허혈심근에서의 퓨린성 및 콜린성 작동제의 심근보호작용

전남대학교 의과대학 약리학교실,[1] 내과학교실[2] 및 전남대학교 의과학연구소,[3]
원광대학교 의과대학 내과학교실[4]

김재하[1,3] · 박상덕[4] · 주정민[1] · 국 현[1] · 조정관[2] · 박옥규[4]

Protective Action of Purinergic and Cholinergic Agonists on the Ischemic Myocardium in the Rat

Jae-Ha Kim, MD[1,3], Sang-Duck Park, MD[4], Jeong-Min Ju, DVM[1], Hyun Kook, MD[1], Jeong-Gwan Cho, MD[2] and Ok-Kyu Park, MD[4]

[1]Department of Pharmacology, [2]Internal Medicine, Chonnam University Medical School, and [3]the Research Institute of Medical Sciences, Chonnam University, Kwangju, [4]Department of Internal Medicine, Wonkwang University Medical School, Iksan, Korea

ABSTRACT

Background : Purinergic and cholinergic agonists elicit negative-inotropic and chronotropic effects, anticipating their protective action from the damage of overloaded myocardium. However, the actions of the agents during the ischemic insults are not yet clearly informed. The aim of this study was to investigate the role of the purinergic and cholinergic agonists on the simulated ischemic myocardium of the rat atrial fiber preparations. **Method** : Various action potential parameters (maximum diastolic potential MDP ; action potential amplitude APA ; velocity of phase 0 depolarization dV/dt_{max} ; action potential duration APD_{90}) were measured and compared in electrically paced, normal (NPSS) and modified physiological salt solution (MPSS) superfused rat atrial fibers in vitro, using conventional 3M-KCl microelectrode technique. Ischemia-simulated modified physiologic solutions were prepared by changing the solution's composition. **Results** : Hypoxic-and/or hyperkalemic-MPSS decreased all the action potential (AP) variables. However, no significant changes of the AP variables were developed by the acidicor glucose-free MPSS. Adenosine (Ado) and cyclopentyladenosine (CPA) only decreased the APD_{90} in a dose-dependent manner. Acetylcholine (Ach) and carbachol (Cch) hyperpolarized the MDP, increased the dV/dt_{max} with certain doses, and decreased the APD_{90} dose-dependently. The potency for APD_{90}-decrease was greater in order, CPA >Cch >Ach >Ado. Ado and CPA did not affect the hypoxic, hypokalemic MPSS-induced dV/dt_{max}-decrease. On the other hand, Ach and Cch significantly inhibited the dV/dt_{max}-decrease by the hypoxic hypokalemic-MPSS. Ado, CPA, Ach and Cch significantly augmented the hypoxic, hypokalemic MPSS-induced APD_{90}-decrease. The inhibition by the Ach and Cch on the MPSS-induced dV/dt_{max}-decrease was not affected by DPCPX, but atropine significantly attenuated the inhibition by the cholinergic agonists. DPCPX inhibited the augmentation by the Ado and CPA on the MPSS induced APD_{90}-decrease, andatropine inhibited the effect of the cholinergic agonists. **Conclusion** : Both purinergic and cholinergic agonists not only shorten the AP duration by themselves but also enhance the AP-shortening effect elicited by the ischemia, and therefore, it is inferred that both agonists prevent further tissue damage from the ischemic insults. **(Korean Circulation J 1998;28(7):1141-1153)**

KEY WORDS : Cholinergic · Purinergic · Ischemia · Rat atrium · Action potential.

논문접수일 : 1998년 4월 8일
심사완료일 : 1998년 6월 25일

교신저자 : 김재하, 501 - 190 광주광역시 동구 학동 5 전남대학교 의과대학 약리학교실
전화 : (062) 220 - 4233 · 전송 : (062) 232 - 6974
E - mail : kimjh@chonnam.chonnam.ac.kr

서 론

현재 허혈성 심장질환의 치료목적으로 쓸 수 있는 약물들은 β-아드레날린성 수용체 억제제와 칼슘통로 차단제 정도이다. 그러나 이들 약물은 심근의 수축력을 약화시켜 허혈심근의 부담을 덜어주는 좋은 효과외에 관상동맥의 이완을 약화시켜 오히려 심장의 혈류공급을 방해하거나 혈압을 하강시키고 빈맥을 초래하여 허혈심근의 손상을 악화시킬 수 있는 나쁜 효과도 함께 가지고 있다. 따라서 이러한 혈류역학효과가 없는 허혈성 심장질환 치료제의 개발에 대한 연구가 관심을 끌고 있다.

세포수준에서 허혈성 손상을 이끄는 주요기전은 세포 내외의 이온 평형상태의 파괴로 알려져 있다. 혈액공급의 중단에 의한 adenosine triphosphate(ATP)의 결핍과 같은 에너지 손실은 세포에서 칼륨이온의 유출을 촉진시키고 물의 유입을 동반한 칼슘, 나트륨 그리고 염소이온의 유입을 촉진한다.[1)2)] 이렇게 해서 세포내로 유입된 칼슘은 단백분해 효소와 지질분해 효소를 활성화 시키고 세포내 근섬유초(sarcolemma)의 칼슘유리를 일으키며[3)] 결과적으로 세포내 칼슘농도가 더욱 증가하고 심근 수축력을 증가시키는 쪽으로 작용하게 하여 허혈 손상이 가속화 된다. 이러한 관점에서 보면 허혈시의 세포내 칼슘농도증가를 억제할 수 있는 방법이 허혈 손상을 감소시키는 결과를 가져올 수 있다고 생각할 수 있다. 심근에서 세포내로의 칼슘유입의 가장 큰 요인은 심근세포의 탈분극시에 일어나는 전압-의존성 칼슘통로의 열림에 의한 칼슘의 세포내로의 이동에 의한 것이다.[4)] 따라서 심근세포에서 탈분극이 일어나는 기간을 단축시킬 수 있는 약물은 심근세포의 칼슘농도의 증가를 막고 결과적으로 수축력의 감소를 가져옴으로써 불필요한 에너지의 소비를 줄이고 더 이상의 심근 손상을 억제하는 치료효과를 낼 수가 있게 된다. 그러나 이런 종류의 약물의 이와같은 좋은 효과와는 달리 탈분극 기간의 단축에 의한 활동전위기간의 감소는 상대적으로 활동전위의 불응기를 감소시켜 치명적인 부정맥을 발생시키는 요인이 될 수 있다. 따라서 허혈성 심장질환시의 치료목적은 심근의 손상을 최소한으로 억제하여 심장의 기능을 최대한 보존하고 동시에 치명적인 부정맥을 예방하는 것이라고 할 수 있다. 그러나 실제로 임상에서 허혈성 심장질환의 치료시에 이러한 두가지 치료목적을 동시에 달성하기는 쉽지가 않은 문제이다. 항부정맥제를 사용하면 수축력에 문제가 생기고 수축력을 억제하는 약물은 부정맥을 유발할 수 있기 때문이다.

한편 사람의 심근이 허혈 또는 저산소증 상태에 놓이게 되면, 생체의 정상적인 대사물질이며 퓨린성 수용체 작동제인 adenosine이 심근세포들로부터 분비되어 sinus bradycardia나 A-V node 차단등의 효과가 나타나고[5)6)] 실험동물에서도 adenosine이 허혈에 의해서 유발된 심실성 부정맥을 중단시키는 효과가 있다고 알려져 있다.[7)] 또한 adenosine은 허혈이나 저산소증 뿐만아니라 교감신경기능 항진시에도 심근세포들로부터 분비가 증가됨이 보고된 바 있어서,[8)9)] adenosine계의 nucleoside가 심혈관계 기능조절에 있어서 "negative feedback regulator"의 역할을 할 것이라고 생각되어져 왔다. 분자적 수준에서의 adenosine의 심근세포에 대한 작용은 칼슘 uptake의 감소,[10)] 세포막의 칼륨전도도 증가[11-13)]등에 의해서 부변력(negative inotropic), 부변시(negative chronotropic), 방실 차단(atrioventricular block)[14)15)]을 일으킨다고 알려져 있는데, 대체로 칼륨전도도 증가에 의한 활동전위기간의 단축이 adenosine계 약물의 심근에 대한 주작용인 것으로 생각된다.

Adenosine이외에도 세포막에서 칼륨이온의 전도도를 증가시키는, 즉 칼륨통로를 열게하여 세포막의 탈분극후 재분극까지의 활동전위 기간을 단축시키고 결과적으로 심근의 수축력을 감소시킬 수 있는 물질로는 콜린성 수용체 작동제인 acetylcholine을 들 수 있다.[16)] 따라서 본 연구에서는 이러한 기전에 의해서 심근보호효과가 있을 것으로 기대되는 퓨린성 작동제와 콜린성 작동제의 정상 및 심근 허혈유사조건의 생리적 식염수 관류하에 있는 흰쥐 심장근 표본의 전기생리학적인 현상의 변동을 측정하여 허혈심근에서 이들 물질의 역할을 규명하고 심근허혈시의 치료에 퓨린성 또는 콜린성 약물의 적용여부를 판단할 수 있게하는 기초자료를 제공하고자 하였다.

방 법

후두부 타격으로 실신시킨 흰쥐(체중 200 250 g, Sprague Dawley계)의 흉부를 절개하고 심장을 적출하여 좌심방을 분리해 낸 다음 이것을 3×2 mm의 절

편으로 만들어 Tyrode 액(조성 : NaCl 131mM, Na HCO^3, 18 mM, KCl 5.4 mM, NaH_2PO_4 1.8 mM, $MgCl_2$ 1.0 mM, $CaCl_2$ 1.8 mM, Dextrose 5.5 mM, 95% O_2 - 5% CO_2 혼합가스를 bubbling시켜 pH=7.4 되게하고 온도는 유리 열교환기를 이용하여 37℃로 유지)을 7 ml/min의 속도로 관류시킨 bath에 넣어 놓은 후 약 1시간이 경과하고 조직이 안정되면 활동전위를 측정하였다.

막전위는, microelectrode puller(Stoelting Co.)를 이용하여 만든 유리 미세전극에 3M KCl을 채우고(DC 저항이 10 30 MΩ이 됨) 이것을 micromanipulator (Brinkmann 3 axis)를 이용하여 세포내에 찔러넣고, electrometer(WPI, S7071A)를 통하여 측정된 전위를 oscilloscope(Tektronix 5113)와 physiological recorder(Gould 2400)에 기록하고 polaroid 사진기로 촬영한후 측정하였다(Figs. 1 and 2).

활동전위를 유도하기 위한 표본의 자극은 전기자극기 (Grass S48)에 연결된 bipolar silver electrode(지름

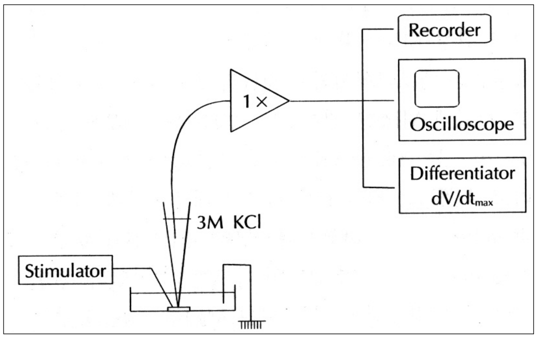

Fig. 1. Block diagram of the experimental system used in the present study.

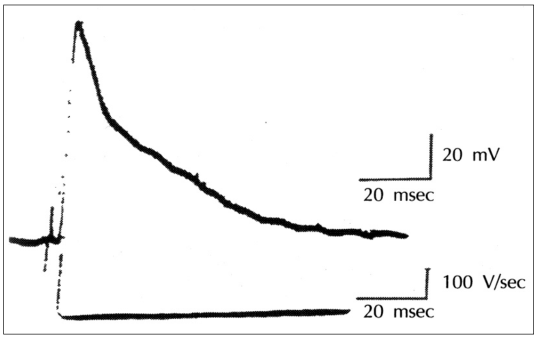

Fig. 2. Action potential characteristics evoked at a stimulation rate 1.5 Hz in rat atrial fibers (upper trace). Lower trace shows the dV/dt of the upper trace and the apparent vertical bar is the dV/dt_{max} indicating the maximum velocity of the phase 0

0.1 mm)를 심방근 표본에 가볍게 접촉시키고 1.5 Hz 주기, 1 msec 기간을 갖는 구형파를 활동전위를 유발 할 수 있는 역치 전압의 두배정도로 하여 전기자극하였다.

활동전위로부터 측정한 변수는, 최대 이완기 전위 (maximum diastolic potential ; MDP, mV), 활동전위의 크기(action potential amplitude ; APA, mV), 90% 재분극시의 활동전위 기간(action potential duration ; APD_{90}, msec), 그리고 phase 0 탈분극의 최대상승속도(dV/dt_{max} ; V/sec) 등이었다. dV/dt_{max}는 electrometer를 거쳐서 나온 막전위의 변동을 differentiator amplifier(실험실에서 제작)에 연결하여 정량화한 다음 oscilloscope상에 기록된 값을 측정하였다 (Figs. 1 and 2).

심근경색증 유발시와 비슷한 조건을 in vitro에서 만들어 주기 위하여 다음과 같은 방법을 이용하여 정상 Tyrode's액의 조성을 변경한 식염수액(modified physiologic salt solution ; MPSS)을 표본 bath에 관류하였다.

저산소 MPSS : 정상 Tyrode's액을 95% N_2+5% CO_2 가스로 bubbling시켜 pO_2가 50 mmHg 이하되게 하고 pH는 7.4를 유지하게 하였다.

산성 MPSS : 정상 Tyrode's액을 60% O_2+4% CO_2 가스로 bubbling시켜 pO_2는 600, pCO_2는 약 200 mmHg가 되게 하고 pH는 6.8이 되게 하였다.

무포도당 MPSS : 정상 Tyrode's액 조성에서 glucose를 제거하고 90% O^2+5% CO_2 가스로 bubbling시켜 pO_2는 약 600 mmHg, 그리고 pH는 7.4가 되게 하였다.

고칼륨 MPSS : 정상 Tyrode's액 조성에서 칼륨농도를 10 mM로 증가시키고 95% O_2+5% CO_2 가스로 bubbling시켜 pO_2는 약 600 mmHg, 그리고 pH는 7.4가 되게 하였다.

허혈성 MPSS : 정상 Tyrode's액의 조성에서 glucose를 제거하고 칼륨농도를 10 mM로 증가시킨후 60% N_2+4% CO_2 가스로 bubbling시켜 pO_2는 50 mmHg 이하가 되게하고 pCO_2는 약 200 mmHg, 그리고 pH는 6.8이 되게하였다.

MPSS는 peristaltic pump(Gilson)를 이용하여 7 ml/min의 속도로 표본에 관류하였으며 필요에 따라 관류액에 실험약물을 첨가하여 사용하였다.

실험에 사용한 약물은 작동제로서, adenosine(Sigma), acetylcholine chloride(Sigma), N^6-cyclopentyladenosine(CPA, RBI) 그리고 carbamylcholine chloride(carbachol, Sigma)였으며 길항제로서는 atropine sulfate(Sigma)와 8-2-p-(2-carboxylethyl) phenthylamino-5′-N-8-cyclopentyl-1,3-dipropylxanthine(DPCPX, RBI)이었다. CPA와 DPCPX는 dimethylsul-foxide(DMSO, Sigma)에 고농도의 원액을 만들고 사용시에 해당 관류액에 원하는 농도로 희석하여 관류시켰으며 그 이외의 약물들은 증류수에 고농도의 원액을 만들고 사용시에는 역시 해당관류액에 희석하여 관류하였다.

실험결과는 작동제인 경우 약물을 첨가한 관류액 관류 시작후 10분경과시의 측정치를 평균±표준오차로 표시하였고, 길항제의 효과를 평가하기 위해서는 처음 5분간은 길항제만을 포함한 관류액을 관류한후 이어서 작동제와 길항제를 함께 첨가한 관류액을 관류하고 10분경과시의 측정치를 평균±표준오차로 표시하여 비교하였다.

각 실험군치의 통계학적인 차이의 유의성 여부는 unpaired Student′s t-test를 사용하여 검증하였다.

결 과

MPSS 관류하에서의 활동전위 특성의 변동

정상 생리식염수(normal physiologic salt solution ; NPSS) 관류하의 대조군으로부터 얻은 활동전위의 각 변수값은, 최대이완기 전위(maximum diastolic potentials ; MDP)는 -80±1.2 mV, phase 0 탈분극의 최대상승속도(dV/dt_{max})는 260±23.9 V/sec, 활동전위 폭(action potential amplitude ; APA)은 108±3.9 mV, 90% 재분극시까지의 활동전위기간(action potential duration ; APD_{90})은 76±5.2 ms이었다(Fig. 2, Table 1).

정상 생리식염수의 조성을 변경시킨 MPSS관류시에는 관류 시간의 흐름에따라 활동전위 변수값의 변화의 정도에 차이가 있었으나 대체적으로 각각의 조건을 갖는 MPSS관류후 10분정도 경과하면 최대 변화를 보였으므로 본 연구에서는 MPSS관류후 10분 경과시의 변수값을 측정하여 비교하였다.

저산소-MPSS 관류시의 MDP는 -69±2.1 mV, dV/dt_{max}는 135±14.2 V/sec, APA는 84±2.0 mV 그리고 APD_{90}은 34±3.9 ms로서 대조군치에 비하여 각각 감소하였으며 특히 dV/dt_{max}는 대조군치에 비하여 48%, APD_{90}은 55%의 현저한 감소를 보였다. 이와는 달리 산성-MPSS와 무 포도당액-MPSS 관류후의 변수값들은 대조군에서의 그것들과 유의한 차이가 없었다. 고 칼륨액-MPSS 관류시의 MDP는 -67±1.1 mV, dV/dt max는 209±15.6 V/sec, APA는 79±2.4 mV 그리고 APD_{90}은 60±3.9 ms로서 대조군치에 비하여 각각 유의하게 감소하였으나 저산소-MPSS 관류시의 경우와 비교해 보면 그 감소의 정도는 더 작았다. 한편 위의 모든 변경조건이 다 포함된 MPSS (mixed MPSS)관류시의 각각의 변수값은 대조군치에 비하여는 현저히 감소하였으나 저 산소 또는 고 칼륨-MPSS 단독 관류시에 감소했던 정도 이상은 아니었다(Table 1).

활동전위 특성에 미치는 퓨린성 또는 콜린성 작동제의 영향

정상 생리식염수에 퓨린성 작동제인 adenosine을 첨가하여 관류후 10분 경과시의 MDP는 과분극 되는 경향을 보였으나 대조군치와 유의한 차이가 없었고, APD 90은 adenosine 10^{-5} M 이상에서 용량의존적으로 감소하였는데 그 감소의 정도는 10^{-5} M 투여시 60±4.2

Table 1. Effects of 10 min superfusion with various modified physiologic salt solution on action potential characteristics in the rat atrium

	MDP (mV)	dV/dt_{max} (V/sec)	APA (mV)	APD_{90} (ms)
1. Control	-80±1.2	260±23.9	108±3.9	76±5.2
2. Hypoxic	-69±2.1*	135±14.2*	84±2.0*	34±3.9*
3. Acidic	-78±1.5	247±16.7	104±2.7	79±4.2
4. Glucose(-)	-81±1.4	258±17.2	110±4.1	71±4.9
5. Hyperkalemic	-67±1.1*	209±15.6*	79±2.4*	60±3.9*
6. Mixed (2+3+4+5)	-66±1.4*	131±22.3*	80±1.9*	37±3.6*

Numerals are mean±SEM of 5 to 6 experiment 10 min supefused with the above modified PSS
MDP=maximal diastolic potential　　dv/dt_{max}=maximum upstroke velocity of phase 0 depolarization
APA=action potential amplitude　　APD_{90}=action potential duration at 90% repolarization
*p<0.05, by Student's t-test as compared to the control

ms로서 대조군치에 비해 약 20%, 10^{-4} M 투여시 44±3.7 ms로서 약 40%, 10^{-3} M 투여시 32±3.2 ms로서 약 60%의 감소를(각각 $p<0.05$) 보였고(Fig. 3) 이 이외의 활동전위 변수값(APA 및 dV/dt_{max})은 유의한 변동이 없었다(Table 2).

또다른 퓨린성 작동제인 cyclopentyladenosine(CPA)을 첨가하여 관류후 10분 경과시의 변수값의 변동양상은 adenosine의 경우와 비슷하게 주로 용량의존적인 활동전위기간 감소효과가 나타났으며(Table 3) APD_{90} 감소를 일으키는 효력은 adenosine의 그것에 비하여 컸다. 즉 CPA 10^{-8} M 관류시에는 55±4.9 ms 로서 대조군치에 비하여 27%, 10^{-7} M 관류시 43±6.4 ms로서 42%, 10^{-6} M 관류시 21±3.1 ms로서 72%, 그리고 10^{-5} M 관류시 16±2.9 ms로서 79%의 현저한 감소를 보였다(Fig. 3).

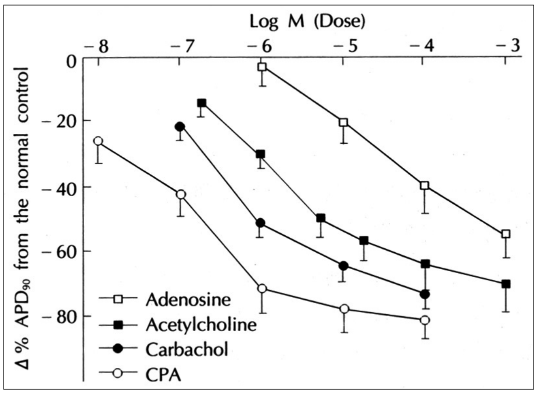

Fig. 3. Percent changes (Δ%) from the control APD_{90} against doses of various purinergic and cholinergic agonists at 10 min after superfusion of the agonists. Each point is the mean of observations from 5 to 6 experiments. Vertcal bars indicate standard error of the mean value (SEM). CPA=cyclopentyladenosine.

정상생리식염수에 콜린성 작동제인 acetylcholine을 첨가하여 관류후 10분 경과시의 MDP는, acetylcholine 2×10^{-5} M 투여시에 -83±0.6 mV로서 대조군치에 비하면 과분극되었으며($p<0.05$), dV/dt max는 10^{-6}, 5×10^{-6} M 투여시에 각각 277±10.4, 281±11.5 V/sec로 증가되었고($p<0.05$), APD 90은 퓨린성 작동제의 경우에서와 마찬가지로 투여량의 증가에 따라 용량의존적으로 감소하였다. 즉, acetylcholine 2×10^{-7} M 투여시에 67±2.9 ms로서 대조군치에 비해 약 15% 감소하였고 2×10^{-3} M 투여시에는 32±3.1 ms로서 약 75%의 현저한 감소(각각 $p<0.05$)를 보였다(Table 4, Fig. 3).

또다른 콜린성 작동제인 carbachol을 첨가하여 관류시에는, MDP는 carbachol 10^{-5} M 이상에서 대조군치에 비하여 유의하게 과분극되었으며($p<0.05$) dV/dt_{max}는 10^{-6} M에서 270±11.8, 10^{-5} M에서 288±12.5, 10^{-4} M에서 279±16.4 V/sec로 증가하였고 APD_{90}은 acetylcholine의 경우에서처럼 용량의존적으로 감소하였는바 carbachol 10^{-7} M 관류시 62±2.7 ms로서 22%, 10^{-6} M 관류시 38±3.3 ms로서 52%, 10^{-5} M

Table 2. Effects of adenosine on action potential characteristics of the rat atrium

	Control	Adenosine Conc.(M)			
		10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}
MDP (mV)	-80± 1.2	-82±2.9	-80±2.3	-82± 1.6	-83± 1.2
dV/dt_{max} (V/sec)	252±11.9	267±8.9	262±9.5	249±12.1	259±14.4
APA (mV)	08± 3.9	113±4.9	111±4.3	104± 5.4	107± 2.4
APD_{90}(ms)	76± 5.2	73±8.1	60±4.2*	44± 3.7*	32± 3.2*

Numerals are mean±SEM of 5 to 6 experiments. Other legends are the same as in Table 1

Table 3. Effects of adenosine on action potential characteristics of the rat atrium

	Control	Cyclopentyladenosine Conc.(M)			
		10^{-8}	10^{-7}	10^{-6}	10^{-5}
MDP (mV)	-80± 1.4	-81± 3.2	-80±2.8	-79± 2.3	-82± 2.1
dV/dt_{max} (V/sec)	249±13.9	257±10.9	260±8.9	259±11.4	261±12.9
APA (mV)	106± 2.9	109± 3.2	107±3.8	105± 3.1	107± 2.9
APD_{90}(ms)	75± 4.7	55± 4.9*	43±6.4*	21± 3.1*	16± 2.9*

Numerals are mean±SEM of 5 to 6 experiments. Other legends are the same as in Table 1

Table 4. Effects of acetylcholine on action potential characteristics of the rat atrium

	Control	Acetylcholine Conc.(M)			
		2×10⁻⁷	10⁻⁶	5×10⁻⁶	2×10⁻⁵
MDP (mV)	-79±1.6	-82± 0.9	-82± 0.8	-81± 0.6	-83± 0.6*
dV/dt_{max} (V/sec)	246±9.2	262±11.4	277±10.4*	281±11.5*	265±14.2
APA (mV)	106±2.9	104± 3.1	105± 1.2	104± 2.5	102± 4.1
APD_{90}(ms)	78±3.2	67± 2.9*	53± 3.1*	38± 2.6*	32± 3.1*

Numerals are mean±SEM of 5 to 6 experiments. Other legends are the same as in Table 1

Table 5. Effects of acetylcholine on action potential characteristics of the rat atrium

	Control	Carbachol Conc.(M)			
		2×10⁻⁷	10⁻⁶	5×10⁻⁶	2×10⁻⁵
MDP (mV)	-80±1.2	-82± 1.6	-83± 1.4	-86± 1.1*	-85± 0.9*
dV/dt_{max} (V/sec)	246±9.2	262±11.4	270±11.8*	288±12.5*	279±16.4
APA (mV)	106±2.9	104± 3.1	105± 1.2	104± 2.5	102± 4.1
APD_{90}(ms)	80±3.5	62± 2.7*	3.8± 3.3*	28± 2.5*	21± 3.1*

Numerals are mean±SEM of 5 to 6 experiments. Other legends are the same as in Table 1

관류시 28±2.5 ms로서 65% 그리고 10^{-4} M 관류시 21±3.1 ms로서 74%의 감소를 일으켜 같은 콜린성 작동제인 acetylcholine관류시보다 감소의 효력이 컸다(Table 5, Fig. 3).

위의 퓨린성 및 콜린성 작동제에 의한 APD_{90} 감소효과에대한 각 약물의 용량-반응 곡선으로부터 얻은 ED_{50}는 adenosine의 경우 7.6×10^{-4} M, acetylch-oline은 2.2×10^{-4} M, carbachol은 1.7×10^{-5} M 그리고 CPA는 9.7×10^{-6} M로서 네 약물의 APD_{90} 감소 효력은 CPA>carbachol>>acetylcholine>adenosine 순 이었다(Fig. 3).

앞서의 실험결과에 의해서 MPSS중 주로 저산소액과 고칼륨액이 관류후 활동전위 변수값에 영향을 미쳤고, 퓨린성 및 콜린성작동제를 첨가한 정상 생리식염수 관류시에는 활동전위 변수중 주로 APD_{90} 및 dV/dt_{max}에 영향을 미치는 것으로 나타났으므로 본 연구에서는 저산소액과 고칼륨액 관류시 변동되는 APD_{90} 및 dV/dt_{max} 변수값의 변동에 미치는 두 종류의 약물효과를 측정하여 비교하였다.

MPSS관류시의 dV/dt_{max} 변동에 미치는 퓨린성 및 콜린성 작동제의 영향

퓨린성 작동제인 adenosine 10^{-4} M 관류시는 그 자체로서는 dV/dt_{max}에 거의 영향을 주지 않았고 저산소 또는 고칼륨-MPSS에 adenosine 10^{-4} M을 첨가하여 관류시에는 저산소 또는 고칼륨-MPSS만을 단독으로 관류시에 나타나는 dV/dt_{max} 감소의 정도와 유의한 차이가 없었다. 또한 저산소와 고칼륨의 혼합-MPSS에 adenosine 10^{-4} M을 첨가하여 관류시에도 adenosine을 첨가하지 않은 혼합-MPSS 관류시의 dV/dt max 감소의 정도와 유의한 차이가 없었다(Fig. 4). 그러나 콜린성 작동제인 acetylcholine 5×10^{-6} M 관류시에는 그 자체로서 약 15%의 dV/dt max의 증가를 일으켰고 저산소 또는 고칼륨-MPSS에 acetylcholine 5×10^{-5} M을 첨가하여 관류시에는 저산소 또는 고칼륨-MPSS만을 단독으로 관류시에 나타나는 dV/dt max 감소효과가 유의하게 감소하였다($p<0.05$). 또한 저산

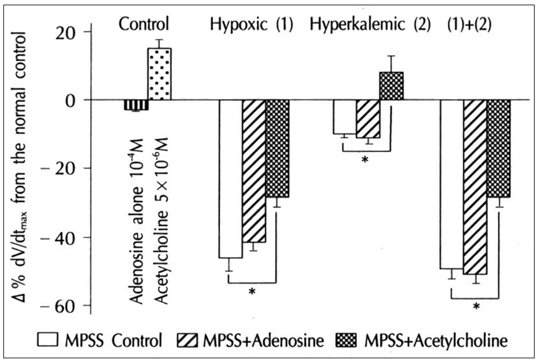

Fig. 4. Influences of adenosine and acetylcholine on the MPSS-induced decrease of dV/dt_{max} from the control at 10 min after superfusion of the MPSS containing the agonists. Each column with bar is the mean±SEM from 5 to 6 experiments. *$p<0.05$ by Student's t-test as compared with the MPSS control.

소와 고칼륨의 혼합-MPSS에 acetylcholine 5×10^{-6} M을 첨가하여 관류시에도 acetylcholine을 첨가하지않은 혼합-MPSS관류시의 dV/dt max 감소효과가 유의하게 억제되었다($p<0.05$)(Fig. 4).

또 다른 퓨린성 작동제인 CPA 10^{-4} M 관류시는 같은 퓨린성 작동제인 adenosine의 경우에서와 마찬가지로 그 자체로서는 dV/dt max에 거의 영향을 주지 않았고 저산소 또는 고칼륨-MPSS에 CPA 10^{-4} M을 첨가하여 관류시에는 저산소 또는 고칼륨-MPSS만을 단독 관류시에 나타나는 dV/dt_{max} 감소의 정도와 유의한 차이가 없었다. 또한 저산소와 고칼륨의 혼합-MPSS에 CPA 10^{-4} M을 첨가하여 관류시에도 CPA를 첨가하지 않은 혼합-MPSS 관류시의 dV/dt_{max} 감소의 정도와 유의한 차이가 없었다(Fig. 5). 그러나 콜린성 작동제인 carbachol 5×10^{-6} M 관류시에는 acetylcholine의 경우에서와 마찬가지로 그 자체로서 약 17%의 dV/dt max의 증가를 일으켰고 저산소 또는 고칼륨-MPSS에 carbachol 5×10^{-6} M을 첨가하여 관류시에는 저산소 또는 고칼륨-MPSS 단독 관류시에 나타나는 dV/dt_{max} 감소효과가 유의하게 억제되었다($p<0.05$). 또한 저산소와 고칼륨의 혼합-MPSS에 carbachol 5×10^{-6} M을 첨가하여 관류시에도 acetylcholine을 첨가하지않은 혼합-MPSS관류시의 dV/dt_{max} 감소효과가 유의하게 억제되었다($p<0.05$)(Fig. 5).

MPSS관류시의 APD_{90} 변동에 미치는 퓨린성 및 콜린성 작동제의 영향

퓨린성 작동제인 adenosine 10^{-5} M 관류시는 그 자체로서 약 20%의 APD_{90} 감소를 일으켰고 저산소액에 adenosine 10^{-5} M을 첨가하여 관류시에는 저산소-MPSS만을 단독으로 관류시에 나타나는 APD_{90} 감소효과가 유의하게 증강되었다($p<0.05$). 고칼륨-MPSS에 adenosine 10^{-5} M을 첨가하여 관류시의 APD_{90} 감소효과는 고칼륨-MPSS만을 단독으로 관류 또는 adenosine만을 단독으로 관류시와 유의한 차이가 없었으나 저산소와 고칼륨의 혼합-MPSS에 adenosine 10^{-5} M을 첨가하여 관류시의 APD_{90} 감소효과는 adenosine을 첨가하지 않은 혼합-MPSS 관류시에 비하여 유의하게 증가되었다(Fig. 6). 콜린성 작동제인 acetylcholine 10^{-6} M 관류시에는 그 자체로서 약 28%의 APD_{90} 감소를 일으켰고 저산소 또는 고칼륨-MPSS에 acetylcholine 10^{-6} M을 첨가하여 관류시의 APD_{90} 감소효과는저산소 또는 고칼륨-MPSS만을 단독으로 관류시에 비하여 증가하는 경향을 보였으나 유의한 차이는 없었다. 그러나 저산소와 고칼륨의 혼합-MPSS에 acetylcholine 10^{-6} M을 첨가하여 관류시에는 acetylcholine을 첨가하지않은 혼합-MPSS관류시의 APD_{90} 감소효과를 유의하게 증가시켰다($p<0.05$)(Fig. 6).

또 다른 퓨린성 작동제인 CPA 10^{-7} M 관류시는 그 자체로서약 40%의 APD 90 감소를 일으켰고 저산소-MPSS에 CPA 10^{-7} M을 첨가하여 관류시의 APD_{90} 감소효과는 저산소-MPSS만을 단독으로 관류시에 비하여 유의하게 증가되었다($p<0.05$). 고칼륨-MPSS에 CPA 10^{-7} M을 첨가하여 관류시의 APD_{90} 감소효과는 고칼륨-MPSS만을 단독으로 관류 또는 CPA만을 단

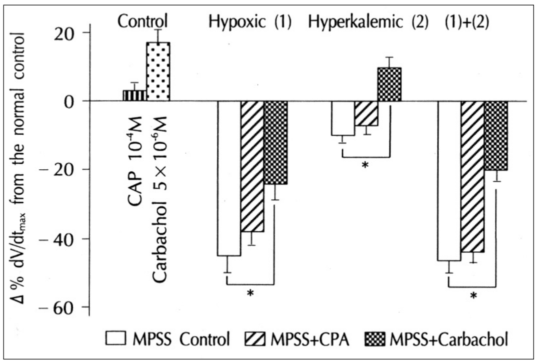

Fig. 5. Influences of cyclopentyladenosine (CPA) and carbachol on the MPSS-induced decrease of dV/dt_{max} from the control at 10 min after superfusion of the MPSS containing the agonists. The other legends are the same as in Fig. 4.

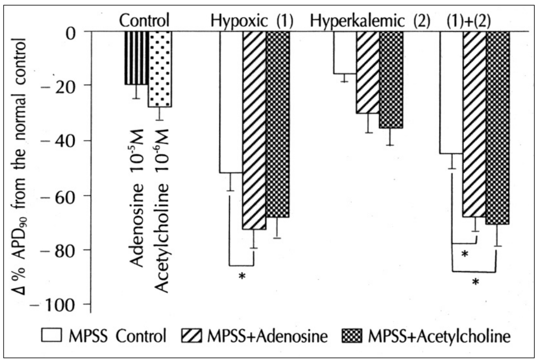

Fig. 6. Influences of adenosine and acetylcholine on the MPSS-induced decrease of APD_{90} from the control at 10 min after superfusion of the MPSS containing the agonists. Each column with bar is the mean±SEM from 5 to 6 experiments. *$p<0.05$ by Student's t-test as compared with the MPSS control.

독으로 관류시에 비하여 유의한 차이가 없었으나 저산소와 고칼륨의 혼합-MPSS에 CPA 10^{-7} M을 첨가하여 관류시의 APD_{90} 감소효과는 CPA를 첨가하지 않은 혼합-MPSS 관류시에 비하여 유의하게 증가되었다 ($p<0.05$)(Fig. 7). 콜린성 작동제인 carbachol 10^{-6} M 관류시에는 그 자체로서 약 48%의 APD_{90} 감소를 일으켰고 저산소-MPSS에 acetylcholine 10^{-6} M을 첨가하여 관류시의 APD_{90} 감소효과는 저산소-MPSS 만을 단독으로 관류시에 비하여 유의하게 증가하였다 ($p<0.05$). 고칼륨-MPSS에 carbachol 10^{-6} M을 첨가하여 관류시의 APD_{90} 감소효과는 고칼륨-MPSS만을 단독으로 관류 또는 carbachol만을 단독으로 관류시에 비하여 유의한 차이가 없었으나 저산소와 고칼륨의 혼합-MPSS에 carbachol 10^{-6} M을 첨가하여 관류시의 APD_{90} 감소효과는 carbachol을 첨가하지 않은 혼합-MPSS 관류시에 비하여 유의하게 증가되었다 ($p<0.05$)(Fig. 7).

앞서의 실험 결과에 의해서 나타난 MPSS관류시의 퓨린성 및 콜린성작동제에의한 dV/dt_{max} 또는 APD_{90} 변동효과가 이들 두 종류의 약물이 각각의 고유의 수용체에 작용하여 나타난 것인지를 알아 보고자 퓨린성 길항제인 DPCPX 그리고 콜린성 길항제인 atropine이 이 두종류의 약물효과에 미치는 영향을 조사하였다.

MPSS 관류시의 퓨린성 및 콜린성작동제의 dV/dt_{max} 변동효과에 미치는 퓨린성 및 콜린성 길항제의 영향

퓨린성길항제인 DPCPX 2×10^{-6} M 또는 콜린성길항제인 atropine 10^{-6} M을 각각 정상생리식염수에 첨가하여 관류시 dV/dt_{max}는 각각 4%정도의 미미한 증가 또는 감소를 일으켰다. DPCPX 또는 atropine를 첨가한 저산소와 고칼륨의 혼합-MPSS 관류 5분경과시에 adenosine 10^{-4} M, acetylcholine 5×10^{-6} M, CPA 10^{-4} M 그리고 carbachol 5×10^{-6} M을 각각 추가 첨가하여 관류하고 10분 경과시 dV/dt_{max}의 변동을 조사하여 비교하였다.

Atropine은 adenosine과 CPA의 MPSS대조군 dV/dt_{max} 감소효과에 거의 영향을 미치지 않았다. 그러나 acetylcholine과 carbachol에의한 혼합-MPSS관류시의 dV/dt_{max} 감소 억제효과(Figs. 4 and 5)는 atropine 전처리에의하여 나타나지 않았다(Fig. 8). Atropine의 경우에서와는 달리, DPCPX는 adenosine과 CPA의 MPSS대조군 dV/dt_{max} 감소효과에 영향을 미치지 않았을 뿐만 아니라 acetylcholine과 carbachol에 의한 혼합-MPSS관류시의 dV/dt_{max} 감소 억제효과(Figs. 4 and 5)가 DPCPX 전처리후에도 그대로 나타났다(Fig. 8).

MPSS 관류시의 퓨린성 및 콜린성작동제의 APD_{90} 변동효과에 미치는 퓨린성 및 콜린성 길항제의 영향

DPCPX 2×10^{-6} M 또는 atropine 10^{-6} M을 각각 정상생리식염수에 첨가하여 관류시 APD_{90}은 각각 5% 내외의 미미한 감소를 일으켰다. DPCPX 또는 atropine를 첨가한 저산소와 고칼륨의 혼합-MPSS 관류 5분경과시에 adenosine 10^{-4} M, acetylcholine 5×

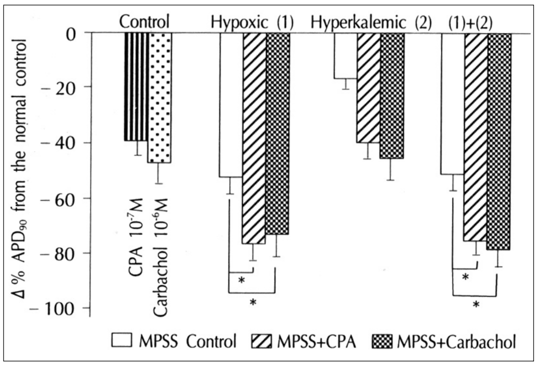

Fig. 7. Influences of cyclopentyladenosine (CPA) and carbachol on the MPSS-induced decrease of APD_{90} from the control at 10 min after superfusion of the MPSS containing the agonists. The other legends are the same as in Fig. 6.

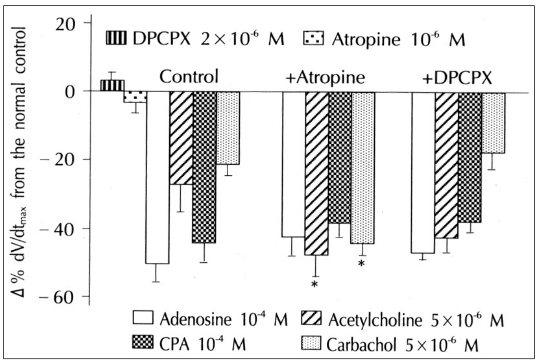

Fig. 8. Influences of atropine and DPCPX on the various agonists-containing MPSS-induced decrease of dV/dt_{max} from the control at 10 min after superfusion of the MPSS in the presence of the antagonists. The antagonists were pretreated 5 min before the superfusion of each MPSS superfusion. Each column with bar is the mean±SEM from 5 to 6 experiments. *$p<0.05$ by Student's t-test as compared with the MPSS control.

10^{-6} M, CPA 10^{-4} M 그리고 carbachol 5×10^{-6} M 을 각각 추가 첨가하여 관류하고 10분 경과시 APD_{90}의 변동을 조사하여 비교하였다.

Atropine은 adenosine과 CPA의 MPSS대조군 APD_{90} 감소효과에 거의 영향을 미치지 않았다. 그러나 acetylcholine과 carbachol에의한 혼합-MPSS관류시의 APD_{90} 감소 강화효과(Figs. 6 and 7)는 atropine 전처리에의하여 차단되어 혼합-MPSS만을 관류했을때의 APD_{90} 감소효과가 그대로 나타났다(Fig. 9). Atropine의 경우에서와는 달리, DPCPX는 acetylcholine과 carbachol의 MPSS대조군 APD_{90} 감소효과에 거의 영향을 미치지 않았으나, adenosine과 CPA에의한 혼합-MPSS관류시의 APD_{90} 감소 강화효과(Figs. 6 and 7)는 DPCPX 전처리에의하여 차단되어 혼합-MPSS만을 관류했을때의 APD_{90} 감소효과가 그대로 나타났다(Fig. 9).

고 안

허혈성 심장질환시에 나타나는 심장의 전기적인 이상현상(electrical derangements)에 기여하는 인자로는 세포외의 칼륨농도증가, 젖산(lactate)의 세포내 축적, 대사성 산증(metabolic acidosis), 저산소증(hypoxia), 기질의 결핍 그리고 catecholamine의 과량분비등이라고 알려져 있다.[17-20] 본 연구의 결과는 이러한 허혈성 심장질환에서 나타나는 여러 가지 변화중 저산소증과 세포외액의 고칼륨농도가 심근의 활동전위특성의 변조에 가장 현저히 관여함을 밝히고 있다. 즉 허혈상태에서 일어날 수 있는 여러 가지 조건과 비슷한 조성을 갖는 생리식염수액중 위의 두 경우에 해당하는 용액을 단독 또는 혼합하여 관류했을 때 심근 활동전위의 각 변수값들이 감소되거나(MDP, dV/dt_{max} 그리고 APA) 단축되었다(APD_{90}). 이와같은 현상은 심근이 허혈상태에 놓이면 활동전위가 약화되어 심장의 활동력을 감소시킬려고 하는 일종의 "자기보호작용"이라고 생각된다. 저산소액과 고칼륨액외의 다른 허혈유사조건을 갖는 생리식염수 관류하에서 활동전위특성이 뚜렷하게 변하지 않은 점은 본 연구의 결과로는 해석하기 어렵다. 실제로 이런 조건하에서는 심근의 활동전위특성이 영향을 받지 않는 것인지 아니면 본 연구에서 시도한 관류액의 조성자체가 심근세포의 허혈성 손상을 이끌기에 미흡한 것인지는 더 연구해봐야 할 문제일 것으로 생각된다. 실제로 몇몇 연구자들이 대사성 산증이나 세포의 포도당 결핍시에 세포의 허혈성 손상이 악화되거나[21] 또는 포도당이 세포의 허혈성 손상의 진행을 억제한다는 보고[22]를 한 바 있지만 대사성 산증이나 포도당 결핍 그 자체만으로는 허혈손상의 과정에 큰 영향을 미치지 않는 것으로 보인다.

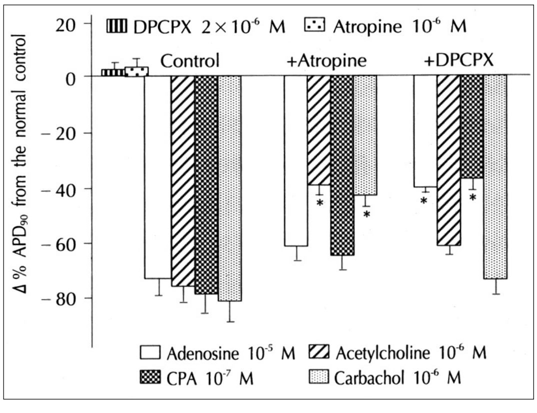

Fig. 9. Influence of atropine and DPCPX on the various agonists-containing MPSS-induced decrease of APD_{90} from the control at 10 min after superfusion of the MPSS in the presence of the antagonists. The antagonists were pretreated 5 min before the superfusion of each MPSS superfusion. The other legends are the same as in Fig. 8.

퓨린성 작동제인 adenosine과 콜린성 작동제인 acetylcholine은 서로 다른 수용체에 작용하여 그 효과를 내는 물질이지만 심장에서의 효과는 서로 비슷한 부변력(negative inotropic) 및 부변시(negative chronotropic)효과를 일으킨다고 알려져 있다.[14-16)23] 본 연구결과에서도 이 두 작동제 관류시 공통적으로 용량의존적인 활동전위 기간의 단축효과가 나타났다. 이는 두 작동제의 심근에서의 공통적인 부변력효과의 기전을 설명할 수 있는 실험결과이다.

Acetylcholine은 활동전위 기간의 단축외에도 phase 0 탈분극의 최대상승속도를 증가시켰는 바 이는 acetylcholine이 막전위를 과분극시키기 때문에 나타난 효과[24]라고 추정된다. 본 연구에서도 acetylcholine 2×10^{-5} M 관류시에 최대이완기 전위(MDP)가 대조군에 비해 과분극되는 것을 관찰할 수 있었다. Adenosine 관류시에는 활동전위기간 단축효과이외의 뚜렷한 변화는 없었고 활동전위 기간단축효과에 있어서도 acetylcholine 관류시의 경우와 비교해보면 그 효력이 약함을 알 수 있다. 이러한 점은, 심방근에서 퓨린성 수용체의

밀도가 콜린성 수용체의 밀도보다 낮기 때문에 퓨린성 작동제의 효과가 콜린성 작동제의 효과에 비해서 약하게 나타난다는 보고[25)26)]와 일맥 상통하는 연구결과이다.

한편, 다른 퓨린성 작동제인 cyclopentyladenosine과 다른 콜린성 작동제인 carbachol 관류시에도 adenosine과 acetylcholine 관류시와 비슷한 양상으로 공통적인 활동전위기간 단축효과와 carbachol에서의 phase 0 탈분극의 최대상승속도 증가효과가 나타났다. 그러나 이 두종류 네 약물에 의한 활동전위 기간 단축효력(ED_{50})의 순서는 cyclopentyladenosine>carbachol>>acetylcholine>adenosine 순이었고 활동전위기간 감소 최대효과도 오히려 퓨린성 작동제인 cyclopentyladenosine 관류시에 가장 컸다. 이점은 수용체의 밀도와 관련해서 작동제의 효과가 다르게 나타날 수 있다는 앞서의 보고와는 상충되는 실험결과이다. 본 연구의 결과만으로 이와같은 모순을 설명할 수는 없지만 심근표본에 관류시킨 adenosine은 세포내로 흡수되거나 세포조직에서 탈아민화 과정을 거쳐 그 활성을 잃게 되므로 세포막의 adenosine 수용체에 작용하는 adenosine의 양은 실제 투여량보다 적다는 보고[23)27)]를 음미해 볼 필요가 있다. 즉 cyclopentyladenosine은 adenosine과 그 화학적인 구조가 다르므로 대사과정이 다를 수가 있고, 세포내로 흡수되는 정도도 adenosine과는 같지 않으므로 그 효력에 차이가 날 수 있을 것으로 생각된다.

본 연구의 결과에 의하면 그 조성이 변경된 여러 가지 종류의 허혈성-MPSS중 주로 저산소액과 고칼륨액 관류시 활동전위 변수값의 변동이 나타났고 또한 퓨린성 및 콜린성 작동제에 의한 활동전위 특성 변동효과도 주로 활동전위 기간(APD_{90})의 단축과 phase 0 탈분극의 최대상승속도(dV/dt_{max})의 증가 또는 감소로 나타났으므로 심근허혈시의 퓨린성 또는 콜린성 작동제의 역할을 알아보기 위하여 저산소 및 고칼륨 조성의 MPSS 관류시에 나타나는 이 두가지의 활동전위 변수(APD_{90}과 dV/dt_{max})의 변동에 미치는 퓨린성 및 콜린성 작동제의 영향을 조사하였다. 퓨린성 작동제인 adenosine과 cyclopentyladenosine은 그 자체로서도 dV/dt_{max}에 거의 영향을 미치지 않았을 뿐더러 저산소 및 고칼륨 MPSS 단독 또는 혼합-MPSS 관류시에 나타나는 dV/dt_{max} 감소효과에 영향을 미치지 않았다. 반면에 콜린성 작동제인 acetylcholine과 carbachol은 그 자체로서 의미있는 dV/dt_{max} 증가를 일으켰고 저산소 및 고칼륨 MPSS 단독 또는 혼합-MPSS 관류시에 나타나는 dV/dt_{max} 감소효과를 의미있게 억제하였다. 퓨린성 작동제가 콜린성 작동제의 경우에서와는 달리 dV/dt_{max}에 거의 영향을 미치지 못한 점은 퓨린성 작동제의 심근에서의 작용기전은, 이들 작동제가 세포막의 수용체를 거쳐 주로 세포막의 칼륨전도도를 증가시키는 데에 있으므로[11-13)] 세포막의 나트륨 전도도와 관련이 있는 dV/dt_{max}에는 영향을 미치지 못한 것으로 보인다. 이와는 달리 콜린성 작동제는 칼륨전도도 증가[28)29)] 뿐만아니라 나트륨 전도도에도 영향을 미칠수 있기 때문에[30-32)] dV/dt_{max}를 증가시켰고 결과적으로 허혈상태에서 나타나는 dV/dt_{max} 감소효과를 억제했다고 생각할 수 있다. 그러나 이와같은 콜린성 작동제에 의한 허혈상태의 dV/dt_{max} 감소효과 억제가 허혈심근에 보호적으로 작용하는지는 의문이다. 오히려 심근의 흥분성을 증가시켜 치명적인 부정맥을 유발할 가능성이 높아질수 있기 때문이다.

Acetylcholine과 carbachol의 허혈상태의 dV/dt_{max} 감소억제효과가 퓨린성 길항제인 DPCPX 전처리하에서는 그대로 나타났고 콜린성 길항제인 atropine 전처리하에서는 약화되어 허혈상태의 dV/dt max 감소효과가 그대로 나타난 점은 이들 두 물질에 의한 효과가 세포막의 muscarinic 콜린성 수용체를 거쳐서 나타난 것임을 말해주고 있다.

퓨린성 작동제인 adenosine과 cyclopentyladenosine 그리고 콜린성 작동제인 acetylcholine과 carbachol은 그 자체로서 심근의 활동전위기간(APD_{90})을 용량의존적으로 감소시켰고 adenosine과 cyclopentyladenosine은 저산소 MPSS 및 저산소 및 고칼륨 병합 MPSS 관류시에 나타나는 APD_{90} 감소효과를 강화시켰다. 또한 콜린성 작동제인 acetylcholine은 저산소 MPSS 관류시에 나타나는 APD_{90} 감소효과에는 영향을 미치지 못했지만 저산소 및 고칼륨 병합 MPSS 관류시의 APD_{90} 감소효과는 의미있게 강화시켰고 carbachol은 퓨린성 작동제와 같은 양상으로 허혈상태에서 나타나는 APD_{90} 감소효과를 증강시켰다. 이와같은 실험결과는 퓨린성 또는 콜린성 작동제가 허혈상태에서 활동전위기간을 단축시켜 활동성 저하를 유도하는 심근의 "자기보호기능"을 강화시킬 수 있음을 시사하고 있다.

앞서 언급한 것처럼 퓨린성 또는 콜린성 작동제는 공통적으로 세포막의 칼륨전도도를 증가시킨다. 말하자면

이들 작동제는 세포막에 있는 각각의 고유 수용체에 작용한 후 어떤 공통적인 신호전달자를 통하여 재분극에 관여하는 K^+ 통로를 활성화시켜 K^+ efflux가 증가함으로써 세포막의 탈분극후 정상보다 빠른 재분극이 일어나고 결과적으로 활동전위기간이 단축된다고 생각할 수 있다. Guineapig 심방근세포에서 adenosine이 GTP 결합단백을 통하여 무스카린성 칼륨통로를 활성화시킨다고 보고[13]가 이러한 사실을 뒷받침하고 있다. 심근 허혈시의 활동전위기간단축을 일으키는 기전은 여러 가지가 알려져 있지만, 허혈시 세포내의 adenosine triphosphate(ATP)의 결핍과 같은 에너지 손실이 ATP-민감성 칼륨통로(K ATP통로)를 활성화시켜 칼륨이온의 세포외로의 유출(K^+ efflux)을 촉진시키기 때문에 나타난 것[1][2]으로 보인다.

허혈시 나타나는 APD_{90} 감소효과를 퓨린성 또는 콜린성 작동제가 강화시키는 것은 허혈시 또는 작동제에 의해 서로 다른 특성을 갖는 칼륨통로의 활성이 증가되기 때문에 서로 상승효과를 낸다고 생각할 수 있다. 이들 두 종류의 작동제에 의한 허혈시의 활동전위기간의 감소효과가 비슷한 양상으로 강화되었지만 adenosine과 cyclopentyladenosine의 효과는 퓨린성 길항제인 DPCPX에 의해 그리고 acetylcholine과 carbachol의 효과는 콜린성 길항제인 atropine에 의해서 차단된 점으로 보아 이 두종류의 작동제가 작용하는 수용체는 별개임[23][28]을 알 수 있다.

결론적으로 퓨린성 또는 콜린성 작동제는 허혈시와 같은 심근의 과부하 상태에서 나타나는 활동전위기간 감소효과를 증강시켜 허혈시의 전압-의존성 칼슘통로의 열리는 시간을 단축시키고 세포내 칼슘농도 증가를 억제하여 심근을 보호하는 역할을 할 수 있을 것으로 생각된다.

요 약

연구배경 :

Adenosine으로 대표되는 퓨린성 작동제와 acetylcholine으로 대표되는 콜린성 작동제는 심장에서 각각 부변력 및 부변시 효과를 일으킨다고 알려져있다. 따라서 이러한 작동제가 과 부하상태에있는 심근을 보호하는 역할을 할 것으로 기대된다. 본 연구에서는 적출 흰쥐 심방근 표본에 심근경색시와 비슷한 조건을 갖는 몇 종류의 생리식염수(modified physiologic salt solution, MPSS)를 관류시키고, 이때 나타나는 심방근의 전기생리학적 변동을 미세전극 기법을 이용하여 측정하고 퓨린성 및 콜린성 작동제가 허혈상태의 전기생리학적 변동에 미치는 영향을 조사하였다.

방 법 :

체중 250 g 내외의 Sprague Dawley계 흰쥐로부터 적출된 좌심방 절편을 정상 및 허혈성조성의 MPSS 관류하에서 3M-KCl 미세전극기법으로 활동전위를 측정하고 이로부터 최대 이완기 전위(MDP), 활동전위의 크기(APA), 90% 재분극시까지의 활동전위 기간(APD 90), 그리고 phase 0 탈분극의 최대상승속도(dV/dt_{max})를 측정하였다. 허혈성식염수액은 정상 Tyrode액의 조성을 변경하여 저산소, 산성, 무포도당, 고칼륨 MPSS 또는 혼합 MPSS를 만들고 여기에 실험약물을 첨가하여 관류시키고 이때 나타나는 활동전위 특성의 변동을 측정하여 비교하였다.

결 과 :

저산소 또는 고칼륨-MPSS 관류시 MDP(maximum diastolic potential), dV/dt_{max}(phase 0 탈분극의 최대상승속도), APA(action potentail amplitude) 그리고 APD_{90}(90% 재분극시까지의 action potentail duration)은 각각 유의하게 감소하였으며 특히 dV/dt max 및 APD_{90} 감소효과가 현저하였다. 그러나 이 이외의 MPSS(산성 또는 무포도당-MPSS) 관류시에는 활동전위 특성이 거의 변하지 않았다. 퓨린성 작동제인 adenosine과 cyclopentyladenosine(CPA)은 활동전위기간을 용량의존적으로 감소시켰으나 다른 활동전위 변수에는 영향을 미치지 않았다. 콜린성 작동제인 acetylcholine과 carbachol은 일부의 용량에서 MDP를 과분극시켰고 dV/dt_{max}를 증가시켰으며 용량의존적으로 활동전위기간을 감소시켰다. 네 약물의 APD_{90} 감소효력은 CPA>carbachol>>acetylcholine>adenosine순이었다. 퓨린성 작동제는 저산소 및 고칼륨-MPSS 관류시의 dV/dt_{max} 감소효과에 영향을 미치지 않았다. 그러나 콜린성 작동제는 MPSS에 의한 dV/dt_{max} 감소효과를 유의하게 억제하였다. 퓨린성 작동제와 콜린성 작동제는 저산소 및 고칼륨-MPSS 관류시의 APD_{90} 감소효과를 각각 유의하게 증가시켰다. 콜린성 작동제의 저산소·고칼륨 MPSS-dV/dt_{max} 감소 억제효과는 DP-CPX에 의해서는 영향을 받지 않았으나 atropine

에 의해서는 차단되었다. 퓨린성 작동제의 저산소 · 고칼륨 MPSS - APD_{90} 감소 증강효과는 DPCPX에 의하여, 콜린성 작동제의 APD_{90} 감소 증강효과는 atropine에 의하여 각각 차단되었다.

결 론 :

이상의 연구결과로부터, 퓨린성 또는 콜린성 작동제는 각각의 고유한 수용체에 작용하여 허혈상태에서 나타나는 심근의 활동전위기간 감소효과를 증강시켜 결과적으로 전압의존성 칼슘통로의 열리는 시간을 단축시키고 세포내 칼슘농도의 증가를 억제하여 심근을 보호하는 역할을 할 것이라고 추론하였다.

중심 단어 : 콜린성 · 퓨린성 · 허혈 · 흰쥐심방 · 활동전위.

This paper was supported by '95 SPECIAL FUND for UNIVERSITY RESEARCH INSTITUTE, Korea Research Foundation, and in part by '96 research fund of the Research institutes of Clinical Medicine, Chonnam University Hospital.

REFERENCES

1) Meldrum B, Garthwaite J. *Excitatory amino acid neurotoxicity and neurodegenerative disease. Trends in Pharmacol 1990;11:79-387.*
2) Krieglstein J, Peruche B. *Pharmakologische grundlagen der therapie der zerebralen ischamie. Drug Res 1991;41:303-9.*
3) Siesjo BK, Smith ML. *The biochemical basis of ischemic brain lesions. Drug Res 1991;41:188-92.*
4) Robert E, Ten E, David WW, Helge HR. *Connections: Heart disease, cellular electrophysiology and ion channels. FASEB J 1992;6:2568-80.*
5) Belardinelli E, Mattos EC, Berne RM. *Evidence for adenosine mediation of atrioventricular block in the ischemic canine myocardium. J Clin Invest 1981;68:195-203.*
6) Motomura S, Hashimoto K. *Reperfusion-induced bradycardia in the isolated blood-pefused sinoatrial node and papillary muscle preparations of the dog. Jpn Heart J 1982;23:112.*
7) Parratt JR, Wainwright CL. *The effects of adenosine on arrhythmias induced by myocardial ischemia and reperfusion in dogs. Br J Pharmacol 1985;85:228-36.*
8) Clemo HF, Bellardinelli L. *Effect of adenosine on atrioventricular conduction. Ⅰ. Site and characterization of adenosine action in the guinea pig atrioventricular node. Circ Res 1986;59:427-36.*
9) Sparks HV, Bardenheuer H. *Regulation of adenosine formation by the heart. Circ Res 1986;58:193-201.*
10) Guthrie JR, Nayler WG. Interaction between caffeine and adenosine on *calcium exchangeability in mammalian atria. Arch Int Pharmacodyn 1967;170:249-55.*
11) DeGubareff T, Sleator WJr. *Effects of caffeine on mammalian atrial muscle and its interaction with adenosine and calcium. J Pharmacol Exp Ther 1965;148:202-14.*
12) Hutter OF, Rankin AC. *Ionic basis of the hyperpolarizing action of adenyl compounds on sinus venosus of the tortoise heart. J Physiol 1984;353:111-25.*
13) Kurachi Y, Nakajima T, Sugimoto T. *On the mechanism of activation of muscarine K^+ channels by adenosine in isolated atrial cells: Involvement of GTP-binding proteins. Pflgers Arch 1986;407:264-74.*
14) Belardinelli L, Belloni FL, Rubio R, Berne RM. *Atrioventricular conduction disturbances during hypoxia: Possible role of adenosine in rabbit and guinea pig heart. Circ Res 1980;47:684-91.*
15) James TN. *The chronotropic action of ATP and related compounds studies by direct perfusion of the sinus node. J Pharmacol Exp Ther 1965;149:233-47.*
16) Nawrath H, Jochem G. *On the mechanism of the negative inotropic action of adenosine in the guinea pig heart (Abstract). Naunyn-Schmiedebergs Arch Pharmacol (Suppl) 1982;319:R37.*
17) Hill JL, Gettes LS. *Effect of acute coronary artery occlusion on local myocardial extracellular K^+ activity in swine. Circulation 1980;61:768-78.*
18) Hirche H, Franz C, Bos L, Bissig R, Lang R, Schramm M. *Myocardial extracellular K^+ and H^+ increase and noradrenaline release as possible cause of early arrhythmias following acute coronary artery occlusion in pigs. J Mol Cell Cardiol 1980;12:579-93.*
19) Morena H, Janse MJ, Fiolet JW, Krieger WJ, Crijns H, Durrer D. *Comparison of the effects of regional ischemia, hypoxia, hyperkalemia, and acidosis on intracellular and extracellular potentials and metabolism in the isolated porcine heart. Circ Res 1980;46:634-46.*
20) Weiss J, Shine KI. *Extracellular K^+ accumulation during myocardial ischemia in isolated rabbit heart. Am J Physiol 1982;242:H619-28.*
21) Carmeliet E. *Cardiac transmembrane potentials and metabolism. Circ Res 1978;42:577-87.*
22) McDonald TF, MacLeod DP. *Metabolism and the electrical activity of anoxic ventricular muscle. J Physiol (London) 229:559-82.*
23) Belardinelli L, Isenberg G. *Isolated atrial myocytes: Adenosine and acetylcholine increase potassium conductance. Am J Physiol 1983;244(Heart Circ Physiol 13): H734-7.*
24) Weidmann S. *The effect of the cardiac membrane potential on the rapid availability of the sodium-carrying system. J Physiol (London) 1955;127:213-21.*
25) Linden J, Hollen CE, Patel A. *The mechanism by which adenosine and cholinergic agents reduce contractility in rat myocardium. Circ Res 1985;56:728-35.*
26) Kemmer M, Jakob H, Nawrath H. *Pronounced cholinergic but only moderate purinergic effects in isolated atrial and ventricular heart muscle from cats. Br J Pharmacol 1989;97:1191-8.*
27) Moritoki H, Takei M, Fujita S, Ishida Y. *Papaverine enhances the effect of adenosine in guineapig atria. Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol 1980;327:326-31.*
28) Johnson EA, McKinnon MG. *Effect of acetylcholine and adenosine on cardiac cellular potentials. Nature Lond 1956;178:1174-5.*
29) Soejima M, Noma A. *Mode of regulation on the Ach-*

sensitive K-channel by the muscarinic receptor in rabbit atrial cells. Pflgers Arch 1984;400:424-31.
30) Sukhova GS, Graser T, Kurella GA, Udel'nov MG. *Possible participation of slow* Na^{+}-Ca^{++} *channels in realizing cholinergic effects on the cardiac pacemaker. Fiziol Zh SSSR 1985;71:506-9*.
31) Cohen Armon M, Kloog Y, Henis YI, Sokolovsky M. *Batrachotoxin changes the properties of the muscarinic receptor in rat brain and heart: Possible interaction (s) between muscarinic receptors and sodium channels. Proc Natl Acad Sci USA 1985;82:3524-7*.
32) Matsumoto K, Pappano AJ. *Carbachol activates a novel sodium current in isolated guinea pig ventricular myocytes via* M_2 *muscarinic receptors. Mol Pharmacol 1991;39: 359-63*.