

정상 및 허혈유사조건하에서의 심방근에 대한 Purinerger 수용체 작동제의 전기생리학적 효과*

전남대학교 의과대학 약리학교실, 흉부외과,** 순환기내과***

김재하 · 안병희** · 강정채***

= Abstract =

Electrophysiological Effects of Purinerger Receptor Agonists on Atrial Muscle Fiber Under Normal and Ischemic Conditions

Jae Ha Kim, M.D., Byoung Hee Ahn, M.D.,** Jung Chae Kang, M.D.***

*Departments of Pharmacology, Thoracic and Cardiovascular Surgery** and Division of Cardiology,****

Chonnam University Medical School, Kwangju, Korea

Background : The electrophysiological effects of purinerger receptor agonists, adenosine triphosphate(ATP) and adenosine were examined using conventional microelectrode technic in rat atrial muscle fibers under superfused with a normal or a simulated ischemic(hypoxic, hyperkalemic and acidotic) physiologic salt solution(PSS) in vitro.

Methods : Action potential parameters, such as maximal diastolic potential(MDP), action potential amplitude(APA), rate of phase 0 depolarization(dv/dt_{max}) and action potential duration(APD₉₀) were measured in electrically paced, physiologic salt solution(Tyrode's) superfused left rat atrium. In the experiment of ischemic simulation in vitro, normal physiologic salt solutions(NPSS) were modified(MPSS) and superfused in substitute for normal Tyrode's solution. To investigate the effects of purinerger receptor agonists, ATP or adenosine was added to the superfused tyrode's solutions(NPSS or MPSS) in molar concentration.

Results : Under superfused with normal PSS, ATP(10^{-3} , 10^{-4} M) elicited slight hyperpolarization in MDP, and both ATP(10^{-6} — 10^{-3} M) and adenosine(10^{-6} — 10^{-3} M) shortened the duration of normal action potential in a dose-dependent manner. The other paramaters were not affected by the drugs.

Superfusion with ischemic PSS caused reductions in MDP as well as APA, dv/dt_{max} and, especially, APD₉₀.

The effects produced by the initial 10 minutes of superfusion with ischemic PSS almost completely disappeared during a subsequent period of continued superfusion with normal PSS, but those by the initial 20 min lasted in some degree.

Both ATP(10^{-4} M) and adenosine(10^{-4} M) attenuated the reduction in the rate of phase

*본 논문의 내용은 일부 1992년도 교육부지원 한국학술진흥재단 지방대육성 학술연구조성비와 전남대학교 의과학연구소 지원연구비(CURIMS-92-0020)에 의하여 연구된 것임.

0 depolarization and the amplitude of the action potential amplitude produced by the ischemic PSS.

Conclusion : Purinergic receptor agonists, ATP and adenosine, caused a concentration-dependent shortening of the action potential duration in rat atrial muscle fibers and they attenuated the reductions in the rate of phase 0 depolarization and action potential amplitude in fibers superfused with ischemic PSS.

KEY WORDS : Purinoceptor · Ischemia · Rat atrium.

서 론

Purinergic 수용체의 작용제들인 adenosine과 adenosine triphosphate(ATP)가 정상 동물의 심장에서 전기생리학적인 효과를 일으킨다는 사실은 오래전부터 알려져 왔다¹⁾. 즉, 방실 전도속도의 감소²⁾, 심방 활동전위 기간의 단축³⁾, Purkinje fiber나 심실근에서 catecholamine효과의 변조^{4,5)} 등이다. 특히 adenosine은 동결절(sinus node), 심방 그리고 방실 결절 등에 작용하여 negative inotropic, negative chronotropic 그리고 방실 block 등의 효과^{6,7)}를 일으키며 이러한 효과는 심방 조직에서 Ca^{2+} uptake의 감소⁸⁾, 심장 세포막 K^+ 투과성 증가^{9,10)}에 기인한다고 알려져 있다. 임상 의학 분야에서는 adenosine이 갑작스런 심방성 빈맥 발현을 억제하는데 시험적으로 쓰여져 왔다¹¹⁾. 사람의 동결절과 방실 결절이 adenosine의 생리학적인 용량($150\mu g/kg$)에 반응하여 동결절의 자동성이 감소되고 방실 결절 전도성이 감소하여 위와 같은 효과를 낸다고 하였다. 한편 purinergic 수용체는 adenosine이 강력한 agonist인 P_1 과 ATP가 강력한 agonist인 P_2 -receptor로 나뉘어져 있다¹²⁾. Guinea-pig Purkinje fiber에서 P_1 -agonist인 adenosine은 심실근 자동성을 억제하나 P_2 -agonist인 ATP는 그렇지 못하다고 했고¹³⁾ James⁷⁾는 이와는 달리 방결절에서는 adenosine과 ATP 모두 자동성을 억제한다고 하였다. 본 연구에서는 흰쥐의 좌심방근을 이용해서 adenosine과 ATP의 전기생리학적 효과를 측정하여 심방근에서의 purinergic 수용체의 역할과 특성을 알아보고자 하였다.

또한 사람의 심장근이 허혈 또는 저산소증 상태에 놓이게 되면, 심근세포들로부터 adenosine이 분비되어 방결절성 서맥이나 동방결절 block 등의 효과가

나타나고^{14,15)} 실험동물에서도 adenosine이 허혈에 의해서 유발된 심실성 부정맥을 중단시키는 효과가 있다고 알려져 있다¹⁶⁾. 실험적으로 심장의 관상동맥을 갑자기 폐쇄시키면 세포의 K^+ 농도가 증가하고 산소분압과 세포외액의 pH가 감소한다¹⁷⁾. 따라서 본 연구에서는 심근경색시와 비슷한 조건을 in vitro 실험에서 만들어 주기 위하여 정상 생리적 식염수의 조성을 변화시켜 hyperkalemic, hypoxic 그리고 acidotic 생리적 식염수¹⁸⁾를 만들어 관류시키면서 심방근의 전기생리학적 변동을 측정하고 이들 변동에 purinoceptor 작용제의 역할을 구명하고자 하였다.

실험 방법

후두부 타격으로 실신시킨 흰쥐(체중 200~250g)의 심장을 절개하여 좌심방을 분리해 낸 다음 이것을 $4 \times 2 \times 1mm$ 의 절편으로 만들어 Tyrode 액(조성: NaCl 131mM, $NaHCO_3$ 18mM, KCl 5.4mM, NaH_2PO_4 1.8mM, $MgCl_2$ 1.0mM, $CaCl_2$ 1.8mM, Dextrose 5.5mM, 95% O_2 -5% CO_2 혼합가스를 bubbling시켜 pH=7.4 되게 하고 온도는 유리 열교환기를 이용하여 37°C로 유지)을 7ml/min의 속도로 관류시킨 bath에 넣어 놓는다. 약 1시간이 경과한 후 관류액이 평형상태에 도달하면 활동전위를 측정하기 위하여 microelectrode puller(Stoelting Co.)를 이용하여 만든 3M KCl로 채워진 유리 미세전극(DC 저항 10~30 Mohm)을 micromanipulator(Brinkmann 3 axis)를 이용하여 세포내에 찔러넣고, 막전위를 electrometer(WPI S7071A)를 통하여 oscilloscope(Tektronix 5113)와 polaroid 사진기로 촬영하였다.

활동전위로부터 측정한 변수는, 최대 이완기 전위

(maximum diastolic potential ; MDP, mV), 활동전위 폭(action potential amplitude ; APA, mV), 90% 재분극시의 활동전위 기간(action potential duration ; APD₉₀, msec), overshoot(OS ; mV) 그리고 phase 0 탈분극의 최대상승속도(dv/dt_{max} ; V/sec)이었다. dv/dt_{max}는 electrometer의 활동전위 출력신호를 differentiator amplifier(실험실에서 제작)에 연결하여 정량화 한다음 oscilloscope상에서 측정하였다.

활동전위를 유도하기 위한 표본의 자극은 자극기(Grass S48)에 연결한 bipolar silver electrode(직경 0.1mm)를 이용하여 1.5Hz, 1 msec 기간의 구형파를 역치 전압의 두배로 전기자극하였다.

심근경색증 유발시와 비슷한 조건을 in vitro에서 simulation 하기 위하여 Gilmour와 Zipes의 방법¹⁸⁾에 의하여 변경된 생리적 식염수(조성(mM) : NaCl 141.5, NaHCO₃ 8.5, NaH₂PO₄ 1.2, MgCl₂ 1.0, KCl 8.0, CaCl₂ 1.8, glucose 5.5)를 만든후 95% N₂-5% CO₂ 혼합가스를 bubbling시켜 pO₂<50mmHg,

	NPSS	MPSS
NaCl	131.0 mM	141.5 mM
KCl	5.4	8.0
NaHCO ₃	18.0	8.5
NaH ₂ PO ₄	1.8	1.2
MgCl ₂	1.0	1.0
CaCl ₂	1.8	1.8
Dextrose	5.5	5.5
	95% O ₂ + 5% CO ₂	95% N ₂ + 5% CO ₂
pH	7.4	6.8

NPSS : normal physiologic salt solution.

MPSS : modified physiologic salt solution.

pH=6.8이 되게 만들어서 실험시 사용하였다.

실험에 사용했던 생리적 식염수의 조성을 요약하면 다음과 같다.

실험에 사용한 약물은 adenosine triphosphate(ATP ; Sigma)와 adenosine(Sigma)이었으며 증류수에 고농도의 원액을 만들어 사용시에 Tyrode's 액에 원하는 농도로 하여 관류하였다.

실험결과는 각실험군에서의 값을 평균±표준에러(mean±SE)로 표시하였으며 통계학적인 유의성검정에는 unpaired Student's t-test를 사용하였다.

실험 성적

1. 정상 생리적 식염수액(Normal Physiologic Salt Solution ; NPSS) 관류하에서 활동전위의 각 변수값

정상 생리적 식염수액 관류하에서 실시한 22례의 실험으로부터 얻은 활동전위의 각 변수값은, 최대이완기 전위(maximum diastolic potential ; MDP)는 -82 ± 7.2 mV, phase 0 탈분극의 최대상승속도(dv/dt_{max})는 264 ± 23.5 v/sec, 활동전위 폭(action potential amplitude ; APA)은 110 ± 1.7 mV, 90% 재분극시까지의 활동전위기간(90% action potential duration ; APD₉₀)은 75 ± 2.9 msec이었다.

2. ATP와 adenosine이 활동전위에 미치는 영향

ATP 각 용량($10^{-6} \sim 10^{-3}$ M) 투여후 10분경과시의 활동전위 각 변수값중, MDP는 10^{-4} , 10^{-3} M 투여시에 각각 -85 ± 0.6 , -86 ± 1.2 mV로 유의있게 과분극되었으며(각각 $P < 0.05$), APD₉₀은 ATP 투여량의 증가에 따라 용량의존적으로 감소하는 경향을 보였는데 특히 10^{-3} M 투여시에는 51 ± 5.2

Table 1. Effects of ATP on action potential characteristics of rat atrium

	Control	10^{-6} M	10^{-5} M	10^{-4} M	10^{-3} M
MDP(mV)	-82 ± 1.0	-84 ± 1.8	-80 ± 2.1	$-85 \pm 0.6^*$	$-86 \pm 1.2^*$
dv/dt _{max} (V/sec)	8264 ± 28.9	179 ± 6.0	272 ± 9.0	$312 \pm 2.5.9$	285 ± 12.1
APA(mV)	110 ± 2.8	108 ± 3.9	111 ± 4.9	111 ± 3.6	109 ± 2.2
APD ₉₀ (ms)	75 ± 5.4	76 ± 12.2	67 ± 4.1	62 ± 4.4	$51 \pm 5.2^*$
OS(mV)	27 ± 3.0	25 ± 4.2	29 ± 5.9	28 ± 2.3	27 ± 4.2

Numerals are mean±SE from 5 to 6 preparations at 10min after ATP administration.

MDP=maximal diastolic potential. dv/dt_{max}=maximum upstroke velocity of phase 0 depolarization.

APA=action potential amplitude. APD₉₀=action potential duration at 90% repolarization. OS=overshoot.

* $p < 0.05$, by Student's t-test as compared to the control.

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

	Control	10^{-6} M	10^{-5} M	10^{-4} M	10^{-3} M
MDP(mV)	-80 ± 1.2	-82 ± 2.9	-80 ± 2.3	-82 ± 1.6	-83 ± 1.2
dv/dt _{max} (V/sec)	260 ± 23.9	283 ± 34.2	274 ± 15.0	258 ± 38.6	262 ± 4.4
APA(mV)	108 ± 3.9	113 ± 4.9	111 ± 4.3	104 ± 5.4	107 ± 2.4
APD ₉₀ (ms)	76 ± 5.2	73 ± 8.1	$60 \pm 4.2^*$	$41 \pm 3.7^{**}$	$32 \pm 3.2^{**}$
OS(mV)	28 ± 3.6	30 ± 3.9	29 ± 4.8	24 ± 5.3	27 ± 3.9

Numerals are mean \pm SE from 5 to 6 preparations at 10 min after adenosine administration.

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ by Student's t-test as compared to the control.

Other legends are the same as in the Table 1.

msec로서 대조군치에 비해 약 30%의 유의한 감소를 일으켰다($P < 0.05$). 그 이외의 변수값들은 유의한 변동이 없었다(Table 1).

Adenosine 각 용량($10^{-6} \sim 10^{-3}$ M) 투여후 10분 경과시의 활동전위의 각 변수값은 대조군치에 비해 APD₉₀을 제외하고는 유의한 차이가 없었다. APD₉₀은 투여한 adenosine의 용량에 비례하여 감소하였는데, 10^{-5} M 투여시에는 60 ± 4.2 msec로서 대조군치에 비하여 약 20% ($P < 0.05$), 10^{-4} M 투여시에는 41 ± 3.7 msec로서 대조군치에 비하여 약 45% ($P < 0.01$) 그리고 10^{-3} M 투여시에는 32 ± 3.2 msec로서 대조군치에 비하여 약 60% ($P < 0.01$)의 유의한 감소를 일으켰으며 그 감소의 정도가 ATP 투여시보다 현저하였다(Table 2 및 그림 1).

3. 허혈유사조건의 생리적 식염수액(Modified Physiologic Salt Solution ; MPSS) 관류하에서 활동 전위의 변동

In vitro에서 허혈상태와 비슷한 조건을 갖는 hyperkalemic, hypoxic 그리고 acidotic한 MPSS를 관류시키면서 활동전위의 변수값을 측정하였다. 최대완기전위(MDP)는 MPSS 관류전 -84 ± 1.9 mV

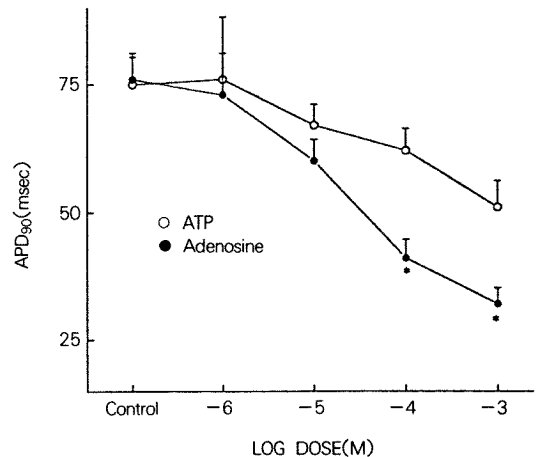


Fig. 1. Dose-response curves of ATP and adenosine for action potential duration (APD₉₀) at 10 minutes after administration of ATP or adenosine in rat atrial heart muscle. Each point is the mean \pm SE of 5-6 experiments.

* $p < 0.05$, by Student's t-test as compared to the ATP effects.

이던것이 MPSS 관류후 탈분극하기 시작하여 5분 경과시에 -73 ± 1.9 mV 10분 경과시에 -69 ± 2.1 mV였으며 이후 비슷한 정도의 탈분극을 보였다

Table 3. Effects of modified physiologic salt solution(MPSS) on action potential characteristics of rat atrium

	Control	After MPSS superfusion		
		10 min	20 min	40 min
APD ₉₀ (msec)	74 ± 7.2	$34 \pm 4.6^{**}$	$26 \pm 4.0^{**}$	$24 \pm 4.2^{**}$
dv/dt _{max} (V/sec)	198 ± 14.2	$135 \pm 14.2^*$	$119 \pm 13.2^{**}$	$122 \pm 6.4^*$
APA(mV)	112 ± 2.8	$84 \pm 2.0^*$	$79 \pm 2.7^*$	$78 \pm 3.0^*$
MDP(mV)	-84 ± 1.9	$-69 \pm 2.1^*$	$-70 \pm 2.2^*$	$-71 \pm 2.1^*$

Numerals are mean \pm SE from 5 to 6 preparations.

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ by Student's t-test as compared to the control.

The other legends are the same as in the Table 1.

(Fig. 2).

활동전위 폭(APA)은 MPSS 관류전 112 ± 2.8 mV 이던것이 MPSS 관류후 감소하기 시작하여 5분경과시 87 ± 2.2 mV, 10분경과시 84 ± 2.0 mV 그리고 20분경과시 79 ± 2.7 mV였으며 그후 측정을 했던 40분까지는 이와 비슷한 정도의 감소를 보였다(Fig. 3). Phase 0 탈분극의 최대상승속도(dv/dt_{max})는 MPSS 관류전 198 ± 14.2 v/sec이던것이 MPSS 관류후 감소하기 시작하여 5분경과시 144 ± 17.3 v/sec, 10

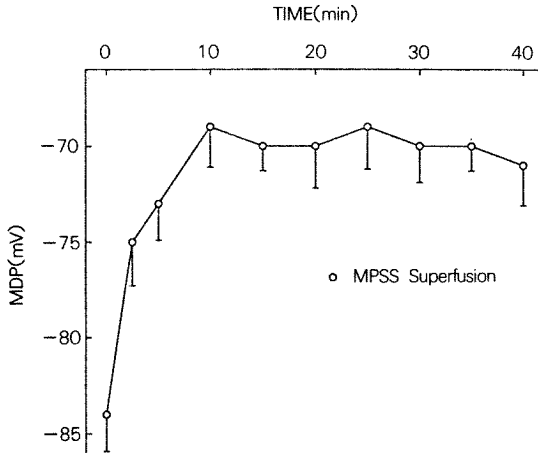


Fig. 2. Effects of modified physiologic salt solution (MPSS) on maximal diastolic potential(MDP) in rat atrial muscle. Each point indicates mean \pm SE of 5-6 experiments.

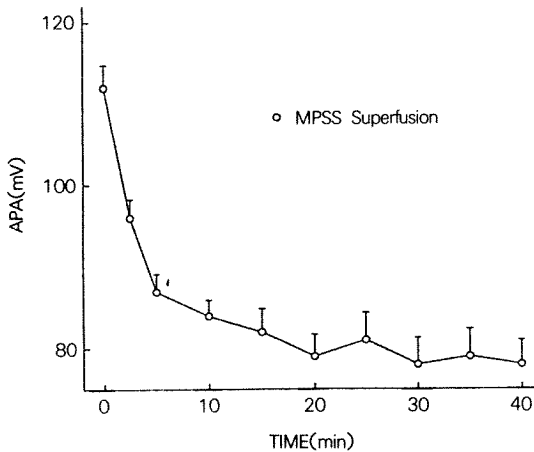


Fig. 3. Effects of modified physiologic salt solution (MPSS) on action potential amplitude(APA) in rat atrial muscle. Each point indicates mean \pm SE of 5-6 experiments.

분경과시 135 ± 14.2 v/sec 그리고 20분경과시 119 ± 13.2 v/sec였으며 그 이후로도 비슷한 정도의 감소를 보였다(Fig. 6). 활동전위기간(APD_{90})은 MPSS 관류전 74 ± 7.2 msec이던것이 MPSS 관류후 급격히 감소하기 시작하여 5분경과시에 43 ± 7.1 msec, 10분경과시에 34 ± 4.6 msec 그리고 20분경과시에 26 ± 4.0 msec였고 그후로도 비슷한 수준의 감소를 보였다. 또한 MPSS 관류후 10분경과시에 MPSS를

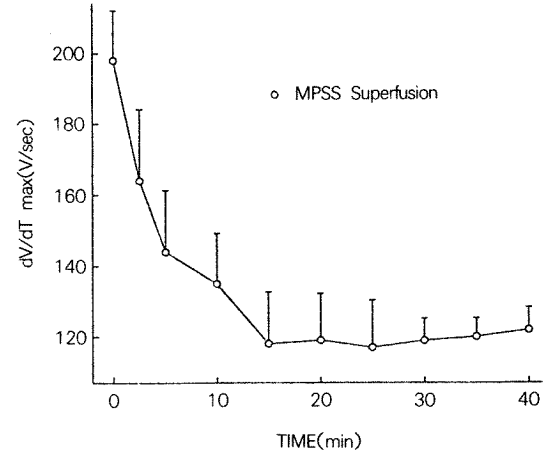


Fig. 4. Effects of modified physiologic salt solution (MPSS) on the rate of phase 0 depolarization (dv/dt_{max}) in rat atrial muscle. Each point indicates mean \pm SE of 5-6 experiments.

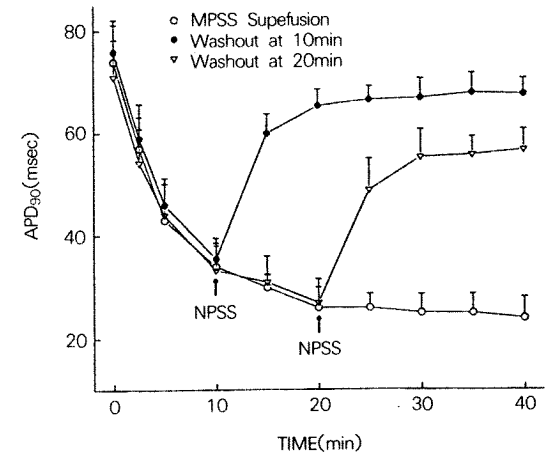


Fig. 5. Effects of modified physiologic salt solution (MPSS) on action potential duration(APD_{90}) in rat atrial muscle. Each point indicates mean \pm SE of 5-6 experiments. At \uparrow , modified physiologic salt solution(MPSS) was switched to normal physiologic salt solution(NPSS).

NPSS로 바꾸어 관류하였더니 감소하던 활동전위 기간은 다시 회복되기 시작하여 그후 20분이 경과할 즈음에는 거의, MPSS 관류전의 상태로 회복되었으나 MPSS 관류후 20분경과시에 MPSS를 NPSS로 바꾸어 관류했던 경우에는 활동전위의 회복정도가 현저히 약화되었다(Fig. 5).

4. MPSS 관류하에서 ATP와 Adenosine의 활동전위에 미치는 영향

ATP와 adenosine이 MPSS 관류하에서의 활동전위변수값 변동에 미치는 영향을 알아보기 위하여, ATP 및 adenosine 10^{-4} M을 각각 MPSS에 혼합하여 관류시키면서 측정된 활동전위 변수값을 MPSS만을 관류시킨 경우와 비교하였다.

MPSS 관류에 의한 최대이완기전위(MDP) 탈분극 효과는 ATP 또는 adenosine 10^{-4} M 첨가에 의해서 유의한 영향을 받지 않았다(Fig. 6).

MPSS 관류에 의한 활동전위폭 감소효과는 ATP 10^{-4} M 첨가하였을 때 40분치에서 유의하게 억제되었으며($P<0.05$) adenosine 10^{-4} M 첨가시에는 20분, 40분치에서 각각 유의하게 억제되었다($P<0.05$)(Fig. 7).

MPSS 관류에 의한 phase 0 탈분극의 최대상승 속도 감소효과는 ATP 10^{-4} M 첨가에 의해서 10분치에서 유의하게 억제되었으며($P<0.05$), adenosine

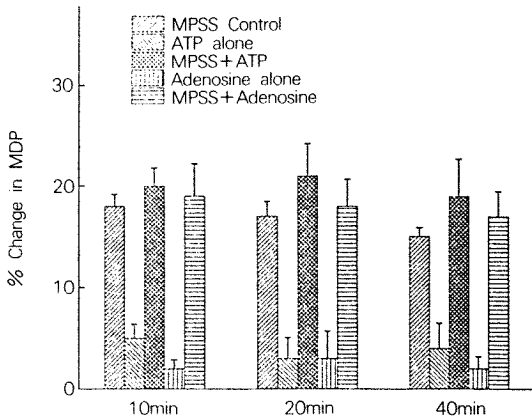


Fig. 6. Influences of ATP(10^{-4} M) and adenosine(10^{-4} M) on the depolarizing effect of modified physiologic salt solution(MPSS) in maximal diastolic potential(MDP). Each bar shows mean % changes from the NPSS-control and SE of 5-6 experiments.

10^{-4} M 첨가에 의해서는 20분치, 40분치에서 각각 유의하게 억제되었다($P<0.05$)(Fig. 8).

MPSS 관류에 의한 활동전위기간 감소효과는 ATP 또는 adenosine 10^{-4} M 첨가에 의해서 유의한 영향이 없었다(Fig. 9).

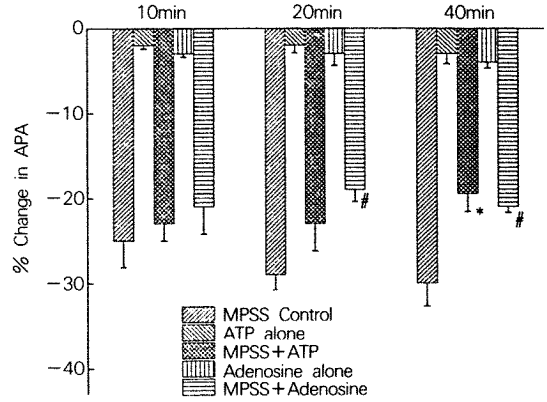


Fig. 7. Influences of ATP(10^{-4} M) and adenosine(10^{-4} M) on the decreasing effects of modified physiologic salt solution(MPSS) in action potential amplitude(APA). Each bar shows mean % change from the NPSS-control and SE of 5-6 experiments. * (ATP) and # (adenosine) denotes significant differences from the MPSS control respectively($P<0.05$).

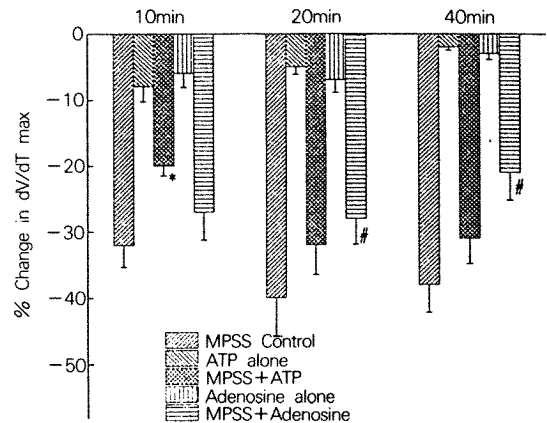


Fig. 8. Influences of ATP(10^{-4} M) and adenosine(10^{-4} M) on the diminishing effects of modified ischemic physiologic salt solution(MPSS) in rate of phase 0 depolarization(dV/dT_{max}). Each bar shows mean % change from the NPSS-control and SE of 5-6 experiments. * (ATP) and # (adenosine) denotes significant difference from the MPSS control respectively($P<0.05$).

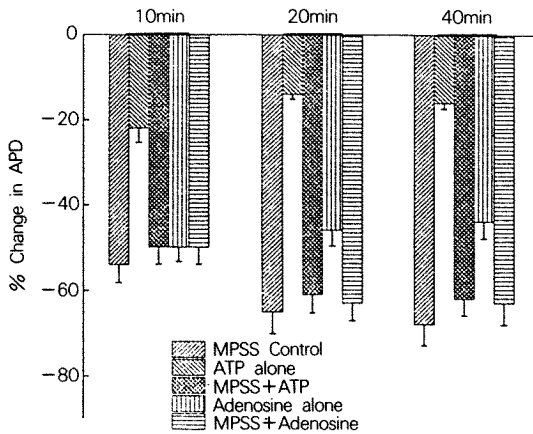


Fig. 9. Influences of ATP(10^{-4} M) and adenosine(10^{-4} M) on the shortening effects of modified ischemic physiologic salt solution(MPSS) in action potential duration(APD₉₀). Each bar shows mean % change from the NPSS-control and SE of mean in 5–6 experiments.

고 안

본 연구의 결과는 흰쥐의 심방근에도 다른 실험동물의 경우와 마찬가지로 purinoceptor가 존재함을 보여주고 있다. 이는 P_1 수용체 작동제인 adenosine이나 P_2 수용체 작동제인 ATP가 정상 자극 심방근에서 활동전위 기간을 용량의존적으로 단축시킨 점으로 미루어 알 수 있다.

본 연구에서 사용한 용량의 adenosine($10^{-6} \sim 10^{-3}$ M)은 활동전위 기간외의 다른 변수값에는 영향을 미치지 않았다. 이러한 실험결과는 Wesley와 Belardinelli¹⁹⁾의 guinea-pig Purkinje 세포에서의 실험결과와는 일치하지만, 개의 Purkinje 세포에서 adenosine이 활동전위기간에는 아무런 영향을 미치지 않는다는 실험결과와는 상충된다^{20,21)}. 이와같은 사실은 adenosine의 활동전위 기간 단축효과는 동물의 종에 따라 같지 않음을 의미한다. ATP 투여시 최대 이완기전위(MDP)가 다소 과분극하는 것은 활동전위의 발현 역치를 높혀서 결과적으로 심방근의 활동성을 억제하는, 즉, 심근보호역할을 한다고 생각할 수 있다. 개나 토끼의 방결절(SA node)에서도 purinergic 수용체 작동제가 최대이완기 전위를 낮추고 이완기 탈분극(diastolic depolarization)을 억제하여 심장박동속도를 심장의 활동성을 떨

어뜨린다고 알려져 있다^{22,23)}. 실제로 purinergic 수용체에 작용하는 약물들은 심장뿐만아니라 다른 여러 장기에서 energy의 소비를 억제하고 공급을 증가시키는, 다시 말하면 energy의 공급과 수요간의 균형이 이루어지게 하는 역할을 한다고 알려져 있다^{24,25)}.

ATP와 adenosine은 최대이완기 전위나 활동전위 기간외의 다른 활동전위 변수들에는 뚜렷한 영향을 미치지 않았다. 특히 phase 0 탈분극의 최대 상승속도(dv/dt_{max})에 영향을 미치지 못한점은 이들 purinoceptor 작동제는 세포막 탈분극을 일으키는 Na^+ influx와는 무관함을 의미한다. 그러나 재분극에 관여하는 K^+ channel을 활성화시켜 K^+ efflux가 증가함으로써 빠른 재분극이 일어나고 결과적으로 활동전위 기간이 단축된다고 생각할 수 있다. 토끼의 심방근 세포에서 adenosine이 GTP-binding 단백을 통하여 muscarine성 K^+ channel을 활성화시킨다는 사실¹⁰⁾이 이를 뒷받침하고 있다. 이와는 달리 Schrader²⁶⁾, Grossman과 Furchgott²⁷⁾은 adenosine에 의한 활동전위 기간의 단축은 내향성 Ca^{2+} 전류의 감소에 기인한다고 보고한 바 있다. ATP의 활동전위 기간 단축효과가 adenosine의 효과에 비해서 약한것은 본 연구결과로는 설명이 불가능하지만, 포유동물 심방근에서 ATP의 작용은 P_2 수용체에 대한 직접 작용이 아니고 ATP가 대사과정을 거쳐 adenosine이 되어 P_1 수용체에 작용하여 나타나기 때문에, 포유동물 심방근에서는 P_2 수용체에 의한 효과는 비교적 중요하지 않다는 보고^{28,29)}를 음미해 볼 필요가 있을 것 같다.

심근경색 유사조건 즉, 허혈상태와 비슷한 조건(MPSS 관류하)에서는 심방근 활동전위의 각 변수값들은 감소하거나 단축되었다. 이와같은 현상은 허혈상태유발시 심장의 활동력을 감소시켜 심근을 보호하려는 작용이라고 생각된다. MPSS 관류로 허혈상태와 유사한 조건을 갖게 하여 활동전위기간의 단축을 관찰한 후 NPSS 관류로 바꾸면, 활동전위기간은 다시 회복되나, 그 회복되는 정도는 처음의 허혈유사조건의 관류 기간이 길수록 작음을 알 수 있다. 이와같은 현상은, 본 연구의 결과만으로 설명하기에는 불충분하지만, 허혈에 의한 심근세포의 손상정도가 허혈기간과 비례함을 암시한다.

NPSS 관류하에서와는 달리 MPSS 관류하에서

ATP와 adenosine은 심방근의 활동전위 기간에는 뚜렷한 영향을 미치지 못했고, MPSS 관류에 의한 활동전위 폭(APA)의 감소효과와 phase 0 탈분극의 최대상승속도(dv/dt_{max}) 감소효과를 약화시켰다. APA 감소효과는, ATP에서는 40분치에서 adenosine에서 20분, 40분치에서 각각 약화되었고, dv/dt_{max} 감소효과는, ATP에서는 10분치에서, adenosine에서는 20분, 40분치에서 각각 약화되었다. 이와같은 현상은 허혈에 의한 내향성 Na^+ 전류의 감소를 억제하는 실험결과로서 purinoceptor 작동제의 심근보호효과와는 맞지 않는 흥미로운 실험 결과이다. 이러한 효과를 ionic 기전으로 설명할 수 있는 보고는 없지만, 허혈시 막전위가 감소하고 내향성 Na^+ 전류의 감소가 일어나는데, purinoceptor 작동제가 허혈시의 막전위 감소에 의한 Na^+ influx 감소효과를 억제한다고 생각할 수도 있다. 결국 이러한 효과는 허혈상태에 있는 심장의 impulse 전도성을 개선 해 줄수가 있으므로 ATP나 adenosine이 허혈성 부정맥을 억제하는 효과가 있다는 사실^{16,30)}과 부합된다.

ATP나 adenosine이 허혈에 의한 활동전위 기간 단축현상에 더 이상의 뚜렷한 영향을 미치지 못한 점은, 이들 물질의 활동전위 단축효과가 허혈에 의한 활동전위 단축효과보다 더 크지 않거나, ATP인 경우 세포밖에서 쉽게 분해되어 세포내로 uptake가 일어나지 않음으로써 그 효과가 나타나지 않을 수도 있다. 실제로 ATP를 세포내에 주사하면 대사억제제에 의한 활동전위 기간 단축효과를 약화시킨다는 보고³¹⁾가 있다.

본 연구의 결과만으로는 허혈이나 저산소증시의 purinergic 수용체 작동제의 역할 및 임상치료에의 응용여부를 판단하기는 이르고, 허혈의 정도를 정량화 할 수 있는 실험방법을 개발하여 여러가지 조건의 허혈상태에서 purinergic 수용체의 역할을 구명해야 할 것으로 생각된다.

요 약

연구배경 :

Purinergic 수용체 작동제가 심장에서 전기생리학적인 효과를 일으킨다는 사실은 오래전부터 알려져 있다. 또한 심장이 허혈상태에 놓이면 심근

으로부터 adenosine이 분비되어 허혈로부터 심근을 보호하는 작용을 한다는 사실도 보고된 바 있다. 본 연구에서는 흰쥐의 심방근에서 purinergic 수용체 작동제인 ATP와 adenosine의 정상 및 허혈 유사조건하에서의 전기생리학적 효과를 측정하여 정상과 심근경색시의 purinergic 수용체의 역할과 특성을 구명하고자 하였다.

방 법 :

Sprague-Dawley계 흰쥐의 좌심방근 조각을 적출하여 Luicite bath에 고정된 다음 Tyrode액 관류하에서 3 M KCl 미세전극 기법을 이용하여 활동전위를 oscilloscope상에 기록하고, 최대이완기전위(MDP), 활동전위폭(APA), phase 0 탈분극의 최대상승속도(dv/dt_{max}) 그리고 90% 재분극시까지의 활동전위 기간(APD_{90})을 측정하였다. 활동전위의 유도에는 1.5Hz, 1~2ms의 구형파를 사용하였고, In vitro에서 심근 경색중유발시와 비슷한 조건을 갖추기 위해서 정상 Tyrode's액을 Gilmour와 Zipes의 방법에 따라 그 조성을 변경시켜 hyperkalemic, hypoxic 그리고 acidotic 하게 만든 후 bath에 관류하였다.

결 과 :

1) 정상 Tyrode's액 관류시 ATP(10^{-3} , 10^{-4} M)는 최대이완기 전위를 유의있게 과분극시켰고, ATP(10^{-6} ~ 10^{-3} M)와 adenosine(10^{-6} ~ 10^{-3} M)은 활동전위 기간을 용량의존적으로 단축시켰다. 그 이외의 활동전위 변수값은 이들 약물에 영향을 받지 않았다.

2) 허혈성 Tyrode's액 관류시 활동전위의 모든 변수값, 즉 MDP, APA, dv/dt_{max} 그리고 특히 APD_{90} 은 감소되었다. 허혈성 Tyrode's액의 관류 10분후 정상 Tyrode's액으로 교체하면 감소되고 있던 변수값들이 거의 원상태로 회복되었으나 20분후 교제한 경우에는 부분적으로 회복되었다. ATP(10^{-4} M)와 adenosine(10^{-4} M)은 허혈성 Tyrode's액 관류시에 나타나는 phase 0 탈분극의 최대 상승속도와 활동전위 폭 감소효과를 약화시켰다.

결 론 :

Purinergic 수용체 작동제인 adenosine triphosphate(ATP)와 adenosine은 흰쥐 심방근의 활동전위기간을 용량의존적으로 단축시켰고 허혈에 의한 phase 0 탈분극의 최대상승속도와 활동전위 폭 감

소효과를 약화시켰다. 또한 허혈후 정상상태로의 회복정도는 초기 허혈기간과 밀접한 관련이 있음을 암시한다.

References

- 1) Drury AN and Szent-Gyorgyi A : *The physiological activity of adenine compounds with special reference to their action upon the mammalian heart.* *J Physiol(London)* 68 : 14-237, 1929
- 2) Urthaler F and James TN : *Effects of adenosine and ATP on AV conduction and AV junctional rhythm.* *J Lab Clin Med* 79 : 96-105, 1972
- 3) Hollander PB and Webb JL : *Effects of adenosine nucleotides on the contractility and membrane potential of rat atrium.* *Circ Res* 5 : 349-353, 1957
- 4) Belardinelli L, Vogel S, Linden J and Berne RM : *Anti-adrenergic action of adenosine on ventricular myocardium in embryonic chick hearts.* *J Mol Cell Cardiol* 14 : 291-294, 1982
- 5) Rardon DP and Bailey JC : *Adenosine attenuation of the electrophysiological effects of isoproterenol on cardiac Purkinje fibers.* *J Pharmacol Exp Ther* 228 : 792-798, 1984
- 6) Belardinelli L, Belloni FL, Rubio R and Berne RM : *Atrioventricular conduction disturbances during hypoxia : possible role of adenosine in rabbit and guinea-pig heart.* *Circ Res* 47 : 684-691, 1980
- 7) James TN : *The chronotropic action of ATP and related compounds studies by direct perfusion of the sinus node.* *J Pharmacol Exp Ther* 149 : 233-247, 1965
- 8) Guthrie JR and Nayler WG : *Interaction between caffeine and adenosine on calcium exchangeability in mammalian atria.* *Arch Int Pharmacodyn* 170 : 249-255, 1967
- 9) Hutter OF and Rankin AC : *Ionic basis of the hyperpolarizing action of adenylyl compounds on sinus venosus of the tortoise heart.* *J Physiol* 353 : 111-125, 1984
- 10) Kurachi Y, Nakajima T and Sugimoto T : *On the mechanism of activation of muscarinic K⁺ channels by adenosine in isolated atrial cells : involvement of GTP-binding proteins.* *Pfluegers Arch* 407 : 264-274, 1986
- 11) DiMarco JP, Sellers TD, Berne RM, West GA and Belardinelli L : *Adenosine : electrophysiologic effects and therapeutic use for terminating paroxysmal supraventricular tachycardia.* *Circulation* 68 : 1254-1263, 1983
- 12) Burnstock G : *A basis for distinguishing two types of purinergic receptor* In : "Cell membrane receptors for drugs and hormones : A multidisciplinary approach" (RW Straub and L Bolis eds) p107-118, Raven Press, New York, 1978
- 13) Szentmiklosi AJM, Nemeth M, Szegi J, Papp JG and Szekeres L : *Effect of adenosine on sinoatrial and ventricular automaticity of the guinea pig.* *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 311 : 147-149, 1980
- 14) Belardinelli E, Mattos EC and Berne RM : *Evidence for adenosine mediation of atrioventricular block in the ischemic canine myocardium.* *J Clin Invest* 68 : 195, 1981
- 15) Motomura S and Hashimoto K : *Reperfusion-induced bradycardia in the isolated blood-perfused sinoatrial node and papillary muscle preparations of the dog.* *Jpn Heart J* 23 : 112, 1982
- 16) Parratt JR and Wainwright CL : *The effects of adenosine on arrhythmias induced by myocardial ischemia and reperfusion in dogs.* *Br J Pharmacol* 85 : 228P, 1985
- 17) Downar E, Janese MJ and Durrer D : *The effect of "ischemic blood" on transmembrane potentials of normal porcine ventricular myocardium.* *Circulation* 55 : 455-462, 1977
- 18) Gilmour RF Jr and Zipes DP : *Different electrophysiological responses of canine endocardium and epicardium to combined hyperkalemia hypoxia and acidosis.* *Circ Res* 46 : 814-825, 1980
- 19) Wesley RC Jr and Belardinelli L : *Role of adenosine in ventricular overdrive suppression in isolated guinea pig hearts and Purkinje fibers.* *Circ Res* 57 : 517-531, 1985
- 20) Rosen RM, Danilo P Jr and Weiss RM : *Actions of adenosine on normal and abnormal impulse initiation in canine ventricle.* *Am J Physiol* 244 : H715-H721, 1983
- 21) Rardon DP and Bailey JC : *Adenosine attenuation of the electrophysiological effects of isoproterenol on cardiac Purkinje fibers.* *J Pharmacol Exp Ther* 228 : 792-798, 1984

- 22) Kobayashi M, Shimotori M and Chiba S : *The effects of aminophylline on adenosine and ATP actions on sinoatrial conduction in the isolated blood-perfused dog atrium.* *Eur J Pharmacol* 91 : 261-265, 1983
- 23) Nakayama T, Kurachi Y, Noma A and Irisawa H : *Action potential and membrane current of single pacemaker cells of the rabbit heart.* *Pfluegers Arch* 402 : 248-257, 1984
- 24) Bardenheuer H and Schrader J : *Supply-to-demand ratio for oxygen determines formation of adenosine by the heart.* *Am J Physiol* 250 : H173-H180, 1986
- 25) Stone T : *Adenosine in the nervous system.* p230-231, Academic Press, London, 1991
- 26) Schrader J, Rubio R and Berne RM : *Inhibition of slow action potentials of guinea pig atrial muscle by adenosine : A possible effect on Ca^{2+} influx.* *J Mol Cell Cardiol* 7 : 427-433, 1975
- 27) Grossman A and Furchgott RF : *The effects of various drugs on calcium exchange in the isolated guinea-pig left auricle.* *J Pharmacol* 145 : 162-172, 1964
- 28) Collis MG and Pettinger SJ : *Can ATP stimulate P_1 -receptors in guinea-pig atrium without conversion to adenosine ?* *Eur J Pharmacol* 81 : 521-529, 1982
- 29) Burnstock G and Meghji P : *The effect of adenyly compounds on the rat heart.* *Br J Pharmacol* 79 : 211-218, 1983
- 30) Fagbemi O and Parratt JR : *Antiarrhythmic actions of adenosine in the early stages of experimental myocardial ischemia.* *Eur J Pharmacol* 100 : 243-244, 1984
- 31) Taniguchi J Noma A and Irisawa H : *Modification of the cardiac action potential by intracellular injection of adenosine triphosphate and related substances in guinea-pig single ventricular cells.* *Circ Res* 53 : 131-139, 1983