

칼슘, 란타넘, 망간 이온이 토끼 유두근 완만내향전류 및 수축에 미치는 영향

Effect of Calcium, Lanthanum and Manganese ions on the Slow Inward Current and Contraction in the potassium depolarized rabbit papillary muscle

서울대학교 의과대학 생리학교실

(지도: 남기용 교수)

임 용 의

서 론

심장근 활동전압의 고원기(高原期)는 이온들의 내향전류와 외향전류의 복잡한 균형에 의하여 유지된다(Fozzard and Gibbons, 1973; Trautwein, 1973 a, b; Beeler and Reuter, 1977). 이 가운데 완만내향전류는 시간에 따르는 변화성(kinetics)(Rougier et al., 1968), 세포외액의 Ca^{++} 농도에 좌우되는 점(Reuter, 1967), 그리고 tetrodotoxin에 대한 무반응성(Rougier et al., 1969) 등으로 급속내향전류와는 구분된다. 급속내향전류가 Na^+ 의 세포내로의 이동 즉 i_{Na} 에 의한 급속 탈분극(Weidmann, 1955)인데 반하여 완만내향전류에는 Na^+ 와 Ca^{++} 이 모두 관여하며 특히 Ca^{++} 이 더 큰 부분을 차지한다(Reuter, 1973; Beeler and Reuter, 1977; Mainwood and McGuigan, 1977).

완만내향전류(i_s)는 흥분-수축 연결에 가장 기본적인 역할을 하는 Ca^{++} 의 관여로 주목을 받아 왔다(Bassingthwaite and Reuter, 1972; Langer, 1973). 즉 탈분극이 일어나 Ca^{++} 이 세포 속으로 이동하고 이동된 Ca^{++} 에 의하여 세포 속 Ca^{++} 저장고로부터 더 많은 Ca^{++} 을 유리시켜 수축 기구가 수축을 하게 된다(Endo et al., 1970; Ford and Podolsky, 1970; Coraboeuf, 1974).

완만내향전류에 의한 고원기는 이온들의 이동 방향의 합계가 밖으로 향하게 되면 재분극이 시작되는데 이때는 고원기 유지 전류인 완만내향전류, i_s 의 비활성화 및 K^+ 의 내향성 변칙 조정(anomalous rectification, i_{K1})과 지연 조정(i_x)에 의한 외향전류에 의한 것이다(Noble and Tsien, 1972; Noble, 1975; Beeler and Reuter, 1977).

이와 같은 실험결과들은 막전압 고정법에 의하여 막

전압을 $-50 \sim -40mV$ 로 고정하여 급속내향전류를 비활성화시키고 완만내향전류를 분리할 수 있게 됨으로써 밝혀졌는데 최근에는 심장근과 같이 세포결체 조직에서는 균일하게 막전압을 고정하기 어려우며 기록된 전류의 방향, 크기 등을 잘못 해석할 수 있다는 반론도 있기는 하다(Johnson and Lieberman, 1971).

이 논문은 세포외액의 K^+ 농도를 올려(Pappano, 1970) 막전압을 $-40 \sim -45mV$ 로 고정할 후 histamine으로 완만내향전류를 증강시켜(Inui and Imamura, 1976; 임·김, 1978) 활동전압 및 수축을 증가시키고 세포외액의 Ca^{++} 농도 변동에 따른 이들의 변화, 완만내향전류 억제제인 La^{+++} , Mn^{++} 을(Reuter, 1973) 가하여 활동전압 및 수축의 변화를 관찰하고 Ca^{++} 에 의한 완만내향전류의 특성을 분석하여 보고하는 것이다.

실험 방법

집토끼 심장을 적출하여 준비용기 속에서 100% O_2 로 평형을 이룬 Tris-완충용액(표 1-A)에 넣고 우심실에서 무게 1~2mg, 길이 4~7mm의 유두근을 등장성(isometric) 근 수축 변환기(Grass FT .03)에 연결된 근육 고정기에 심장에 붙어있던 길이대로 적출, 고정하여 실온에서 1시간 가량 방치하였다. 그런 후에 35°C의 HCO_3^- 완충 Tyrode용액(표 1-B)을 3% CO_2 -97% O_2 로 평형을 이룬 실험용기(용량 3ml)에 옮겨 관류속도 6~10ml/min로 30~40분간 유지하고 실험하였다.

Ca^{++} 실험군은 27mM K^+ 을 포함하는 Tyrode용액(Na 23mM 대신 K 23mM로 대체)에 histamine 10 μ M을 가하고 Ca^{++} 농도를 0.5, 1.0, 2.0, 4.0mM 순으로 변화시켰고, Mn^{++} 실험군에서는 2mM Ca^{++} 이 포함된 27mM K^+ -Tyrode 용액에 10 μ M의 histamine을 첨가하고

Table 1. Composition of Solutions for Perfusion (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	8.3
pH	7.30
B. Bicarbonate buffer solution with 97% O ₂ +3% CO ₂ (35°C)	
NaCl	149
KCl	4.0
CaCl ₂	2.0
MgCl ₂	1.0
pH	7.30~7.35
(titrate with NaHCO ₃)	

Mn⁺⁺농도를 30, 100, 300μM로 증가시켰으며 La⁺⁺⁺실험군에서는 100% O₂로 평형을 이루고 있는 Tris—완충 Tyrode 용액에 2mM Ca⁺⁺ 및 10μM histamine을 가하고 La⁺⁺⁺농도를 10, 30, 50, 100μM로 증가시켜 각 농도에서의 수축, 장력의 변화속도(dT/dt), 활동전압 및 V_{max}(최대 탈분극 속도, (dV/dt) max)를 기록하였는데 모든 농도에서 15~20분 유지한 다음 그때 값을 그 농도에서의 대표치로 취하였다.

수축은 등장성 수축 변환기(Grass FT.03형)를 기록기(Device제)에 연결 기록하였고 dT/dt는 시정수 75μ인 미분기로 기록기에 기록하였다. 활동전압은 끝의 직경이 0.5μ이하인 유리 미세전극을 3M KCl로 채워진

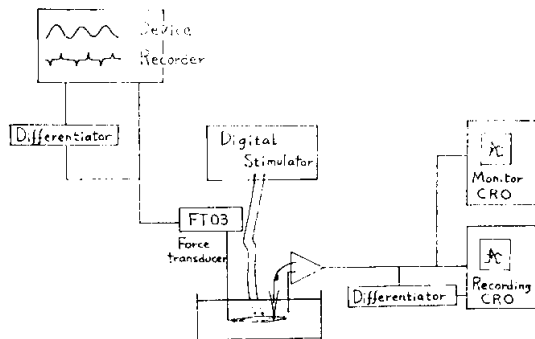


Fig. 1. System for recording the transmembrane potential and contraction with its first derivatives in rabbit papillary muscle.

극 저항이 10~20MΩ인 것을 써서 입력 임피던스가 10¹² Ω인 미세전극 전치 증폭기를 통하여, V_{max}는 전치 증폭기에서 나온 활동전압을 미분기에 연결하고 그 미분치를 활동전압과 함께 2대의 오실로스코프(Tektronix 564B, Advance OS 2200)에 동시 기록하여 사진 촬영하였으며, 자극은 수치식 자극기(MEC-6011)를 이용하여 0.25Hz에서 역치의 2~3배의 크기로 하였다. 그림 1에 기록장치의 전체적인 연결을 나타냈다.

실 험 성 적

정상 Tyrode 용액으로 관류한 유두근에서의 활동전압 및 27mM K⁺-Tyrode 용액에 10μM의 histamine을 첨가하고 얻은 활동전압 및 수축을 기록하였는데 정상 막전압은 -80~-85mV, 활동전압의 크기는 약 105 mV, 기간은 200~250msec의 범위에 있었고 27mM K⁺으로 저분극시킨 경우에 막전압은 -40~-45mV, 활동전압의 크기는 70~80mV였고 기간은 정상과 비슷한 범위였다.

Ca⁺⁺의 효과

Ca⁺⁺이 없는 27mM K⁺-Tyrode 용액에 10μM histamine을 첨가하고 30분 방치 후에 Ca⁺⁺농도를 0.5~4.0 mM로 증가시켰을 때의 활동전압 및 V_{max}를 그림 2에 나타냈다.

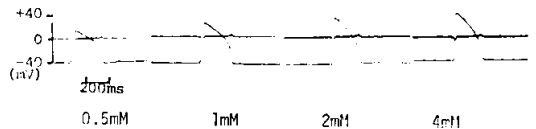


Fig. 2. Effect of Ca⁺⁺ on Action Potential and V_{max} restored by 10μM histamine in rabbit papillary muscle partially depolarized by 27mM K⁺.

낮은 농도의 Ca⁺⁺에서는 활동전압의 크기, V_{max}가 작고 기간(탈분극부터 95% 재분극되기까지의 시간)은 긴데 비하여 농도가 증가함에 따라 크기 및 V_{max}가 커지고 안정 막전압은 거의 변화가 없는 반면 기간은 감소되었다.

그림 3은 수축에 대한 Ca⁺⁺의 영향을 보인 것이다. 그림 4는 Ca⁺⁺ 농도에 따른 수축 및 V_{max}의 평균치를 2mM Ca⁺⁺ 때를 기준으로 백분율로 환산하여 Ca⁺⁺ 농도를 대수 눈금으로 한 그림에 나타낸 것이다. 수축은 0.5mM Ca⁺⁺ 때 41.6±3.0%(평균±표준오차), 1mM 때 54.5±3.6%, 4mM 때는 183.0±6.7%였고 V_{max}는 각각 50.0±3.3%, 72.7±2.5%, 120.9±3.9%였다. 수

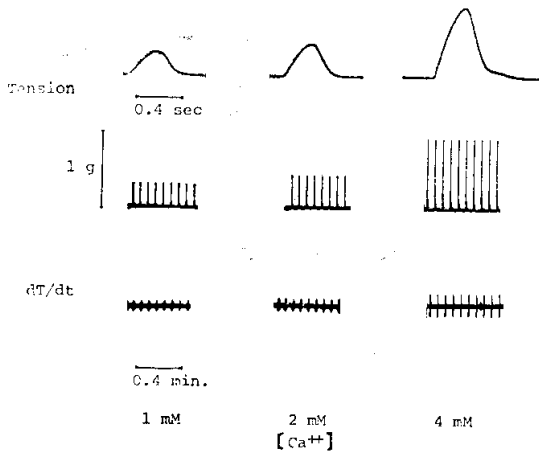


Fig. 3. Effect of Ca^{++} on tension and its dT/dt restored by $10\mu\text{M}$ histamine in rabbit papillary muscle partially depolarized by 27mM K^+ .

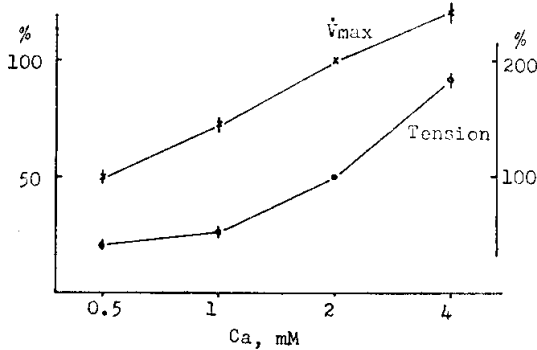


Fig. 4. Effect on external Ca^{++} on Tension and \dot{V}_{max} restored by $10\mu\text{M}$ histamine in rabbit papillary muscle partially depolarized by 27mM K^+ (expressed as % of control value and vertical bars indicate \pm S.E. of the mean).

축 및 \dot{V}_{max} 모두 Ca^{++} 농도에 비례하여 증가하였고 특히 \dot{V}_{max} 는 직선적인 관계를 보였다. 그림 5에 활동전압의 크기 및 기간의 변화를 보인다. 활동전압의 크기 및 기간은 0.5mM Ca^{++} 농도에서는 $50 \pm 2.5\text{mV}$ 및 $260 \pm 15.2\text{msec}$ 였고 1mM 에서 $63 \pm 1.3\text{mV}$, $245 \pm 14.3\text{msec}$, 2mM 에서 $71 \pm 3.8\text{mV}$, $230 \pm 14.4\text{msec}$, 4mM 에서 $81 \pm 2.1\text{mV}$, $212 \pm 15.6\text{msec}$ 로 농도증가에 따라 활동전압의 크기는 증가하고 기간은 감소하였다. 활동전압 크기의 증가는 직선적이었고 Ca^{++} 농도가 10배 증가할 때 활동전압은 32.4mV 증가하는 결과를 얻었는데 이는 Nernst 식으로 35°C 에서 계산한 값 30.5mV 와 거의 비슷하였다.

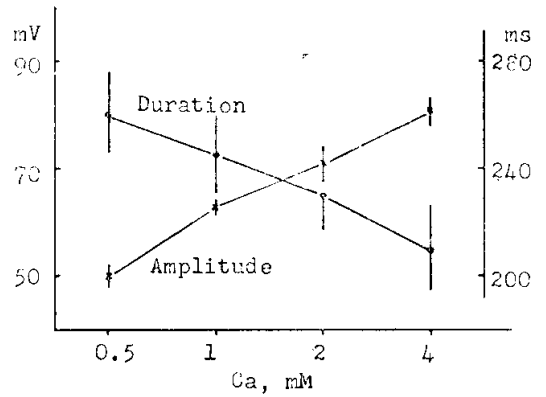


Fig. 5. Effect of external Ca^{++} on Amplitude and Duration of Action Potential restored by $10\mu\text{M}$ histamine in rabbit papillary muscle partially depolarized by 27mM K^+ (vertical bars indicate \pm S.E. of the mean).

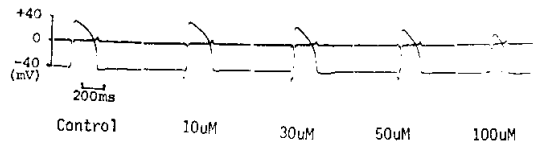


Fig. 6. Effect of La^{+++} on Action Potential and \dot{V}_{max} restored by $10\mu\text{M}$ histamine in rabbit papillary muscle partially depolarized by 27mM K^+ .

La^{+++} 의 효과

2mM 의 Ca^{++} 이 들어있는 27mM K^+ Tris-완충 Tyrode 용액으로 관류하여 저분당시킴으로써 La^{+++} 을 $10 \sim 100\mu\text{M}$ 의

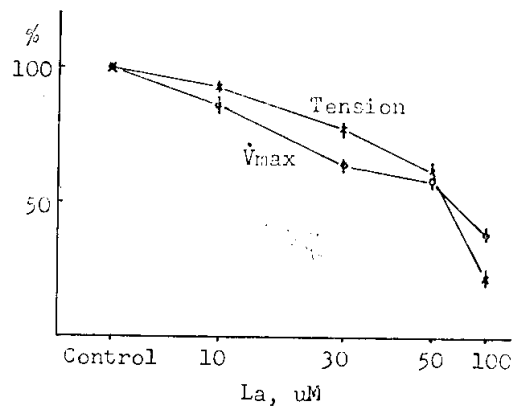


Fig. 7. Effect of La^{+++} on Tension and \dot{V}_{max} restored by $10\mu\text{M}$ histamine in rabbit papillary muscle partially depolarized by 27mM K^+ (expressed as % of control value and vertical bars indicate \pm S.E. of the mean).

순으로 증가시켰을 때의 활동전압 및 \dot{V}_{max} 의 변화를 그림 6에 보인다. 모두 대조치에 비하여 감소되었으며 $100\mu\text{M}$ 용액에서는 지나치게 전압이 아주 낮았고 활동전압의 모양이 수축곡선처럼 변한 것이 특징이었다.

그림 7에 수축의 크기 및 \dot{V}_{max} 를 La^{+++} 농도에 따라 대조값을 기준으로 %로 표시한 값들로 환산하여 La^{+++} 농도를 대수눈금으로 한 횡축에 그림 그런 것이다. 수축의 크기 및 \dot{V}_{max} 가 $10\mu\text{M}$ La^{+++} 용액에서는 $86.2 \pm 2.9\%$ 및 $92.7 \pm 1.0\%$ 였고 $30\mu\text{M}$ 에서 $73.8 \pm 2.0\%$ 및 $77.1 \pm 2.1\%$, $50\mu\text{M}$ 에서는 $59.5 \pm 2.1\%$ 및 $61.5 \pm 3.7\%$, $100\mu\text{M}$ 에서 $38.3 \pm 2.4\%$ 및 $21.9 \pm 3.1\%$ 로 농도 증가에 따라 감소 경향을 보였고 $100\mu\text{M}$ 에서 가장 현저한 감소를 보였다. 그림 8은 활동전압의 크기 및 기간의 변화를 보이는데 활동전압의 크기 및 기간이 대조값 $77 \pm 1.0\text{mV}$, $245 \pm 18.3\text{msec}$ 였고 $10\mu\text{M}$ La^{+++} 용액

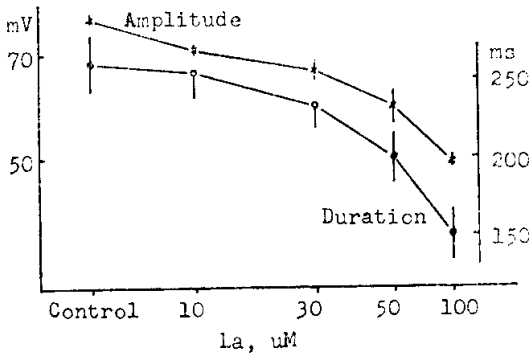


Fig. 8. Effect of Mn^{++} on Amplitude and Duration of Action Potential restored by $10\mu\text{M}$ histamine in rabbit papillary muscle partially depolarized by 27mM K^+ (vertical bars indicate \pm S.E. of the mean).

에서는 $71 \pm 1.0\text{mV}$, $240 \pm 15.4\text{msec}$, $30\mu\text{M}$ 용액에서는 $67 \pm 2.1\text{mV}$, $224 \pm 15.3\text{msec}$, $50\mu\text{M}$ 에서는 $59 \pm 3.8\text{mV}$, $203 \pm 15.1\text{msec}$, $100\mu\text{M}$ 에서는 $49 \pm 1.0\text{mV}$, $150 \pm 14.7\text{msec}$ 로 모두 감소하였다. La^{+++} 은 활동전압의 크기와 \dot{V}_{max} , 수축을 감소시켰고 기간은 단축시켰다.

Mn^{++} 의 효과

2mM 의 Ca^{++} 이 든 27mM K^+ -Tyrode 용액으로 관류한 후 Mn^{++} 의 농도를 $30, 100, 300\mu\text{M}$ 의 순으로 증가시켜 활동전압 및 \dot{V}_{max} 에 대한 변화를 그림 9에 보인다. 활동전압, \dot{V}_{max} 는 모두 감소되었고 기간이 약간 길어진 것을 볼 수 있다.

그림 10은 수축 및 \dot{V}_{max} 를 앞서의 La^{+++} 에서와 같은 방식으로 Mn^{++} 농도에 그림 그런 것이다. $30\mu\text{M}$ 에서 수축은 $84.6 \pm 3.8\%$, \dot{V}_{max} 는 $81.0 \pm 10.4\%$ 였고 $100\mu\text{M}$

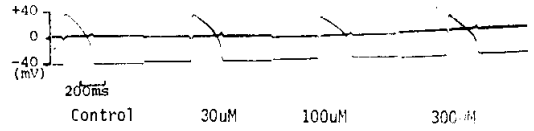


Fig. 9. Effect of Mn^{++} on Action Potential and \dot{V}_{max} restored by $10\mu\text{M}$ histamine in rabbit papillary muscle partially depolarized by 27mM K^+ .

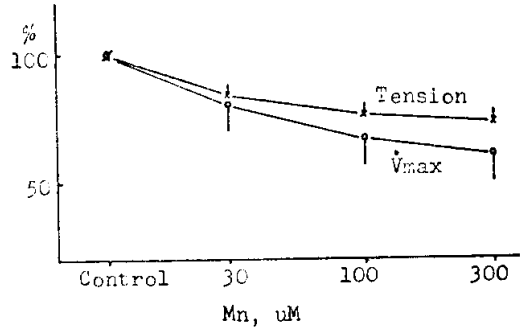


Fig. 10. Effect of Mn^{++} on Tension and \dot{V}_{max} restored by $10\mu\text{M}$ histamine in rabbit papillary muscle partially depolarized by 27mM K^+ (expressed as % of control value and vertical bars indicate \pm S.E. of the mean).

에서는 $76.3 \pm 3.8\%$ 및 $67.3 \pm 10.7\%$, $300\mu\text{M}$ 에서 $75.7 \pm 3.0\%$ 및 $61.4 \pm 10.9\%$ 로 모두 감소되는 경향을 보였다. 그림 11에는 활동전압의 크기 및 기간을 그린 것으로 대조군에서 각각 $75 \pm 1.3\text{mV}$ 및 $230 \pm 13.6\text{msec}$ 였고 $30\mu\text{M}$ Mn^{++} 용액에서 $66 \pm 0.7\text{mV}$ 및 $240 \pm 12.5\text{msec}$, $100\mu\text{M}$ 에서 $64 \pm 1.2\text{mV}$ 및 $252 \pm 12.4\text{msec}$, $300\mu\text{M}$ 에서 $59.7 \pm 0.9\text{mV}$ 및 $247 \pm 8.5\text{msec}$ 로서 크기는 줄고 기간은 길어지는 경향을 보였다.

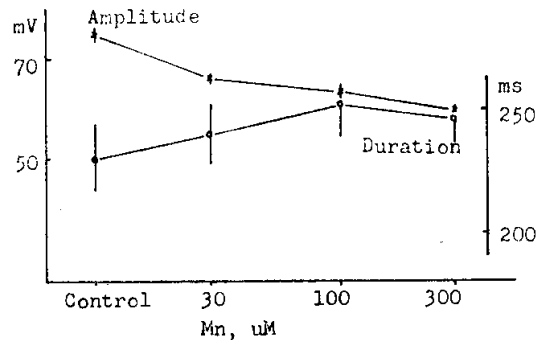


Fig. 11. Effect of La^{+++} on Amplitude and Duration of Action Potential restored by $10\mu\text{M}$ histamine in rabbit papillary muscle partially depolarized by 27mM K^+ (vertical bars indicate \pm S.E. of the mean).

고찰

막전압 고정법은 Na^+ 의 급속내향전류, i_{Na} (Weidmann, 1955)를 비활성화시킬 수 있기 때문에 심근에서의 완만내향전류의 특성들을 밝히는데 널리 이용되어 왔다(Rougier et al., 1968; New and Trautwein, 1972). 이 방법은 골격근 섬유나 신경 섬유에서처럼 단일 세포를 대상으로 할 때에는 아주 이상적인 방법이나 심장근에서는 많은 세포가 모인 조직이기 때문에 다소의 문제점이 있긴하다(Johnson and Lieberman, 1971). 또한 세포밖 K^+ 농도를 올려서 막전압을 고정시키는 방법(Pappano, 1970)도 완만내향전류의 변화를 관찰하기에는 적당한 방법으로 평가되고 있다(Schneider and Sperelakis, 1974; Inui and Imamura, 1976). 본 실험에서는 27mM K^+ -Tyrode 용액을 써서 막전압을 $-40 \sim -45\text{mV}$ 로 고정하였으며 이 전압에서는 급속내향전류가 거의 완전히 비활성화 된다(Reuter, 1973). histamine은 저분극된 심장근에 촉진적으로 작용하는데 그 기전은 완만내향전류를 촉진시키고(Inui and Imamura, 1976; 엄·김, 1978) 세포속의 c-AMP의 농도를 증가시켜 세포속 Ca^{++} 저장고인 근장구조물로부터의 수축에 필요한 Ca^{++} 유리를 촉진시키는 것으로 알려져 있다(Tsien, 1973; Katz and Repke, 1973; Fabiato and Fabiato, 1975). 본 실험에서 세기를 바꾸지 않는 자극강도에서 활동전압 및 수축이 회복되었다.

histamine으로 회복된 활동전압 및 수축은 관류액속의 Ca^{++} 농도에 대단히 예민하게 반응하였고 10배의 농도 변화에 대해 활동전압의 크기가 32.4mV 변화하여 Nernst식에 의거 35°C 에서 계산한 값 30.5mV와 거의 비슷하였다.

Ca^{++} 이 심장수축에 필수불가결하다는 사실이 알려진 이래 많은 연구가 계속 되었으나 주요 사실은 비교적 최근에 들어 알려졌다. 완만내향전류는 활동전압의 고원(plateau)을 이루는 전류로서 세포밖 Ca^{++} 농도에 따라 달라지며 Ca^{++} 이 주로 이 전류를 이루고(Reuter, 1967, 1973; Bassingthwaighe and Reuter, 1972; Trautwein, 1973a) 이들에 의해 근육의 수축이 시작되는데 이는 세포 밖에서 Ca^{++} 전류로서 들어간 Ca^{++} 이 세포속 Ca^{++} 저장고 특히 근장구조물로부터 근육수축에 소요되는 충분한 양의 Ca^{++} 을 유리하기 때문이다(Rich and Langer, 1975; Fabiato and Fabiato, 1977). 그 결과 수축이 일어나며 이와 같은 심근 특유의 흥분-수축 연결기전은 여러 관점에서 분석되었고(Langer, 1973;

Trautwein, 1973b; Weidmann, 1974; Reuter, 1974) 분명치는 않으나 Ca^{++} 전류와 수축 사이에 어떤 일정한 상호관계가 있음을 발견하고 그 변수를 찾는 시도가 있었다(Trautwein et al., 1975).

본 실험에서 활동전압의 크기 및 \dot{V}_{max} 가 Ca^{++} 농도에 직선적으로 변화하였고 수축 또한 증가하였는데 이는 모두 Ca^{++} 전류의 증가가 일어난 결과로 설명할 수 있겠다. 또 Ca^{++} 은 활동전압의 기간을 단축시켰는데 이는 고원 유지 전류의 조기 비활성화 또는 재분극을 일으키는 K^+ 의 지연조정(delayed rectification, i_x)의 증가로 설명 가능하다(Noble and Tsien, 1972). 그러나 Ca^{++} 에 의한 기전은 간단치 않고 크게 3가지 방향으로 요약할 수 있겠다. 첫째는 높은 농도의 Ca^{++} 이 세포밖 에 있음으로 해서 완만내향전류가 일찍 비활성화되어 고원유지전류가 감소하여 생긴 결과라는 해석(Kohlhardt et al., 1975)과 둘째로는 세포밖에서 세포속으로 Ca^{++} 전류가 증가하고 그 결과로 세포속의 Ca^{++} 농도가 커지고 이것이 다시 i_x 를 촉진하여 재분극이 빨리 일어난다는 주장(Isenberg, 1975; Bassingthwaighe et al., 1976)이 있고 셋째로는 세포막을 통한 Ca^{++} 전류의 크고 작은 사실 자체가 어떤 연결로 세포막의 K^+ 내향성 변칙조정(inward-going anomalous rectification, i_{k1}) (Cleemann and Morad, 1975)을 증가시켜서 재분극이 촉진된다(Kass and Tsien, 1976)는 해석이다. 그러나 어느 주장이 옳은지를 판정하기에는 아직 곤란할 것 같다.

Ca^{++} 에 의한 여러 반응들은 여러가지 무기이온 La^{+++} , Mn^{++} , Co^{++} , Ni^{++} 등(Reuter, 1973) 및 유기 화합물인 Verapamil, D-600등(Fleckenstein, 1971)에 의하여 억제되는 것이 일어나는데 그 작용방식은 종류에 따라 조금씩 다른 것으로 생각된다. La^{+++} 은 회토류원소로서 수화되지 않는 원자의 반경이 1.01\AA 으로 Ca^{++} 의 0.99\AA 과 비슷하고 생체막에서는 주로 표면에 농축되고 세포 속에는 들어가지 않음이 전자 현미경 소견으로 밝혀졌다(Langer, 1976). 즉 세포 표면의 두께가 500\AA 가량 되는 음하전을 띠고 있는 기저층(basement coat)에 모이는데 이곳이 바로 Ca^{++} 전류의 중요공급원이다(Nayler and Seabra-Gomes, 1975). 이곳에서 La^{+++} 은 Ca^{++} 과 상호교환되어 Ca^{++} 을 유리시키는데 이는 La^{+++} 의 음하전과의 높은 친화력 때문인 것으로 해석하고 있다(Sanborn and Langer, 1970). 따라서 Ca^{++} 의 세포막을 통한 이동이 감소된다고 한다(Weiss, 1974). 이런 억제작용은 신경 섬유에서도 증명되었는데 주로 Ca^{++} 에 의해 일어나는 탈분극을 억제하고(Miledi, 1971), 심근에서는

완만내향전류를 감소시키는(Reuter, 1973; Kass and Tsien, 1975) 효과를 나타내는데 그 정도가 다른 무기 이온에 비하여 대단히 크다고 한다(Langer, 1976). 본 실험 결과에서도 낮은 농도(10~100 μ M)의 La⁺⁺⁺은 Ca⁺⁺에 의한 활동전압의 크기 및 \dot{V}_{max} 를 감소시키고 수축도 감소시켰으며 활동전압의 기간도 단축하였다. 이런 결과들은 La⁺⁺⁺에 의한 Ca⁺⁺전류의 억제효과로서 설명할 수 있으나 활동전압의 기간이 짧아지는 사실은 설명이 간단하지 않다. 고원유지전류인 i_s 의 감소만으로 설명하기에는 세포막 Ca⁺⁺농도가 낮은 경우에 일어나는 i_s 의 감소와 활동전압 기간의 변화가 서로 상반되기 때문에 이 이론이 맞지 않는다. La⁺⁺⁺이 i_s 를 감소시키는 기전 이외에 세포막 밖의 음하전 전하에 어떤 영향을 주고 그 결과로 재분극전류, i_x 가 커지는 가능성(Kass and Tsien, 1975)을 모두 고려해야 될 것 같다.

역시 같은 Ca⁺⁺ 억제제로 알려진 Mn⁺⁺도 La⁺⁺⁺과 비슷한 기전으로 효과를 나타낸다.(Reuter, 1973). 완만내향전류를 억제하고(Vitek and Trautwein, 1971; Hogan and Spitzer, 1975; Kass and Tsien, 1975) 따라서 수축이 억제되며 Mn⁺⁺ 스스로 i_s 의 일부로 세포속으로 들어가고(Reuter, 1973) 세포 속의 Mn⁺⁺의 수축기구에 대한 영향도 고려해야 한다고 한다(Delahayes, 1975).

본 실험에서 Mn⁺⁺은 활동전압의 크기, \dot{V}_{max} , 수축을 감소시켰으며 활동전압의 기간은 약간 연장시켰다. 이는 여러 실험 결과와(Hogan and Spitzer, 1975; Delahayes, 1975; Kass and Tsien, 1975; 임용, 1977) 잘 일치하나 활동전압의 기간에 있어서는 논란이 많다. 활동전압이 길어졌다는 결론을 얻은 연구자들은(Hogan and Spitzer, 1975) Mn⁺⁺이 K⁺ 전류를 감소시키는 효과를 가지기 때문이라고 주장하는 반면 기간이 짧아졌다는 연구자들은 이 현상을 단순한 i_s 의 감소로 해석(Vitek and Trautwein, 1971) 하거나 혹은 K⁺전류(i_{K1} 혹은 i_x)를 증가시켰기 때문이라고 해석하기도 한다(Delahayes, 1975; Kass and Tsien, 1975). 그러나 이런 상반된 사실은 Mn⁺⁺의 농도에 따른 두가지 다른 작용으로 해석하는 것이 타당할 듯하다(Kass and Tsien, 1975).

이상의 사실에서 27mM K⁺-Tyrode 용액으로 저분극시킨 유두근을 histamine으로 Ca⁺⁺내향전류 및 수축을 촉진시켜 본 결과 활동전압의 크기, \dot{V}_{max} 가 세포막 Ca⁺⁺농도에 직선적으로 비례하고 Ca⁺⁺농도의 10배 변화에 활동전압의 크기가 32.4mV 변화하여 Nernst식

으로 계산한 Ca⁺⁺의 평형전압 값 30.5mV와 비슷하고 La⁺⁺⁺, Mn⁺⁺에 의하여 모두 감소·억제되는 사실로 미루어 활동전압의 크기와 \dot{V}_{max} 를 Ca⁺⁺내향전류 혹은 Ca⁺⁺전도도(calcium conductance, g_{Ca})의 한 척도로 삼을 수 있을 것 같다.

결 론

토끼 유두근을 27mM K⁺-Tyrode 용액에 10 μ M의 histamine을 첨가하여 활동전압 및 수축을 기록하고 이에 대한 Ca⁺⁺농도의 영향 및 Ca⁺⁺억제제인 La⁺⁺⁺, Mn⁺⁺의 농도를 변화시키고 이들의 영향을 관찰 분석하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 27mM K⁺-Tyrode 용액에서 안정 막전압은 -40~-45mV로 저분극되어 고정되었으며 10 μ M histamine에 의하여 활동전압 및 수축이 회복되었다.

2. Ca⁺⁺농도 증가에 따라 활동전압의 크기 및 \dot{V}_{max} (최대 탈분극 속도, (dV/dt)_{max})는 직선적으로 증가하였으나 기간은 짧아졌다.

3. La⁺⁺⁺은 10~100 μ M의 농도에서 활동전압의 크기를 대조치 77 \pm 1.0mV(평균 \pm 표준오차)에서 49 \pm 1.0mV로 감소시켰고 \dot{V}_{max} 및 장력을 21.9 \pm 3.1% 및 38.3 \pm 2.4%로 각각 감소시켰으며 활동전압의 기간은 245 \pm 18.3msec에서 150 \pm 14.7msec로 단축시켰다.

4. Mn⁺⁺은 활동전압의 크기를 75 \pm 1.3mV에서 59.7 \pm 0.9mV로 감소시켰으며 \dot{V}_{max} 및 수축의 크기는 61.4 \pm 10.9%와 75.7 \pm 3.0%로 각각 감소시켰으며 활동전압의 기간은 약간 연장시켰다.

5. 이상의 결과로 보아 27mM K⁺으로 저분극된 토끼 유두근에서 활동전압의 크기 및 \dot{V}_{max} 가 Ca⁺⁺에 의한 완만내향전류의 크기 즉 Ca⁺⁺전도도(g_{Ca})를 나타내는 척도라고 할 수 있겠다.

—ABSTRACT—

Effect of Calcium, Lanthanum and Manganese ions on the Slow Inward Current and Contraction in the potassium depolarized rabbit papillary muscle

Yung E Earm

Department of Physiology, College of Medicine
Seoul National University

(Directed by Professor Kee Yong Nam)

The effects of Ca⁺⁺, La⁺⁺⁺ and Mn⁺⁺ on the elec-

trical and mechanical responses of papillary muscle partially depolarized by 27 mM K^+ were studied in rabbits.

1. When resting membrane potential of partially depolarized papillary muscle was set at -40 to -45 mV, there were no electrical and mechanical activities, after $10\mu M$ histamine addition, however, they reappeared.

2. After addition of histamine, Ca^{++} increased the amplitude of action potential, \dot{V}_{max} (maximum rate of depolarization, $(dV/dt)_{max}$) and magnitude of contraction, the duration of action potential, however, was shortened.

3. La^{+++} in concentration of $10-100\mu M$ decreased the amplitude of action potential from control value of 77 ± 1.0 mV to 49 ± 1.0 mV (Mean \pm S.E.), \dot{V}_{max} and magnitude of contraction up to $21.9\pm 3.1\%$ and $38.3\pm 2.4\%$ of control respectively. The duration of action potential was shortened from 245 ± 18.3 msec of control to 150 ± 14.7 msec.

4. Mn^{++} ($30-300\mu M$) decreased the amplitude of action potential from 75 ± 1.3 mV to 59.7 ± 0.9 mV, \dot{V}_{max} and magnitude of contraction up to $61.4\pm 10.9\%$ and $75.7\pm 3.0\%$ of control, but lengthened the duration slightly.

5. The above results suggest that the amplitude of action potential and \dot{V}_{max} of partially depolarized papillary muscle are a measure of calcium-dependent slow inward current or calcium conductance, g_{Ca} .

REFERENCES

- 엄용의, 김전, 엄대용, 김기환, 남기용 : 망간이온이 개구리 심방근의 막전압 및 수축력에 미치는 영향. 서울醫大學術誌, 18:37-43, 1977.
- 엄용의, 김중수 : 히스타민이 저분극된 토끼유두근의 전기적 및 기계적 성질에 미치는 영향. 서울醫大學術誌, 19 : 인쇄중, 1978.
- Bassingthwaighe, J. B., C. H. Fry, and J. A. S. McGuigan: Relationship between internal calcium and outward current in mammalian ventricular muscle; A mechanism for the control of the action potential duration? *J. Physiol.* 262:15-37, 1976.
- Bassingthwaighe, 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.
- Beeler, G. W. and H. Reuter: Reconstruction of the action potential of ventricular myocardial fibres. *J. Physiol.* 268:177-210, 1977.
- Cleemann, L. and M. Morad: Extracellular potassium accumulation and inward-going potassium rectification in voltage-clamped ventricular muscle. *Science* 191:90-92, 1975.
- Coraboeuf, E.: Membrane electrical activity and double component contraction in cardiac tissue. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 6:215-225, 1974.
- Delahayes, J. F.: Depolarization-induced movement of Mn^{++} across the cell membrane in the guinea-pig myocardium. *Circ. Res.* 36:713-718, 1975.
- Endo, M., M. Tanaka and Y. Ogawa: Calcium induced release of calcium from the sarcoplasmic reticulum of skinned skeletal muscle fibres. *Nature* 228:34-36, 1970.
- Fabiato, A. and F. Fabiato: Relaxing and inotropic effects of cyclic AMP on skinned cardiac cells. *Nature* 253:556-558, 1975.
- Fabiato, A. and F. Fabiato: Calcium release from the Sarcoplasmic Reticulum. *Circ. Res.* 40:119-129, 1977.
- Fleckenstein, A.: Specific inhibitors and promoters of calcium action in the excitation-contraction coupling of heart muscle and their role in the prevention or production of myocardial lesions. In: *Calcium and the Heart* (Harris, P. and L. H. Opie ed.). Academic Press, London, 1971.
- Ford, L. E. and R. J. Podolsky: Regenerative calcium release within muscle cells. *Science* 167:58-59, 1970.
- Fozzard, H. A. and W. R. Gibbons: Action potential and contraction of heart muscle. *Am. J. Cardiol.* 31:182-192, 1973.
- Hogan, P. M. and K. W. Spitzer: Manganese and electrogenic phenomena in canine Purkinje fibers. *Circ. Res.* 36:377-391, 1975.
- Inui, J. and H. Imamura: Restoration by histamine of the 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.
- Isenberg, G.: *Is potassium conductance of cardiac Purkinje fibres controlled by $(Ca^{++})_i$?* *Nature* 253: 273-274, 1975.
- Johnson, E. A. and M. Lieberman: *Heart; Excitation and contraction.* *Ann. Rev. Physiol.* 33:479-532, 1971.
- Kass, R. S. and R. W. Tsien: *Multiple effects of calcium antagonists on plateau currents in cardiac Purkinje fibers.* *J. Gen. Physiol.* 66:169-192, 1975.
- 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.
- Katz, A. M. and D. I. Repke: *Calcium-membrane interactions in the myocardium: Effects of Ouabain, epinephrine and cyclic AMP.* *Am. J. Cardiol.* 31: 193-201, 1973.
- Kohlhardt, M., H. Krause, M. Kübler, and A. Herdy: *Kinetics of inactivation and recovery of the slow inward current in the mammalian ventricular myocardium.* *Pflügers Arch.* 355:1-17, 1975.
- Langer, G. A.: *Heart: Excitation-contraction coupling.* *Ann. Rev. Physiol.* 35:55-86, 1973.
- Langer, G. A.: *Events at the cardiac sarcolemma: localization and movement of contractile-dependent calcium.* *Fed. Proc.* 35:1274-1278, 1976.
- Mainwood, G. W. and J. A. S. McGuigan: *Evidence for inward calcium current in the absence of external sodium in rat myocardium.* *Experientia* 33:67-69, 1977.
- Miledi, R.: *Lanthanum ions abolish "calcium response" of nerve terminals.* *Nature* 229:410-411, 1971.
- Nayler, W. G. and R. Seabra-Gomes: *Excitation-contraction coupling in cardiac muscle.* *Prog. Cardiovasc. Dis.* 18:75-88, 1975.
- New, W. and W. Trautwein: *Inward membrane currents in mammalian myocardium.* *Pflügers Arch.* 334:1-23, 1972.
- Noble, D.: *The initiation of the heartbeat.* Clarendon Press, Oxford, 1975.
- Noble, D. and R. W. Tsien: *The repolarization process of heart cells.* In: *Electrical phenomena in the heart* (De Mollo ed.). Academic Press, New York, 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.
- Reuter, H.: *The dependence of slow inward current in Purkinje fibers on the extracellular calcium concentration.* *J. Physiol.* 192:479-492, 1967.
- Reuter, H.: *Divalent cations as charge carriers in excitable membranes.* *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 26: 1-43, 1973.
- Reuter, H.: *Exchange of calcium ions in the mammalian myocardium.* *Circ. Res.* 34:599-605, 1974.
- Rich, T. L. and G. A. Langer: *A Comparison of excitation-contraction coupling in heart and skeletal muscle: An examination of "Calcium-induced calcium-release".* *J. Mol. Cell. Cardiol.* 7: 747-765, 1975.
- Rougier, O., Y. M. Gargouil, and E. Coraboeuf: *Existence and role of a slow inward current during the frog atrial action potential.* *Pflügers Arch.* 308: 91-110, 1967.
- Rougier, O., G. Vassort and R. Stämpfli: *Voltage clamp experiments on frog atrial heart muscle fibers with sucrose gap technique.* *pflügers Arch.* 301:91-108, 1968.
- Sanborn, W. G. and G. A. Langer: *Specific uncoupling of excitation and contraction in mammalian cardiac tissue by Lanthanum.* *J. Gen. Physiol.* 56:191-217, 1970.
- Schneider, J. A. and N. Sperelakis: *Slow Ca^{++} and Na^+ responses induced by isoproterenol and methylxanthines in isolated perfused guinea-pig hearts exposed to elevated K^+ .* *J. Mol. Cell. Cardiol.* 7: 249-273, 1975.
- Trautwein, W.: *Membrane currents in cardiac muscle fibers.* *Physiol. Rev.* 53:793-835, 1973a.
- Trautwein, W.: *The slow inward current in mammalian myocardium. Its relation to contraction.* *Eur. J. Cardiol.* 1:169-175, 1973b.
- Trautwein, W., T. F. McDonald, and O. Tripathi: *Calcium conductance and tension in mammalian ventricular muscle.* *Pflügers Arch.* 354:55-74, 1975.
- Tsien, R. W.: *Adrenaline-like effects of intracellular iontophoresis of cyclic AMP in cardiac Purkinje*

- fibres. Nature, New biol.* 245:120-122, 1973.
- Vitek, M. and W. Trautwein: *Slow inward current and action potential in cardiac Purkinje fibers. The effect of Mn⁺⁺.* *Pflügers Arch.* 323:204-218, 1971.
- Weidmann, S.: *The effect of cardiac membrane potential on the rapid availability of the sodium carrying system.* *J. Physiol.* 127:213-224, 1955.
- Weidmann, S.: *Heart: Electrophysiology.* *Ann. Rev. Physiol.* 36:155-169, 1974.
- Weiss, G. B.: *Cellular pharmacology of Lanthanum.* *Ann. Rev. Pharmacol.* 14:343-354, 1974.