Kopf, Model 700D)를 이용하여 모세유리관(Kwik-Fil glass capillary 1B 100F-6, WPI)의 일단을 가늘게 뽑은후 3M KCl 용액을 채워 미세전극을 만들었으며 이중 20~30MΩ의 저항을 갖는 것만을 골라 사용하였다. 활동전압을 기록하기 위해서는 먼저 심장조직절편을 Tris-Tyrode용액(35.5±0.2°C, pH 7.38±0.2)으로 관류(7~8 ml/min)되고 있는 조직용기의 바닥에 핀으로 고정된 다음 해부현미경하에서 micromanipulator (Narishige Mo-15)를 이용하여 미세전극을 동방결절세포나 심방근세포내로 삽입하였다.

심장세포의 활동전압은 이들 세포에 삽입된 미세전극을 microprobe system (M-707A, WPI)에 연결하여 oscillograph (Grass Model 7)상에서 기록하거나 analog digital converter (본 교실제작: ADC 0809)를 이용하여 computer로 분석하였으며 활동전압변동의 유의성을 판정하기 위해서는 paired t-test를 시행하였다.

### 4. 암모니아 용액의 관류

암모니아(NH<sub>4</sub>OH: 일본 Ishizu회사제)를 먼저 소량의 Tyrode용액에 희석한 후 관류 용액내에 첨가하여 최종농도가 0.3, 0.6, 1.2 및 3.0 mM이 되게 하였으며 심장세포를 각 농도의 암모니아 용액으로 5분 혹은 20분간 관류(superfusion)한 후 Tyrode용액으로 세척하였다. 암모니아 용액의 pH는 HCl을 첨가하여 7.38±0.2이 되게 교정하였으며 암모니아의 휘발을 방지하기 위해서는 밀폐관계를 통해 관류하였다.

## 실 험 결 과

### 1. 암모니아가 가토 동방결절세포의 활동전압에 미치는 효과

적출가토의 동방결절세포를 수중농도(0.3, 0.6, 1.2 및 3.0 mM)의 암모니아 용액으로 5분간 관류한 후 시간경과에 따른 활동전압의 OS (overshoot potential) 및 MDP (maximum diastolic potential)의 변동을 45분간 관찰하였는 바 그 결과는 표 1에서와 같다. 본 실험에서 동방결절세포를 관류한 암모니아 용액의 최저농도 및 최고농도는 각각 0.3 및 3.0 mM이었는데 이는 사람의 정상혈장내 암모니아의

**Table 1.** Changes in overshoot potential (OS) and maximum diastolic potential (MDP) of the rabbit sinoatrial node cell following superfusion with ammonia solution for 5 minutes

Variable	Conc. of ammonia (mM)	N	Time (min)					
			0	5	10	20	30	45
OS (mV)	0.3	7	26.3±3.8	0.0±0.4	0.6±1.1	-0.3±1.7	0.6±1.5	-1.1±1.1
	0.6	7	20.2±2.9	0.1±0.4	-0.2±0.3	-0.2±0.9	-0.5±0.7	-0.2±0.5
	1.2	10	22.4±2.6	-0.8±0.9	-0.8±0.9	0.6±1.1	1.2±1.5	-0.8±0.9
	3.0	127	20.7±2.3	-0.5±0.7	0.0±0.8	-0.5±0.9	-1.0±1.0	-1.0±1.0
MDP (mV)	0.3	7	77.7±3.3	0.0±0.4	-0.9±1.1	0.6±0.9	-0.3±0.7	0.6±0.9
	0.6	7	76.0±3.1	0.3±0.7	0.7±1.2	0.3±0.5	0.6±0.3	0.0±0.4
	1.2	10	79.2±2.1	-0.2±0.2	0.8±0.8	0.8±0.9	-0.6±0.8	0.0±0.6
	3.0	12	76.0±1.5	-0.5±0.5	-0.5±0.5	0.4±0.6	0.3±0.7	0.3±0.7

All values are mean±SE.

Paired t-test was used to determine statistical significance.

N = number of impalements

**Table 2.** Time course of changes in action potential amplitude (APA) of the rabbit sinus node cells after superfusion with ammonia solution for 20 min

Conc. of Ammonia (mM)	N	Changes in APA (mV)					
		Time (min)					
		0	5	10	15	20	30
0.3	8	106.7±2.3	-2.0±0.3	-0.5±0.3	-0.6±0.4	-0.9±0.5	-1.2±0.7
0.6	10	95.5±3.0	-1.0±0.4*	-1.4±0.4*	-0.4±0.6*	-0.6±0.9	0.1±1.0
1.2	8	93.9±3.4	-2.0±0.5**	-1.0±0.4*	0.6±1.1	0.4±1.5	0.1±1.0

All values are mean±SE.

Paired t-test was used to determine the statistical significance.

N=number of impalements

\* : p<0.025, \*\* : p<0.005

**Table 3.** Time course of changes in action potential duration of the rabbit sinus node cells following superfusion with ammonia solution for 5 min

Conc. of Ammonia (mM)	N	Changes in APD <sub>60</sub> (msec)						
		Time (min)						
		0	5	10	15	20	30	45
0.3	7	109.1±5.2	0.1±0.1	-0.3±0.8	0.1±0.1	-0.6±0.7	-0.6±0.7	-0.6±0.7
0.6	7	110.0±4.8	4.0±0.8	1.0±0.7	1.9±1.5	0.7±0.7	0.4±0.8	-0.6±0.3
1.2	10	102.0±2.8	1.8±0.7*	3.2±1.5*	5.2±1.2***	2.5±0.8**	0.0±1.2	-0.5±1.1
3.0	12	105.4±4.2	0.4±0.7	6.8±1.2***	6.8±1.2***	1.7±0.7*	-0.4±0.9	-0.4±0.9

All values are mean±SE.

Paired t-test was used to determine statistical significance.

N=number of impalements, APD<sub>60</sub>=time to 60% repolarization

\*: p<0.05, \*\*: p<0.01, \*\*\*: p<0.005

상한농도 (60 μM/L)의 5배 및 50배에 해당한다. 가토동방결절에서 기록한 활동전압의 OS 및 MDP는 3.0 mM의 암모니아 용액에 의해서도 전연 변동되지 않음을 알 수 있었다.

또한 암모니아가 가토 동방결절세포의 활동전압의 크기(APA: action potential amplitude)에 미치는 영향을 알아보기 위해 암모니아 용액으로 20분간 동방결절세포를 관류하였는 바 암모니아는 0.6 및 1.2 mM 농도에서 관류시작 후 5~10분에서 동방결절세포의 APA를 현저하지는 않으나 유의하게 감소시켰다(Table 2).

암모니아가 가토 동방결절세포의 APD (action potential duration)에 미치는 효과를 관찰하기 위해

동방결절세포를 암모니아 용액으로 5분간 관류한 뒤 45분간 APD<sub>60</sub> (time to 60% repolarization)의 변동을 추적하였다. 암모니아는 1.2 및 3.0 mM 농도에서 각각 관류시작 후 5분 및 10분에서 동방결절세포의 APD<sub>60</sub>을 유의하게 연장시켰으며 이러한 변동은 관류시작 후 20분까지 지속됨을 볼 수 있었다(Table 3 및 Fig. 1). 또한 동방결절세포를 0.6 mM 및 1.2 mM 암모니아 용액으로 20분간 관류하였는 바 동방결절세포의 APD<sub>60</sub>은 관류 시작 후 각각 20분 및 15분에서 유의하게 연장되었다(Fig. 2).

한편 동방결절세포의 RSF (rate of spontaneous firing)는 암모니아용액으로 5분 및 20분간 관류한 경우 예외없이 현저한 감소를 보였다(Table 4 및

Fig. 3,4). 암모니아 용액(0.6, 1.2 및 3.0 mM)으로 5 분간 관류한 경우 동방결절세포의 RSF는 대체로 관류 시작 후 10분부터 유의하게 감소되었으며 3.0

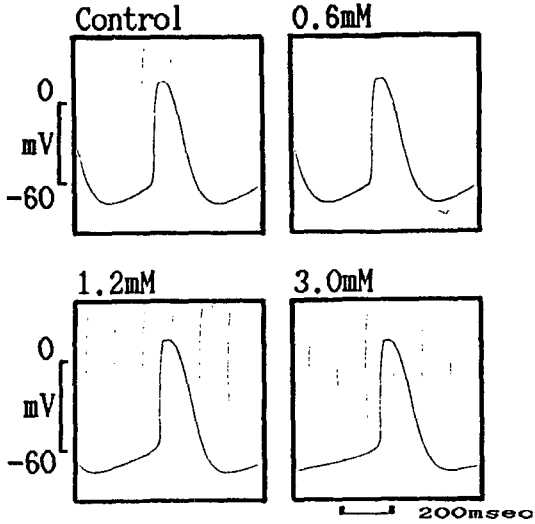


Fig. 1. Action potential duration ( $APD_{60}$ ) of the rabbit sinus node cells following superfusion with ammonia solution for 5 min.

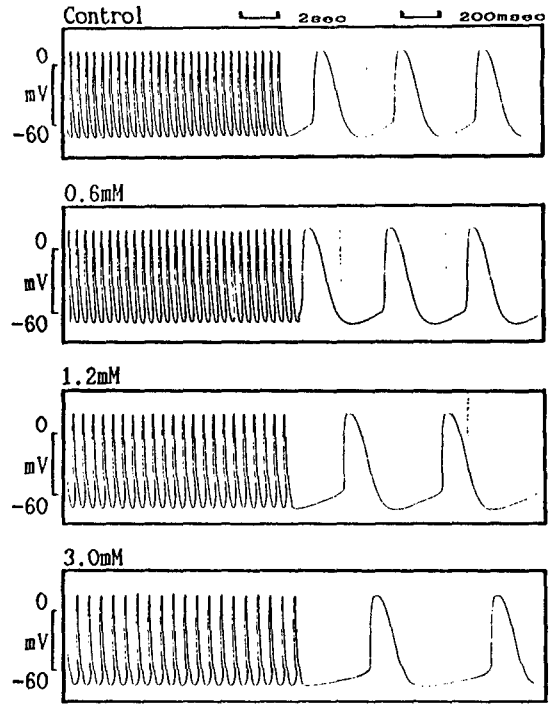


Fig. 3. Changes in rate of spontaneous firing (RSF) of the rabbit sinus node cells following superfusion with ammonia solution for 5 min.

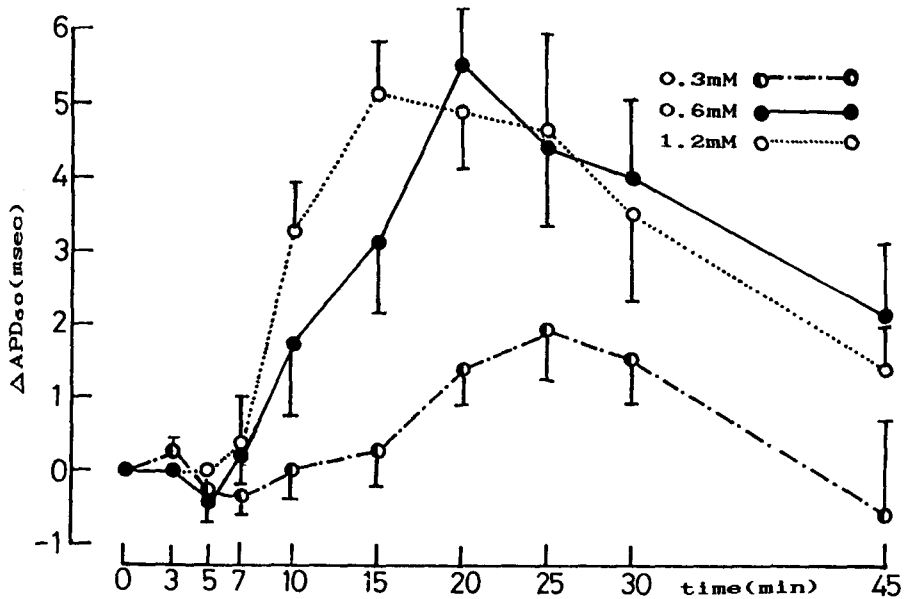


Fig. 2. Time course of changes in action potential duration of the rabbit sinus node cells following superfusion with ammonia solutions for 20 min.

**Table 4.** Change in rate of spontaneous firing (RSF) of the rabbit sinus node cells after superfusion with ammonia solution for 5 min

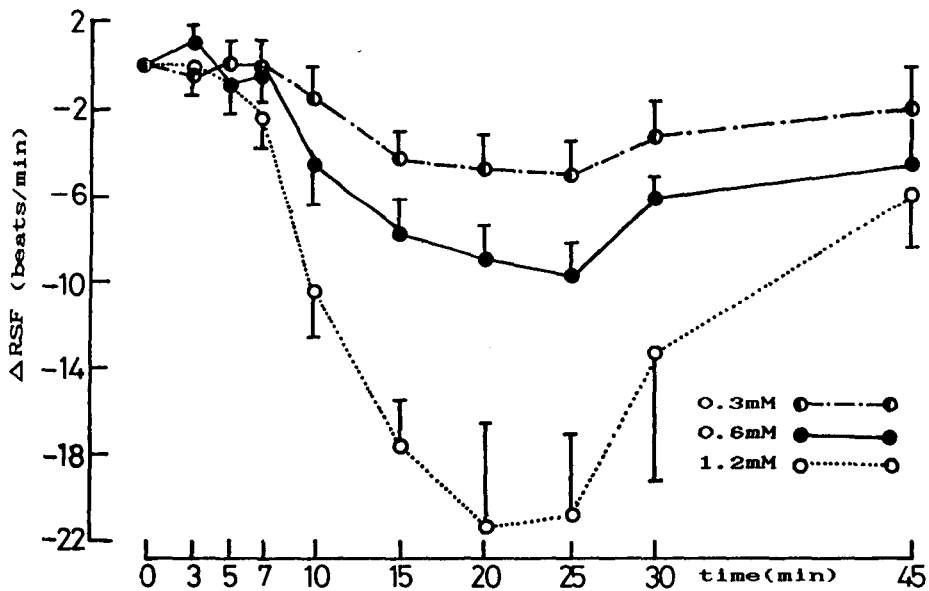
Conc. of Ammonia (mM)	N	Changes in RSF (beats/min)							
		0	5	10	15	20	30	45	
0.3	7	126.5±6.6	0.2±1.6	-1.8±1.3	-2.6±1.4	-1.3±1.4	-0.7±.6	0.8±1.3	
0.6	7	136.1±9.9	-2.2±0.8*	-4.5±1.2*	-6.4±1.4*	-3.4±0.9*	-0.4±1.9	0.4±1.6	
1.2	10	141.8±5.3	-2.6±3.5	-7.5±2.1*	-12.0±4.2**	-3.8±3.4	0.5±3.3	2.8±2.8	
3.0	12	147.3±6.1	-3.3±2.5	-27.3±3.3*	-26.7±3.6*	-13.7±3.7*	-10.5±3.6**	-6.5±3.6*	

All values are mean±SE.

Paired t-test was used to determine statistical significance.

N=number of impalements

\*: p<0.05, \*\*: p<0.01, \*: p<0.005



**Fig. 4.** Changes in rate of spontaneous firing (RSF) of the rabbit sinus node cells following superfusion with ammonia solution for 20 min.

mM농도에서는 45분까지도 회복되지 못하였다. 암모니아 용액에 의한 동방결절세포의 RSF변동은 투여 암모니아용액의 농도에 비례하였다. 암모니아 용액으로 20분간 관류한 경우 동방결절세포의 RSF는 0.3 mM 및 0.6 mM농도에서 각각 관류 시작 후 20분 및 15분에  $4.8 \pm 1.4$  beats/min 및  $7.8 \pm 1.7$

beats/min 감소되었으며 거의 30분까지 지속되었다 (Fig. 4). 또한 1.2 mM농도의 암모니아용액으로 관류시에는 동방결절세포의 RSF가 관류 시작 후 10분에서 감소( $10.6 \pm 2.0$  beats/min)하기 시작하여 30분에도 정상수준으로 회복되지 않았다.

고농도의 암모니아 용액을 연속투여한 경우에는

동방결절세포의 RSF가 얼마동안 갑자기 증가하였다가 그후 APA의 감소와 더불어 급격히 감소되었다가 회복하지 못하는 경우도 있었다(Fig. 5).

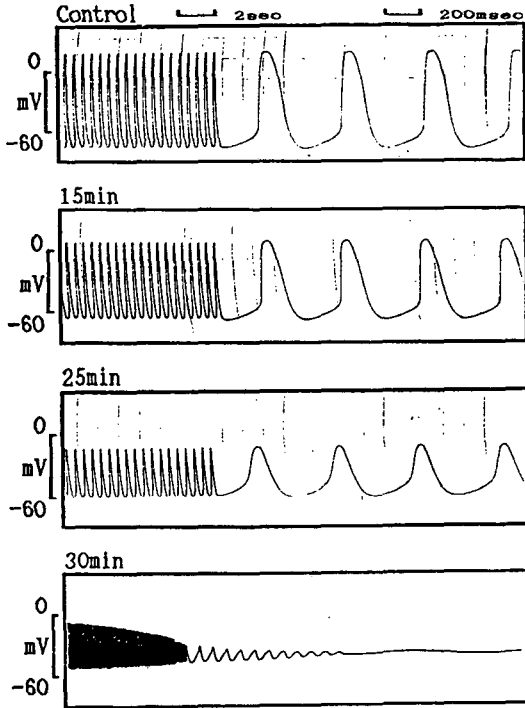


Fig. 5. Toxic effect of ammonia on transmembrane potentials of the sinus node cells of rabbit heart.

## 2. 암모니아가 가토 심방근세포의 활동전압에 미치는 효과

가토 심방근세포를 암모니아용액(0.6, 1.2 및 3.0 mM)으로 5분간 관류한 후 활동전압의 OS 및 APA의 변동은 관류시작 후 30분까지 추적하였는데 그 결과를 종합하면 Table 5와 같다. 가토 심방근 세포의 OS 및 APA는 모든 농도의 암모니아 용액에서

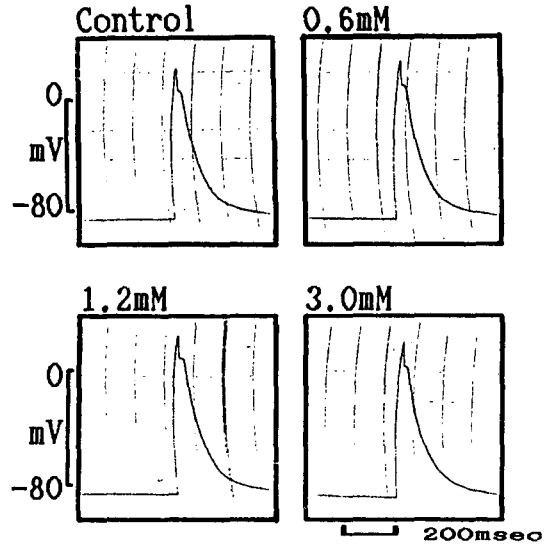


Fig. 6. Changes in action potential duration ( $APD_{60}$ ) of the rabbit atrial muscle cells following superfusion with ammonia solution.

Table 5. Changes in overshoot potential (OS) and action potential amplitude (APA) of the rabbit atrial muscle cells following superfusion with ammonia solution

Variable	Conc. of ammonia (mM)	N	Time (min)					
			0	5	10	20	30	45
OS (mV)	0.6	5	25.0±4.9	-3.0±3.5	-5.0±4.9	-2.0±2.8	-1.0±2.1	0.0±1.4
	1.2	7	24.4±2.9	-0.8±0.4	-2.0±1.6	-1.6±1.0	-2.6±1.4	-1.4±1.2
	3.0	5	18.4±4.2	3.0±2.1	3.0±2.1	4.0±2.8	4.0±2.8	4.0±2.8
APA (mV)	0.6	5	112.0±1.4	0.0±1.4	-1.0±2.1	0.0±1.4	0.0±1.4	0.0±1.4
	1.2	7	104.8±4.0	0.8±2.2	0.8±2.2	0.8±2.2	0.0±2.4	-1.6±2.7
	3.0	5	108.0±1.4	-1.0±0.7	-1.0±0.7	2.0±1.4	-2.0±0.0	-2.1±0.0

All values are mean ± SE.

Paired t-test was used to determine statistical significance.

Abbreviations are same defined for table 1 and 2.

**Table 6.** Time course of changes in action potential duration (APD<sub>60</sub>) of the rabbit atrial muscle cells following superfusion with ammonia solution

Conc. of Ammonia (mM)	N	Changes in APD <sub>60</sub> (msec)						
		Time (min)						
		0	5	10	15	20	30	45
0.6	5	107.5±8.8	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
1.2	7	103.2±9.2	-2.0±1.8	-0.4±2.3	-0.6±2.4	-1.0±2.2	-2.0±1.8	-2.0±1.8
3.0	5	107.5±8.8	0.0±0.0	7.5±1.8*	5.5±0.4*	4.5±0.4*	0.5±0.4*	4.5±0.4*

All values are mean±SE.

Paired t-test was used to determine statistical significance.

Abbreviations are same as defined for table 3.

\*: p<0.05

**Table 7.** Time course of changes in rate of spontaneous firing (RSF) of the rabbit atrial muscle cells after superfusion with ammonia solution

Conc. of Ammonia (mM)	N	Changes in RSF (beats/min)						
		Time (min)						
		0	5	10	15	20	30	45
0.6	5	98.0±1.4	-2.7±1.4	-3.5±1.1*	-3.5±1.1*	-2.0±1.1	-2.5±1.3	-2.3±1.4
1.2	7	89.8±5.9	-1.1±0.7	-4.8±0.9*	-5.6±1.6*	-3.8±1.4*	-2.8±1.6	-2.8±1.6
3.0	5	82.2±3.4	9.0±6.8	-2.7±5.7	-8.9±2.5*	-5.8±2.1*	-7.8±4.1	-6.9±3.6

All values are mean±SE.

Paired t-test was used to determine statistical significance.

Abbreviations are same as defined for table 4.

\*: p<0.05, \*: p<0.005

다소 증감하였으나 유의한 변동은 아니었다.

한편 가토 심방근세포를 0.6, 1.2 및 3.0 mM 농도의 암모니아 용액으로는 5분간 관류한 후 시간경과에 따른 심방근세포의 APD 및 RSF의 변동을 추적하였는 바 APD<sub>60</sub>은 3.0 mM 농도에서만 관류 시작 후 10분에 연장(7.5±1.8 msec)되어 45분까지 지속되었으며 (Table 6 및 Fig. 6) 또한 RSF는 모든 농도의 ammonia 용액에 의해 대체로 관류시작 후 10분에서 20분 사이에서 유의하게 감소되었는데 1.2 및 3.0 mM ammonia에 의한 최대 RSF반응은 각각 -5.6±1.6 및 -8.9±2.5 beats/min이었다 (Table 7 및 Fig. 7).

## 고 찰

본 실험에서 가토의 동방결절절편을 암모니아 용액(0.3~3.0 mM)으로 5분간 관류한 후에는 동방결절세포에서 기록된 활동전압의 OS 및 MDP는 거의 변동되지 않았으나 0.3~1.2 mM의 암모니아 용액으로 20분간 관류한 경우에 이들 세포의 APA는 0.6 및 1.2 mM의 농도에서 현저하지는 않으나 유의하게 감소되었다. 최근 보고된 glycine의 가토 동방결절세포의 활동전압에 현저한 영향을 미친다는 관찰과는 대조적이다. Glycine은 3 mM 농도에서 가토 동방결절세포의 MDP를 감소시키나 OS는 유의하게 증가시키며 5 mM 농도에서는 APA도 증가시킨



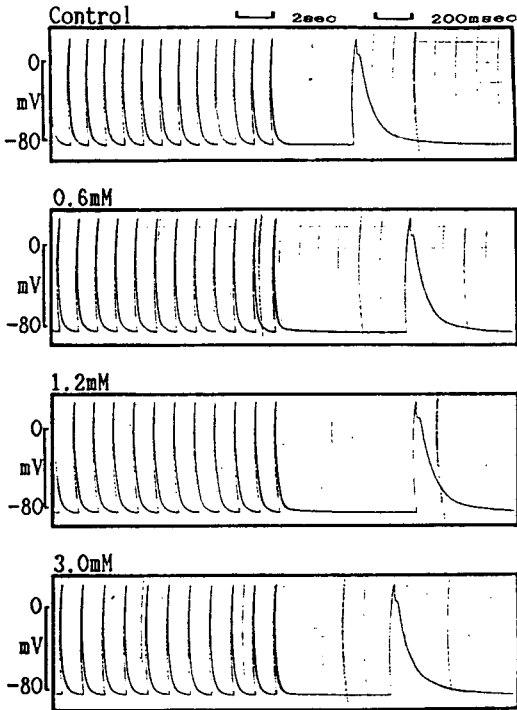


Fig. 7. Changes in rate of spontaneous firing (RSF) of the rabbit atrial muscle cells after superfusion with ammonia solution.

다고 한다(Choe et al, 1988).

한편 가토 동방결절절편을 암모니아 용액으로 관류하였을 때 동방결절세포에서 기록된 활동전압의 APD는 유의하게 연장되었다. 동방결절세포의 APD는 조직절편을 암모니아 용액으로 5분간 관류 시에는 1.2 mM 및 3.0 mM 농도에서 각각 관류 시작 후 15분 및 10분에 5~6 msec정도 연장되었으며 20분간 관류한 경우에는 0.6 mM 및 1.2 mM 농도에서 관류 시작 후 각각 20분 및 15분에 유의하게 연장되었다. 최등(1988)에 따르면 3.0 mM의 glycine으로 가토 동방결절절편을 관류하면 관류시작후 7분에 활동전압의 APD가  $4.3 \pm 1.3$  msec단축되었다고 하였다.

또한 가토 동방결절세포의 RSF는 암모니아 용액에 의해 유의하게 감소되었으며 RSF의 감소 정도는 투여 암모니아의 농도에 비례하였다. 관류용액내의 암모니아의 농도가 클수록 가토 동방결절세포의 RSF변동이 관찰되는 시간은 단축되었으며 RSF의

변동이 지속되는 시간도 길어졌다. 동방결절세포를 3.0 mM의 암모니아 용액으로 관류시 관류시작 후 12분에 RSF의 변동은 최고도 ( $34.8 \pm 3.0$  beats/min)에 달하였으며 이러한 RSF의 변동은 30분 후에도 완전히 회복되지 못하였다. 최등(1988)은 가토 동방결절절편을 3 mM의 glycine용액으로 관류한 경우 RSF는 약물 투여 후 3분에서 10분 사이에 유의하게 증가되며 RSF의 최대 변동량은  $13.6 \pm 3.4$  beats/min 정도였다고 한다. 이상에서 보다시피 가토 동방결절세포의 RSF 및 APD에 미치는 암모니아의 영향과 glycine의 효과가 서로 상반된다는 것은 대단히 흥미로운 사실이다.

한편 가토의 심방근절편을 암모니아 용액으로 관류시 3.0 mM농도에서도 심방근세포에서 기록한 활동전압의 OS, MDP 및 APA는 변동하지 않았다. 가토 심방근세포 APD는 3.0 mM의 암모니아 용액으로 관류시에만 유의하게 연장되었으며 RSF는 1.2 mM 및 3.0 mM의 암모니아 용액으로 관류시에만 유의한 감소를 보였다. 가토 심방근세포에서도 암모니아가 활동전압에 미치는 효과는 glycine과는 상반되며 대체로 동방결절세포보다는 암모니아의 영향을 적게 받음을 알 수 있었다.

가끔 고농의 암모니아 용액으로 심장세포를 몇회 연속적으로 관류한 후에 RSF가 한동안 발작적으로 증가하였다가 동시에 APA가 감소되어 회복되지 않는 경우가 있었는데 이는 약물에 의한 세포독성 때문이라 사료된다.

오래 전부터 필수아미노산도 과량섭취하면 중독 현상이 일어나며(Handler et al, 1949; Guillino et al, 1955; Guillino et al, 1956; Doolan et al, 1956; Harper et al, 1956) 또한 소량의 아미노산을 복합적으로 섭취하는 경우에도 arginine이 결여되면 세포독성이 나타난다(Guillino et al, 1955; Najarian & Harper, 1956)고 한다. 아미노산을 복합적으로 투여시 관찰되는 상대 중독증세는 호흡곤란, 체온저하 및 쇠약이라고 하며 단독 투여시에도 사구체여과율저하, 오심 및 구토등이 수반될 수 있으며 심하면 혼수상태를 거쳐 동물이 사망한다고 알려져 있다(Pitts, 1943; Handler et al, 1949).

아미노산중에서도 특히 glycine의 중독이 문제가 되는 경우로서는 non-ketotic hyperglycinemia 및

transurethral prostatic resection (TUPR)-syndrome (Creevy & Webb, 1947; Harrison et al, 1956; Drinker et al, 1963; Osborn et al, 1980; Roesch et al, 1983; Hoekstra et al, 1983)을 들 수 있다. Glycine을 위시한 여타 아미노산에 의해 세포독성이 일어나는 기전에 관하여서는 아직 명확히 밝혀져 있지 않으나 아미노산의 대사장애로 인한 산·염기 평형의 파괴 및 암모니아의 축적과 상관성이 깊을 것으로 지적되고 있다(Handler et al, 1949; Guillino et al, 1956).

Glycine을 위시한 아미노산을 다량 섭취하면 혈중 암모니아의 농도가 상승한다는 것은 잘 알려진 사실이다. 일찌기 Harper 등(1956)은 투여 glycine 및 alanine의 양과 혈중 암모니아 농도와의 상관성을 조사한 연구로부터 동물에 암모니아 중독을 유발하기 위해서는 무기 암모니아 화합물보다는 glycine을 투여하는 것이 더 이상적인 방법이라고 한데 이어 Najarian 등(1956)은 arginine이 아미노산에 의한 암모니아의 축적을 억제한다고 하였다. 최근 Hoekstra 등(1983)은 TUPR-syndrome이 있는 환자에서 encephalopathy가 병발하는 것은 hyperammonemia에 기인되며 이러한 경우 혈중 암모니아 농도는 정상수준의 10배 이상 상승할 수 있다고 하였다.

또한 중추 신경계에서 흥분성 신경전달물질로 지목하고 있는 산성 아미노산도 최소 5종의 receptor와 결합하여 신경세포를 활성화한 후 세포독성(excitotoxicity)을 일으킬 수 있다는 것은 잘 알려진 사실(Olney et al, 1971; Choi et al, 1987; Kim & Choi, 1987; Kim et al, 1987)이다. 이러한 흥분성 아미노산이 독성을 일으키는 데는  $Ca^{2+}$ 가 관여된다는 견해(Jancso et al, 1984; Hori et al, 1985)와  $Cl^-$ 의 수동적 이동에 의한 삼투성 용해작용이 원인이 된다는 주장(Rothman, 1985; Olney et al, 1986)이 있다.

본 실험의 결과에서 보듯이 암모니아가 동물의 심장기능에 미치는 효과는 glycine과는 차이가 많으며 가장 대표적인 것은 APD와 RSF에서 찾아볼 수 있다. 특히 TUPR-syndrome이나 non-ketotic hyperglycinemia가 있는 환자에서는 glycine과 암모니아 동시 심장에 미치는 영향을 미치므로 서로 상호적으로 작용할 것이 예상된다. TUPR-syndrome의 주요내용으로는 심박수감소, 혈압강하, 오심, 구토, 안면 창백증 및 호흡곤란등이 알려져 있는데

이는 아미노산의 중독증세와 유사하다.

TUPR-syndrome이 있는 경우 심박수가 감소하는 것은 glycine의 자체 효과가 아니고 암모니아의 작용으로 믿어진다. 이상의 결과로 볼 때 TUPR-syndrome이나 glycine의 중독시 glycine보다는 암모니아 심장에 미치는 영향이 더 크다고 사료된다.

## 결 론

암모니아가 동물의 심장기능에 미치는 영향을 구명하기 위해 가토 적출 동방결절 및 심방근세포를 암모니아 용액(0.3, 0.6, 1.2, 3.0 mM)으로 관류하기 전·후에 이들 세포에서 활동전압을 기록하여 서로 비교하였다.

1) 가토 동방결절세포를 암모니아 용액(0.3, 0.6, 1.2 및 3.0 mM)으로 관류하여도 활동전압의 OS, MDP 및 APA는 변동되지 않았다.

2) 동방결절세포를 0.6 mM 암모니아 용액으로 20분간 관류시  $APD_{60}$ 은 관류시작후 20분에서만 유의하게 연장되었으며 1.2 및 3.0 mM 농도에서는 5분간 관류하여도 대체로 12~15분에서  $APD_{60}$ 은 연장되었다.

3) 가토 동방결절세포의 RSF는 모든 농도의 암모니아 용액에 의해 감소되었으며 감소의 정도는 대체로 투여 암모니아 농도에 비례하였다. Pacemaker cell의 RSF는 저농도의 암모니아(0.3 mM)에서는 20분간 관류시 관류 시작 후 20~25분에 유의하게 변동되었으며 고농도(3.0 mM)에서는 5분간 관류하여도 RSF감소 효과는 30분까지 지속되었다.

4) 가토 심방근의 OS, MDP 및 APA는 암모니아 용액에 의하여 변동되지 않았다.

5) 심방근세포의 RSF는 1.2 및 3.0 mM의 암모니아에 의해서만 유의하게 감소되었으며  $APD_{60}$ 은 3.0 mM 농도에서만 유의하게 연장되었다.

이상의 결과로 볼 때 암모니아 동물의 심장세포에 직접 작용하는 효과는 대체로 glycine이 심장세포의 전기생리학적 특성에 미치는 영향과는 상반되는 바 TUPR-syndrome이나 non-ketotic hyperglycinemia시에는 이들 두 물질이 복합적으로 심장기능에 영향을 미칠 것이 예상되나 암모니아의 영향

이 더 크다고 사료된다.

## REFERENCES

- Choe KH, Kim JH, Koh SD, et al (1988). Effect of glycine on the action potential of the atrial muscle and sinus node cells of the rabbit heart. *Kor J Physiol* 22(2), 219-230
- Choi DW, Maulucci-Gedde M & Kriegstein AR (1987). Glutamate neurotoxicity in cortical cell culture. *J Neurosci* 7, 357-368
- Creevy CD & Webb EA (1947). A fatal hemolytic reaction following transurethral resection of the prostate gland: a discussion of its prevention and treatment. *Surgery* 21, 56-66
- Curtis DR & Watkin JC (1965). The pharmacology of amino acids related to gamma-amino butyric acid. *Pharmacol Rev* 17(4), 347-391
- Doolan P, Harper HA, Hutchin ME, et al (1956). The renal tubular response to amino acid loading. *J Clin Invest* 35, 888-896
- Drinker HR, Shields T, Grayhack JT, et al (1963). Simulated transurethral resection in the dog: Early signs and optimal treatment. *J Urol* 89, 595-602
- Fahey JL, Perry RS & McCoy PF (1958). Blood ammonia elevation and toxicity from intravenous L-amino acid administration to dogs: the protective role of L-arginine. *Am J Physiol* 192(2), 311-317
- Guillino P, Winitz M, Birnbaum SM, et al (1955). The toxicity of individual essential amino acids and their diastereomers in rats and the effect on blood sugar levels. *Arch Biochem Biophys* 58, 253-255
- Guillino P, Winitz M, Birnbaum SM, et al (1955). The toxicity of essential amino acid mixtures with special reference to the protective effect of L-arginine. *Arch Biochem Biophys* 58, 255-257
- Guillino P, Winitz M, Birnbaum SM, et al (1956). Studies on the metabolism of amino acids and related compounds in vivo. I. Toxicity of essential amino acids, individually and in mixtures, and the protective effect of L-arginine. *Arch Biochem Biophys* 64, 319-332
- Handler P, Kamin H & Harris JS (1949). The metabolism of parenterally administered amino acids. I. Glycine. *Biol Chem* 179, 283-301
- Harper HA, Najarian JS & Silen W (1956). Effect of intravenously administered amino acids on blood ammonia. *Proc Soc Exper Biol Med* 92, 558-563
- Harrison RH, Boren JS & Robinson JR (1956). Dilutional hyponatremic shock; another concept of the transurethral prostatic resection reaction. *J Urol* 75, 95-110
- Hoekstra PT, Kahnoski R, McCamish MA, et al (1983). Transurethral prostatic resection syndrome-A new perspective Encephalopathy with associated hyperammonemia. *J Urol* 130, 704-707
- Hori N, French-Mullen JMH & Acrpenter DO (1985). Kainic acid responses and toxicity show pronounced  $Ca^{2+}$  dependence. *Brain Res* 358, 380-384
- Hoyt HS, Goebel JL, et al (1958). Types of shock-like reaction during transurethral resection and relation to acute renal failure. *J Urol* 79, 500-506
- Jancso G, Karscu S, Kiraly E, et al (1984). Neurotoxin induced nerve-cell degeneration: possible involvement of calcium. *Brain Res* 295, 211-216
- Kamin H & Handler P (1951). Effect of infusion of single amino acids upon excretion of other amino acids. *Am J Physiol* 164, 654-660
- Kim JP & Choi DW (1987). Quinolate neurotoxicity in cortical cell culture. *J Neuroscience* 23, 423-432
- Kim JP, Kho J & Choi DW (1987). L-Homocysteate is a potent neurotoxin on cultured cortical neuron. *Brain Res* 437, 103-110
- Marby CC & Karam A (1963). Idiopathic hyperglycemia and hyperglycinuria. *South Med J* 56, 1444
- Markand ON, Garg BP & Brandt IK (1982). Nonketotic hyperglycinemia: electroencephalographic and evoked potential abnormalities. *Neurology* 32, 151-156
- Monaghan DT, Bridges RJ & Cotman CW (1985). The excitatory amino acid receptors: Their classes, pharmacology, and distinct properties in the function of the central nervous system. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 29, 365-402
- Najarian JS & Harper HA (1956). Comparative effect of arginine and monosodium glutamate on blood ammonia. *Proc Soc Exper Biol Med* 92, 560-563
- Nesbit RM & Glickman SI (1948). Use of glycine solution as an irrigating medium during transurethral resection. *J Urol* 59, 1212-1217
- Olney JW, Ho OC & Rhee V (1971). Cytotoxic effects of acidic and sulphur-containing amino acids on the infant mouse central nervous system. *Exp Brain Res*

- 14, 61-76
- Olney JW, Price MT & Samson L, et al (1986). The role of specific ions in glutamate neurotoxicity. *Neurosci Lett* 65, 65-71
- Osborn DE, Rao PN, Greene MJ, et al (1980). Fluid absorption during transurethral resection. *Brit Med J* 281, 1549-1550
- Perry TL, Urquhart N, Mae Lean J, et al (1975). Nonketotic hyperglycinemia: glycine accumulation due to absence of glycine cleavage in brain. *N Engl J Med* 292, 1269-1273
- Pitts RF (1943). A renal reabsorptive mechanism in the dog common to glycine and creatine. *Am J Physiol* 140, 156-162
- Roesch RP, Stoelting RK, Lingman JE, et al (1983). Ammonia toxicity resulting from glycine absorption during a transurethral resection of the prostate. *Anesthesiology* 58, 577-579
- related compounds in vivo. IV. Blood ammonia and urea levels following intraperitoneal administration of amino acids and ammonia acetate, and the effect of arginine thereon. *Arch Biochem Biophys* 64, 355-367
- Seppalainen AM & Simila S (1971). Electroencephalographic findings in three patients with nonketotic hyperglycinemia. *Epilepsia* 12, 101-107
- Werman RD, Davidoff RA & Aprison MH (1968). Inhibitory actions of glycine on spinal neurons in the cat. *J Neurophysiol* 31, 81-95
- Winbury MM & Crittenden PJ (1947). The action of the basic amino acid on the heart and intestine. *J Pharmacol* 90, 293-303
- Rothman SM (1985). The neurotoxicity of excitatory amino acid is produced by passive chloride flux. *J Neurosci* 6, 1483-1489
- du Ruisseau JP, Greenstein JP, Winitz M, et al (1956). Studies on the metabolism of amino acids and