

pH변화가 심실근 경축현상에 미치는 영향*

Effect of Extracellular pH on Contracture in Frog Ventricle

서울대학교 의과대학 생리학교실

김 전 · 박 준** · 박 영 배

서 론

근육에서 흥분-수축의 연결은 근장(sarcoplasm)내의 Ca^{2+} 농도에 의하여 결정된다. 이러한 Ca^{2+} 의 공급원으로는 세포내 Ca^{2+} 저장고, 세포막의 Ca^{2+} 통로 (Ca-channel) 및 세포막을 통한 Na-Ca의 교환기전 등을 들 수 있다. 그러나 실제 수축에 동원되는 Ca^{2+} 의 공급원 및 경로에 대해서는 근육조직의 종류, 실험동물 등에 따라 차이가 많으며 실험방법에 따라서도 논란이 많다. (Mullins, 1981).

개구리 심실근의 경우에는 근장그물(sarcoplasmic reticulum)이 발달되어 있지 않으므로(Hillman, 1975) 수축에 동원되는 Ca^{2+} 은 주로 세포막을 통해 유입된다 (Anderson et al., 1977; Kavalier, 1978). 이러한 경로를 추적하기 위해서는 세포막의 K^{+} 농도를 높이던지 전압고정법에 의해 막전압을 변동시키는 방법(Niedergerke, 1956; Kavalier, 1959; Morad and Orkand, 1971; Winegrad, 1979) 또는 세포외의 Na^{+} 및 Ca^{2+} 의 농도를 변화시켜 Na-Ca의 교환기전에 미치는 영향을 관찰하는 방법들이 있다(Niedergerke, 1963; Chapman, 1974; Reuter, 1974; Chapman and Tunstall, 1980).

오래전부터 H^{+} 이 심근수축에 지대한 영향을 미침은 잘 알려져 왔다(Gaskell, 1880; Daly and Clark, 1921). 심근에 대하여 H^{+} 이 작용하여 영향을 끼칠 가능성이 있는 부위로는 세포막의 Ca 통로(Wada and Goto, 1975; Kohlhardt et al., 1976), $Na^{+}-Ca^{2+}$, $Na^{+}-K^{+}$ 혹은 $Na^{+}-H^{+}$ 교환기전(Wada and Goto, 1975; Thomas, 1977; Poole-Wilson and Langer, 1979; Bers and Ellis, 1982), 근장그물과 같은 세포내 저장고(Nakamura and Schwartz, 1972), 수축기구 자체(Fabi-

ato and Fabiato, 1978), 또는 세포내의 H^{+} 와 Ca^{2+} 의 공동결합부위(Hess and Weingart, 1980; Vaughan-Jones et al., 1983)등을 들 수 있으나 그 자세한 기전은 아직 밝혀지지 않고 있다.

본 실험에서 저자들은 개구리의 심실근에 높은 농도의 K^{+} 와 낮은 농도의 Na^{+} 을 함유하는 Tris-완충용액으로 관류하여 이상성인 경축을 유발시키고 관류액의 pH를 산중 혹은 알칼리중 쪽으로 변동시키고 그 변화양상을 관찰하여 수축에 동원되는 Ca^{2+} 의 경로와 기전을 밝히고자 하였다.

실험 방법

실험동물로는 개구리(*Rana temporaria*)를 사용하였다. 가을에서 겨울동안에 실험하였기 때문에 동면중인 개구리를 채집한 후 냉장고에 보관하였다가 필요시 사용하였다. 개구리의 척수를 파괴한 후 가슴을 열어 심장을 적출하였다. 실온에서(18~20°C) 100% O_2 로 포화되어 있는 개구리용 Tris-완충 링거용액(NaCl, 115.5; KCl, 2.5; $CaCl_2$, 1.8; Tris, 10; glucose, 5mM; pH 7.35)이 들어 있는 준비용기에 옮긴 후 심방과 심실의 경계부를 따라 절개하여 심실을 분리시켰다. trabeculae의 주행 방향을 따라 무게(wet weight) 2mg, 길이 5mm 내외의 심실근 절편을 얻어 체내 길이대로 근육 고정기에 고정한 후 한시간 이상 방치하여 회복시켰다.

다음에 적출한 심실근을 100% O_2 로 포화된 Tris-완충 링거용액이 들어있는 용량 100ml의 수직챔버(vertical chamber)에 옮긴 후 근육고정기의 한 쪽 끝을 장력 변환기(tension transducer, Grass FT-03)에 연결하고 수축곡선을 그릴 수 있도록 physiograph (Devices, MX6)를 장치하였다.

30분간 회복시킨 후 자극기(Grass, S4)로 문턱 자극(threshold stimulus)의 2배의 강도로 자극빈도 0.1 Hz의 전기자극을 가하면서 단계적으로 근육의 길이를 늘려 길이-장력관계를 관찰하고 최적길이를 결정할 후

† 접수일자: 1983. 3. 20.

* 본 연구는 1982년도 서울대학교병원 임상연구비의 보조로 이루어졌음.

** 서울대학교병원 소외의과.

그 상태에서 재차 30분간 안정시킨 후 실험을 시작하였다. 자극은 半場자극(semifield stimulation)으로 자극기간 5ms, 자극빈도 0.1Hz이었고 자극강도는 2배의 문턱자극을 가하였으며 실험도중 심실근의 흥분성이 낮아진 경우에는 필요한 만큼 자극강도를 높였다. 또 경축을 관찰하는 동안은 자극을 중단하였다.

경축을 유발하기 위한 고농도의 K경축용액은 K 100 mM 및 K없는(K-free) 링거용액을 적절히 섞어 K⁺농도가 20, 40, 60, 80, 100mM이 되도록 하였으며 K⁺농도 증가에 따른 삼투질농도의 증가를 없애기 위해 증가된 K⁺의 양만큼 Na⁺의 양을 줄였다. 관류 링거용액의 pH는 pH meter (Pye Unicam, Model 290MK2)를 사용하여 실온에서 적당량의 0.3N HCl 혹은 NaOH 용액을 첨가하여 6.4, 7.4, 8.4로 맞추었다.

경축은 10~15분 동안 지속시켰으며 다음 조건을 가하기 전에 30분 이상 충분히 회복시켰다. pH의 경축에 대한 영향을 보기 위해서는 먼저 동일한 pH의 Tris-완충 링거용액으로 10분 이상 처리한 후 경축용액으로 바꾸어 주었으며 경축을 이완시킨 때에는 pH 7.4의 정상 Tris-완충용액으로 교환하였다. 모든 용액은 한 번 용기에 채운 후 20분 이상 사용하지 않았다.

실험 성적

그림 1에 pH를 7.4로 유지하면서 관류액의 K⁺농도를 높였을 때 나타나는 경축현상을 대표적으로 보였다. K⁺농도가 20mM일 때 개구리 심실근은 경축을 일으키지 않았으나 K⁺농도를 40, 60, 80, 100mM로 단계적으로 올려주었더니 수분내에 최고장력에 도달하였다가 서서히 감소하는 경축을 볼 수 있었다. 이 경축은 10~15분 동안에는 안정수준으로 돌아오지 않았다. 본 연구에서는 처음 장력이 올라가는 부분을 위상성

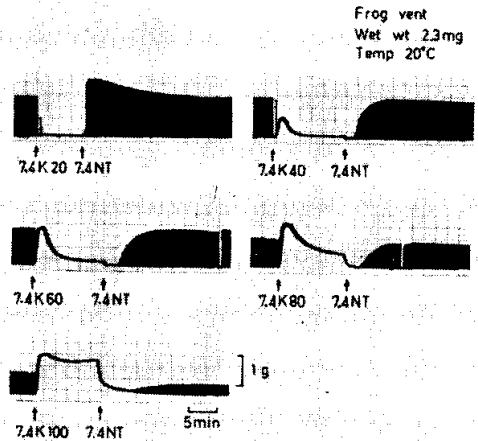


Fig. 1. Changes in contracture tension during elevation of external potassium under normal pH at room temperature. Isolated frog ventricular strips were stimulated electrically (6/min) before and after contracture. Contractures were induced with tris-buffered Ringer solutions containing 20 to 100mM potassium ions and concomitantly less sodium ions. Note the biphasic nature of contracture response.

(phasic), 그 이후 지속되는 경축 부분을 긴장성(tonic) 부분으로 삼정적으로 표시하였다.

표 1에 정상 pH하에서 K⁺농도 변화시의 경축의 변화를 표시하였다. 위상성 경축의 크기는 관류액의 K⁺농도가 높아질수록 커져 K⁺농도 40, 60, 80, 100mM에서 각각 0.13 ± 0.025 (mean \pm s.e, 이하 동일), 0.27 ± 0.025 , 0.37 ± 0.053 , $0.46 \pm 0.058 \times 10^{-2}$ N/mg wet wt.의 장력을 보였다. K 100mM에서의 최대장력은 경축 선 언축(twitch)장력의 $163 \pm 23.5\%$ 에 달하였다. 긴장

Table 1. Changes in contracture induced by high potassium with concomitantly low sodium in isolated frog ventricular strips under normal pH at room temperature

K ⁺ Concentration (mM/l)	Contracture Tension ($\times 10^{-2}$ N/mg)		Time to Peak (min.)	Quiescent Period (min.)
	Peak	Tonic		
20	—	0.01 ± 0.003	—	1.6 ± 0.28
40	0.13 ± 0.025	0.01 ± 0.003	1.3 ± 0.12	2.6 ± 0.60
60	0.27 ± 0.025	0.03 ± 0.003	1.6 ± 0.24	3.9 ± 0.50
80	0.37 ± 0.053	0.05 ± 0.012	2.0 ± 0.17	5.1 ± 0.75
100	0.46 ± 0.058	0.19 ± 0.020	1.8 ± 0.19	5.6 ± 0.80

Mean \pm s.e.

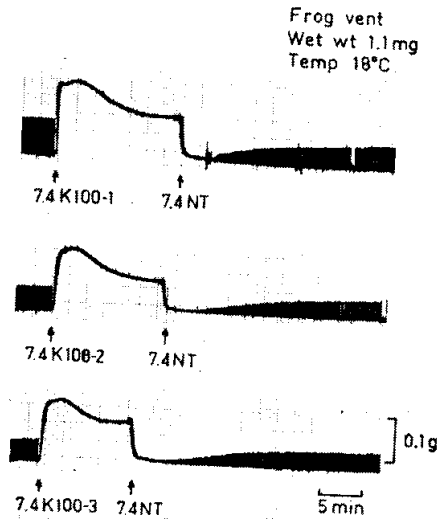


Fig. 2. Contracture and twitch response to repeated application of K-100mM solutions. Note that recovered tension after the first application of K-100mM solution was smaller than control twitch tension.

성 부분의 크기도 K⁺ 농도가 높아질수록 커지서 K 농도 40, 60, 80, 100mM에서 각각 0.01 ± 0.003, 0.03 ± 0.003, 0.05 ± 0.012, 0.19 ± 0.020 × 10⁻²N/mg wet wt.이었다.

위상성 부분에서 최대장력에 도달하는 시간은 K⁺ 농도에 의해 크게 영향을 받지 않았다. 긴장성 부분의 장력감소는 인접 보아 지수함수적 감소를 보였으나 한 두개의 시간상수(time constant)로 나타낼 수 없었다.

정성 Tris-완충용액으로 교환하여준 때 경축이 온 풀리어 안정수준으로 되돌아왔다. 이후 연속이 개시될 때까지의 기간(quietent period로 표시)은 경축을 유발했던 K⁺의 농도가 높을 수록 길었다. 연속이 회복하는 모습을 보면 뚜렷한 경축을 보이지 않았던 K 20 mM후에 연속이 시작되면서 일시적으로 장력이 커졌다가 서서히 경축전의 수준으로 되돌아갔다. 보다 높은 K⁺ 농도 후에는 연속장력 회복모습이 지수함수적이었으며 그 회복속도는 K⁺ 농도가 높을 수록 느렸다. K 80mM까지는 회복후의 연속장력의 크기는 대략 경축전의 수준으로 되돌아갔으나 K 100mM후에는 경축전의 장력으로 회복되지 않았다(그림 1). 이 사실을 좀 더 살피기 위해 K 100mM에 의한 경축을 연속해서 유발시켜 관찰하였다(그림 2, 표 2). 경축이 반복될 수록 위상성 경축의 크기는 감소하는 경향을 보이니 통계적 의의는 없었으며 긴장성 부분은 3회째에 통계적

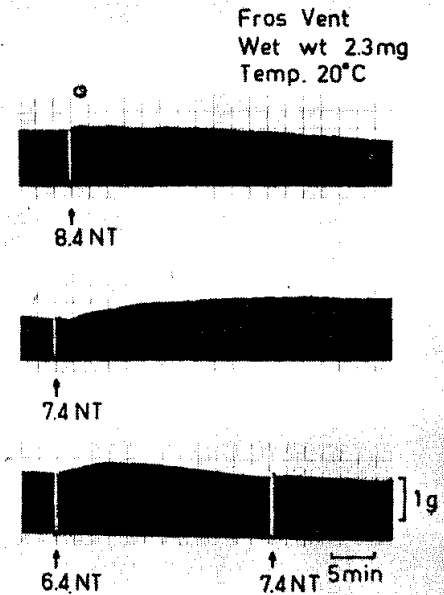


Fig. 3. Effects of external pH on twitch tension from isolated frog ventricular strips. Note the eventual decrease in tension on raising the pH to 8.4 or lowering it to 6.4.

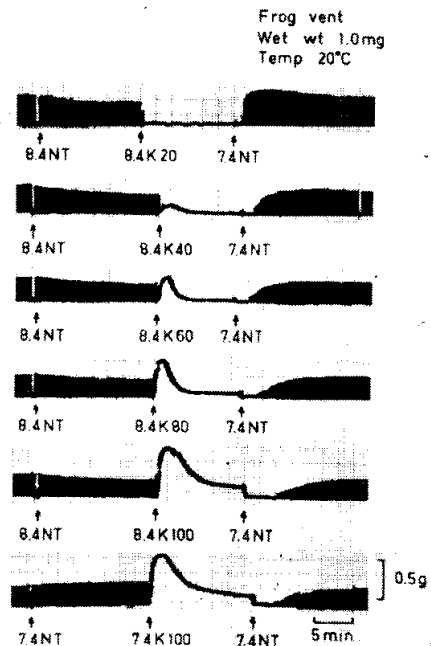


Fig. 4. Contracture tension induced by elevation of external potassium under raised external pH to 8.4 at room temperature. There was no significant changes in contracture tension comparing to those induced at normal pH.

Table 2. Effect of repeated application of K-100mM solution on contracture and recovery tension in isolated frog ventricular strips

	Contracture Tension ($\times 10^{-2}$ N/mg)		Recovered Tension (%)	Time to Peak (min.)	Quiacent Period (min.)
	Peak	Tonic			
K100-1 (n=8)	0.57 \pm 0.081	0.24 \pm 0.019	68.4 \pm 4.87	1.8 \pm 0.21	6.2 \pm 0.71
K100-2 (n=8)	0.47 \pm 0.060	0.19 \pm 0.014	88.4 \pm 5.19	1.8 \pm 0.20	6.0 \pm 0.68
K100-3 (n=8)	0.45 \pm 0.056	0.16 \pm 0.021	95.4 \pm 6.46	1.9 \pm 0.21	5.9 \pm 0.76

Mean \pm s.e.

으로 의의있게 감소하였다. 연속장력은 첫번째 경축시에는 경축전 장력의 68.4 \pm 4.87%밖에 회복되지 않았으나 3회제에는 95.4 \pm 6.46%로 경축전후의 연속장력에 큰 차이가 없었다. 이에 따라 표 1의 7.4, K100mM의 실험치는 모두 3회제의 K 100mM경축의 값을 표시하였다.

관류액의 pH를 7.4로부터 6.4 혹은 8.4로 바꾸었을 때 연속장력의 변화를 그림 3에 보이고 있다. 관류액의 pH를 8.4로 올렸을 때 연속장력은 서서히 감소하

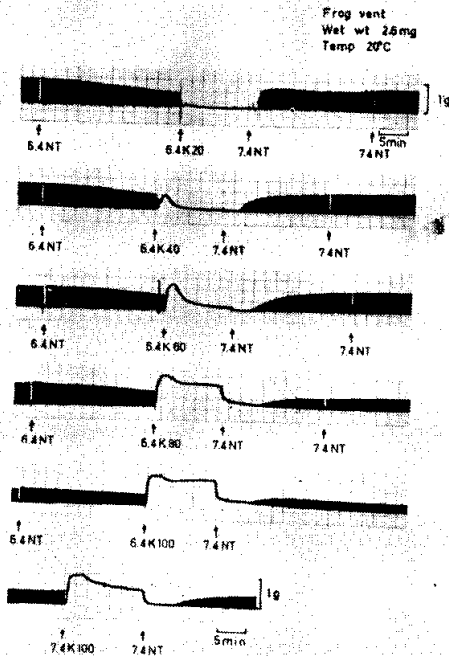


Fig. 5. Contracture tension induced by elevation of external potassium under lowered external pH to 6.4 at room temperature. Note that on lowering pH to 6.4, K-20mM solution evoked contracture and at the concentration of K 100mM, tonic tension was gradually increased with time elapsed.

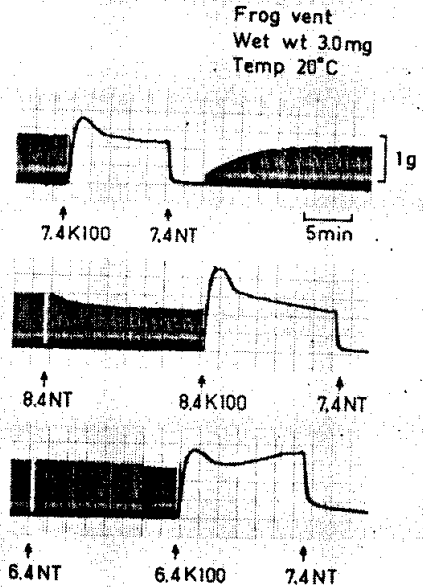


Fig. 6. Comparison of K-100mM contracture under external pH of 7.4, 8.4 and 6.4. On raising the pH, phasic tension increased slightly and tonic tension was not maintained. On lowering the pH, however, tonic tension increased gradually with time elapsed.

았으며 6.4로 낮추었을 때는 처음 수분간은 장력이 증가하다가 결국은 감소하는 것을 볼 수 있었다.

그림 4는 pH 8.4에서 K-경축의 모습을 대표적으로 보이고 있으며 표 3에 그 성적을 표시하였다. K⁺농도가 20mM일 때 별다른 경축을 관찰할 수 없었다. 위상성 경축은 K농도가 40, 60, 80, 100mM일 때 각각 0.12 \pm 0.023, 0.34 \pm 0.023, 0.41 \pm 0.041, 0.49 \pm 0.020 $\times 10^{-2}$ N/mg이었고 긴장성 부분은 0.03 \pm 0.009, 0.06 \pm 0.011, 0.08 \pm 0.020, 0.24 \pm 0.018 $\times 10^{-2}$ N/mg wet wt.으로 pH 7.4에서의 값보다 다소 높은 경향을 보였으나 통계적 의의는 없었다.

Table 3. Changes of contracture pattern in frog ventricular strips during the elevation of external pH from normal to 8.4

K ⁺ Concentration (mM/l)	Contracture Tension($\times 10^{-2}$ N/mg)		Time to Peak (min.)	Quiacent Period (min.)
	Peak	Tonic		
20	---	---	---	1.2 \pm 0.13
40	0.12 \pm 0.023	0.03 \pm 0.009	1.3 \pm 0.13	2.5 \pm 0.70
60	0.34 \pm 0.023	0.06 \pm 0.011	1.8 \pm 0.33	4.0 \pm 0.46
80	0.41 \pm 0.041	0.08 \pm 0.020	1.6 \pm 0.23	4.3 \pm 0.70
100	0.49 \pm 0.020	0.24 \pm 0.018	1.9 \pm 0.22	6.6 \pm 0.60

Mean \pm s.e.

Table 4. Changes of contracture pattern in frog ventricular strips under lowered external pH from normal to 6.4

K ⁺ Concentration (mM/l)	Contracture Tension($\times 10^{-2}$ N/mg)		Time to Peak (min.)	Quiacent Period (min.)
	Peak	Tonic		
20	0.06 \pm 0.019	0.02 \pm 0.009	1.2 \pm 0.106	1.5 \pm 0.13
40	0.24 \pm 0.054	0.05 \pm 0.019	1.1 \pm 0.037	3.3 \pm 0.29
60	0.37 \pm 0.014	0.08 \pm 0.019	1.3 \pm 0.098	4.0 \pm 0.23
80	0.42 \pm 0.039	0.20 \pm 0.063	1.2 \pm 0.195	6.4 \pm 0.50
100	0.48 \pm 0.022	0.34 \pm 0.023	1.3 \pm 0.015	10.6 \pm 1.40

그림 5는 관류액의 pH를 6.4로 낮추었을 때 K⁺농도 변화에 따른 경축의 변화를 보이며 표 4에 그 성적을 표시하였다. 위상성 경축은 K⁺농도 20, 40, 60, 80, 100mM에서 각각 0.06 \pm 0.019, 0.24 \pm 0.054, 0.37 \pm 0.014, 0.42 \pm 0.039, 0.48 \pm 0.022 $\times 10^{-2}$ N/mg의 크기를 보였다. pH 7.4 및 8.4에서와는 달리 K 20mM에서도 K 100mM 경축장력의 10% 가량되는 경축을 관찰할 수 있었으며 K 40mM에서의 장력도 다른 두 group에 비해 의의있게 높았다. 긴장성 부분은 K농도 20, 40, 60, 80, 100mM에서 각각 0.02 \pm 0.009, 0.05 \pm 0.019, 0.08 \pm 0.019, 0.20 \pm 0.063, 0.34 \pm 0.023 $\times 10^{-2}$ N/mg으로 K농도가 80, 100mM일 때 다른 두 group보다 의의있게 높았다. K 100mM의 경우는 시간이 지남에 따라 긴장성 부분이 오히려 점차 증가하였다. 표 4에 표시한 긴장성 경축의 값은 위상성 경축이 지난 후 긴장성 부분이 가장 낮아졌을 때의 값이다.

그림 6은 동일한 심실근 조각에서 K 100mM경축을 세 pH 조건에서 비교하여 보여주고 있다. pH 7.4, K 100mM 경축에 비하여 pH 8.4에서 위상성 수축의 크기는 다소 커졌으나 긴장성 부분의 장력은 pH 7.4일 때 더 잘 유지되었다. pH 6.4에서는 위상성 수축의 크기는 변하지 않았으나 긴장성 부분은 시간이 지남에

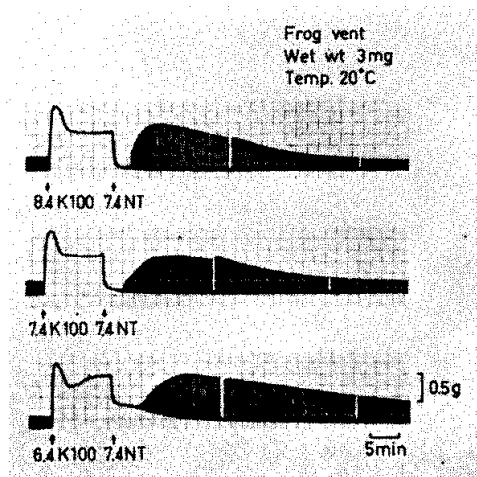


Fig. 7. Comparison of recovery from K-100 contracture under external pH of 7.4, 8.4 and 6.4. Contractures were followed by transient increase in twitch tension. Under external pH of 6.4, K-100 contracture did not relaxed completely with normal tris-buffered Ringer solution.

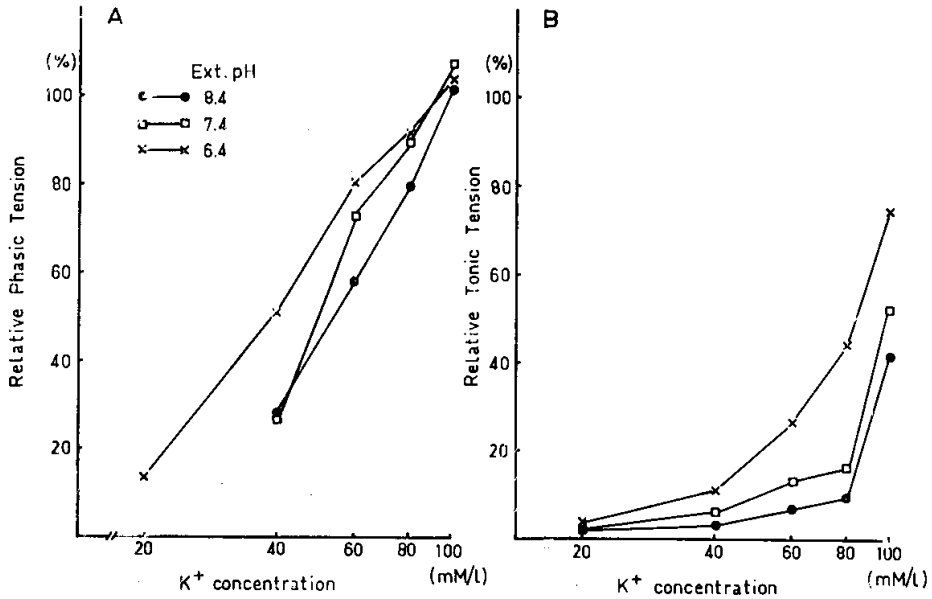


Fig. 8. Effects of pH on contracture tension resulting from elevation of external potassium under normal (7.4), raised (8.4), and lowered external pH (6.4). Tensions were expressed as relative values to that of 7.4, K-100 contracture. A: Changes in phasic tension, B: Changes in tonic tension.

따라 오히려 증가하는 것을 보이고 있다. 그림 8에 K 농도에 따른 위상성 및 긴장성 경축의 변화를 7.4 K 100mM 경축 때의 크기를 100으로 한 상대적 크기로 나타내었다.

그림 7은 세 pH조건에서 K100mM경축 후의 장력 회복모습을 비교하여 보이고 있다. pH 7.4, K100mM 경축은 정상 Tris-완충용액으로 교환시 곧 안정수준으로 장력이 이완되었으며 회복되는 연속장력은 처음 10분간은 오히려 경축전 장력의 2배이상 커졌다가 점차 감소하여 30분~1시간후에는 경축전 장력으로 되돌아왔다. pH 8.4에서는 회복기의 장력이 처음 5분이내에 경축전 장력의 3배이상 커졌다가 곧 감소하여 30분이내에 경축전 장력보다 오히려 감소되었다. pH 6.4에 7.4서는 Tris-완충용액으로 교환하였을 때 경축이 이완되었으나 기초장력이 경축전 안정수준까지 돌아오는 데에는 30분~1시간이상 걸렸다. 그러나 연속은 기초장력이 회복되기 전부터 회복되기 시작함을 볼 수 있다.

고 찰

근육에서 흥분-수축의 연결은 근장(sarcoplasm)내의 Ca²⁺농도에 의하여 결정되며 심장근의 경우 이 Ca²⁺은 세포내 저장고, 막전압의 영향을 받는 세포막의 Ca

통로(Ca-channel) 및 세포막을 통한 Na-Ca의 교환등에 의해 공급된다고 알려져 있다(Mullins, 1981). 그러나 실제로 수축에 동원되는 Ca²⁺중 얼마 만큼이, 어느 경로를 통하여 동원되는지에 대해서는 아직 논란이 많다.

실험적으로 수축에 동원되는 Ca²⁺의 경로를 밝히기 위해서는 한 경로에만 영향을 미치는 실험방법이 개발되어야 하나 아직은 어려운 점이 많다. 흔히 쓰이는 방법으로는 근장그물로부터 Ca²⁺을 유리하는 화학물질 등을 처리하든지(Endo, 1977) 세포외의 K농도를 높이거나 전압조정법에 의해 막전압을 변동시키든지(Niedergerke, 1956; Kavalier, 1959; Morad and Orkand, 1971; Winegrad, 1979) 또는 세포외 Na⁺, Ca²⁺의 농도를 변화시켜 Na-Ca의 교환에 미치는 영향을 관찰하는 방법(Niedergerke, 1963; Chapman, 1974; Reuter, 1974; Chapman and Tunstall, 1980) 등이다.

본 실험에서는 개구리 심실근 조각을 높은 농도의 K⁺과 낮은 농도의 Na⁺을 함유한 경축액으로 처리하였는 바 이는 개구리 심실근의 경우 근장그물이 발달되어 있지않고(Hillman, 1975) 따라서 수축에 동원되는 Ca²⁺도 주로 세포막을 통하여 유입되므로(Anderson et al., 1977; Kavalier, 1978)세포내 저장고에 영향을 주는 방법은 별 도움을 주지 않거 때문이다.

본 실험에서 pH 7.4에서 높은 농도의 K⁺ 및 낮은

농도의 Na^+ 을 함유하는 링거용액을 처리하였을 때 유발된 경축은 처음 수분 이내에 최대장력에 도달한 후 서서히 감소하는 이상성(biphasic) 경축이었다. 개구리 심방근의 경우 고농도의 K에 의해 이상성 경축이 나타남은 잘 알려져 있다. Chapman과 Tunstall(1981)은 이에 대한 여러 저자들의 연구 결과를 그들의 논문 표 2에 잘 정리하였다. 이들은 K경축의 위상성 부분은 고농도의 K⁺에 의한 탈분극이 세포내 저장고로부터 Ca^{2+} 을 유리시키고 또 Ca통로를 통해 세포외로부터 유입되는 Ca^{2+} 등에 의한 것이고 긴장성 부분은 Na-Ca 교환펌프를 통해 나타난다고 한다. 심실근의 경우는 위상성 부분이 심방근처럼 뚜렷하지 않은데(Niedergerke, 1956; Goto et al., 1971) 이는 개구리 심실근이 심방근보다 더 근장근질이 빈약하기 때문이다(Hillman, 1975). 그러나 본 실험의 경우 K⁺이 높아진 만큼 Na^+ 의 농도가 낮아졌으므로 이의 효과를 고려해 넣어야 한다.

세포의 Na^+ 농도의 감소가 세포막을 통한 Ca^{2+} 의 이동에 미치는 영향은 일찍부터 알려져 왔다(Daly and Clark, 1921). 현재의 지견으로는 적어도 두가지 방향으로 설명된다(Langer, 1982). 그중 하나는 세포막 표면의 음이온을 띤 Na^+ , Ca^{2+} 결합부위에서의 상호관계이고(Lüttgau and Niedergerke, 1958; Chapman and Tunstall, 1969; Horačkova and Vassort, 1979), 다른 하나는 세포막내의 carrier를 통한 Na-Ca 교환이다(Reuter and Seitz, 1968; Glitsch et al., 1970; Bers and Ellis, 1982). 이러한 기전들을 통하여 세포의 Na^+ 이 낮아지면 세포표면의 음이온을 띤 결합부위에 붙은 Ca^{2+} 의 양이 많아져 세포내로의 이동이 증가하고 또 세포외 Na^+ 의 감소는 Na-Ca 교환펌프를 통한 Ca^{2+} 의 세포외 유출을 억제하여 결과적으로 세포내 Ca^{2+} 이 증가하고 장력이 증가하나 세포밖의 낮은 Na^+ 농도때문에 궁극적으로는 세포내 Na^+ 이 감소되고 이에따라 세포외 Ca^{2+} 의 유입이 줄어들어 장력은 기초상태로 되돌아온다고 생각된다.

본 실험의 이상성 경축 중 위상성 부분은 K 20mM에서는 거의 나타나지 않고 그 이상에서만 관찰되었는바 K경축의 역치가 20~30mM이라는 점(Niedergerke, 1956; Morad and Orkand, 1971; Chapman and Tunstall, 1981)으로부터 세포의 탈분극으로 인한 Ca 통로의 개방과 세포밖 Na^+ 의 감소로 세포표면의 결합부위에 Ca^{2+} 이 많이 결합하는데 기인된 것으로 보이며 K 80~100mM에서 긴장성 부분이 현저히 커지는 것은 세포밖의 Na^+ 농도가 30mM이상일 때는 이와 연관된 Ca^{2+} 의 세포외 유출이 포화되거나 30mM이하에서는 Ca^{2+} 의

유출도 저하된다는 보고(Langer et al., 1976; Wendt and Langer, 1977)로 미루어 세포밖 Na^+ 의 감소에 의한 Ca^{2+} 유출의 억제에 따른 결과로 해석된다.

경축후 연속장력이 회복되는 과정에서 일시적으로 경축전보다 장력이 크게 증가하였다가 서서히 감소하였는데 이러한 현상은 경축이 거의 관찰되지 않았던 K 20mM에서 가장 뚜렷하였다. K 20mM에서는 Ca통로가 열리지 않으나(Morad and Orkand, 1971; Vassort and Rougier, 1972) Na-Ca 교환기전에 의하여 Ca^{2+} 의 세포외 유출이 억제되기 위해서는 세포밖 Na^+ 이 30mM 이하가 되어야 하므로 K 20mM 경축용액은 관류액의 낮은 Na^+ 농도가 세포막 결합부위에 작용하여 Ca^{2+} 의 세포내 이동을 증가시킬 것으로 기대되나 실제로 장력이 발생하지 않고 경축 후 일시적으로 장력이 커진 사실은 설명하기가 힘들었다. 세포내로 유입된 Ca^{2+} 이 수축기구에 작용하지 않고 저장되어 있다가 정상Tris-완충용액 속에서 연속에 동원되어야 하는데 개구리 심실근의 경우 근장근질도 발달되어 있지 않고 미토콘드리아가 정상적 pH조건하에서 세포내저장고로써 큰 의의가 없다고 보면 또 다른 Ca저장고가 적어도 기능적으로는 세포막과 수축기구 사이에 존재할 가능성도 있다. K가 40mM이상 될 때에는 연속이 시작될 때까지의 시간이 점차 길어지므로 경축중 세포내로 이동하였던 Ca^{2+} 은 Na-Ca교환등으로 세포밖으로 이동하는 양이 많아져 결국은 세포내 Ca^{2+} 이 줄어들 것으로 추측된다. 첫번째 K 100mM 경축후에 연속장력이 경축전의 장력에 되돌아오지 않는다는 사실은 경축후에 적은 양이지만 심근의 세포내 저장고에 저장되어 있던 Ca^{2+} 까지 모두 세포외로 이동하였을 가능성을 보여주며 두번째부터는 Ca^{2+} 저장고가 충분히 채워지지 않은 상태에서 경축중 세포내로 이동한 만큼의 Ca^{2+} 이 회복과정에서 세포외로 이동한다면 경축 전후의 연속장력에 큰 차이가 없다는 것을 설명할 수 있다.

세포의 pH가 변하면 심근의 기능도 막대한 영향을 받음은 오래전부터 알려져 왔다(Gaskell, 1880; Daly and Clark, 1921). 심근의 수축을 촉진 혹은 억제하기 위해 H⁺이 작용할 가능성이 있는 부위로는 세포밖의 Ca통로(Chesnais et al., 1975; Wada and Goto, 1975; Kohlhardt et al., 1976), Na⁺-Ca²⁺, Na⁺-K⁺ 혹은 Na⁺-H⁺ 교환기전(Wada and Goto, 1975; Thomas, 1977; Poole-Wilson and Langer, 1979; Bers and Ellis, 1982; Vaughan-Jones et al., 1983), 근장근질과 같은 세포내 저장고(Nakamura and Schwarz, 1972), 수축기구 자체(Fabiato and Fabiato, 1978), 또는 세포내 H⁺과 Ca²⁺의 공동결합부위(Hess and Weingart, 1980;

Vaughan-Jones et al., 1983) 등을 들 수 있다.

본 실험에서 pH 6.4에서는 K⁺농도 20mM에서도 위상성 수축이 나타났으며 20~40mM범위에서 위상성 경축의 크기가 pH 7.4에서 보다 증가하였으며 K 80~100mM에서는 긴장성 부분이 증가하였다. 이에 대한 해석으로는 위상성 부분은 pH저하로 인한 Na-K ATPase의 기능저하로 세포내 Na⁺이 증가하고 이때문에 세포내 Ca²⁺농도가 증가한 것으로도 볼 수 있다. 긴장성 부분은 경축발생후 5~10분이 지나서 비교적 느리게 나타나므로 이는 세포의 H⁺이 세포내로 이동하여 세포내 산증을 유발하고 이에따른 세포내 Ca²⁺과의 공동결합부위, 특히 mitochondria와 사이에 Ca²⁺-H⁺교환이 이루어지(Wada and Goto, 1975) 결과적으로 세포내 Ca²⁺이 증가한 것으로 해석된다. 경축후의 회복과정도 pH 6.4에서는 기초장력으로 돌아오는데 시간이 걸리며 이는 세포내 pH가 정상으로 돌아오는 기전과 유관할 것으로 추측된다(Thomas, 1977; Deitmer and Ellis, 1980).

결 론

개구리의 심실근 조각을 대상으로 높은 농도의 K⁺과 낮은 농도의 Na⁺을 함유하는 Tris-완충용액으로 관류하여 이상성인 경축을 유발시키고 관류액의 pH를 높이거나 낮추었을 때의 변화를 관찰하여 수축에 필요한 Ca²⁺의 공급원과 경로를 추적하고 이에대한 H⁺의 영향을 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. pH 7.4일 때 K⁺농도 40~100mM사이에서 이상성 경축을 관찰할 수 있었다. 위상성 부분 및 긴장성 부분 둘 다 K⁺농도가 높아질 수록 장력이 커졌으며 이완후 연속이 시작될 때까지의 시간도 K⁺농도가 높을 수록 길었다. K 20mM에서는 정상용액으로 갈아줄 때 일시적으로 장력이 커졌으며 K 80mM까지는 경축전후의 연속장력에 차이가 없었으나 K 100mM 경축후에는 경축전 장력으로 돌아오지 않았다.

2. 관류액의 pH를 8.4로 올렸을 때 연속장력은 서서히 감소하였으며 6.4로 낮추었을 때는 처음 수 분간은 장력이 증가하다가 결국은 감소하였다.

3. pH를 8.4로 올렸을 때 K 40mM이상에서 경축이 나타났으며 그 모습은 pH 7.4에서와 유의한 차이가 없었다.

4. pH를 6.4로 낮추었을 때는 K 20mM에서도 경축이 나타났으며 K 100mM에서는 시간이 지남에 따라 긴장성 부분이 오히려 위상성 장력보다도 커졌다. 연속이 시작될 때까지의 시간은 상당히 길어졌다.

이상의 실험결과들로부터 고농도 K⁺- 저농도 Na⁺로 유발된 경축에 대하여 H⁺은 초기에는 Na-K펌프의 억제를 통해, 나중에는 세포내 pH의 변화를 통해 작용할 것으로 사료된다.

—ABSTRACT—

Effect of Extracellular pH on Contracture in Frog Ventricle

Jun Kim, Joon Park and Young Bae Park
Department of Physiology, College of Medicine
Seoul National University

Potassium contractures were induced in isolated frog(*Rana temporaria*) ventricular strips with tris-buffered Ringer solutions containing 20~100mM K ions and concomitantly less Na ions at room temperature(18 to 20°C). External pH was raised up to 8.4 or lowered down to 6.4 and its effect upon K-contracture was investigated to elicit the mechanism of action of H ions on excitation-contraction coupling in frog ventricular myocardium.

Followings are the results obtained:

1. At normal pH, biphasic contracture was evoked at external K concentration of 40mM. On raising K concentration to 100mM, contracture tension increased gradually and the interval between the end of contracture and resuming of twitch was also prolonged. When K-20mM solution was replaced by normal Ringer solution, twitch tension developed rapidly and much higher tension than control twitch was elicited transiently. After the first application of K-100mM fully recovered tensions were always smaller than those of control twitch tensions.

2. On raising external pH from normal to 8.4, there were no significant changes in K-induced contractures comparing to those evoked under normal pH.

3. On lowering external pH down to 7.4, phasic portion of K-contractures were augmented within the range of 20 to 40mM K and tonic portions increased gradually with time elapsed at 100mM K ion concentrations.

From the above results it was concluded that H ion acted upon contracture induced by high K with

low Na ions via the inhibition of Na-K pump during the early phase and changes in intracellular pH during the later phase.

REFERENCES

- Anderson, T.W., Hirsh, C. and Kavalier, F.: *Mechanism of activation in frog ventricular muscle*. *Circ. Res.*, **41**:472-480, 1977.
- Bers, D.M. and Ellis, D.: *Intracellular calcium and sodium activity in sheep heart Purkinje fibers: effect of changes of external sodium and intracellular pH*. *Pflügers Arch.*, **393**:171-178, 1982.
- Chapman, R.A.: *A study of the contractures induced in frog atrial trabeculae by a reduction of the bathing sodium concentration*. *J. Physiol.*, **237**:295-313, 1974.
- Chapman, R.A. and Tunstall, J.: *Evidence for the site of Na/Ca antagonism in cardiac muscle of frog, Rana pipiens*. *J. Physiol.*, **201**:9-11P, 1969.
- Chapman, R.A. and Tunstall, J.: *The interaction of sodium and calcium ions at the cell membrane and the control of contractile strength in frog atrial muscle*. *J. Physiol.*, **305**:109-123, 1980.
- Chapman, R.A. and Tunstall, J.: *The tension-depolarization relationship of frog atrial trabeculae as determined by potassium contractures*. *J. Physiol.*, **310**:97-115, 1981.
- Chesnais, J.M., Coraboeuf, E., Sauvat, M.P. and Vassas, J.M.: *Sensitivity to H, Li and Mg ions of the slow inward sodium current in frog atrial fibers*. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, **7**:627-642, 1975.
- Daly, I. de Burgh and Clark, A.J.: *The action of ions upon the frog's heart*. *J. Physiol.*, **54**:367-383, 1921.
- Deitmer, J.W. and Ellis, D.: *Interaction between the regulation of the intracellular pH and sodium activity of sheep cardiac Purkinje fibers*. *J. Physiol.*, **304**:471-488, 1980.
- Endo, M.: *Calcium release from the sarcoplasmic reticulum*. *Physiol. Rev.*, **57**:71-108, 1977.
- Fabiato, A. and Fabiato, F.: *Effects of pH on the myofilaments and the sarcoplasmic reticulum of skinned cells from cardiac and skeletal muscles*. *J. Physiol.*, **276**:233-255, 1978.
- Glitsch, H.G., Reuter, H. and Scholz, H.: *The effect of the internal sodium concentration on calcium fluxes in isolated guinea pig auricles*. *J. Physiol.*, **209**:25-43, 1970.
- Goto, M., Kimoto, Y. and Kato, Y.: *A study on excitation contraction coupling of bull frog ventricle with a voltage clamp technique*. *Jap. J. Physiol.*, **27**:159-173, 1971.
- Hess, P. and Weingart, R.: *Intracellular free calcium modified by pH_i in sheep cardiac Purkinje fibers*. *J. Physiol.*, **307**:60-61P, 1980.
- Hillman, A.K.K.: *Ultrastructural studies of frog myocardium*. *Ph.D. Thesis, University of Leicester, cited from Chapman and Tunstall (1981)*.
- Horackova, M. and Vassort, G.: *Sodium-calcium exchange in regulation of cardiac contractility: Evidence for an electrogenic, voltage-depedent mechanism*. *J. Gen. Physiol.*, **73**:403-424, 1979.
- Kavalier, F.: *Membrane depolarization as a cause fo tension development in mammalian ventricular muscle*. *Am. J. Physiol.*, **197**:968-970, 1959.
- Kavalier, F., Anderson, T.W. and Fisher, V.: *Sarcolemmal site of caffeine's inotropic action on ventricular muscle of the frog*. *Circ. Res.*, **42**:285-290, 1978.
- Kohlhardt, M., Haap, K. and Figulla, H.R.: *Influence of low extracellular pH upon the Ca inward current and isometric contractile force in mammalian ventricular myocardium*. *Pflügers Arch.*, **366**:31-38, 1976.
- Langer, L.A., Nudd, L.M. and Ricchiuti, N.V.: *The effect of sodium deficient perfusion on calcium exchange in cardiac tissue culture*. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, **8**:321-328, 1976.
- Lüttgau, H.C. and Niedergerke, R.: *The antagonism between Ca and Na ions on the frog's heart*. *J. Physiol.*, **143**:486-505, 1958.
- Morad, M. and Orkand, R.K.: *Excitation-contraction coupling in frog ventricle: evidence from voltage clamp studies*. *J. Physiol.*, **219**:167-189, 1971.
- Mullins, L.J.: *Ionic transport in heart*. *Chap. 8, pp. 108-124, Raven Press, New York, 1981*.
- Nakamaru, Y. and Schwartz, A.: *The influence of hydrogen ion concentration on calcium binding and release by skeletal muscle sarcoplasmic reticulum*.

- J. Gen. Physiol.*, 59:22-32, 1972.
- Niedergerke, R.: *The potassium chloride contracture of the heart and its modification by calcium.* *J. Physiol.*, 134:584-599, 1956.
- Niedergerke, R.: *Movements of Ca in frog heart ventricles of rest and during contractures.* *J. Physiol.*, 167:515-550, 1963.
- Poole-Wilson, P.A. and Langer, G.A.: *Effects of acidosis on mechanical function and Ca^{+2} exchange in rabbit myocardium.* *Am. J. Physiol.*, 236:H525-H533, 1979.
- Reuter, H.: *Exchange of calcium ions in the mammalian myocardium: mechanisms and physiological significances.* *Circ. Res.*, 34:599-605, 1974.
- Reuter, H. and Seitz, N.: *The dependence of calcium efflux from cardiac muscle on temperature and external ion composition.* *J. Physiol.*, 195:45-70, 1968.
- Thomas, R.C.: *The role of bicarbonate, chloride and sodium ions in the regulation of intracellular pH in snail neurons.* *J. Physiol.*, 273:317-338, 1977.
- Vassort, G. and Rougier, O.: *Membrane potential and slow inward current dependence of frog cardiac mechanical activity.* *Pflügers Arch.*, 331:191-203, 1972.
- Vaughan-Jones, R.D., Lederer, W.J. and Eisner, D.A.: *Ca^2 ions can affect intracellular pH in mammalian cardiac muscle.* *Nature*, 301:522-524, 1983.
- Wada, W. and Goto, M.: *Effects of pH on the processes of excitation-contraction coupling of bull frog atrium.* *Jap. J. Physiol.*, 25:605-620, 1975.
- Wendt, I.R. and Langer, L.A.: *The sodium-calcium relationship in mammalian myocardium: effect of sodium deficient perfusion on calcium fluxes.* *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 9:551-561, 1977.
- Winegrad, S.: *Electromechanical coupling in heart muscle.* In: *Handbook of Physiology, section 2: The Cardiovascular System, Vol. I, Chap. 10, pp. 393-428, ed. Berne, R.M., American Physiological Society, Bethesda, Maryland, 1976.*