

흰쥐의 심장과 심근세포에서 dopaminergic 수용체 자극이 Mg²⁺ 조절에 미치는 영향

강형섭 · 김종식 · 김진상

전북대학교 수의과대학
(1999년 3월 18일 접수)

Effects of dopaminergic receptor stimulation on Mg²⁺ regulation in the rat heart and isolated ventricular myocytes

Hyung-sub Kang, Jong-shick Kim, Jin-shang Kim

College of Veterinary Medicine, Chonbuk National University
(Received Mar 18, 1999)

Abstract : Magnesium(Mg²⁺) is one of the most abundant intracellular divalent cation. Although recent studies demonstrate that adrenergic receptor stimulation evokes marked changes in Mg²⁺ homeostasis, the regulation of Mg²⁺ by dopaminergic receptor stimulation is not yet known. In this work, we used dopaminergic agents to identify which type(s) of receptors were involved in the mobilization of Mg²⁺ by dopaminergic receptor stimulation in the perfused rat hearts, isolated myocytes and circulating blood. The Mg²⁺ content was measured by atomic absorbance spectrophotometry.

Dopamine(DA), apomorphine(APO) and pergolide stimulated Mg²⁺ efflux in the perfused rat hearts and these effects were inhibited by haloperidol or fluphenazine, nonselective dopaminergic antagonists. SKF38393, a selective dopaminergic agonist, increased Mg²⁺ efflux from the perfused hearts in dose dependant manners and SKF38393-induced Mg²⁺ efflux was blocked by haloperidol. However, dopaminergic agonists-induced Mg²⁺ efflux was potentiated in the presence of sulpiride or eticlopride, D₂-selective antagonist, from the perfused hearts. This increase of Mg²⁺ efflux was blocked by haloperidol or imipramine. DA or pergolide increased in circulating Mg²⁺ from blood. By contrast, PPHT stimulated Mg²⁺ influx(a decrease in efflux) from the perfused hearts and circulating blood. PPHT-induced Mg²⁺ influx was blocked by fluphenazine in the perfused hearts. DA-stimulated Mg²⁺ efflux was inhibited by dopaminergic antagonist in the isolated myocytes.

In conclusion, the flux of Mg²⁺ is modulated by DA receptor activation in the rat hearts. The efflux of Mg²⁺ can be increased by D₁-receptor stimulation and decreased by D₂-receptor stimulation,

respectively.

Key words : magnesium, dopaminergic agonist, dopaminergic antagonist, myocytes, heart.

서 론

Mg²⁺은 생체의 생리적 기능에 필수적인 이온으로 kinase, phosphatase 및 synthetase 등을 활성화시키며 세포의 에너지 대사조절 등 주요 역할에 대해서는 잘 알려져 있고¹⁻³ 최근 심장에서 Mg²⁺의 조절에 대한 연구가 활발해지고 있다. 특히 임상적으로 심맥관계 질환이 hypomagnesemia와 관련되고⁴ Mg²⁺의 섭취와 허혈성 심장질환이나 심장관련 사망률과 밀접한 관계가 있음이 보고되어⁵ 세포내 Mg²⁺의 기능 및 역할에 대한 연구는 활발히 되었으나¹² 심장세포내 Mg²⁺ 조절에 대해서는 비교적 잘 알려져 있지 않다.

이제까지의 Mg²⁺ 조절에 대한 연구에 대해 살펴보면 흰쥐의 심장세포에서 phorbol ester에 의한 PKC 활성화에 의해 세포내로 Mg²⁺이 유입되는 경향을 나타낸다고 하였으나^{6,7} phenylephrine이 기니픽 심장에서 Mg²⁺ 유리를 증가시킨다고 하였다⁸. 또한 심장에서 β -agonist에 의한 Mg²⁺ 유리효과는 세포막의 adenylate cyclase 활성화에 의한 세포내 cAMP 증가에 의한 결과라고 하였으나^{9,10} norepinephrine 자극이 Mg²⁺의 유리증가를 일으키지 않았다는 서로 상반된 보고와¹¹ 최근 기니픽 심장에서 histamine이 세포내 cAMP를 증가시켜 Mg²⁺ 유리 증가효과를 나타낸다고 보고된 바 있어, 심장에서 같은 수용체를 경유한 자극에 의해서도 연구자 및 실험동물에 따라 서로 다른 견해를 보이고 있다.

Dopamine(DA)은 신경전달자로서 중요한 역할을 할 뿐만 아니라 심장질환의 치료제로써 널리 사용되고 있다¹³. 특히 심장 및 신장에는 D₁ 및 D₂ 수용체가 존재하고 있음이 밝혀졌고 DA성 약물은 세포막의 G protein을 경유하여 세포반응을 일으키는데 D₁ 수용체는 G_s protein을 경유 adenylate cyclase의 자극과 관련이 있는 반면 D₂ 수용체는 G_i protein을 경유 adenylate cyclase의 억제와 관련되며^{14,15} DA성 약물은 급성 울혈성 심부전의 치료제로서 응용된다고 알려져 있다¹⁶. 그러나 DA 수용체 자극에

의한 Mg²⁺ 유리조절에 대한 연구는 전혀 없다.

따라서 DA 수용체 자극이 흰쥐의 관류심장, 심근세포 및 혈중 Mg²⁺ 변동에 미치는 영향을 관찰하고자 본 연구를 실시하였다.

재료 및 방법

심장의 적출 및 관류액의 채취 : 흰쥐(Sprague-Dawley, 200~250g)를 두부타격 후 심장을 적출하여 4℃의 산소포화 영양액(95% O₂ : 5% CO₂, pH 7.3)에서 혈액 등을 제거한 다음 영양액이 관류되고 있는 관류 system(Langendorff open system)의 연결관에 심장의 대동맥을 삽입하여 결찰하였다. 고정후 NaCl 120, KCl 3, CaCl₂ 1.2, MgCl₂ 1.2, KH₂PO₄ 1.2, glucose 10, NaHCO₃ 12 그리고 HEPES 10mM의 영양액(37℃, 95% O₂ : 5% CO₂ 및 pH 7.3)을 10ml/min 속도로 20분간 관류시킨 다음 관류액을 Mg²⁺ free 영양액으로 대체하여 공급하였다. Mg₂ free 영양액을 관류시킨 20분 후부터(Fig에서 1분으로 표시하였음) 관류된 영양액을 1분 간격으로 채취하였고 약물은 관류액 채취 10분 후부터 관류용액에 적정농도로 첨가하여 약 10분간 관류시켰으며 약물의 관류시간은 조건에 따라 변동시켰다.

심근세포 분리 및 배양액의 채취 : 심근세포의 분리는 De Young *et al*¹⁷의 collagenase 소화방법을 개선하여 다음과 같이 실시하였다. 흰쥐를 두부타격한 후 심장을 적출하였다. 적출심장의 대사를 감소시키기 위해 저온(4℃)의 산소포화 Joklik buffer로 세척한 후 절제된 대동맥을 관류 system의 cannula에 삽입 결찰하였다. 관류액은 95% O₂ : 5% CO₂로 포화된 Joklik buffer(11.1g/l Joklik membrane powder, glucose 10, NaHCO₃ 12mM, pH 7.2~7.3, 37℃)였다. 현수된 심장에 Joklik buffer를 약 5분간 관류하고 심장내 혈액 등이 제거되고 안정되면 collagenase를 첨가한(100IU/ml) Joklik buffer를 심장의 소화상태를 확인하면서 20~35분동안 재관류하였다. Ca²⁺-tolerant 세포를 얻기 위하여 소화시키는 동안 약 2, 7분에 각각 25 μ M

Ca²⁺을 첨가하였다. Langendorff 분리관으로부터 소화된 심장을 분리하여 bovine serum albumin(BSA, 10mg/ml)과 0.25mM CaCl₂이 첨가된 Joklik buffer와 collagenase buffer를 혼합한 용액내에서 절제된 심장을 조심스럽게 흔들면서 심근세포를 분리하였다. 분리된 심근세포는 BSA (10mg/ml)와 0.25mM CaCl₂가 첨가된 Joklik buffer에 부유시킨 후 심근세포의 부유액을 250μM nylon-gauze로 여과하고 3회 세척하였다. 분리된 세포는 상온에 60분동안 방치하면서 안정시켰고 방치하는 동안 10분 간격으로 0.25mM CaCl₂을 4회 첨가하여 buffer내 최종 Ca²⁺ 농도가 1.25mM이 되도록 하였으며 심근세포를 현미경하에서 관찰하여 70% 이상의 세포가 전형적인 막대모양으로 관찰될 때 실험을 실시하였다. 실험을 시작하기 직전에 관류심장에서 사용된 관류영양액으로 3회 세척후 다시 상기 영양액에서 Mg²⁺이 제거된 Mg²⁺ free 영양액으로 3회 세척을 실시하였고 실험은 심근세포가 부유된 10ml의 Mg²⁺ free 영양액을 시험관에 분주하여 교반기가 장착된 항온수조(37℃)에서 실시하였다. 심근세포가 부유된 각 시험관을 대조군 및 약물투여군으로 구분하여 항온수조에서 약 3분간 preincubation 하여 시험관내의 심근세포를 안정시켰다. 각 시험관에서 세포부유액을 2ml 취하여 원침후 그 상층액만을 얻어 실험의 대조액으로 하였다(결과에서 0 min으로 표기). 대조액을 얻은 후 즉시 약물을 적정농도가 되도록 하여 시험관에 첨가하였고 5, 10분 간격으로 2ml씩 2회 세포부유액을 취하여 원침후 상층액을 얻어 실험액으로 하였다. 남은 심근세포는 냉동(-70℃) 보관하였다. Mg²⁺의 농도분석이 끝난 후 세포를 용해하여 Lowry 방법으로 protein을 분석하였으며 각 시험관내 500μg protein/ml가 되도록 하였고 분리심근세포에서 유리된 Mg²⁺의 농도는 nmol/10⁶ cells로 표기하였다.

혈액의 채취와 혈장의 분리 : 흰쥐를 실험 90분 전에 pentobarbital sodium(30mg/kg)을 복강내 투여로 마취하고 약 30분정도 안정시킨 후 대퇴동맥에 catheter를 삽입하여 반복적인 채혈이 용이하도록 하였고 catheter에 heparin (1,000IU/ml)이 함유된 생리식염수를 cannula에 채워서 혈액응고를 억제하였다. 원활한 산소공급을 위해 trachea에 catheter를 삽입하고 rodent ventilator(Harvard, USA)를 설치하여 호흡수 및 호흡량 등을 조절하였으며 약물은 대퇴정맥이나 복강내로 투여하였다. 채혈은 약물투여 10분전부터 매 10분 간격으로 실시하였으며(약물투여 시간은 실험결과에서 0 min으로 표기) 약물투여 전 채취

한 혈액을 대조액으로 사용하였다.

혈액을 약 0.3ml 취하여 heparin(1,000IU/ml)을 가한 시험관(1.5ml)에 담아 14,000rpm으로 5분간 원침하여 혈장을 얻었다. 얻은 혈장 50μl는 1.5ml의 10% nitric acid 용액에 혼합하여 10분간 실온에서 방치한 후 침전(1,500rpm, 10분)시켜 상층액을 취하여 Mg²⁺ 농도측정에 사용하였다.

시료의 Mg²⁺ 농도측정 : 상기의 방법에 의해 얻은 심장관류액, 심근세포 배양액 및 혈액내의 Mg²⁺ 농도는 atomic absorption spectrophotometer(Analab 9200A, Korea)를 이용하여 파장 285.2 nm에서 측정하였다.

사용약물 : Apomorphine은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)로 부터 DA, pergoride, haloperidol, fluphenazine, SKF38393, PPHT, eticlopride 및 sulpiride는 Research Biochemicals International(Natick, MA, USA)로부터 collagenase는 Worthington Biochemical Corp.(Freehold, NJ, USA)으로부터 구입하였다.

통계처리 : 실험성적은 Mean±SEM으로 나타냈고 각 군간의 유의성은 Student's *t*-test에 의해 검정하였다.

결 과

관류심장에서 비선택적 DA(D₁/D₂) 수용체 자극약물이 Mg²⁺ 유리에 미치는 영향 : Fig 1A는 흰쥐 관류심장에 D₁/D₂ 효현제인 dopamine(DA, 10⁻⁵M), apomorphine(APO, 5×10⁻⁵M) 및 pergoride(2×10⁻⁵M)를 관류액내에 적정농도가 되도록 처치하여 Mg²⁺ 유리에 미치는 효과를 관찰한 결과로 D₁/D₂ 효현제들은 Mg²⁺ 유리 증가효과를 나타냈고 DA, APO 및 pergoride에 의한 Mg²⁺ 유리 증가효과는 비선택적 D₁/D₂ 수용체 길항제인 haloperidol(5×10⁻⁵M) 및 fluphenazine(10⁻⁵M)에 의해 억제되었다(Fig 1B).

관류심장에서 선택적 D₁ 및 D₂ 수용체 자극약물이 Mg²⁺ 유리에 미치는 영향 : 흰쥐의 관류심장에 D₁ 수용체 효현제인 SKF38393(10⁻⁵, 10⁻⁴ 및 3×10⁻⁴M)을 처치한 결과 Mg²⁺ 유리가 SKF38393 농도에 의존적으로 증가하였고(Fig 2A), SKF38393(10⁻⁴M)에 의한 Mg²⁺ 유리 증가효과는 D₁/D₂ 수용체 길항제인 haloperidol(5×10⁻⁵M)에 의해 현저히 억제되었다(Fig 2B). 반면 D₂ 수용체 효현제인 PPHT(3×10⁻⁵M)를 10분간 처치한 결과 Mg²⁺ 유리효과가 억제(유입)되었고 PPHT에 의한 Mg²⁺ 유입효과는 D₁/D₂ 수용체 길항제인 fluphenazine(10⁻⁵M)에 의해 억제되었다

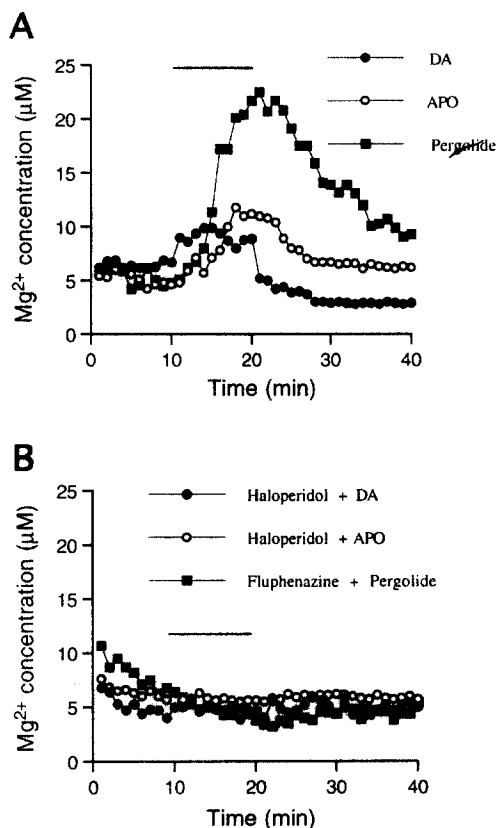


Fig 1. Effects of nonselective dopaminergic agonists, dopamine (DA, 10^{-5} M, ●), apomorphine(APO, 5×10^{-5} M, ○), or pergolide (2×10^{-5} M, ■), on Mg^{2+} release in the perfused rat hearts(A). Inhibitory effects of nonselective dopaminergic antagonists, fluphenazine(10^{-5} M) or haloperidol(5×10^{-5} M), on DA(●), APO(○), or pergolide(■)-induced Mg^{2+} release(B). The indicated bars show the period that the hearts were perfused with dopaminergic agonists. One typical experiment out of four, each for the chemical-stimulated hearts is shown.

(Fig 2C).

관류심장에서 D_2 수용체 길항제가 D_1/D_2 수용체 자극에 의한 Mg^{2+} 유리에 미치는 영향 : Fig 1A와 Fig 2에서 DA, pergolide 및 SKF38393에 의한 Mg^{2+} 유리 증가효과를 확인하였고 이러한 D_1/D_2 수용체 자극에 의한 Mg^{2+} 유리 증가효과에 미치는 D_2 수용체 길항제의 효과를 관찰한 바 D_2 수용체 길항제인 sulpiride(10^{-5} M)에 의해 pergolide와 SKF38393의 Mg^{2+} 유리 증가효과가 더욱 강화되었고(Fig 3B,C) 다른 D_2 수용체 길항제인 eticlopride(2×10^{-5} M)에 의해서 DA의 Mg^{2+} 유리 증가효과가 역시 강화

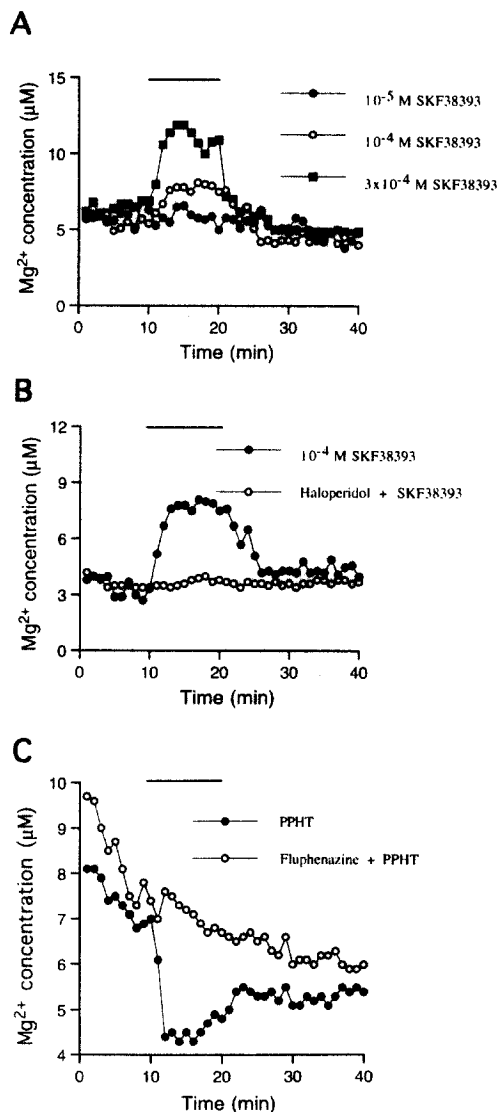


Fig 2. Effects of selective dopaminergic agonists, SKF38393(10^{-5} M, ●; 10^{-4} M, ○ and 3×10^{-4} M ■) or PPHT(3×10^{-4} M) on Mg^{2+} release in the perfused rat hearts(A, C). Inhibitory effects of nonselective dopaminergic antagonists, haloperidol(5×10^{-5} M) or fluphenazine(10^{-5} M) on SKF38393(10^{-4} M) or PPHT-induced Mg^{2+} release in the perfused rat hearts(B, C). The indicated bars show the period that the hearts were perfused with dopaminergic agonists in the absence(A) or presence of antagonists(B, C). One typical experiment out of three to five, each for the chemical-stimulated hearts is shown.

되었다(Fig 3A). Sulpiride에 의한 DA, pergolide 및 SKF 38393의 Mg^{2+} 유리 강화효과는 D_1/D_2 수용체 길항제인

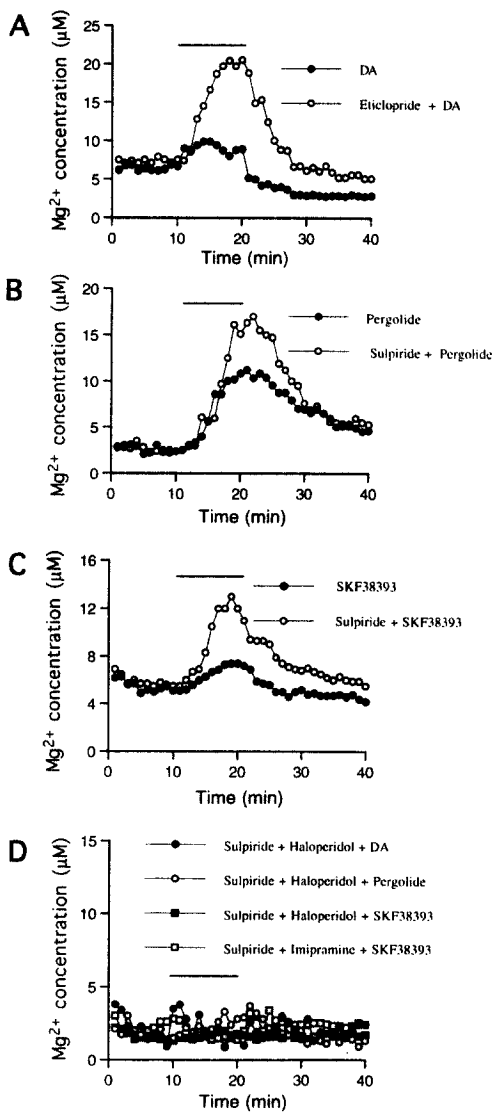


Fig 3. Potentiation of the stimulatory effects of dopaminergic agonists (10^{-5} M DA, 2×10^{-5} M pergolide, and 10^{-5} M SKF 38393) on the Mg^{2+} release by D_2 -dopaminergic antagonists (10^{-5} M eticlopride; A, 10^{-5} M sulpiride; B and C). Inhibitory effects of haloperidol (5×10^{-5} M), a nonselective dopaminergic antagonist or imipramine (10^{-5} M), a Na^+ - Mg^{2+} exchange inhibitor, on DA (10^{-5} M), pergolide (2×10^{-5} M), or SKF38393 (10^{-5} M)-induced the potentiation of dopaminergic antagonists (D). The indicated bars show the period that the hearts were perfused with dopaminergic agonists in the absence or presence of D_2 -dopaminergic antagonists (A, B, and C) and in the presence of sulpiride and haloperidol or imipramine. One typical experiment out of four to six, each for the chemical-induced hearts is shown.

haloperidol (5×10^{-5} M)과 Na^+ - Mg^{2+} 교환기 억제제로 알려진 imipramine (10^{-5} M)에 의해 현저히 억제되었다 (Fig 3D).

D_1/D_2 수용체 자극약물이 흰쥐의 혈중 Mg^{2+} 농도에 미치는 영향: Fig 4A는 마취한 흰쥐에서 D_1/D_2 수용체 자극약물인 DA (500mg/kg)와 pergolide (250mg/kg)가 혈중 Mg^{2+} 농도에 미치는 효과를 나타낸 것으로 DA와 pergolide에 의해 약물투여 약 20분까지는 혈중 Mg^{2+} 농도에 큰 영향이 없었으나 약 30, 40분에 증가하는 경향을 나타냈고 D_2 수용체 자극약물인 PPHT (540mg/kg)는 혈중 Mg^{2+} 농도를 감소시키는 경향을 나타냈으며 약물투여 약 20분에 혈중 Mg^{2+} 농도는 최저치를 나타냈다 (Fig 4B).

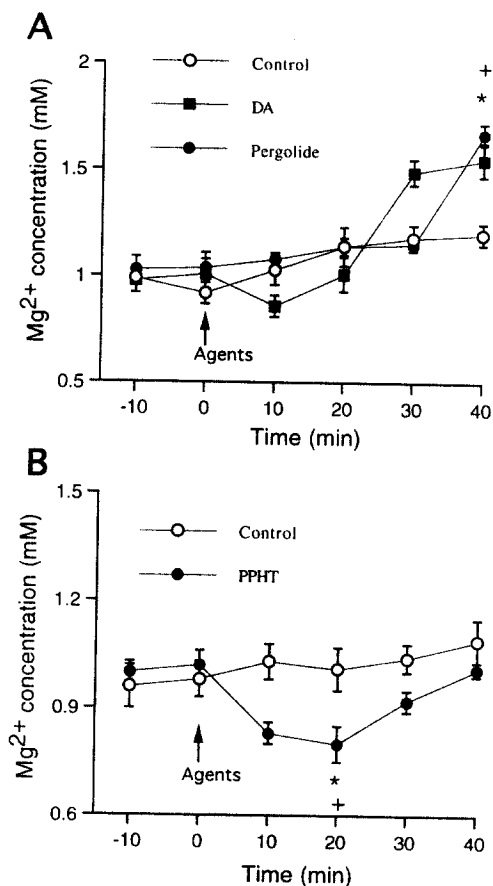


Fig 4. Inhibitory effects of nonselective dopaminergic agonists, DA (500mg/kg, ■, A) or pergolide (250mg/kg, ●, A), selective D_2 -agonists, PPHT (540mg/kg, ●, B), and control (○) in the anesthetized rats. Arrow indicates the time of injection of dopaminergic agents (I.P. or I.V.). Data are expressed as mean \pm SEM of 4 experiments. * $p < 0.05$ vs. 0 minute value; + $p < 0.05$ vs. corresponding values with the time point of control.

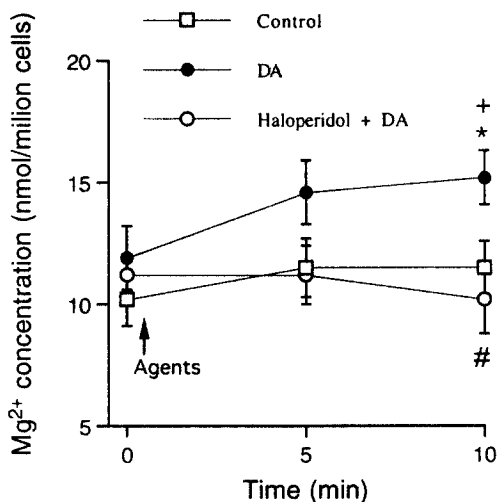


Fig 5. Inhibitory effects of nonselective dopaminergic antagonist, haloperidol($5 \times 10^{-6}M$, \square), on dopamine($10^{-6}M$, \bullet)-induced Mg^{2+} release in the isolated ventricular myocytes. Collagenase-dispersed ventricular myocytes were incubated in a medium containing $1.2mM$ $MgCl_2$. Myocyte were incubated, at a concentration of $500\mu g$ protein/ml, in the same medium without $MgCl_2$. After 5 minutes of equilibration, myocytes were stimulated by adding dopaminergic agents. Data are mean \pm SEM of 5 different experiments. * $p < 0.05$ vs. 0 min; + $p < 0.05$ vs. corresponding the time of control; # $p < 0.05$ vs. corresponding the time of agonist treatment.

분리 심근세포에서 D_1/D_2 수용체 자극약물이 Mg^{2+} 유리에 미치는 영향 : Fig 5는 흰쥐의 분리 심근세포에서 D_1/D_2 수용체 자극약물인 DA($10^{-6}M$)의 Mg^{2+} 유리에 미치는 효과를 나타낸 것으로 D_1/D_2 수용체 자극약물의 처리는 Mg^{2+} 유리 증가효과를 나타냈고 DA($10^{-6}M$)에 의한 Mg^{2+} 유리 증가효과는 D_1/D_2 수용체 길항제인 haloperidol ($5 \times 10^{-6}M$)에 의해 현저히 억제되었다.

고 찰

Mg^{2+} 는 생체내에 가장 많이 존재하는 이온중의 하나로 생물학적 작용 및 생리학적 역할은 잘 알려져 있고 giant cell, bacteria 및 적혈구 등에서 Mg^{2+} 조절기전에 대해서는 보고된 바 있지만¹⁸⁻²⁰ 포유동물의 심장에서의 Mg^{2+} 조절에 대해서는 비교적 잘 알려져 있지 않다. 특히 포유동물의 심장, 심장세포 및 혈중에서 DA 수용체 자극에 의한 Mg^{2+} 의 조절에 대해서는 전혀 보고된 바 없

다.

DA성 약물에 대한 연구는 주로 뇌, 신경, 신장 및 혈관 등에서 많이 진행되고 있으며 최근 심장에서도 DA subtype 수용체들이 발견되어 심박수 조절, 심근 수축력 조절 및 심장장애 등의 연구가 진행되고 있다^{15,21,22}. 일반적으로 세포에서 밝혀진 DA 수용체는 D_1, D_2, D_3, D_4 및 D_5 의 5가지의 subtype 수용체가 밝혀졌고 이들의 세포막을 경유한 반응에 따라 Gs-단백을 경유하여 adenylate cyclase 활성화시킴으로써 cAMP를 증가시키는 D_1 유사 DA(D_1, D_5) 수용체와 Gi-단백을 경유하여 adenylate cyclase를 억제시킴으로써 cAMP를 감소시키는 D_2 유사 DA(D_2, D_3, D_4) 수용체로 구분되어진다고 한다¹⁵. 따라서 이제까지 심장에서의 Mg^{2+} 의 조절에 대한 연구보고로 미루어 세포내 cAMP의 증가는 Mg^{2+} 유리증가를 일으킬을 고려해볼 때 DA 수용체의 자극 역시 심장에서 Mg^{2+} 조절에 관여할 것으로 추측하여 비선택적 DA 수용체 효현제인 DA, APO 및 pergolide를 흰쥐의 관류심장에 처치한 결과 Mg^{2+} 유리 증가효과를 확인할 수 있었다. 그러나 DA성 약물은 심장에서 β -adrenoceptor에 작용하여 세포내 cAMP를 증가시킬 수 있으며 이에 대한 효과가 Mg^{2+} 유리 증가효과를 나타낼 수 있다. 실제로 사람의 심장에서 dopamine에 의한 cAMP의 증가효과가 D_1 수용체 길항제인 SCH23390 및 D_1/D_2 수용체 길항제인 haloperidol에 의해 차단되지 않고 β -adrenoceptor 길항제인 propranolol에 의해 차단됨이 보고된 바 있어¹⁴ 저자 등은 DA, APO 및 pergolide에 의한 Mg^{2+} 유리 증가효과에 미치는 D_1/D_2 수용체 길항제인 fluphenazine과 haloperidol의 효과를 관찰한 바 Mg^{2+} 유리 증가효과가 현저히 억제되어 흰쥐의 심장에서 DA성 약물에 의한 Mg^{2+} 유리 증가효과는 DA 수용체를 경유한 직접적인 효과로 생각되며 각 약물에 따른 Mg^{2+} 유리량의 차이는 각 약물의 D_1 및 D_2 수용체의 선택성의 차이에 따른 효과로 추측되나 이 연구결과로써는 확인하기 어렵다. Primary cerebellar granule 배양세포에서 D_1 수용체 효현제인 SKF38393에 의해 adenylate cyclase의 활성화에 의해 세포내 cAMP가 증가되었다는 보고가 있어²¹ 관류심장에 SKF38393을 처치한 결과 Fig 2A에서와 같이 SKF38393 농도에 의존적으로 Mg^{2+} 유리 증가효과를 나타냈으며 이러한 효과는 D_1/D_2 DA 수용체 길항제인 haloperidol에 의해 억제되어 DA 수용체 중 D_1 수용체 자극에 의해 Mg^{2+} 유리 증가효과를 나타남을 확인할 수 있었다. 반면 닭 태자의 심장에서

D₂ 수용체 자극이 *adenylate cyclase*를 활성화하여 심근 수축력 증가를 나타낸다는 상반된 보고가 있어²³ 선택적 D₂ 수용체 효현제인 PPHT를 흰쥐의 관류심장에 처치한 결과 PPHT는 Mg²⁺ 유리효과를 억제 또는 세포내로 유입되는 경향을 나타냈으며 이러한 Mg²⁺ 유입효과는 비선택적 DA 수용체 길항제인 fluphenazine에 의해 억제되었다. D₂ 수용체 자극은 D₁ 수용체 자극과 달리 Mg²⁺ 유리 조절에서 상반된 결과를 보임으로써 D₁/D₂ DA 수용체 자극약물은 Mg²⁺ 유리 증가효과와 Mg²⁺ 유입효과의 효과를 함께 나타낼 수 있음을 확인할 수 있었다. 따라서 저자 등은 D₂ 수용체를 억제한 후 D₁/D₂ 수용체 자극약물을 처치하면 Mg²⁺ 유리 증가효과는 더욱 강화될 것으로 추측하여 D₂ DA 수용체 길항제인 *sulpiride* 존재하에 DA 및 *pergolide*의 효과를 관찰한 바 Mg²⁺ 유리효과가 현저히 강화되었다(Fig 3). 이러한 Mg²⁺ 유리 강화효과는 D₁/D₂ 수용체 길항제인 *haloperidol*에 의해 억제되어(Fig 3) 흰쥐의 심장에서 DA 수용체 자극에 의해 Mg²⁺의 조절이 이루어짐을 확인할 수 있었다. 생체내의 Mg²⁺의 재분배는 간^{6,24}, 심장^{6,7,9,10}, 적혈구²⁵ 및 체장²⁶ 세포 등의 세포막을 경유하여 나타날 수 있기 때문에 혈중으로 유리되는 Mg²⁺ 조절부위를 논하기는 어렵다. 따라서 *in vivo* 연구에서 보고²⁷된 바와 같이 혈중 Mg²⁺의 변동현상만을 제시하고 유리부위를 추론할 수밖에 없는 단점이 있으나 심장에서 Mg²⁺ 유리가 DA 수용체 자극에 의해 나타남을 고려할 때 혈중 Mg²⁺의 변동을 유발시킬 수 있을 것이라 가정하고 복강내 DA 및 *pergolide*를 투여한 결과 혈중 Mg²⁺을 증가시키는 경향을 나타냈다(Fig 4). Romani *et al*⁹은 심근세포에서 *norepinephrine*은 세포내 cAMP를 증가시켜 수분내에 세포내의 총 Mg²⁺의 20%를 유리시킨다고 보고한 바 있고 본 연구에서도 흰쥐의 심근세포를 분리하여 DA를 처치한 결과 Mg²⁺ 유리 증가효과를 나타냈으며 DA에 의한 Mg²⁺ 유리 증가효과는 *haloperidol*에 의해 억제되었다(Fig 5). 그러나 DA 수용체는 심장, 뇌, 신장 및 혈관을 비롯한 많은 조직에 분포하고 있기 때문에 심장에서만 유리된 Mg²⁺으로만 생각할 수 없으나 분리 심근세포에서 DA 수용체 자극에 의해 Mg²⁺이 유리됨을 관찰하여 심장에서 DA 수용체 자극은 Mg²⁺ 유리를 조절할 수 있음을 확인하였다.

심장의 주요 기능은 *pump*의 작용으로 각종 장기에 적절한 혈액을 공급하는데 있으며 심박출량은 교감신경계, *renin-angiotensin* 및 *arginine-vassopressin* 등 많은 *neuro-*

*hormone*에 의해 조절되어지고 있으므로 *neurohormone*의 이상은 심장장애를 초래한다. 이 같은 심장장애를 치료하기 위하여 α , β , D₁ 및 D₂ 수용체를 자극하는 것으로 알려진 DA를 1970년대부터 치료약물로서 사용되어 왔다^{16,28}. 따라서 심장기능 및 심장질환에 밀접한 관련이 있는 심장세포내 Mg²⁺이 DA성 약물에 의해 조절될 수 있다면 심장장애를 더욱 가중시키거나 임상적 약물적용시 고려해야할 한 요인이 될 수 있다.

결론

흰쥐의 관류심장, 심근세포 및 혈중에서 DA 수용체 자극에 의한 Mg²⁺ 유리 조절효과를 밝히기 위하여 관류심장, 심근세포 및 혈중에서 각종 DA성 약물에 의한 Mg²⁺ 변동을 AA로 측정한 바 아래와 같은 결과를 얻었다.

흰쥐 심장에서 비선택적 D₁/D₂ 수용체 자극약물(DA, *apomorphine* 및 *pergolide*)은 Mg²⁺ 유리를 증가시켰고 DA, *apomorphine* 및 *pergolide*에 의한 Mg²⁺ 유리 증가효과는 DA 수용체 길항제인 *haloperidol* 및 *fluphenazine*에 의해 현저히 억제되었고 선택적 D₁ 수용체 효현제인 SKF 38393은 농도에 의존적으로 Mg²⁺ 유리를 증가시켰다. 이러한 증가효과는 *haloperidol*에 의해 차단되었다. 선택적 D₂ 수용체 효현제인 PPHT는 Mg²⁺ 유리 억제효과(유입효과)를 나타냈으며 이러한 Mg²⁺ 유입효과는 *fluphenazine*에 의해 억제되었다. DA, *pergolide* 및 SKF38393의 Mg²⁺ 유리효과는 선택적 D₂ 수용체 길항제인 *sulpiride*에 의해 더욱 강화되었으나 이 강화효과는 D₁/D₂ 수용체 길항제인 *haloperidol* 및 Na⁺-Mg²⁺ 교환기 억제제인 *imipramine*에 의해 차단되었다. DA과 *pergolide*는 혈중 Mg²⁺을 약간 증가시키는 경향을 나타냈으나 PPHT는 혈중 Mg²⁺을 약간 감소시키는 경향을 나타냈다. 분리 심근세포에서 DA에 의한 Mg²⁺ 유리 증가효과는 *haloperidol*에 의해 차단되었다.

이상의 결과를 종합하면 심장에서 DA 수용체 자극은 세포내 Mg²⁺을 조절할 수 있으며 D₁ 수용체 자극은 세포내 cAMP를 증가시켜 Mg²⁺ 유리에 관여하고 D₂ 수용체 자극은 세포내로 Mg²⁺ 유입(유입억제)을 일으키는 것으로 사료된다.

참고 문헌

1. Grubbs RD, Maguire ME. Magnesium as a regulatory cation : Criteria and evaluation. *Magnesium* , 6:113-127, 1987.
2. White RE, Hartzell HC. Magnesium ions in cardiac function : Regulator of ion channels and second messengers. *Biochem Pharmacol* , 38:859-867, 1989.
3. Bersohn MM, Shine KI, Sterman WD. Effects of increased magnesium on recovery from ischemia in rat and rabbit hearts. *Am J physiol* , 242:H89-H93, 1982.
4. Altura BM, Altura BT. New perspectives on the role of magnesium in the pathophysiology of the cardiovascular system. *Magnesium* , 4:226-244, 1985.
5. Anderson TW, Neri LC, Schreiber GB, *et al* . Ischemic heart disease, water hardness and myocardial magnesium. *Can Med Assoc J* , 113:203, 1975.
6. Romani A, Marfella C, Scarpa A. Regulation of Mg²⁺ uptake in isolated rat myocytes and hepatocytes by protein kinase C. *FEBS Lett* , 296:135-140, 1992.
7. Romani A, Marfella C, Scarpa A. Regulation of magnesium uptake and release in the heart and in isolated ventricular myocytes. *Cir Res* , 72:1139-1148, 1993.
8. Hwang SC, Kim SJ, Kang HS, *et al* . Effects of α_1 -adrenoceptor stimulation on Mg²⁺ release in perfused guinea pig heart. *Kor J Vet Res* , 36(2):327-335, 1996.
9. Romani A, Scarpa A. Hormonal control of Mg²⁺ transport in the heart. *Nature* , 346:841-844, 1990.
10. Romani A, Scarpa A. Norepinephrine evokes a marked Mg²⁺ transport efflux from liver cells. *FEBS Lett* , 269:37-40, 1989.
11. Altschuld R, Jung DW, Phyllips RM, *et al* . Evidence against norepinephrine-stimulated efflux of mitochondrial Mg²⁺ from intact cardiac myocytes. *Am J Physiol* , 266:H1103-11, 1994.
12. Kang HS, Chang SE, Kang CW, *et al* . Effects of histamine H₂-receptor stimulation on Mg²⁺ efflux in perfused guinea pig heart. *Kor J Physiol Pharmacol* , 2(1):49-54, 1998.
13. Huff RM. Signaling pathways modulated by dopamine receptors, in *The Dopamine Receptors*(K.A. Neve and R.L. Neve, eds.) Humana Press, Totawa, NJ:167-192, 1997.
14. Amenta F, Gallo P, Rossodivita A, *et al* . Radioligand binding and autoradiographic analysis of dopamine receptors in the human heart. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* , 347:147-154, 1993.
15. Missale C, Nash SR, Robinson SW, *et al* . Dopamine receptors : From structure to function. *Physiol Rev* , 78:189-225, 1998.
16. Yatsu T, Arai Y, Sudoh K, *et al* . Effects of YM435, a novel dopamine DA1 receptor agonist, in a canine model of acute congestive heart failure. *Gen Pharmacol* , 30(5):733-737, 1998.
17. De Young MB, Giannattasio B, Scarpa A. Isolation of calcium-tolerant atrial and ventricular myocytes from adult rat heart. *Methods Enzymol* , 173:662-676, 1989.
18. Murphy E, Freudenrich CC, Levy LA, *et al* . Monitoring cytosolic free magnesium in cultured chicken heart cells by use of the fluorescent indicator Fura2. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* , 86:2981-2984, 1989.
19. Snavely MD, Gravina SA, Cheung TBT, *et al* . Magnesium transport in *Salmonella typhimurium* : Regulation of mgtA and mgtB expression. *J Biol Chem* , 266:824-829, 1991.
20. Feray J, Garay R. Demonstration of a Na⁺ :Mg²⁺ exchange in human red cells by its sensitivity to tricyclic antidepressant drugs. *Naunyn-Schmied Arch Pharmacol* , 338:332-37, 1988.
21. Fici GJ, Wu H, VonVoigtlander PF, *et al* . D₁ dopamine receptor activity of anti-parkinsonian drugs. *Life Sci* , 60:1597-1603, 1997.
22. Laura BK, Kim AN. Constitutive activity of a chimeric D₂/D₁ dopamine receptor. *Mol Pharmacol* , 52:1137-1149, 1997.
23. Ouedraogo L, Magnon M, Sawadogo L, *et al* . Receptors involved in the positive inotropic action induced by dopamine on the ventricle of a 7-day-old chick embryo heart. *Fundam Clin Pharmacol* , 12(2):133-142, 1998.
24. Jakob A, Beckert J, Schottli G, *et al* . α_1 -Adrenergic stimulation causes Mg²⁺ release from perfused rat liver. *FEBS Lett* , 246:127-130, 1989.
25. Gunther T, Vormann J, Forster R. Regulation of in-

- tracellular magnesium by Mg^{2+} efflux. *Biochem Biophys Res Commun*, 119:124-131, 1984.
26. Gunther T, Vormann J. Activation of Na^+/Mg^{2+} antiport in thymocytes by cAMP. *FEBS*, 297:132-34, 1992.
27. Keenan D, Romani A, Scarpa A. Differential regulation of circulating Mg^{2+} in the rat by β_1 - and β_2 -adrenergic receptor stimulation, *Circ Res*, 77:973-983, 1995.
28. Lokhandwala MF, Hegde SS. Cardiovascular pharmacology of adrenergic and dopaminergic receptors: therapeutic significance in congestive heart failure. *Am J Med*, 90:2S-9S, 1991.
-