

에타놀이 심근 수축성에 미치는 영향*

Effects of Ethanol on the Contractility and Action Potential in Isolated Rabbit Papillary Muscles

서울대학교 의과대학 생리학교실

김 기 환

서 론

에타놀이 심장근의 수축성을 직접적으로 저하시키는 작용을 가지고 있는데 대하여는 일반적으로 인정을 하고 있다(Regan, 1971). 에타놀 농도를 1~3gm/l 이상으로 하면 정상적인 심장근육에서 수축력이 저하되게 되는데 이러한 사실은 실험동물의 척추조직에서(Gimeno et al., 1962; Nakano and Moore, 1972), 심장 관류 실험에서(Lochner et al., 1969), 정상 실험동물을 사용한 체내실험에서(Regan et al., 1966), 또한 정상 인체실험에서(Ahmed et al., 1973) 증명된 바 있다.

에타놀의 심근 수축성에 미치는 영향에 관한 대부분의 연구들은 대개가 심근대사나 관상순환에 미치는 에타놀의 작용을 연구하는 과정의 한 작은 실험성적으로 나온 것이므로 심근 수축성을 직접적으로 저하시키는 그 기전에 관하여는 변반 깊은 연구가 없었다. 에타놀의 심근 수축성 억제기전에 관한 세포생리학적 연구는 1962년 Gimeno 등이 guinea pig의 심방근을 적출하여 4.5gm/l 에타놀을 투여한 결과 수축력 저하, 활동전압 기간(duration) 단축 및 제분극 속도증가를 관찰하고 수축력 감소가 활동전압 기간단축 현상과 관계가 있으나 그것만으로는 감소 정도 전체를 설명할 수 없다고 결론을 내렸다. 그후 1975년 Fischer와 Kavalier는 Gimeno 등의 실험결과를 확인하면서 한단계 더 나아가 에타놀의 수축성 억제기전은 활동전압 기간의 단축 작용과 심근수축기구에 대한 직접적인 억제효과에 의하여 일어난다고 결론을 내리고 있다. 즉 이들은 개구리와 고양이와 심실근을 이용하여 수축곡선과 활동전압을 기록하면서 에타놀 투여 전후의 변화양상을 관찰하였고, 또한 10mM caffeine의 투여효과를 분석하였다. 75mg/l 이하의 에타놀 농도에서는 오히려 수축력이 강화되었으나 750mg/l 이상에서는 농도증가에 비례

하여 수축력이 감소되었고 활동전압의 기간이 단축되었다. 10mM caffeine만 투여하면 활동전압의 기간과 수축력이 다 커지나 에타놀(4.5gm/l)과 10mM caffeine을 동시에 섞어서 관류시켜 주면 초기에는 활동전압 기간의 증가와 수축력의 감소가 있다가 이어서 활동전압 기간은 더욱 더 길어지고 초기에 억제되었던 수축력이 의외있게 증가되는 것을 보고 위와 같은 잠정적인 결론을 내렸다.

본 실험은 에타놀의 직접적인 심근 수축성 억제기전을 좀 더 깊이 밝혀보기 위하여 우선 토끼 우심실 유두근을 사용하여 에타놀의 수축력 억제현상을 확인한 뒤 등장성 수축(isometric tension) 곡선과 활동전압을 동시에 기록하면서 에타놀 투여 전후의 변화양상을 관찰하였다. 흥분-수축 연결(excitation-contraction coupling)에 중요 작용을 하는 Ca-내향전류(Reuter, 1973)에 미치는 영향을 보기 위하여 K-저분극 방법(Pappano, 1970)을 사용하여 에타놀의 영향을 관찰하였다.

실험 방법

체중 1.5kg 내외되는 집토끼의 후두부를 순간적으로 강타한 후 총경동맥을 절단하여 급히 실험시키고 즉시 심장을 적출하였다. 100% O₂로 평형을 이룬 tris-완충 용액(표 1-A)이 들어있는 준비용기 속에서 우심실을 절개하여 무게 1~2mg, 길이 5mm 정도되는 유두근을 체내 길이대로 적출 근육고정기에 고정하여 실온에서 1시간 가량 방치하였다. 다음 35°C의 HCO₃⁻-완충 Tyrode 용액(표 1-B)을 3%CO₂-97%O₂로 평형을 이룬 수직형 실험용기(용량 100ml)에 옮겨 30분 정도 회복시킨후 문턱 자극의 2배 강도의 전기자극을 하면서 단계적으로 근육길이를 늘려 최장길이를 구하고 다시 이 상태에서 30분간 회복시킨 뒤 자극빈도를 60/min로 하면서 에타놀 투여전후의 등장성 수축과 장력발생 최대속도(dP/dt)를 기록하여 그 변화를 관찰하였다.

활동전압과 수축곡선을 동시에 관찰하기 위하여 우

* 본 연구는 78년도 문교부 정책연구비 보조로 이루어졌음.

Table 1. Composition of solution for muscle preparation and experiment (mM/l)

A. Solution for preparation with 100% O ₂ (22°C)	
NaCl	158
KCl	4.0
CaCl ₂	2.0
MgCl ₂	1.0
Tris	10.0
Glucose	5.6
pH	7.35

B. Bicarbonate buffer solution for experiment with 97% O ₂ +3% CO ₂ (35°C)	
NaCl	148
KCl	4.0
CaCl ₂	2.0
MgCl ₂	1.0
Glucose	5.6
pH	7.30~7.35

(titrate with NaHCO₃)

심실의, 위에서 말한 적당한 유두근을 등장성 근수축 변환기(Collins제)에 연결된 근육고정기에 체내 그대로의 길이대로 적출 고정된 뒤 앞서의 방법대로 시행하였다. 그러나 이 목적의 실험용기 (용량 3ml)는 수평형의 것으로 5~10ml/min 속도로 관류하면서 최적길이를 결정된 뒤 실험을 시작하였다.

활동전압은 직경이 0.5 μ 이하인 유리 미세전극에 3M KCl을 채워 전극 저항이 20M Ω 정도되는 것을 골라 심근세포내에 삽입하였다. 입력임피던스가 10¹² Ω 인 미세전극 전치증폭기를 통하여 나온 활동전압을 오실로

스코프(Tektronix 564B, Advance OS 2200)에 기록하여 사진 촬영을 하였으며, 자극은 자극기(Grass S4)를 이용하여 실험용기 밑에 장치한 아주 작은 전극을 통하여 유두근을 직접 자극하였다. K-저분극을 시키기 위하여 정상 Tyrode 용액 중 Na 14mM을 빼고 대신 K를 넣어 18mM을 포함하는 용액을 만들어 사용하였다(K-Tyrode).

실험 성적

에타놀의 심근 수축성 억제

그림 2에 에타놀에 의한 심근의 수축력이 농도증가에 비례하여 감소하고 있는 것을 나타내었다. 에타놀 6gm/l에서 대조치에 비하여 50% 정도 억제되고 있음을 나타내고 있으나 안정시 장력은 변하지 않았다. 이때 동시에 기록된 장력발생 최대속도는 수축기와 이완기에 같은 정도로 감소되어 농도 증가에 따라 대칭적으로 감소하고 있음을 나타내고 있다.

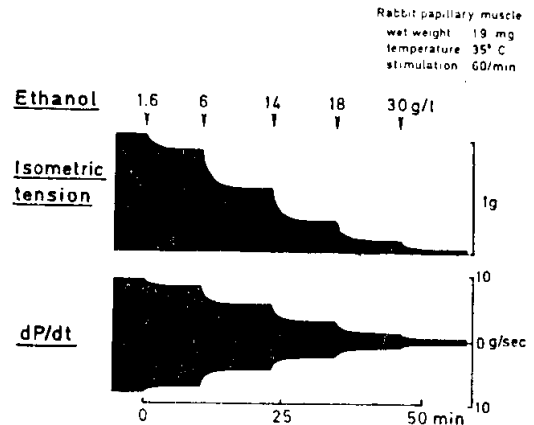


Fig. 2. Depression of active tension and rate of tension development produced by ethanol in an isolated papillary muscle.

이와 같은 현상을 그림 3에서 나타내었다. 에타놀 1gm/l에서 5%정도 수축력 감소, 2gm/l에서 15%, 4gm/l에서 30%, 6gm/l에서 50%, 12gm/l에서 80% 정도나 수축력을 감소시키고 있음을 나타내고 있다.

에타놀에 의한 활동전압 높이 및 기간의 감소

위에서 얻은 에타놀의 명백한 수축력 억제 효과의 기전을 전기생리학적으로 밝혀보기 위하여 50%정도 감소시키는 6gm/l와 80% 정도 떨어뜨리는 12gm/l의 두 농도를 택하여 우선 에타놀 투여 전후의 활동전압의 변화를 보았다. 그림 4에 그 대표적인 예를 보여주고 있다. 즉 에타놀 농도를 6gm/l로 하면 최대반생장력은

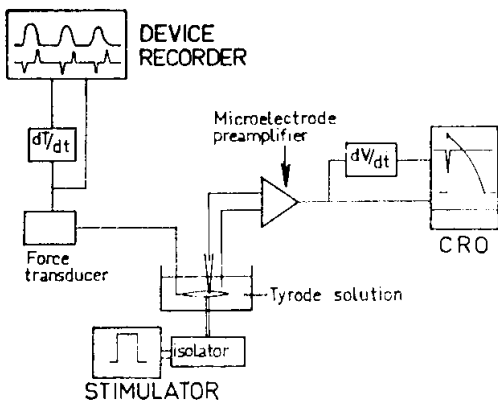


Fig. 1. Schematic diagram of experimental system.

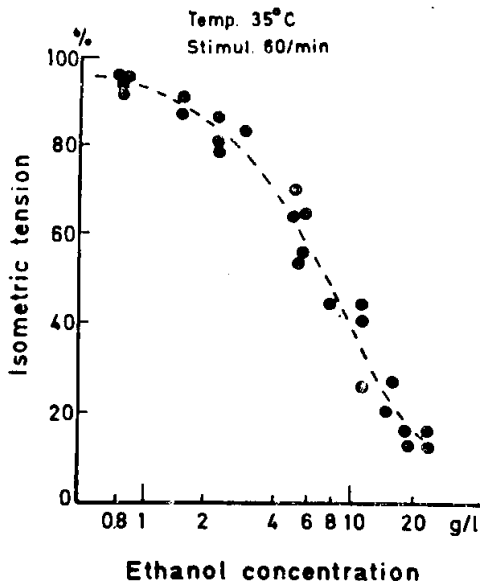


Fig. 3. Dose-dependency of ethanol-induced contractile depression.

반 정도로 줄고 활동전압은 대조치에 비하여 높이가 줄고, 기간도 단축되었다. 농도를 12gm/l로 더 늘리면 이러한 효과는 더욱 더 심하게 나타났다. 이러한 현상을 서로 겹쳐 기록하여 그 변화양상을 일목요연하게 끝에 표시하였다.

이러한 특징을 그림 5에 잘 나타내었다. 에타놀은 농도증가에 따라 활동전압 높이, 기간을 감소시키고 단축시켰으나 안정시 막 전압은 변하지 않았다. 기간의 단축영향은 특히 50% 재분극 기간의 단축현상이 두드러지게 나타났다.

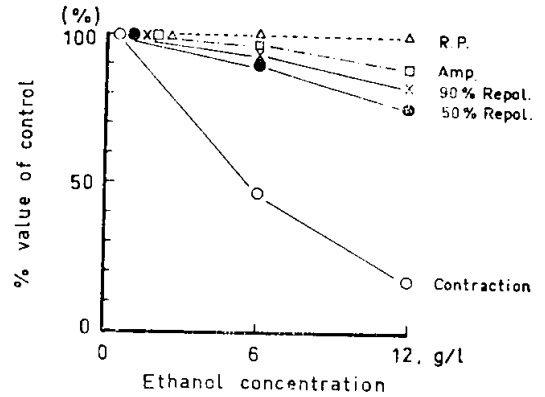


Fig. 5. Changes in bioelectrical parameters and contractile force by ethanol in isolated rabbit papillary muscle. R.P.: resting membrane potential; Amp.: amplitude of action potential; 50%, 90% Repol.: duration of 50% or 90% repolarization.

이러한 활동전압 기간의 단축현상을 좀 더 뚜렷하게 보여주는 것이 그림 6이다. 자극빈도를 그림 4(60/min)에서 보다 반으로 줄여 30/min로 하면 정상시에 활동전압의 기간을 크게 할 수 있으므로 이때에 에타놀에 의한 기간단축 효과를 보다 뚜렷하게 볼 수 있다. 6gm/l 에타놀 투여전후의 변화를 그림 4에서보다 더욱 명백하게 보여주고 있다.

에타놀의 완만내향전류(Ca-전류)에 미치는 효과에 에타놀이 흥분-수축연결 초기 과정에 중요역할을 하

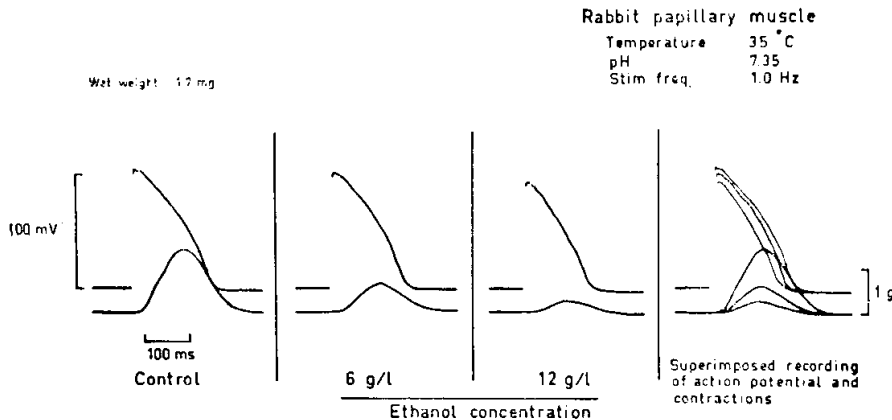


Fig. 4. Effects of ethanol on contractility and action potential in isolated ventricular muscle.

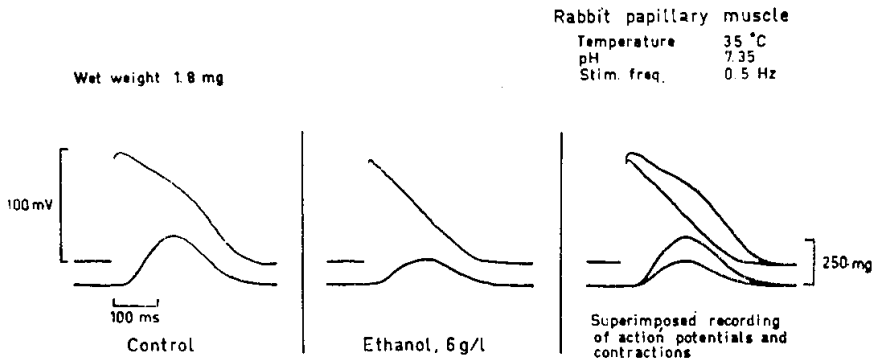


Fig. 6. Decreases in action potential duration and contractile force by ethanol in isolated ventricular muscle.

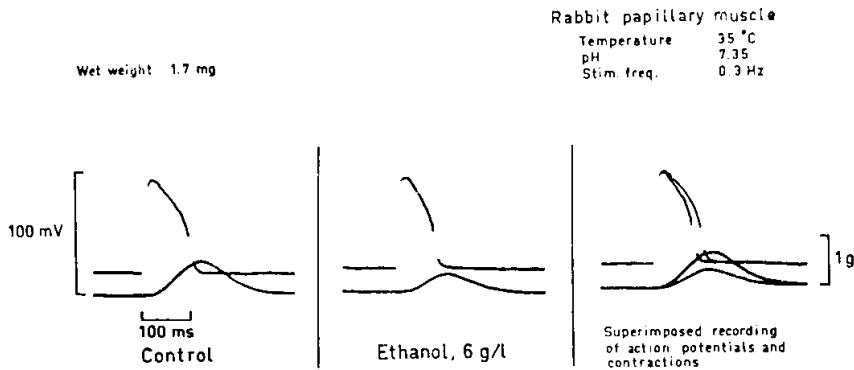


Fig. 7. Effects of ethanol on contractility and action potential in isolated ventricular muscle partially depolarized by high K (18mM).

는 것으로 알려진 Ca-내향전류에 미치는 영향을 알아본 것이 그림 7이다. 18mM K으로 안정시 막전압을 -50mV 정도로 저분극시키면 급속내향전류인 Na-전류를 비활성화 시키므로 기록되는 활동전압은 주로 Ca-전류를 나타내고 있는 것이어서 에타놀 투여로 일어나는 변화는 바로 Ca-내향전류의 변화를 의미하는 것이다. 이 그림에서 보면 6gm/l 에타놀로 높이의 변화는 별로 없고 역시 기간의 단축이 현저하게 나타났다.

고 찰

에타놀은 일시에 많은 양을 투여할 경우 심근 기능을 저하시키는 심장독(cardiotoxic substance)이라는 것은 일반적으로 인정되는 사실이다(Regan, 1971). 이러한 에타놀의 직접적인 심근기능 억제현상은 실험동물에서(Regan, 1966), 사람에서(Ahmed et al., 1973) 증명된 바 있다. 쥐 심방근(Gimeno et al., 1962), 쥐 심실근(Hirota et al., 1976), 고양이 유두근(Spann et al.,

1968), 개구리와 고양이 심장근(Fischer and Kavalier, 1975)의 조직 절편들을 이용한 실험에서 에타놀은 농도 증가에 비례하여 심근 수축력을 저하시키는 작용이 있음을 보고하고 있다. 이러한 실험결과들은 토끼 유두근을 이용한 본 실험성과 일치하는 소견들이다. 쥐의 심실근 절편을 이용한 Hirota 등(1976)의 실험성적을 보면 최대발생장력과 장력발생최대속도는 에타놀 접촉 즉시 억제효과가 나타나고 투여후 6분에 최대치에 도달하였다가 10분후부터는 양쪽 모두 점차로 회복되는 경향을 보이고 있다. 억제정도를 보면 1gm/l(사람에서는 경도의 중독증상을 일으키는 농도에 해당)에서는 8.3±1.1% 감소, 2gm/l(중등도의 중독)에서는 13.6±1.5% 감소, 4gm/l(심한중독)에서는 27.2±3.0%감소시켰는데 본 실험의 각 농도에서 5%, 15% 및 30%정도 수축력이 억제된 결과와 대동소이한 결과를 보이고 있다.

Schwartz 등(1974)의 심근 미크로솜(microsome)의 Ca흡입율(uptake) 및 부착에 미치는 에타놀의 영향에

관한 보고에 의하면 에타놀 투여시에는 정상시에 비하여 흡입율이 훨씬 떨어지고 있다. 이러한 생화학적인 장애에 따라 나타나는 생리학적인 현상으로는 이완기의 기간이 길어질 것이 예상되나 아직 이에 대한 실험적 근거는 없다. 본 실험에서 장력발생 최대속도는 에타놀농도 증가에 비례하여 대칭적으로 감소하는 것으로 보아 에타놀에 의해 수축기와 이완기의 장력발생 최대속도가 같은 정도로 감소함을 알 수 있다.

에타놀 투여로 나타나는 활동전압의 뚜렷한 변화는 그림 4, 5, 6에 표시한 바와 같이 기간이 단축되는 것이며, 특히 심근활동전압의 고원(plateau)을 나타내는 50% 재분극 기간의 단축이 가장 두드러졌다. 그 외에 높이의 90% 재분극 기간도 에타놀 농도 증가에 따라 감소되었으나 안정시 막전압은 전혀 변하지 않았다.

위의 심방근 절편을 이용한 Gimeno 등(1962)의 보고에 의하면 본 실험의 결과와 마찬가지로 활동전압 기간의 단축이 가장 뚜렷하였고 높이의 감소는 미약하였다. 이때 안정시 막전압과 최대 탈분극속도는 에타놀에 의하여 변화가 없었다. 본 실험에서 나타난 에타놀 농도증가에 따른 활동전압 높이의 감소는 주로 급속내향전류, 즉 Na-전류의 억제로 해석되고, 50% 재분극 기간의 단축은 Ca-내향전류의 감소로 생각된다. 이러한 해석을 더 명확히 뒷받침하기 위하여 K-저분극 방법을 사용하였다.

18mM K로 막전압을 낮춰 저분극시킨 상태에서 기록된 활동전압은 대부분 Ca-전류에 의한 것인데(Pappano, 1970; Reuter, 1973) 이 방법으로 막전압을 낮은 상태로 고정시키고 에타놀을 투여한 효과를 그림 7에 표시하였다. 여기서 보면 6gm/l 에타놀 투여로 활동전압 기간의 단축이 뚜렷하나 높이는 변화는 경미한 것으로 보아 에타놀이 선택적으로 Ca-전류를 약간 억제하는 작용이 있다고 해석된다. Fischer 등(1975)은 개구리 심실근과 고양이 유두근을 이용한 실험에서 개구리 심실근의 경우 에타놀의 수축력 억제효과는 활동전압의 기간 단축만으로 해석을 하였고, 10mM caffeine을 단독 혹은 에타놀과 동시에 투여하여 나타난 수축과 활동전압의 시간경과에 따른 변화를 분석하여 포유류인 고양이 유두근에서는 에타놀의 심근 수축력 억제기전으로 활동전압 기간의 단축과 심근세포내 수축기구에 대한 직접적인 억제작용이 모두 관여하는 것으로 결론을 내리고 있다. 본 실험결과만으로는 에타놀이 수축기구 자체에 직접 작용이 있는지는 알 수 없으나 앞으로 세포막을 제거한 조직(glycerol extracted preparation)으로 실험한다면 이에 대한 확실한 실험적 뒷받침이 될 것으로 생각된다.

결론

적출한 짐토끼 유두근을 사용하여 에타놀이 심근 수축성에 미치는 영향을 관찰하고 이의 작용기전을 연구하였다.

35°C pH 7.35에서 3%CO₂-97%O₂ 혼합가스로 포화시킨 HCO₃⁻-완충 Tyrode 용액에서 적출한 유두근의 등장성 수축과 활동전압을 동시에 기록하면서 에타놀 투여 전후의 변화를 관찰하였고 Ca-전류에 대한 에타놀 효과를 보기 위하여 18mM K으로 막전압을 저분극 고정하고 변화양상을 관찰 분석하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 수축력은 에타놀 농도증가에 따라 어느정도 비례하여 감소되었으며, 장력발생 최대속도(dp/dt)도 수축기와 이완기에 대칭적으로 감소하였다.
2. 수축력은 에타놀 1gm/l에서 대조치에 비하여 5%, 2gm/l에서 15%, 4gm/l에서 30%, 6gm/l에서 50%정도 저하되었다.
3. 활동전압은 에타놀 투여로 기간의 단축이 뚜렷하였는데 특히 50% 재분극 기간의 단축이 현저하였고 높이의 감소도 뚜렷하였다.
4. K-저분극 방법으로 측정된 활동전압에서는 에타놀 투여로 기간의 단축은 뚜렷하게 나타났으나 높이의 변화는 경미하였다.

이상의 실험결과를 보아 에타놀이 포유류인 토끼 심장근육의 수축력을 저하시키는 작용이 있고 그 기전으로는 급속 및 완만내향전류의 양쪽이 모두 억제적 작용을 하여 수축력을 억제한다고 해석할 수 있겠다.

세포내 수축기구 자체에 직접 억제작용이 있는지는 본 실험사실만으로는 알 수 없고 세포막을 제거한 재료로 더 실험을 해야 할 것이다.

-ABSTRACT-

Effects of ethanol on the contractility and action potential in isolated rabbit papillary muscles

Ki-Whan Kim

Department of Physiology, College of Medicine
Seoul National University

The effects of ethanol on the myocardial contractile force and action potential were studied in isolated rabbit papillary muscles. All experiments were per-

formed in HCO_3^- -buffered Tyrode solution which was aerated with 3% CO_2 -97% O_2 and kept pH 7.35 at 35°C. Action potentials were measured by conventional microelectrode technique. Glass microelectrodes were filled with 3M KCl and had a resistance of 20~30 megohms.

Ethanol depressed the contractility of the rabbit papillary muscle at concentrations between 1 and 20gm/l dose-dependently; Ethanol reduced peak developed tension by 5% at a concentration of 1gm/l, 15% at 2gm/l, 30% at 4gm/l, 50% at 6gm/l, and 80% at 12gm/l, respectively. There was no effect on resting tension. A similar degree of depression was observed in the maximum rate of tension development (dP/dt). The effects were reversible in all cases.

Shortening of the action potential duration, especially 50% repolarization time, with the reduction in contractility, was the most characteristic change in the electrical properties. The amplitude and duration of action potential were decreased in a dose-dependent manner by ethanol. The resting membrane potential, however, was unaffected by ethanol. The action potential duration in the muscle hypopolarized by 18mM K-Tyrode was also shortened, but its height remained almost unchanged.

The results of this experiment suggest that the depression of the contractility by ethanol can be attributed to the shortening of action potential duration, especially to inhibition of Ca-current.

REFERENCES

- Ahmed, S.S., Levinson, G.E. and Regan, T.J.: *Depression of myocardial contractility with low doses of ethanol in normal man. Circulation*, 48:378-385, 1973.
- Fisher, V.J. and Kavalier, F.: *The action of ethanol upon the action potential and contraction of ventricular muscle. In Recent Advances in Studies on Cardiac Structure and Metabolism. Vol. 5. Basic Functions of Cations in Myocardial Activity. eds. Fleckenstein, A. and Naranjan S. Dhalla. pp.415-422. University Park Press, 1975.*
- Gimeno, A.L., Gimeno, M.F., and Webb, J.L.: *Effects of ethanol on cellular membrane potentials and contractility of isolated rat atrium. Am. J. Physiol.*, 203:194-196, 1962.
- Hirota, Y., Bing, O.H.L. and Abelmann, W.H.: *Effect of ethanol on contraction and relaxation of isolated rat ventricular muscle. J. Mol. Cell. Cardiol.*, 8:727-732, 1976.
- Lochner, R.A., Cowley, R. and Brink, A.J.: *Effect of ethanol on metabolism and function of perfused rat hearts. Am. Heart J.*, 770-780, 1969.
- Nakano, J. and Moore, S.E.: *Effect of different alcohols on the contractile force of the isolated guinea pig myocardium. Eur. J. Pharmacol.*, 20:266-270, 1972.
- Pappano, A.J.: *Calcium dependent action potentials produced by catecholamines in guinea pig atrial muscle fibers depolarized by potassium. Circ. Res.*, 27:379-390, 1970.
- Regan, T.J., Koroxenidis, G., Moschos, C.B., Oldewurtel, H.A., Lehan, P.H. and Hellems: H.K.: *Acute metabolic and hemodynamic responses of the left ventricle to ethanol. J. Clin. Invest.*, 45:270-280, 1966.
- Regan, T.J.: *Ethyl alcohol and the heart. Circulation*, 44:957-963, 1971.
- Reuter, H.: *Divalent cations as carriers in excitable membranes. Prog. Biophys. Mol. Biol.*, 26:1-43, 1973.
- Schwartz, M.A., Repke, D.I., Katz, A.M. and Rubin, E.: *Effect of ethanol on calcium binding and calcium uptake by cardiac microsomes. Biochemical Pharmacology*, 23:2369-2376, 1974.
- Spann, J.F., Mason, D.T., Beiser, G.D. and Gould, H.K.: *Actions of ethanol on the contractile state of normal and failing cat papillary muscle (Abstract). Clinical Research*, 16:249, 1968.