

히스타민이 저분극된 토끼 유두근의 전기적 및 기계적 성질에 미치는 영향

Effect of histamine on the electrical and mechanical properties of potassium depolarized rabbit papillary muscle

서울대학교 의과대학 생리학교실

엄 용 의 · 김 중 수

서 론

막전압 고정법(voltage clamp technique)등의 전기생리학적 방법을 통하여 활동전압이 일어나는 도중 완만내향전류(slow inward current)가 생기고 여러 종류의 동물에서 이 완만내향전류는 주로 Ca이온의 이동에 의하여 일어남이 밝혀졌다(Morad and Goldman, 1973). Ca이온에 의한 완만내향전류는 세포속 Ca저장고를 계속 채우고 또한 수축에 필요한 Ca을 유지시키는 기전을 통하여 심근의 수축 강화작용을 나타내는데 아주 중요한 역할을 하고 있다(Bassingthwaight and Reuter, 1972; Trautwein et al., 1975; Fabiato and Fabiato, 1977). 많은 연구자들에 의하여 수축의 변화를 초래하는 약물이나 조건의 작용기전을 완만내향전류의 변화에 그 원인을 찾으려는 시도가 많았으며 한편으로는 Na 이온의 이동에 의해 일어나는 급속내향전류를 세포 밖 K이온 농도를 높여 비활성화 시키고 거의 순수한 Ca전류를 분리할 수 있게 되었고 이 방법을 이용하여 catecholamine의 작용방식을 설명할 수 있게 되었다(Pappano, 1970; Thyrum, 1974).

이에 저자는 몇가지 동물에서 히스타민이 심근 수축 강화작용을 나타낸다는 보고(Trendelenburg, 1960)에 입각하여 완만내향전류에 미치는 히스타민의 효과를 관찰하여 작용기전의 일부를 밝히고자 27mM K⁺으로 심근을 저분극 시켜서 급속내향전류를 없애고 히스타민 농도를 변화시켜 유두근의 활동전압 및 수축을 기록 분석하였다.

실 험 방 법

1.5kg 내외의 토끼를 후두부를 감나하고 심장을 적출하여 100% O₂로 30분 이상 평형을 이루게 한 실은

의 Tris 완충용액(NaCl 158, KCl 4.0, CaCl₂ 2.0, MgCl₂ 1.0, Tris 8.3 mM, pH 7.30)으로 채워진 준비 용기 속에 넣고 우심실에서 길이 5mm 내외, 무게(wet weight) 1~2mg되는 유두근을 등장성(isometric) 근육 수축 변환기(force transducer, Grass FT. 03)에 연결된 근육고정기에 확대경 밑에서 6.0가량의 무명실로 심장에 붙어 있는 길이대로 고정, 적출하여 같은 온도에서 1시간 가량 회복시켰다. 그런후에 용량 3ml의 perspex 실험용기에 35°C의 중탄산완충 Tyrode용액(NaCl 149, KCl 4.0, CaCl₂ 2.0, MgCl₂ 1.0, NaHCO₃ 10.0, pH 7.30~7.35)을 3% CO₂-97% O₂로 포화시킨 다음 관류 속도 6~10ml/min로 관류시키고 있는 상태에서 근육을 옮겨 1시간 유지하고 실험을 시작하였다. 히스타민 투여전에 정상 대조 수축 및 막전압을 측정하고 히스타민 농도는 0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30μM의 순으로 증가시켰으며 27mM K⁺ Tyrode 용액은 Na 대신 K를 대체하여 같은 삼투질 농도를 유지하게 하였다. 근 수축 기록은 변환기를 통하여 기록기(Device제)에 연결 기록하였고 안정 막전압 및 활동전압은 끝의 직경이 0.5μ이인 유리 미세전극을 3M KCl용액으로 채워 끝전압(tip potential)이 5mV이하인 것 그리고 전극 저항이 10~20 MΩ인 것만을 골라서 사용하였다. 이 전극을 입력 임피던스 10¹²Ω인 미세전극 전치증폭기를 통하여 오실로스코프(Tektronix 564B 및 Advance OS 2200)에 기록 사진 촬영하였으며 자극은 수치식 자극기(digital stimulator, MEC-6011)를 써서 점자극(point stimulation)을 가하여 했으며 정상 대조군에서는 1 Hz, 27mM K⁺로 저분극시킨 군에서는 0.33Hz의 자극빈도를 택하였고 자극의 크기는 역치의 2~3배로 하였다.

실 험 성 적

히스타민이 정상 Tyrode용액에서 수축강화 작용을

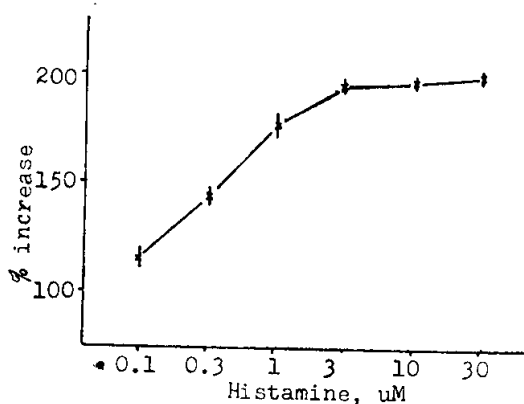


Fig. 1. Concentration-dependent changes in peak tension of rabbit papillary muscle in normal Tyrode solution. Peak tension is expressed as % increase of control value and vertical bars represent standard errors.

대조값의 증가율로 표시한 것이 그림 1이다. 0.1 μM 의 히스타민 농도에서 112 \pm 5.2%로 수축증가가 있었고 0.3 μM 에서 135 \pm 4.6%, 1 μM 에서 161 \pm 6.9%, 3 μM 에서 177 \pm 3.3%, 10 μM 에서 177 \pm 3.0%, 30 μM 에서 180 \pm 3.7%(평균 \pm 표준오차)로 증가함을 보인다.

히스타민 농도 3 μM 이상부터는 농도증가에 상관없이 수축은 거의 증가하지 않았으며 최고값에 도달하였다.

27mM K⁺이 포함된 Tyrode 용액으로 30분 이상 관류한 후 정상 자극의 크기(역치의 2~3배)로 자극을 계속하여도 활동전압 및 수축은 일어나지 않았고 안정막 전압은 정상 대조값 $-80 \pm 2.2\text{mV}$ 에서 $-41 \pm 1.7\text{mV}$ 로 저분극 되었다. 히스타민을 0.1~30 μM 의 범위에서 투여하였는데 거의 실무울에 따르는 것처럼 0.1 μM 이상의 농도에서는 활동전압과 수축이 회복되었다. 그림 2에 정상 대조 활동전압과 10 μM 의 히스타민을 첨가하

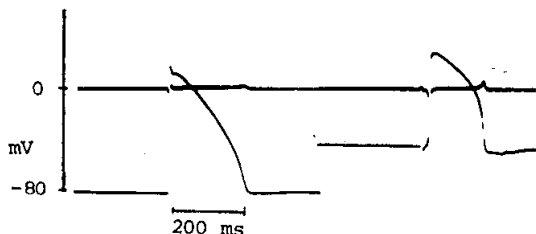


Fig. 2. Effect of 10 μM histamine on action potential in rabbit papillary muscle partially depolarized by 27mM K⁺. Left figure is action potential in normal Tyrode solution and right one is that restored by 10 μM histamine in 27mM K⁺ Tyrode solution.

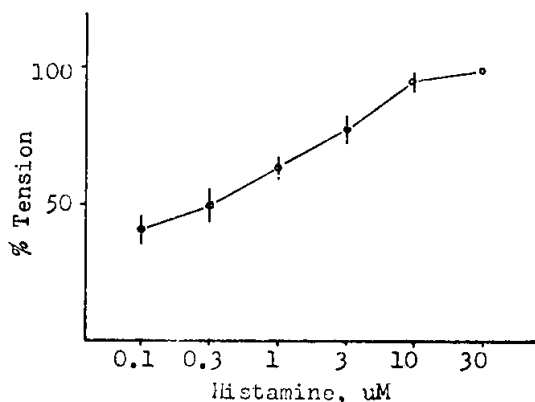


Fig. 3. Concentration-dependent changes in peak tension of the rabbit papillary muscle partially depolarized by 27mM K⁺. Peak tension is expressed as percentage of tension in 30 μM histamine and vertical bars indicate standard errors.

여 저분극된 유두근에 활동전압을 일으킨 예를 보인다.

안정막전압이 -80mV 에서 -40mV 로 저분극 되었고 지나치기 전압의 크기는 정상 대조군에 비하여 저분극된 상태에서 오히려 커진것을 알 수 있다. 이와같이 저분극된 유두근에 히스타민을 가하여 활동전압과 수축이 회복되었는데 이때에 나타나는 활동전압의 여러 parameter와 수축력은 히스타민 농도에 따라 많은 변화를 보였다.

그림 3에 히스타민 농도에 따라 수축력이 달라지는 모양을 보인다. 수축력은 히스타민 30 μM 에서의 수축력을 기준으로 %로 표시한 값이다. 각 농도에서의 수축의 크기는 0.1 μM 에서 41 \pm 4.5%, 0.3 μM 에서 50 \pm 5.7%, 1 μM 에서 64 \pm 4.0%, 3 μM 에서 78 \pm 5.3%, 10 μM 에서 96 \pm 3.7%로서 정상 대조군에서는 3 μM 에서부터 거의 최고값에 이른데 비하여 저분극 군에서는 10 μM 에서야 비로소 최고값에 가까운 값을 보였다.

활동전압이 일어나는 최대 탈분극 속도(dV/dt_{max} , \dot{V}_{max}) 또한 히스타민 농도에 따라 변화하였는데 그 변화양상을 그림 4에 보인다. 0.1 μM 히스타민 농도에서는 6 \pm 0.8V/sec였고 농도가 0.3, 1, 3, 10, 30 μM 로 증가함에 따라 9.9 \pm 0.4, 14 \pm 0.5, 15.6 \pm 0.3, 16.2 \pm 0.4, 16.7 \pm 0.3V/sec로 증가하였다. \dot{V}_{max} 의 증가양상은 정상 대조군에서의 수축증가양상과 거의 비슷하여 3 μM 부터 거의 최고값에 도달하였다.

다음 활동전압의 크기 특히 지나치기전압 또한 히스타민 농도증가에 따라 증가하였다. 히스타민 농도 0.1 μM 에서 28 \pm 0.8mV, 0.3 μM 에서 32 \pm 0.6mV, 1 μM 에

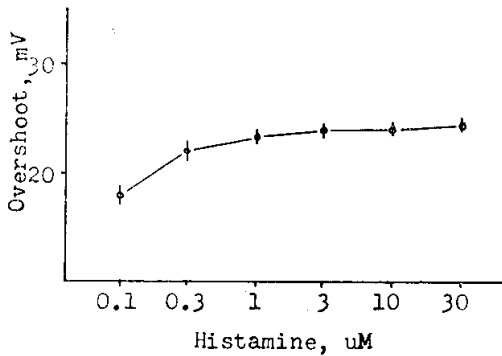


Fig. 4. Concentration-dependent changes in maximum rate of depolarization of action potential restored by histamine in partially depolarized rabbit papillary muscle. Vertical bars represent standard errors.

서 $33 \pm 0.3 \text{ mV}$, $3 \mu\text{M}$ 에서 $33.5 \pm 0.4 \text{ mV}$, $10 \mu\text{M}$ 에서 $34 \pm 0.4 \text{ mV}$, $30 \mu\text{M}$ 에서 $35 \pm 0.2 \text{ mV}$ 로 $0.3 \mu\text{M}$ 이상의 농도부터는 거의 최고값을 나타냈다. 이와같은 경향을 그림 5에 보인다.

활동전압의 기간은 탈분극 시작부터 90% 재분극 되는 시간을 잡았는데 히스타민 농도에 따라 약간 달라지긴 하였으나 그 변화폭이 너무 작고 각 농도에서의 각 개체별 변화폭이 아주 커서 통계적으로 유의 있는 변화는 볼 수 없었다. 그림 6에 활동전압의 기간이 히스타민 농도에 따라 달라지는 것을 보였는데 히스타민 농도 0.1, 0.3, 1, 3, 10, $30 \mu\text{M}$ 로 증가함에 따라 기간은 220 ± 4.1 , 232 ± 5.3 , 225 ± 6.8 , 222 ± 4.7 , 224 ± 7.6 , $223 \pm 8.1 \text{ ms}$ 로 변화하였다.

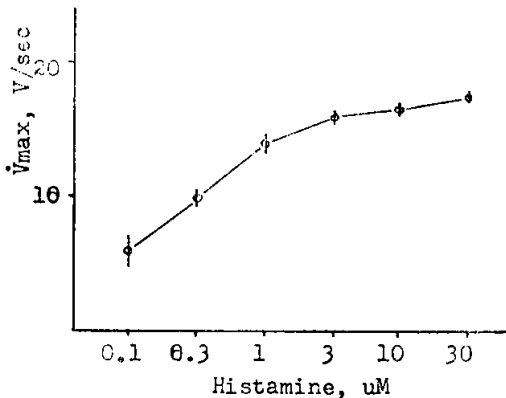


Fig. 5. Concentration-dependent changes in overshoot voltage of action potential restored by histamine in the rabbit papillary muscle partially depolarized by 27 mM K^+ . Vertical bars represent standard errors.

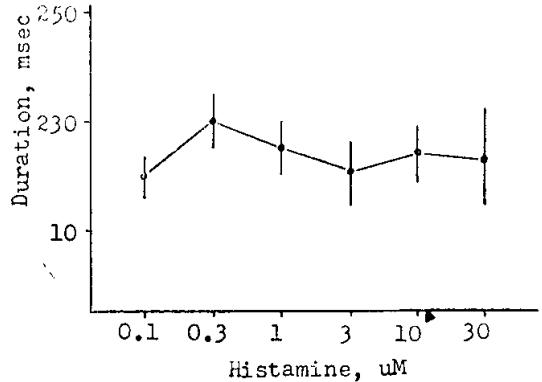


Fig. 6. Concentration-dependent changes in duration of action potential restored by histamine in the rabbit papillary muscle partially depolarized by 27 mM K^+ . Vertical bars represent standard errors.

고 찰

완만내향전류의 특성을 알기 위하여 급속내향전류와 분리를 시도하여 그 방법으로 막전압 고정법이 널리 이용되어 왔다. 그러나 심장근과 같이 많은 세포가 모인 조직에서는 모든 세포가 동일한 막전압으로 균일하게 고정시킬 수 없기 때문에 (Johnson and Lieberman, 1971) 세포막을 통한 이온들의 전류를 재는데 많은 어려운 점이 제시되어 왔다. 그러나 세포밖 K^+ 이온 농도를 올려주어 저분극을 시키면 충분히 모든 세포를 동일한 막전압으로 유지할 수 있으며 또한 급속내향전류를 비환성화 시키고 완만내향전류만을 분리할 수 있게 되었다 (Pappano, 1970). 이런 상태에서의 완만내향전류는 거의 Ca^{2+} 이온의 이동에 의해서 일어나고 여러 가지 종류의 Ca^{2+} 이온 이동에 영향을 주는 물질들의 작용기전을 증명할 수 있게 되었다 (Schneider and Sperelakis, 1975; Thyrum, 1974).

히스타민은 27 mM K^+ 으로 저분극된 유두근의 활동전압 및 수축을 회복시켰는데 수축력은 거의 농도 증가에 비례하여 증가하였으며 이때 발생된 수축은 시간적으로는 정상보다 느렸다. 이는 Ca^{2+} 이온의 이동에 의하여 나타난 수축이 정상시에 나타나는 것과는 차이가 있음을 나타내며 이런 현상은 다른 수축강화 물질에서도 볼 수 있었다 (Pappano, 1970; Inui and Imamura, 1976). 또한 Ca^{2+} 전류량 혹은 Ca^{2+} 이온 전도도 (conductance)와 관련이 많은 활동전압의 크기 특히 지나치기 (overshoot) 전압의 크기 및 최대탈분극 속도 (\dot{V}_{max})가

모두 히스타민 농도증가에 따라 증가함을 보아서 히스타민의 수축강화 작용이 일차적으로 세포막을 통한 Ca 이온의 이동량 혹은 Ca이온의 전도도를 증가시키는데 있다고 볼 수 있겠다. 그리고 활동전압의 기간은 Ca이온 이동량 혹은 K전류에 따라 많은 변화를 볼 수 있는데 (Noble, 1975) 세포막 Ca량이 많은 경우나 Ca 전류량이 증가하면 활동전압의 기간은 단축된다 (Kass and Tsien, 1976). 히스타민에 의한 Ca 전류의 증가는 활동전압의 기간을 단축시킬 것이 예상되었으나 유의한 변화를 볼 수 없었다. 이는 활동전압 기간 자체가 개체에 따라 차이가 크고 그리고 활동전압의 기간을 결정하는데 관여하는 인자의 복잡성에 기인할 것 같다.

한편 히스타민이 심장근 세포속의 제2의 전달자 (messenger)로 알려진 c-AMP 농도를 증가시킨다는 보고가 있으며 (Kukovetz et al., 1973; Fabiato and Fabiato, 1975) 이것은 catecholamine의 작용과 유사하다. 따라서 히스타민의 수축강화 작용은 catecholamine과 같이 세포내 c-AMP 농도를 증가시키는 것 그리고 세포막을 통한 Ca이동량 즉 Ca전류를 증가시키는 것 등으로 설명할 수 있을 것 같다.

결 론

히스타민이 토끼 유두근의 전기 생리학 및 기계적 성질에 미치는 영향을 관찰, 분석하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 정상 Tyrode 용액에서 히스타민은 $10^{-7}M$ 부터 $10^{-5}M$ 에 이르기까지 수축을 증가시켰다.
2. 정상 안정막전압은 $-80 \pm 1.3mV$ 였고 $27mM K^+$ 이 든 Tyrode 용액에서 유두근의 안정막전압은 $-41 \pm 1.1mV$ 로 저분극되었으며 활동전압은 일어나지 않았다.
3. $27mM K^+$ Tyrode 용액에서 히스타민은 $0.1\mu M$ 의 농도 이상에서 활동전압 및 수축을 회복시켰다.
4. 저분극된 유두근의 수축력은 히스타민 농도에 따라 변화하였는데 $30\mu M$ 때를 기준으로 하여 $41 \pm 4.5 \sim 96 \pm 3.7\%$ 의 범위에서 증가하였다.
5. 최대 탈분극 속도 (\dot{V}_{max})는 히스타민 농도에 따라 $6 \pm 0.8V/sec$ 에서 $16.7 \pm 0.3V/sec$ 로 증가하였으며 활동전압의 지나치기 전압은 $28 \pm 0.8mV$ 에서 $35 \pm 0.2mV$ 로 증가하였다.
6. 활동전압의 기간은 히스타민 농도에 따라 달라졌으나 유의있는 변화는 아니었다.

—ABSTRACT—

Effect of histamine on the electrical and mechanical properties of potassium depolarized rabbit papillary muscle

Yung E Earm and Joong Soo Kim

Department of Physiology, College of Medicine
Seoul National University

Electrophysiological and mechanical effects of histamine were investigated in rabbit papillary muscle partially depolarized by elevation of potassium concentration to $27mM$.

1. Histamine increased peak tension from $112 \pm 5.2\%$ in $0.1\mu M$ to $180 \pm 3.7\%$ in $30\mu M$ of control value in normal Tyrode solution.

2. In $27mM K^+$ Tyrode solution, papillary muscle was depolarized from $-80 \pm 2.2mV$ of normal resting potential to $-41 \pm 1.7mV$ and there were no propagated action potential and contraction by ordinary stimulation.

3. Action potential and contraction were restored in the concentration of $0.1 \sim 30\mu M$ histamine in $27mM K^+$ Tyrode solution.

4. Mechanical tension changed with the concentration of histamine, from $41 \pm 4.5\%$ in $0.1\mu M$ to $96 \pm 3.7\%$ in $10\mu M$ of the value of $30\mu M$ histamine.

5. Maximum rate of depolarization (\dot{V}_{max}) and overshoot voltage of action potential in depolarized papillary muscle increased with the concentration of histamine in the range of $0.1 \sim 30\mu M$ from $6 \pm 0.8 V/sec$ and $28 \pm 0.8mV$ in $0.1\mu M$ to $16.7 \pm 0.3 V/sec$ and $35 \pm 0.2mV$ in $30\mu M$.

6. Duration of action potential restored by histamine was not changed significantly with its concentration.

REFERENCES

- Bassingthwaight, J. B. and H. Reuter: *Calcium movements and excitation-contraction coupling in cardiac cells. In: Electrical phenomena in the heart. (de Mello ed.) Academic Press, New York. 1972.*
- Fabiato, A. and F. Fabiato: *Relaxing and inotropic*

- effect of cyclic AMP on skinned cardiac cell. Nature* 253:556-558, 1975.
- Fabiato, A. and F. Fabiato: *Calcium release from sarcoplasmic reticulum. Circ. Res.* 40:119-129, 1977.
- Inui, J. and H. Imamura: *Restoration by histamine of calcium-dependent electrical and mechanical response in the guinea-pig papillary muscle partially depolarized by potassium. Naunyn-Schmiedberg's Arch. Pharmacol.* 294:261-269, 1976.
- Johnson, E. A. and M. Lieberman: *Heart; Excitation and contraction. Ann. Rev. Physiol.* 33:479-532, 1971.
- Kass, R. S. and R. W. Tsien: *Control of action potential duration by calcium ions in cardiac Purkinje fibers. J. Gen. Physiol.* 67:599-617, 1976.
- Kukovetz, W. R., G. Pösch and A. Wurm: *Effects of catecholamines, histamine and oxyfedrine on the isotonic contraction and cyclic AMP in the guinea-pig heart. Naunyn-Schmiedberg's Arch. Pharmacol.* 278:403-424, 1974.
- Morad, M. and Y. Goldman: *Excitation-contraction coupling in heart muscle: Membrane control of development of tension. Prog. Biophys. Mol. Biol.* 27:257-313, 1973.
- Noble, D. *The initiation of the heart beat. Oxford University Press. Oxford, 1975.*
- 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.
- Schneider, J. A. and N. Sperelakis: *Slow calcium and sodium responses induced by isopreterenol and methylxanthines in isolated perfused guinea-pig hearts exposed to elevated potassium. J. Mol. Cell. Cardiol.* 7:249-273, 1975.
- Thyrum, P. T.: *Inotropic stimuli and systolic transmembrane calcium flow in depolarized guinea-pig atria. J. Pharmacol. Exp. Ther.* 188:169-179, 1974.
- Trautwein, W., T. F. McDonald and O. Tripathi: *Calcium conductance and tension in mammalian ventricular muscle. Pflügers Arch.* 354:55-74, 1975.
- Trendelenburg, U.: *The action of histamine and 5-hydroxytryptamine on isolated mammalian atria. J. Pharmacol. Exp. Ther.* 130:450-460, 1960.