Original Articles Korean Circulation J 1999;29(11):1225-1233

허혈 유사 조건이 심방근의 활동전위 특성에 미치는 영향

전남대학교 의과대학 약리학교실,[1] 흉부외과학교실,[2] 수의과대학 약리학교실,[3] 광주한국병원 내과[4]
김재하[1] · 주정민[3] · 조용범[2] · 신동호[3] · 안병희[2] · 주신배[4] · 김상형[2]

Influence of Ischemic-Simulation on the Action Potential Characteristics in Rat Atrial Fibers

Jae-Ha Kim, MD[1], Jeong-Min Ju, DVM[3], Yong-Bum Cho, MD[2], Dong-Ho Shin, DVM[3], Byung-Hee Ahn, MD[2], Shin-Bae Joo, MD[4] and Sang-Hyung Kim, MD[2]

[1]Departments of Pharmacology, [2]Thoracic Surgery, Chonnam National University Medical School, Kwangju, [3]Department of Pharmacology, College of Veterinary Medicine, Chonnam National University, Kwangju, [4]Department of Internal Medicine, Kwangju-Hankook Hosopital, Kwangju, Korea

ABSTRACT

Background : To investigate the mechanisms of myocardial ischemia induced changes of electrophysiological properties, influences of various ischemic-simulated Tyrode's solutions on the changes of action potential characteristics were examined. **Method** : Action potential characteristics were measured during superfusion with various ischemic-simulated solutions (modified physiologic salt solution ; MPSS) by the method of conventional microelectrode technique in rat atrial fibers. **Results** : Hypoxic-, hyperkalemic-, and mixed-MPSS decreased 'maximum diastolic potential' (MDP) and 'action potential amplitude' (APA), however, no significant changes of MDP and APA were observed by acidic- and glucose-free-MPSS. Maximum velocity of phase 0 depolarization (dV/dt_{max}) and 'time for 90% repolarization' (APD_{90}) significantly decreased during hypoxic- and mixed-MPSS superfusion, and hyperkalemic-MPSS also decreased the dV/dt_{max} and APD_{90}. However, no significant changes in dV/dt_{max} and APD_{90} were observed by acidic- and glucose-free-MPSS. The decreasing effects of dV/dt max and APD 90 by the MPSSes were attenuated when the MPSSes were replaced with normal Tyrode's solution. DPCPX (2×10^{-6} M), a purinergic antagonist, inhibited the decreasing effects of APD_{90} at 5, 10, and 20 min superfusion of the mixed-MPSS, and glibenclamide (10^{-6} M), a K_{ATP} channel blocker, inhibited those at 10 and 20 min superfusion of the mixed-MPSS. Diclofenac (10^{-6} M), a cyclooxygenase inhibitor inhibited only those at 20 min superfusion of the mixed-MPSS. **Conclusion** : The primary factors for changing the electrophysiological characteristics during ischemic insults could be hypoxia and high-extracellular K^+, and the mechanisms of the electrophysiological changes are inferred that adenosine through purinoceptors is involved initially, and followed by K_{ATP} channel and prostanoids. **(Korean Circulation J 1999;29(11):1225-1233)**

KEY WORDS : Ischemia · Rat · Atrial fiber · Action potential · Tyrode.

논문접수일 : 1999년 6월 14일
심사완료일 : 1999년 11월 8일
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

허혈성 심장질환시 발생하는 전기생리학적인 이상현상은 그동안 여러 연구자에 의하여 꾸준히 보고되어왔다. 즉 급성 심근경색증 같은 허혈성 심장질환시 발생하는 부정맥은 심근허혈에 의한 비 정상적인 전기생리 변동 때문이며, 이와같은 전기생리학적 이상현상을 일으킬 수 있는 원인으로는 1) 세포외의 칼륨 증가, 2) 세포내 젖산(lactates)의 지나친 축적, 3) 대사성 산증(metabolic acidisis), 4) 저 산소증(hypoxia), 5) 기질(substrates)의 결핍, 그리고 6) 심장에 분포하는 신경으로부터의 catecholamine 과대 분비등이 알려져 있다.[1-7]

세포수준에서 허혈성 손상을 이끄는 주요기전은 세포내외의 이온 평형상태의 파괴로 알려져 있다. 혈액공급의 중단에 의한 adenosine triphosphate(ATP)의 결핍과 같은 에너지 손실은 세포에서 칼륨이온의 유리를 촉진시키고 수분의 유입을 동반한 칼슘, 나트륨 그리고 염소이온의 유입을 촉진한다.[8)9)] 이렇게 해서 세포내로 유입된 칼슘은 단백분해 효소와 지질분해 효소의 활성화에 기인한 세포내 근섬유초(sarcoplasmic reticulum)의 칼슘유리를 일으켜[10)] 결과적으로 세포내 칼슘농도가 증가하고 심근 수축력이 증가하여 허혈 손상이 가속화되게 된다. 이러한 관점에서 보면 허혈시의 세포내 칼슘농도 증가를 억제할 수 있는 방법이 허혈 손상을 막는 결과를 가져올 수 있다고 생각할 수 있다.

한편 허혈시 나타나는 심혈관계의 생리학적인 변동에 관여하는 인자로는 그동안 여러 가지가 알려져있다. 즉 허혈상태에 있는 심근에서는 adenosine이 분비되며 이것이 활동전위 기간을 단축시키고 심근세포 내로의 Ca^{2+} 유입을 감소시켜 관상동맥의 이완을 일으킨다는 보고[11-13)]가 있고, anoxia시의 관상동맥 혈관근이완은 ATP-민감성 칼륨통로(K_{ATP} 통로) 활성이 증가 된 것 이라는 연구결과[14)15)]도 있다. 또한 포유동물의 심장에서, 저산소에 의한 혈관이완에 NO(endothelium-derived relaxing factor ; EDRF)[16-18)]와 프로스타글란딘[19-22)]이 관여한다는 연구결과도 있다.

본 연구에서는, 허혈심근 세포손상과 관련된 전기생리학적인 이상현상을 초래하는 직접적인 원인기전을 알아보고자 적출 흰쥐 심방근 표본에 심근허혈시의 세포외액과 유사한 조건을 갖는, 조성이 변경된 Tyrode 액을 관류시키고, 이때 나타나는 심방근의 전기생리학적인 변동을 관습적인 미세전극 기법(conventional microelectrode technique)으로 측정하고 변동의 원인과 관련된 기전을 구명 하고자 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 절편으로 만들어 Tyrode 액(조성 : NaCl 131 mM, $NaHCO_3$ 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(Vertical type, Stoelting Co.)를 이용하여 만든 유리 미세전극에 3M의 KCl을 채우고(이때의 전극 DC 저항은 10~30 MΩ 정도가 됨) 이것을 micromanipulator(3 axis, Brinkmann)를 이용하여 세포내에 찔러넣고, electrometer(S7071A, WPI)를 통하여 측정된 전위를 오실로스코프(5113, Tektronix)와 physiological recorder(2400, Gould)에 기록하고 오실로스코프 사진기(C-51, Tektronics)로 촬영한후 측정하였다(Figs. 1 and 2).

활동전위를 유도하기 위한 표본의 자극은 전기자극기(S48, Grass)에 연결된 bipolar silver electrode(지름 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 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 differenttiator amplifier(실험실에서 제작)에 연결하여 정량화한 다음 oscilloscope상에 기록된 값을 측정하였다(Figs.

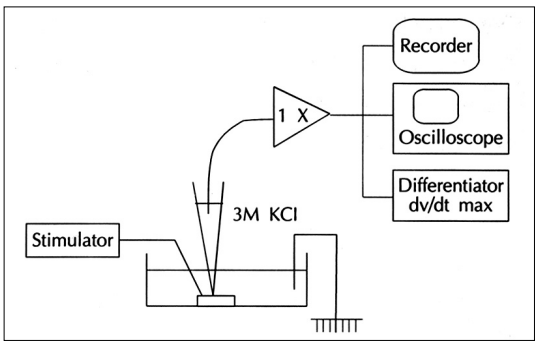

Fig. 1. Schematic diagram of the electrophysiological recording system used in the present study.

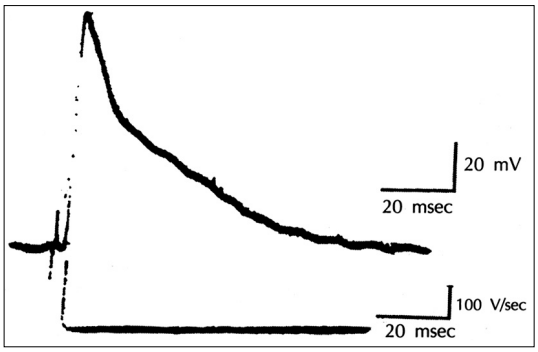

Fig. 2. Action potential characteristics evoked at a stimulation rate 1.5 Hz in rat atrial fibers (upper trace). Lower trace shows the dV/dt of the upper trace and the apparant vertical bar is the dV/dtmax indicating the maximum velocity of the phase 0 depolarization.

1 and 2).

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

1) 저산소 MPSS : 정상 Tyrode 액을 95% N_2+5% CO_2 가스로 bubbling시켜 pO_2가 50 mmHg 이하 되게하고 pH는 7.4를 유지하게 하였다.

2) 산성 MPSS : 정상 Tyrode 액을 60% O_2+4% CO_2 가스로 bubbling시켜 pO_2는 600, pCO_2는 약 200 mmHg, pH는 6.8이 되게 하였다.

3) 무포도당 MPSS : 정상 Tyrode 액 조성에서 glucose를 제거하고 90% O_2+5% CO_2 가스로 bubbling 시켜 pO_2는 약 600 mmHg, pH는 7.4가 되게 하였다.

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

5) 허혈성 MPSS : 정상 Tyrode 액의 조성에서 glucose를 제거하고 칼륨농도를 10 mM로 증가시킨후 60% N_2+4% CO_2 가스로 bubbling시켜 pO_2가 50 mmHg 이하가 되게하고 pCO_2는 약 200 mmHg, pH는 6.8이 되게하였다.

MPSS는 peristaltic pump(Miniplus 2, Gilson)를 이용하여 7 ml/min의 속도로 표본에 관류하였으며 필요에따라 관류액에 실험약물을 첨가하여 사용하였다.

실험에 사용한 약물은 8-2-p-(2-carboxylethyl) phenthylamino-5′-N-8-cyclopentyl-1,3-dipropy-lxanthine(DPCPX ; RBI), glibenclamide(Sigma), diclofenac(RBI)이었다. 약물은 dimethylsulfoxide(DMSO, Sigma)나 증류수에 고농도의 원액을 만들고 사용시에 해당 관류액에 원하는 농도로 희석하여 관류시켰다.

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

결 과

정상 Tyrode 액(normal physiologic salt solution=NPSS) 관류하의 활동전위 특성

정상 대조군에서의 활동전위 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 크기(action potential amplitude ; APA)는 108±3.9 mV, 90% 재분극시까지의 활동전위기간(action potential duration ; APD_{90})은 76±5.2 msec이었다(Fig. 2, Table 1의 control).

허혈성 Tyrode 액(modified physiologic salt solution=MPSS) 관류하에서의 활동전위 특성의 변동

MDP는 저산소, 고칼륨 및 혼합 MPSS 관류시 급격히 감소(탈분극쪽으로)하기 시작하여 대체로 10분경과시에 최대로 감소하였고 그후로도 측정을 하였던 1시간 경과시까지는 비슷한 정도의 감소를 유지하였다. 최대 감소의 정도는 각각, 저산소 MPSS 관류시 11 mV

Table 1. Effects of various ischemic-simulated Tyrode's solution (modified physiologic salt solution) on action potential characteristics in rat atrial fibers at 10 min superfusion of the solution

	MDP (mV)	dV/dtmax (V/sec)	APA (mV)	APD90 (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-free	- 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*

MDP : maximal diastalic potential, dV/dtmax : maximum upstroke velocity of phase 0 depolarization, APA : action potential amplitude, APD90 : action potential duration for 90% repolarization. Numerals are mean±SEM of 5 to 6 experimental results. * : $p<0.05$, by Student's t-test as compared to the control

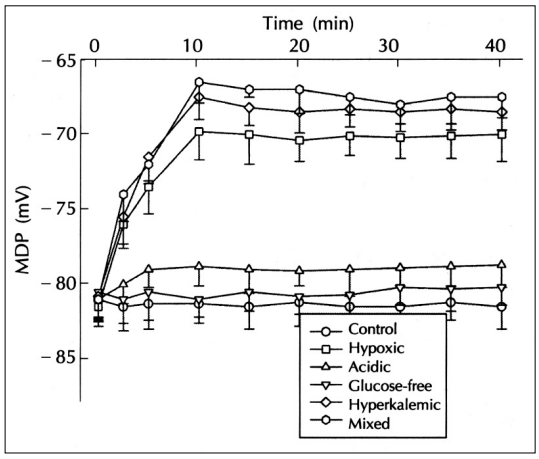

Fig. 3. Effects of various MPSS (modified physiologic salt solution) superfusion on the maximum diastolic potential (MDP) in rat atrial preparations. Each point is the mean±SEM of observations from 5 to 6 experiments. Control means normal Tyrode's solution, and the other MPSSes were prepared by modifying the content of normal Tyrode's solution as follows, Hypoxic : $pO_2<50$ mmHg, Acidic : $pCO_2=200$ mmHg, pH=6.8, Glucose-free : glucose (-), Hyperkalemic : 10 mM K^+, Mixed : glucose (-), $pO_2<50$ mmHg, $pCO_2=200$ mmHg, 10 mM K^+, pH=6.8. See methods for further details about each experimental MPSS.

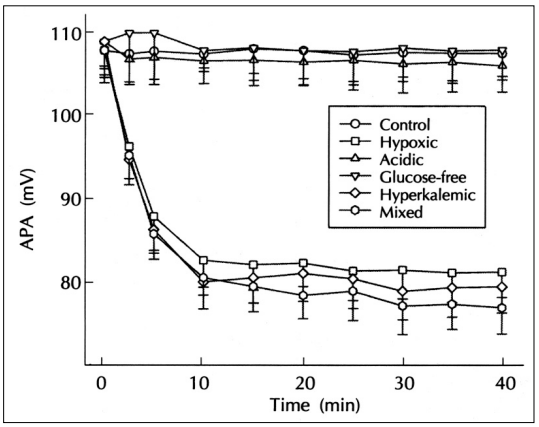

Fig. 4. Effects of various MPSS (modified physiologic salt solution) superfusion on the action potential amplitude (APA) in rat atrial preparations. The other legends are the same as in the Fig. 3.

(13%), 고칼륨 MPSS 관류시 13 mV(16%), 혼합 MPSS 관류시 14 mV(18%) 였다. 그러나 산성 또는 무포도당 MPSS 관류시에는 거의 변동이 없었다(Fig. 3).

APA는, 저산소, 고칼륨 및 혼합 MPSS 관류시 급격히 감소하기 시작하여 대체로 10분 경과시에 최대로 감소하였고 그 후로도 측정을 하였던 1시간 경과시까지는 비슷한 정도의 감소를 유지하였다. 최대 감소의 정도는 각각, 저산소 MPSS 관류시 24 mV(22%), 고칼륨 MPSS 관류시 28 mV(25%), 혼합 MPSS 관류시 26 mV(24%) 였다. 그러나 산성 또는 무포도당 MPSS 관류시에는 거의 변동이 없었다(Fig. 4).

dV/dt_{max}는 저산소 및 혼합 MPSS관류시에는 APA의 경우에서와 마찬가지로 관류후 급격히 감소하기 시작하여 대체로 10분 경과시에 최대로 감소하였고 그후로도 측정을 하였던 1시간 경과시까지는 비슷한 정도의 감소를 유지하였다. 고칼륨 MPSS 관류시에는 대조군치에 비하여는 감소하였으나 저산소 및 혼합 MPSS 관류시 보다는 그 감소의 정도가 적고 완만하였다. 최대 감소의 정도는 각각, 저산소 MPSS 관류시 125 V/sec(48%), 고칼륨 MPSS 관류시 45 V/sec(18%), 혼합 MPSS 관류시 129 V/sec(50%) 였다. 그러나 산성 또는 무포도당 MPSS 관류시에는 관류시작후 감소되는 경향을 보였으나 그 감소의 정도가 미미하였다(Fig. 5).

APD_{90}은, dV/dt_{max} 변동 양상과 비슷하게, 저산소 및 혼합 MPSS 관류시에는 관류 시작후 급격히 감소하

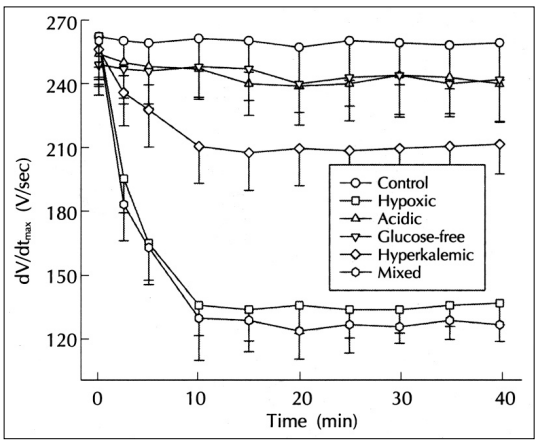

Fig. 5. Effects of various MPSS (modified physiologic salt solution) superfusion on the maximum velocity of phase 0 depolarization (dV/dt_{max}) in rat atrial preparations. The other legends are the same as in the Fig. 3.

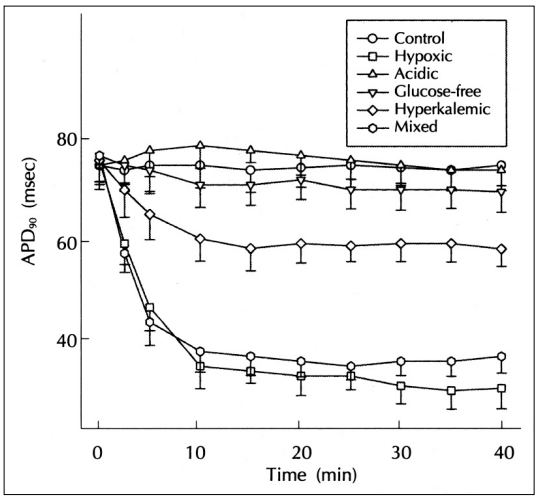

Fig. 6. Effects of various MPSS (modified physiologic salt solution) superfusion on the action potential duration for 90% repolarization (APD_{90}) in rat atrial preparations. The other legends are the same as in the Fig. 3.

기 시작하여 대체로 10분 경과시에 최대로 감소하였고 그후로도 측정을 하였던 1시간 경과시까지는 비슷한 정도의 감소를 유지하였다. 고칼륨 MPSS 관류시에는 대조군치에 비하여는 감소하였으나 저산소 및 혼합 MPSS 관류시보다는 그 감소의 정도가 적고 완만하였다. 최대 감소의 정도는 각각, 저산소 MPSS 관류시 42 msec (55%), 고칼륨 MPSS 관류시 16 msec(21%), 혼합 MPSS 관류시 40 msec(52%) 였다. 그러나 산성 또는 무포도당 MPSS 관류시에는 거의 변동이 없었다(Fig. 6).

허혈성 Tyrode 액(MPSS) 관류중 정상 Tyrode 액(NPSS)으로의 교체관류시의 활동전위 변동효과

혼합 MPSS 관류후 시간의 경과에 따라 나타나는 APD_{90} 감소효과는 MPSS를 NPSS로 교체하여 관류하면 관류후 즉시 약화되기 시작하여 APD^{90}이 점차 회복 되었으며 대조군치인 원래의 APD_{90}과 비교하여 회복되는 정도는, NPSS를 MPSS 관류후 5분경에 교체하여 관류시에는 91%, 10분경에 교체하여 관류시에는 84%, 그리고 20분경에 교체하여 관류시에는 67%로서 교체시간이 빠를수록 회복되는 정도도 컸다(Fig. 7).

혼합 MPSS 관류후 시간의 경과에 따라 나타나는 dV/dt_{max} 감소효과도 APD 90의 경우에서와 마찬가지로 MPSS를 NPSS로 교체하여 관류하면 관류후 약화되기 시작하여 dV/dt_{max}가 점차 회복 되었으며 대조군치인 원래의 dV/dt_{max}와 비교하여 회복되는 정도는, NPSS를 MPSS 관류후 5분경에 교체하여 관류시에는 84%, 10분경에 교체하여 관류시에는 74%, 그리고 20분경에 교체하여 관류시에는 60%로서 교체시간이 빠를수록 회복되는 정도가 컸지만 APD_{90}의 회복정도 보다는 적었고 회복되는 속도도 APD_{90}의 경우에 비하여 완만하였다(Fig. 8).

허혈성 Tyrode 액 관류시의 활동전위 특성 변동에 미치는 길항제 및 차단제의 영향

퓨린성 수용체 길항제인 DPCPX(2×10^{-6} M)는 혼합 MPSS 관류후 5분, 10분 및 20분 경과시 나타나는 APD 90 감소효과를 각각 유의하게 억제하였으며 그 억제의 정도는 MPSS 관류 10분 경과시에 56%로서 가장 컸고 관류 5분 경과시에는 43%, 20분 경과시에는 36%였다.

ATP-민감성 칼륨통로(K_{ATP} channel) 차단제인 glibenclamide(10^{-6} M)는 MPSS 관류초기(5분)의 APD_{90} 감소효과에는 영향을 미치지 못 하였으나 관류 10분 및 20분 경과시의 APD_{90} 감소효과는 각각 69% 및 70%의 현저한 억제를 일으켰다.

세포내의 cyclooxygenase 억제제인 diclofenac (10^{-6} M)은 MPSS 관류 초기의(5분 및 10분 경과시)의 APD_{90} 감소효과에는 거의 영향을 미치지 못 하였으나 관류 20분 경과시의 APD_{90} 감소효과는 유의하게 억제하였다(Fig. 9).

그러나 혼합 MPSS 관류후 시간의 경과에따라 나타

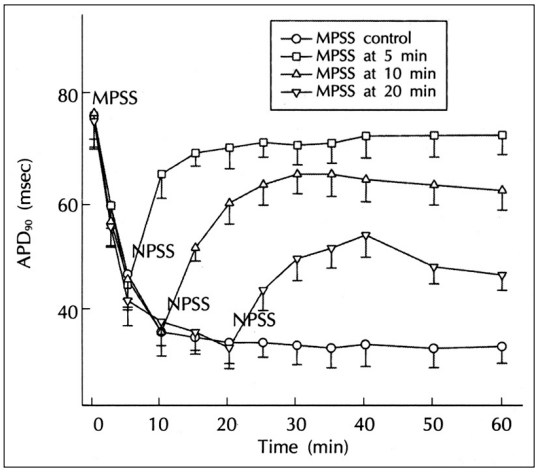

Fig. 7. Effects of replaced superfusion with normal Tyrode's solution (normal physiologic salt solution ; NPSS) on the MPSS-induced shortening effect of action potential duration (APD_{90}) in rat atrial preparations. MPSS (modified physiologic salt solution) was replaced with NPSS 5, 10, and 20 min after MPSS superfusion respectively. Each point is the mean±SEM of observations from 5 to 6 experiments.

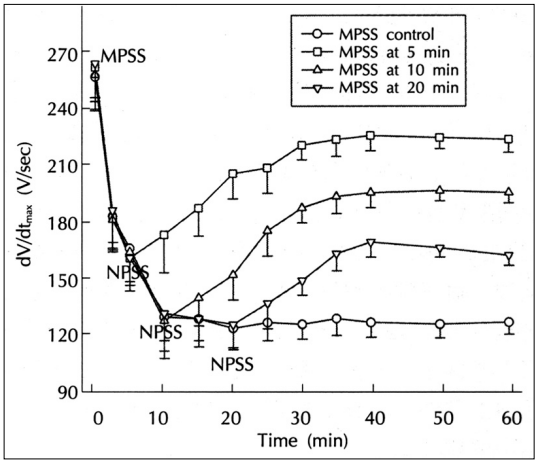

Fig. 8. Effects of replaced superfusion with normal Tyrode's solution (normal physiologic salt solution ; NPSS) on the MPSS (modified physiologic salt solution)-induced decreasing effect of maximum velocity of phase 0 depolarization (dV/dt_{max}) in rat atrial preparations. The other legends are the same as in the Fig. 7.

나는 dV/dt_{max} 감소효과는 DPCPX(2×10^{-6} M), glibenclamide(10^{-6} M), 그리고 diclofenac(10^{-6} M)에 의하여 부분적으로 억제되는 경우도 있었으나 거의 영향을 받지 않았다(Fig. 10).

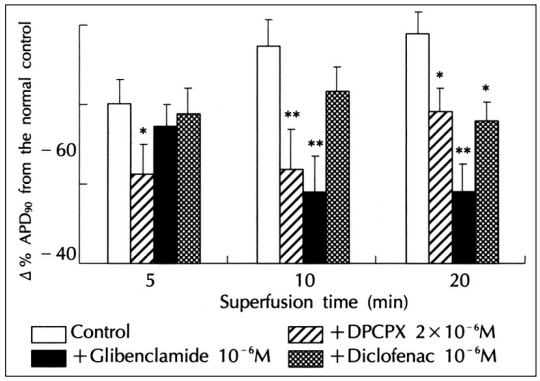

Fig. 9. Influences of DPCPX, glibenclamide, and diclofenac on the MPSS (modified physiologic salt solution)-induced action potential shortening effects at various time points after MPSS superfusion in rat atrial preparations. Each square bar is the mean±SEM of observations from 5 to 6 experiments. * : $p<0.05$ by Student's t-test as compared with the control.

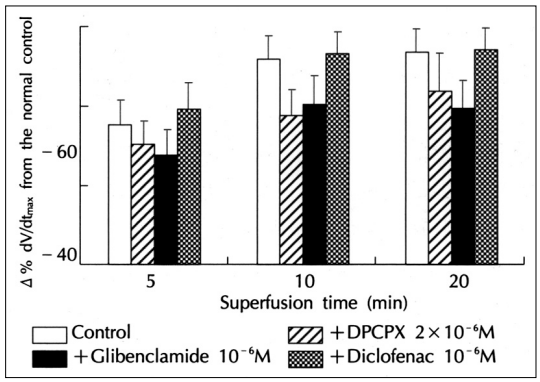

Fig. 10. Influences of DPCPX, glibenclamide, and diclofenac on the MPSS (modified physiologic salt solution)-induced dV/dt_{max} decreasing effects at various time points after MPSS superfusion in rat atrial preparations. The other legends are the same as in the Fig. 9.

고 찰

본 연구의 결과는 심근허혈시에 나타나는 전기생리학적인 변동에 가장 큰 영향을 미치는 인자는 저산소(hypoxia)이며 세포외액의 칼륨증가가 부분적으로 관련되어있음을 말해주고 있다. 그동안 여러 연구자들의 보고에 의하면 허혈성 심장질환시에 오는 심장의 전기적인 이상현상의 원인기전으로는 젖산(lactate)의 세포내 축적, 대사성 산증(metabolic acidosis), 저산소증(hypoxia), 세포외액의 칼륨농도 증가, 기질의 결핍 그리고 catecholamine의 과대분비등이라고 알려져 있다.

본 연구에서는 허혈상태에서 일어날 수 있는 세포외액의 변동과 유사한 조건의 조성을 갖는 생리식염수액(MPSS)을 심근세포에 관류하는 방식으로 허혈시의 활동전위특성 변화를 검토 했었기에 위의 다른 연구자들의 보고 내용의 관점과는 다소 다르지만, 저산소 MPSS, 고칼륨 MPSS, 또는 혼합 MPSS를 관류했을 시에 심방근의 활동전위의 변수값들이 현저히 감소되거나 단축되었다. 특히 APD_{90}과 dV/dt_{max}는 대조군치에 비하여 50% 정도의 현저한 감소를 보였다. 이와같은 현상은 심근이 허혈상태에 놓이게되면, 심근의 흥분성이 감소되고 과 부하 상태에 있는 심장의 활동력이 약화되는 일종의 ' 자기 보호작용 '이라고 생각된다.

저산소액과 고칼륨액외의 다른 허혈유사조건의 생리식염수 관류하에서 활동전위특성이 뚜렷하게 변하지 않은 점은 본 연구의 결과 만으로는 해석하기 어렵다. 실제로 이런 조건하에서는 심근의 활동전위 특성이 영향을 받지 않는 것인지 아니면 본 연구에서 시도한 관류액의 조성자체가 심근세포의 허혈성 손상을 이끌기에 미흡한 것인지는 확실하지 않다. 실제로, 대사성 산증이나 세포의 포도당 결핍시에 세포의 허혈성 손상이 악화된다는 보고[23]가 있고, 또한 포도당이 세포의 허혈성 손상의 진행을 억제한다는 보고[24]가 있지만 대사성 산증이나 포도당 결핍 그 자체만으로는 심근의 전기생리학적인 변동을 초래하지는 않는 것으로 보인다. 또한 본 연구의 결과에 의하면, 그 조성이 변경된 여러 가지 종류의 허혈성 식염수액 중 모든 조건을 다 포함한 혼합 MPSS 관류시 활동전위 변수값의 변동이 가장 현저하였지만 그 변동의 정도가 저산소 MPSS의 그것과 크게 다르지 않았다. 이러한 점은 허혈시의 전기생리학적인 이상현상의 원인에 저산소증이 가장 큰 역할을 한다는 것을 보여주고 있다.

허혈성 혼합 MPSS 관류시에 나타나는 APD_{90} 또는 dV/dt_{max}의 감소효과는 관류액을 정상 Tyrode액(NPSS)으로 바꾸어 관류하면 억제되어 감소하였던 APD_{90} 또는 dV/dt max가 회복되는데, 그 회복의 정도는 처음의 허혈성 MPSS 관류시간이 길수록 즉 NPSS 교체 시간이 늦을수록 낮았다. 이와같은 현상은 본 연구의 결과만으로 해석하기는 불충분 하지만, 허혈에 의한 심근세포의 손상정도가 허혈기간과 비례함을 말해주고 있다.

본 연구에서, adenosine 길항제인 DPCPX, K_{ATP} 통로 차단제인 glibenclamide 및 세포내에서 프로스타글란딘을 합성하는데 관여하는 효소인 cyclooxygenase 억제제 diclofenac이 혼합 MPSS 관류시의 APD_{90} 감소효과를 억제하였다. 즉 DPCPX는 혼합 MPSS 관류후 5분, 10분 및 20분 경과시 나타나는 APD_{90} 감소효과를 각각 유의하게 억제하였으며 그 억제의 정도가 MPSS 관류 10분 경과시에 가장 크게 나타났다. 또한 glibenclamide는 MPSS 관류후 5분 경과시의 APD^{90} 감소효과에는 영향을 미치지 못 하였으나 관류 10분 및 20분 경과시의 APD^{90} 감소효과를 억제시켰고 diclofenac 관류 후 20분 경과시의 APD_{90} 감소효과만을 억제시켰다. 이러한 실험결과는, 허혈 초기에는 주로 adenosine같은 퓨린성 물질이 심근으로부터 분비되고, 이어서 ATP-민감성 칼륨통로의 활성이 증가되고 허혈이 진행됨에따라 세포내에서 프로스타글란딘같은 물질이 만들어져서 활동전위기간이 단축됨을 암시한다. 그러나 여기에 비해, 허혈성 MPSS 관류후 나타나는 dV/dt_{max} 감소효과는 위의 어느 경우에도 거의 영향을 받지 않았다. 이점은 dV/dt_{max}가 주로 세포막의 나트륨 전도도에 의해서 결정되는데 비해 DPCPX, glibenclamide 또는 diclofenac등은 나트륨 통로활성과는 무관하기 때문[25-27]에 나타난 결과가 아닌가 생각된다. 한편, 본 연구에서 사용된 고칼륨 용액중의 칼륨 농도는 10 mM로서 부정맥을 유발할 수 있는 농도라고 알려져있다. 그러나 본 연구에서는 in vitro에서 고 칼륨 용액을 관류(superfusion) 한 것이므로 세포에 작용하는 칼륨의 농도는, 정상적으로 관상동맥을 통하여 혈액이 심장에 순환되는 in vivo의 경우와는 다를 것으로 생각된다. 실제로 고 칼륨 용액을 실험에 사용한 다른 연구자들의 연구[28-30]에서도 고칼륨 용액의 칼륨 농도는 8 15 mM 수준이었다.

결론적으로, 허혈상태에서 나타나는 전기생리학적인 변동의 주요 원인은 저산소와 세포외액의 고칼륨이며, 전기생리학적인 변동의 기전으로는 초기에는 퓨린성물질이 관여하며 그후 K_{ATP} 통로, 또는 일부 prostaglandin이 관여하여 활동전위기간을 감소시켜 허혈심근을 보호하는 역할을 할 것이라고 생각된다.

요 약

연구배경 :

허혈심근 세포손상과 관련된 전기생리학적인 이상현

상을 초래하는 원인기전을 알아보고자 적출 흰쥐 심방근 표본에 심근허혈시의 세포외액과 유사한 조건을 갖도록 조성을 변경하여 만든 Tyrode 액을 관류시키고, 이때 나타나는 심방근의 전기생리학적인 변동을 측정하여 변동의 원인과 관련된 기전을 구명 하고자하였다.

방 법 :

흰쥐의 심방근 조직을 분리하여 bath에 매달고 허혈유사조건의 변경된 Tyrode 액(modified physiologic salt solution=MPSS)을 관류시키면서 관습적인 미세전극 기법(conventional microelectrode technique)을 이용하여 활동전위를 측정하고, 활동전위로 부터의 몇가지의 변수를 계산해 내어 비교하였다.

결 과 :

최대이완기 전위(maximum diastolic potential ; MDP)는 저산소, 고칼륨 및 혼합 MPSS 관류시 현저히 감소(탈분극쪽으로) 하였지만 산성 또는 무포도당 MPSS 관류시에는 거의 변동이 없었다. 활동전위 크기(action potential amplitude ; APA)는 저산소, 고칼륨 및 혼합 MPSS 관류시 현저히 감소하였고 산성 또는 무포도당 MPSS 관류시에는 거의 변동이 없었다. Phase 0 탈분극의 최대상승속도 (dV/dt_{max})는 저산소 및 혼합 MPSS 관류시 현저히 감소하였고 고칼륨 MPSS 관류시에는 대조군치에 비하여는 감소하였으나 저산소 및 혼합 MPSS 관류시보다는 그 감소의 정도가 적었고 산성 또는 무포도당 MPSS 관류시에는 거의 변동이 없었다. 90% 재분극시까지의 활동전위기간(action potential duration ; APD_{90})은 저산소 및 혼합 MPSS 관류시 현저히 감소하였고 고칼륨 MPSS 관류시에는 대조군치에 비하여는 감소하였으나 저산소 및 혼합 MPSS 관류시보다는 그 감소의 정도가 작았고 산성 또는 무포도당 MPSS 관류시에는 거의 변동이 없었다.

저산소, 고칼륨 및 혼합 MPSS 관류시의 각각의 활동전위 변수값의 변동은 대체로 MPSS 관류후 10분 경과시에 가장 현저하였으며 특히 저산소 MPSS 또는 혼합 MPSS 관류시의 dV/dt_{max} 및 APD_{90}은 대조군치에 비하여 50% 이상의 현저한 감소를 보였다.

MPSS 관류시에 나타나는 APD_{90} 및 dV/dt_{max} 감소효과는 MPSS를 NPSS로 교체하면 약화되어 회복되는데 그 회복의 정도는 관류액의 교체시간에 반비례하였다.

퓨린성 수용체길항제 DPCPX(2×10^{-6} M)는 혼합 MPSS 관류후 5분, 10분 및 20분 경과시의 APD_{90} 감소효과를 유의하게 억제하였으며 K_{ATP} 통로차단제인 glibenclamide(10^{-6} M)은 10분 및 20분 경과시의, 그리고 cyclooxygenase 억제제인 diclofenac(10^{-6} M)은 20분 경과시의 APD_{90} 감소효과를 각각 유의하게 억제하였다.

결 론 :

이상의 연구결과로부터, 허혈상태에서 나타나는 전기생리학적인 변동의 주요 원인은 저산소와 세포외액의 고칼륨이며, 전기생리학적인 변동의 기전으로는 초기에는 퓨린성물질이 관여하며 그 후 K_{ATP} 통로, 또는 일부 prostaglandin이 관여하여 활동전위기간을 감소시켜 허혈심근을 보호하는 역할을 할 것이라고 추론하였다.

중심 단어 : 허혈 · 활동전위 · 흰쥐 · 심방근 · Tyrode 액.

This paper was supported in part by '94 RESEARCH FUND of the RESEARCH INSTITUTES of CLINICAL MEDICINE, CHONNAM UNIVERSITY HOSPITAL

REFERENCES

1) Himwich HE, Golldfarb W, Nahum LH. *Changes of the carbohydrate metabolism of the heart following coronary occlusion. Am J Physiol 1934;109:403-8.*
2) Gebert G, Benzing H, Strohm M. *Changes in the interstitial pH of dog myocardium in response to local ischemia, hypoxia, hyper- and hypocapnia, measured continuously by means of glass microelectrodes. Pfluegers Arch 1971;329:72-81.*
3) Cobbe SM, Poole-Wilson PA. *The time of onset and severity of acidosis in myocardial ischaemia. J Mol Cell Cardiol 1980;12:745-60.*
4) Hill JL, Gettes LS. *Effect of acute coronary artery occlusion on myocardial extracellular K^+ activity in swine. Circulation 1980;61:768-78.*
5) 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.*
6) 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.*
7) Weiss J, Shine KI. *Extracellular K^+ accumulation during myocardial ischemia in isolated rabbit heart. Am J Physiol 1982;242:H619-28.*
8) Meldrum B, Garthwaite J. *Excitatory amino acid neurotoxicity and neurodegenerative disease. Trends in Pharmacol 1990;11:379-87.*
9) Klieglstein J, Peruche B. *Pharmakologische grundlagen der therapie der zerebralen ischamie. Drug Res 1991; 41:303-9.*

10) Siesjo BK, Smith ML. *The biochemical basis of ischemic brain lesions. Drug Res 1991;41:188-92.*
11) Wei HM, Kang YH, Merrill GF. *Canine coronary vasodepressor responses to hypoxia are abolished by 8-phenyltheophylline. Am J Physiol 1989;257:H1043-H1048.*
12) Lee SC, Mallet RT, Shizukuda Y, Williams AG Jr, Downey HF. *Canine coronary vasodepressor responses to hypoxia are attenuated but not abolished by 8-phenyltheophylline. Am J Physiol 1992;262:H955-H960.*
13) Nakhostine N, Lamontagne D. *Adenosine contributes to hypoxia-induced vasodilation through ATP-sensitive K^+ channel activation. Am J Physiol 1993;265:H1289-H1293.*
14) Daut J, Maier-Rudolph W, Beckerath N, Mehrke G, Gunther K, Goedel-Meinen L. *Hypoxic dilation of coronary arteries is mediated by ATP-sensitive potassium channels. Science 1990;247:1341-4.*
15) Beckerath N, Cyrvs S, Dischner S, Daut J. *Hypoxic vasodilatation in isolated, perfused guineapig heart: An analysis of the underlying mechanisms. J Physiol (Lond) 1991;442:297-319.*
16) Pohl U, Busse R. *Hypoxia stimulates release of endotheliumderived relaxant factor. Am J Physiol 1989;256: H1595-H1600.*
17) Park KH, Rubin LE, Gross SS, Levi R. *Nitric oxide is a mediator of hypoxic coronary vasodilatation: Relation to adenosine and cyclooxygenasederived metabolites. Circ Res 1992;71:992-1001.*
18) Brown IP, Thompson CI, Belloni FL. *Role of nitric oxide in hypoxic coronary vasodilatation in isolated perfused guinea pig heart. Am J Physiol 1993;264:H821-H829.*
19) Wennmalm A. *Prostacyclin-dependent coronary vasodilatation in rabbit and guinea pig hearts. Acta Physiol Scand 1979;106:47-52.*
20) Busse R, Forstermann U, Matsuda H, Pohl U. *The role of prostaglandins in the endothelium-mediated vasodilatory response to hypoxia. Pfluegers Arch 1984;401:77-83.*
21) Okada T. *Hypoxia-induced change in prostanoids production and coronary flow in isolated rat heart. J Mol Cell Cardiol 1991;23:939-48.*
22) Messina EJ, Sun D, Koller A, Wolin MS, Kaley G. *Role of endothelium-derived prostaglandins in hypoxia-elicited arteriolar dilation in rat skeletal muscle. Circ Res 1992;71:790-6.*
23) Carmeliet E. *Cardiac transmembrane potentials and metabolism. Circ Res 1978;42:577-87.*
24) McDonald TF, MacLeod DP. *Metabolism and the electrical activity of anoxic ventricular muscle. J Physiol (Lond) 1973;229:559-82.*
25) 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.*
26) 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.*
27) 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.*
28) Pacini DJ, Boachie-Ansah G, Kane KA. *Modification by hypoxia, hyperkalemia and acidosis of the cardiac electrophysiological effects of a range of antiarrythmic drugs. Br J Pharmacol 1992;107:665-70.*
29) Matsuo S, Koh Y, Sato R, Munakata K, Kishida H. *Electrophysiological effects of flecainide on guinea pig ventricular muscle in high $[K^+]$ o, acidosis and hypoxia. Jpn Heart J 1987;28:539-53.*
30) Morena H, Michiel JJ, Fiolet JWT, Krieger WJG, 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;45: 634-46.*