

적출된 토끼와 자라심장에서 의 Ca^{++} Pool

연세대학교 의과대학 생리학교실

김 인 표 · 이 중 우 · 강 두 희

=Abstract=

 Ca^{++} Pools in Isolated Rabbit and Turtle Heart

In Kyo Kim, Joong Woo Lee and Doo Hee Kang

Department of Physiology, Yonsei University College of Medicine

From the study of movements of Ca^{++} in frog cardiac muscle, Niedergerke (1963) postulated that Ca^{++} necessary for the cardiac contraction is stored in a specific pool.

Langer et al (1967) and DeCaro (1967) also found a close relationship between the change of Ca^{++} flux kinetics and the change of contractile force. According to the studies of several investigators, Ca II (Bailey and Dressel 1968) or phase I and II (Langer 1965, Langer et al 1967, 1971) in the Ca^{++} washout curve was associated with cardiac contractility.

This investigation was aimed to elucidate the anatomical region of the contractile active Ca^{++} pool. At the same time, it was assumed in this study that Ca^{++} in the sarcoplasmic reticulum represents one of the major intracellular Ca^{++} pool and cardiac contractility was also dependent on the intracellular Ca^{++} concentration. Consequently, this experiment was performed at different temperatures to activate or inhibit the deactivating process of activated Ca^{++} in the intracellular space to see if changes in the contractility decay curve existed at different temperatures.

The isolated hearts of rabbits and turtles (*Amyda maackii*) were attached to the perfusion apparatus according to the method employed by Bailey and Dressel (1968).

The isolated hearts were initially perfused with a full Ringer solution containing 2 mg/ml of inulin for 1 hr, and then Ca^{++} and inulin-free Ringer solution was perfused while the isometric tension was recorded and a serial sample of perfusion fluid dripping from the cardiac apex was collected for 10 sec throughout experimental period.

The above procedure was performed at 23°C, 30°C and 38°C on the rabbit heart and 10~15°C, 20°C, 25°C, 30°C and 35°C on the turtle heart.

After determination of Ca^{++} and inulin concentration of the samples, the Ca^{++} , inulin washout curve and the contractile tension decay curve were analysed according to the method of Riggs (1963).

The results were summarized as follows;

1. In the rabbit heart, there are 2 inulin compartments, 3 Ca^{++} compartments and single exponential decay of contractile tension. In the turtle heart, there are 1~2 inulin compartments, 1~2 Ca^{++} compartments and 1~2 phases of contractile tension decay. The fact that the inulin space was divided into 2 compartments in the washout curve in these hearts indicates the presence of heterogeneity in cardiac perfusion, i.e., overfused and underperfused area.
2. Ca I and Ca II in these hearts were found to have Ca^{++} in the ECF compartments because

their half times in the washout curves were far smaller than those of the inulin washout curves in the rabbit heart and similar to those of the inulin washout curves in the turtle heart. Ca^{2+} III in the rabbit heart may have originated from the intracellular Ca^{2+} store. But no Ca^{2+} III in the turtle heart was found. This may be due to the fact that the intracellular Ca^{2+} pool in the turtle heart was too small to detect using this experimental procedure since sarcoplasmic reticulum in the turtle heart is poorly developed.

3. In the rabbit heart, there were no changes in the half time of Ca^{2+} I, Ca^{2+} II, inulin I and inulin II at different temperatures, but the half time of Ca^{2+} III was significantly prolonged at lower temperatures, and the half time of the contractile tension decay tended to be prolonged at lower temperatures but this was not significant. In the turtle heart, there were no changes in the half time of Ca^{2+} I, Ca^{2+} II, inulin I, inulin II and phase I of the contractile tension decay at different temperatures, but the half time of phase II of the contractile tension decay was significantly prolonged at lower temperatures. This finding indicates that intracellular Ca^{2+} in these hearts was also responsible particularly for maintaining the cardiac contractility at the lower temperatures.
4. The half times of contractile tension decay were shorter than those of Ca^{2+} II in the Ca^{2+} washout curves in both animal hearts.

According to the above results it was shown that Ca^{2+} in ECF is primarily and Ca^{2+} in the intracellular space is partially associated with the cardiac contractility.

I. 서 론

심근뿐 아니라 골격근이나 평활근의 수축에 있어서 Ca^{2+} 이 필수적인 역할을 한다는 것은 예전부터 잘 알려져 있다.

Niedergerke (1963)는 심근수축에 필요한 Ca^{2+} 이 심근내의 어떤 pool에 저장되어 있고 동작전위가 생길 때마다 저장된 Ca^{2+} 의 일부가 유리된다고 했다.

이 심근의 Ca^{2+} pool로써는 세포표면(Niedergerke 1957, Langer et al 1971, Langer and Frank 1972, Cng and Bailey 1972), 세포외액(Langer 1964, Bailey and Dressel 1968), mitochondria (Washington and Murphy 1962, Chipperfield 1969, Wassermann and Holland 1971)와 sarcoplasmic reticulum (Ebashi 1961, DeCaro 1967, Caldwell 1968, Langer et al 1971) 등을 들 수 있다.

Langer 등(1967)과 DeCaro (1967)는 Ca^{2+} 이동역학(Ca^{2+} flux kinetics)의 변화와 수축력의 변화에는 밀접한 관계가 있다고 했으며 Bailey 및 Dressel (1968)은 고양이 심장의 Ca^{2+} pool에는 3 compartments가 있는데 이 중에서 심근의 수축력은 Ca^{2+} compartment의 Ca^{2+} 양에 비례한다고 했고, 동작전위가 발생할 때 이 Ca^{2+} compartment로부터 Ca^{2+} 이 일정한 비율로 유리

된다고 했다. 이것은 Langer 등(Langer 1964, Langer and Brady 1963, Langer et al 1967)의 일련의 실험에서 심근수축성과 밀접한 관계가 있다고 한 Ca^{2+} phase I과 phase II에 해당한다고 하였다. 이들은 phase I은 세포간질의 Ca^{2+} 이며 phase II의 많은 부분이 sarcoplasmic reticulum에 포함된 Ca^{2+} 이라고 하였다(Langer 1965, Langer et al 1967, Langer et al 1971, Sanborn and Langer 1970).

이상에서 보는 바와 같이 Ca^{2+} 의 세척곡선(washout curve) 상에서 여러 Ca^{2+} pool이 존재하고 있음을 알 수 있으나 심근의 수축에 밀접한 관계가 있는 Ca^{2+} pool의 존재는 아직 확실히 알 수 없다. 뿐만 아니라 심근에서의 Ca^{2+} 세척곡선은 그 근육을 관류하는 부위에 따라, 즉 세포외액에 있는 Ca^{2+} 이라 하더라도 관류가 잘 되는 부위와 잘 안되는 부위에 따라 단일하지 않을 것이라고 생각되어 Ca^{2+} 세척곡선을 얻는 실험에서 세포외액에만 분포하는 inulin의 세척곡선을 동시에 얻어서 비교하였다. 더 나아가서 심장근육내의 Ca^{2+} pool에 의해서도 심근의 수축력이 좌우된다고 가정하여 세포내 Ca^{2+} pool에서 가장 큰 것을 sarcoplasmic reticulum이라고 보고 이 조직이 잘 발달된 토끼 심장과 비교적 덜 발달된 자라심장(Fawcett and Selby 1958, Leak 1967)에서 Ca^{2+} 의 세척곡선을 비교하였고 또 심장내에서 일단 활성화(activate)된 Ca^{2+} 이 탈활성화(dea-

ctivate)되는 과정을 촉진 또는 억제하기 위하여 각 온도별로 이 실험을 진행, 비교하였다.

II. 실험재료 및 방법

A. 실험동물

1.8 kg 내외의 가토를 두부강타한 직후 심장을 적출하여 4°C 이하로 냉각된 Ringer 용액에 담가 심근의 조직(extraneous tissue)을 제거하여 사용하였다.

자라(*Amyda maackii*)는 0.8 kg 내외의 자라를 시중에서 구입하여 귀갑을 뜯어내고 심장을 적출하여 4°C 이하로 냉각된 Ringer 용액에 담가 심근의 조직을 제거한 후 사용하였다.

B. 관류방법

토끼심장과 자라심장 공히 Langendorff 관류장치를 모방한 Gabel 등(1966)과 Bailey 및 Dressel (1968)의 관류장치를 사용하였다.

1. 토끼심장

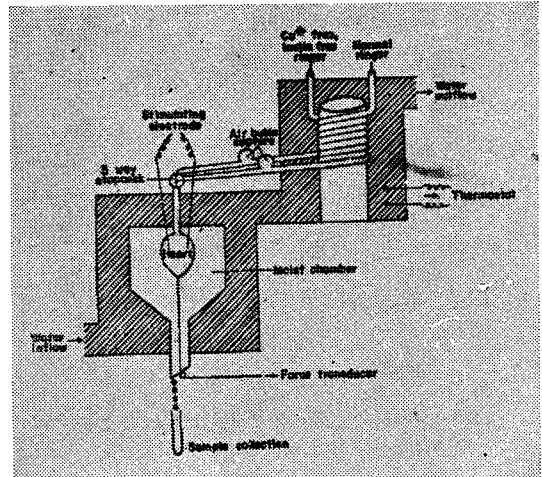
대동맥에 관류장치를 부착시킨 후 양쪽 심실의 끝(심첨)을 약간 절개하고 심실과 심방 사이의 판막과 양 심실 사이의 벽을 파괴하였다. 그후 심실과 심방사이의 경계부위를 실로 꼭 잡아매어 동방결절에서 발생하는 자발적인 박동(spontaneous beat)을 제거하였고 심첨에 stainless steel clip 을 부착하여 실크사로 Grass FTO3C force displacement transducer 에 연결하여 등장성 수축변화를 Grass Model 7 polygraph 에 기록하였다. 두개의 자극전극을 양심실에 부착한 다음 Grass SD5 자극기에 연결하여 일분간 108회의 횡수로 자극을 가하였으며 이때 자극전압은 4~5 volts, 자극기간은 10 msec 로 하였다.

2. 자라심장

Truncus arteriosus 를 통하여 관류하였고 이것 역시 심실과 심방의 경계부위를 실로 꼭 잡아매어 자발적인 박동을 제거하였다. 토끼심장과 같은 방법으로 polygraph 와 자극기에 연결하였으며 이때 자극횟수는 일분간 24회, 자극전압과 자극기간은 토끼심장과 동일하게 하였다.

관류압은 토끼와 자라 공히 평균동맥압과 같게 각각 122 cm H₂O, 39 cm H₂O 로 하였다(Geddes 1970).

관류장치는 제 1 도에 도시된 것과 같은 장치를 사용하였으며 일정한 온도로 가열된 물이 water-jacket 과 관류액 사이를 통과하게 하여 water-jacket 내와 관류액의 온도가 언제나 일정하게 하였고 관류액이 심장내로



제 1 도. Schematic diagram of perfusion apparatus.

들어가기 직전에 공기방울을 제거하는 장치를 부착하였다. 이렇게 관류된 액은 심장부위를 관류한 후 심첨부위에서 방울로 떨어지는데 필요에 따라서 이 액을 채취하였다. 관류액은 처음 Ca²⁺과 inulin 이 포함된 액으로 일정시간 관류하다가 Ca²⁺과 inulin 이 없는 관류액으로 관류를 시작하여 이때의 Ca²⁺과 inulin 의 세척 곡선을 얻었고 이때의 심근수축력과의 상호관계를 관찰하였다.

C. 관류액

이의 조성은 다음과 같다.

1. 토끼

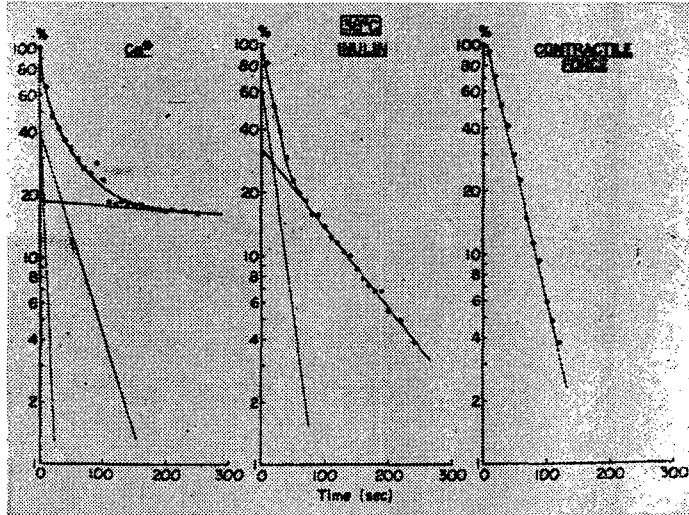
Modified Krebs-Henseleit Ringer 용액으로써 NaCl 140.0 mM, KCl 4.7 mM, KH₂PO₄ 1.2 mM, MgSO₄ 2.4 mM, NaHCO₃ 5.0 mM, CaCl₂ 2.0 mM, glucose 10.0 mM, inulin 2 mg/ml 이고 pH는 7.45이며 이 액은 100% O₂로 bubbling 하였다.

2. 자라

Theodore 및 Brodsky (1970)가 사용한 modified turtle Ringer 용액으로써 조성은 NaCl 100.0 mM, KCl 3.6 mM, NaHCO₃ 5.0 mM, K₂HPO₄ 1.0 mM, KH₂PO₄ 0.2 mM, MgSO₄ 0.8 mM, CaCl₂ 2.0 mM, glucose 10.0 mM, inulin 2 mg/ml 이고, pH는 7.5이며 이도 역시 100% O₂를 bubbling 하였다.

D. 시료채취 및 Ca²⁺과 Inulin 농도 측정

위의 조성을 가진 관류액으로 1시간 정도 관류를 한 후 water-jacket 바로 위에 있는 3-way stopcock 를



제 2도. Typical Ca²⁺ and inulin washout curve and contractile tension decay curve in rabbit heart.

틀어 Ca²⁺과 inulin 이 들어있지 않는 Ringer 용액으로 관류를 하면서 심근의 등장성 수축을 polygraph 에 기록하고 이 수축고가 거의 없어질 때까지 심장을 관류 하면서 때이 심첨부위에서 떨어지는 유출액을 10초 간격으로 받았다. 이런 조작을 토끼심장에서는 23°C, 30°C, 38°C에서 시행하였고 자라심장에서는 10~15°C, 20°C, 25°C, 30°C, 35°C에서 시행하였다. 각각의 유출액의 양을 기록하고 Ca²⁺농도는 glyoxal bis(2-hydroxyanil)로 발색시켜 비색법으로 측정하였으며(Mager and Farese 1966) inulin 농도는 강산에서 resorcinol로 발색시켜 비색법으로 측정하였다(Schreiner 1950).

E. Graphical Compartmental Analysis

Ca²⁺과 inulin 이 들어있지 않는 Ringer 용액으로 관류하기 전의 유출액의 Ca²⁺과 inulin 농도, 그리고 그때의 수축고를 100으로 했을 때 각 연속적인 시료의 Ca²⁺과 inulin 농도 또 그때의 수축고를 %로 환산하여 반대수지(semilog paper)에 plot 하여 얻은 곡선을 Riggs (1963)에 의한 방법으로 compartmental analysis 하였고 각 compartment 의 소실율 (rate constant :λ) 과 반감기(half time; t_{1/2})를 다음의 식에 의하여 산출하였다.

$$y_t = y_0 e^{-\lambda t}$$

- y₀: 0분 때의 y 값
- y_t: t분 후의 y 값
- e: 자연대수의 밑
- λ: 소실율(min⁻¹)
- t: 시간(min)

$$t_{1/2} = 0.693/\lambda$$

t_{1/2}: 반감기(sec)

III. 실험 성적

A. 토끼

토끼에서 심장을 관류할 때 얻은 전형적인 Ca²⁺과 inulin 의 세척곡선과 이에 따라 수축력이 감소되는 곡선(contractile tension decay curve)은 제 2도와 같다. 또 각 온도군에서 Ca²⁺ 및 inulin 의 세척곡선에서 얻은 각 compartment 의 소실율과 반감기 그리고 이때의 수축력의 감소율은 제 1표와 같다. 제 1표에서 보는 것과 같이 토끼심근에서는 각 온도에서 3개의 Ca²⁺ compartments, 2개의 inulin compartments 가 있었고 수축력은 대수적으로 감소하였다. Ca I, Ca II, Inulin I, Inulin II 그리고 수축력감소의 반감기는 각 온도군에서 온도에 따라 차이가 없었으나 Ca III의 반감기는 온도를 38°C에서 30°C, 23°C로 감소시켰을 때 현저히 증가하였다(p<0.01).

그러나 30°C와 23°C 사이에서는 유의한 차이가 없었다. 또 Ca I과 Ca II의 소실율은 각각 온도군에서 모두 Inulin I과 Inulin II의 소실율보다 크고(p<0.01) Ca III의 소실율은 Inulin II보다 무척 작았다. 그러므로 Ca I과 Ca II는 세포외액의 Ca²⁺임을 알 수 있다. 또 이때 Ca II의 반감기는 수축력 감소의 반감기보다 각 온도군에서 모두 짧았다(p<0.01). 즉 토끼심근의 수축력은 우선적으로 세포외액의 Ca²⁺에 좌우되고

제 1 표. A comparison of rate constants and half times of Ca⁺ and inulin washout curves with those of contractility decay at different temperatures in rabbit hearts

			Temperature (°C)		
			23° (7)	30° (8)	38° (9)
Ca ⁺	I	λ	6.46±0.49	6.90±0.40	6.70±0.42
		$t_{1/2}$	6.66±0.58	6.16±0.34	6.37±0.37
	II	λ	1.44±0.07	1.52±0.09	1.46±0.10
		$t_{1/2}$	29.47±1.35	28.08±1.48	29.63±2.13
	III	λ	0.03±0.002	0.03±0.002	0.04±0.002
		$t_{1/2}$	1548.16±139.91	1408.84±86.41	*1054.95±67.62
Inulin	I	λ	3.30±0.46	3.54±0.26	3.92±0.42
		$t_{1/2}$	14.18±1.98	12.63±1.22	11.62±1.21
	II	λ	0.47±0.05	0.49±0.03	0.51±0.06
		$t_{1/2}$	98.23±14.21	87.14±6.51	91.47±10.61
Contraction	λ	1.08±0.22	1.33±0.29	1.47±0.21	
	$t_{1/2}$	50.20±9.20	42.10±8.18	36.52±7.74	

Mean±S.E. *p<0.01 (23°C) (): No. of experiment λ : Rate constant (min⁻¹)
 $t_{1/2}$: Half time (sec)

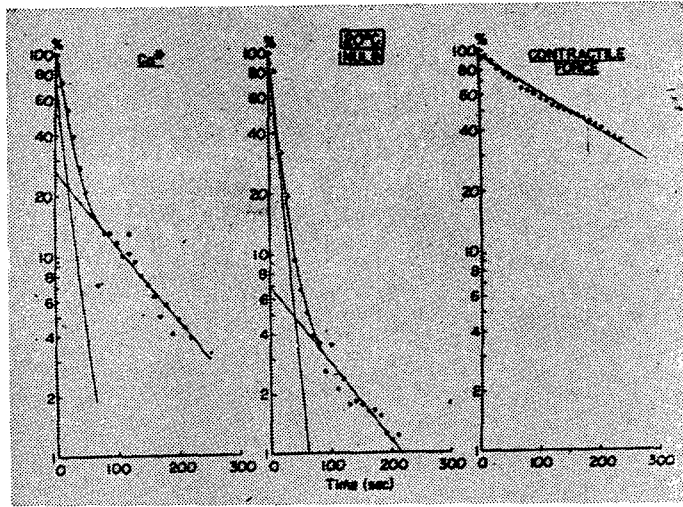
제 2 표. A comparison of rate constants and half times of Ca⁺ and inulin washout curves with those of contractility decay at different temperatures in turtle hearts

			Temperature (°C)				
			10~15° (8)	20° (6)	25° (6)	30° (6)	35° (6)
Ca ⁺	I	λ	5.48±0.41	4.18±0.21	3.87±0.29	3.78±0.44	4.71±0.42
		$t_{1/2}$	7.94±0.67	10.05±0.59	11.06±0.86	11.69±1.50	9.10±0.80
	II	λ	0.57±0.04	0.52±0.05	0.53±0.06 (6)	0.65±0.21 (3)	0.57±0.03
		$t_{1/2}$	76.00±6.94	83.66±8.77	83.20±9.50	80.48±16.80	73.93±4.11
Inulin	I	λ	4.63±0.15	4.52±0.29	5.07±0.32	4.76±0.24	4.90±0.34
		$t_{1/2}$	9.05±0.32	9.36±0.69	8.40±0.66	8.83±0.47	8.65±0.65
	II	λ	0.67±0.18	0.52±0.04 (3)	0.56±0.09	0.54 (1)	1.00±0.37 (3)
		$t_{1/2}$	78.31±9.83	80.59±6.65	78.18±12.47	77.46	53.13±15.88
Contraction	I	λ	2.42±0.15 (3)	2.43 (1)	2.72±0.28 (4)	2.02±0.28 (3)	2.06 (1)
		$t_{1/2}$	17.26±1.06	17.09	15.77±1.60	21.33±2.79	20.17
	II	λ	0.244±0.02	0.322±0.019	0.317±0.03	0.351±0.051	0.46±0.03
		$t_{1/2}$	177.16±14.62	*130.82±8.03	*137.73±14.2	*131.12±21.92	**91.19±8.23

Mean±S.E. *p<0.02 (10~15°C) **p<0.02 (30°C) (): No. of experiment λ : Rate constant (min⁻¹) $t_{1/2}$: Half time (sec)

있다는 것을 알 수 있으며 Ca^{II}가 완전히 세척됐음에도 불구하고 아직 상당히 수축력이 남아있는 결과

미루어 세포내의 Ca⁺도 어느 정도 심근수축에 관여하리라는 암시를 주고 있다.



제 3 도. Typical Ca^{2+} and inulin washout curve and contractile tension decay curve in turtle heart.

B. 자 라

자라에서 심장을 관류할 때 얻은 전형적인 Ca^{2+} 과 inulin의 세척곡선과 이에 따라 수축력의 변화되는 곡선은 제 3도와 같다.

또 각 온도군에서 Ca^{2+} 및 inulin의 세척곡선에서 얻은 각 compartments의 소실율과 반감기 그리고 이때의 수축력의 감소율과 반감기는 제 2표에 표시되어 있다.

제 2 표에서 보는 바와 같이 자라심근에서는 각 온도에서 1~2개의 Ca^{2+} compartments, 1~2개의 inulin compartments가 있었고 수축력의 감소도 1~2개의 phases로 나뉘어져 있었다. $Ca I$, $Ca II$, Inulin I, Inulin II와 수축력 phase I의 반감기는 각 온도군에서 온도에 따라 차이가 없었으나 수축력 phase II의 반감기는 온도를 10~15°C에서 20°C로 올려 주었을 때 현저히 감소하였고($p < 0.02$) 20°C, 25°C, 30°C에서는 별차이가 없었으나 다시 35°C로 올려주었을 때 현저히 감소하였다($p < 0.02$). 또 $Ca I$, $Ca II$ 의 소실율과 Inulin I, Inulin II의 소실율은 각각 각 온도에서 차이가 없어 자라심장 역시 $Ca I$ 과 $Ca II$ 는 세포외액내에 존재하는 Ca^{2+} 임을 알 수 있었다. 또 이때의 $Ca I$ 의 반감기는 각 온도군에서 모두 수축력 phase I의 반감기보다 현저히 짧았고($p < 0.01$), $Ca II$ 의 반감기도 수축력 phase II의 반감기보다 각 온도군에서 모두 현저히 짧아($p < 0.01$) 자라심근에서도 토끼심근과 마찬가지로 수축력이 우선적으로는 세포외액의 Ca^{2+} 에 좌우되나 $Ca II$ 가 완전히 세척됐음에도 불구하고 아직

상당히 수축력이 남아있다는 것으로 미루어 세포내의 Ca^{2+} 도 어느 정도 심근수축에 관여하리라는 암시를 주고 있다.

IV. II 찰

여러 사람들(Niedergerke 1963-a, Fenn et al 1960, Langer and Brady 1963, Langer 1965, Winegrad and Shanes 1962, Teiger and Farah 1967)이 심박동수의 변화가 심근에서의 Ca^{2+} 교환성에 영향을 준다고 하였으므로 본 실험에서는 이러한 심박동수의 영향을 배제하기 위하여 토끼에서는 108회/분, 자라는 24회/분으로 심박동수를 일정하게 하였다. 심박동수의 변화가 각 Ca^{2+} pool에 얼마나 영향을 주며 또한 세포내의 Ca^{2+} 이 수축력 유지에 어느 만큼 관여하는지는 더 추구하고야 할 것이다.

일찍이 Langer 등 (Langer 1964, Langer 1965, Langer et al 1967)은 개심장의 유두근 또는 토끼의 심실벽(septum)을 사용한 Ca^{2+} 이동역학 실험에서 모두 5개의 Ca^{2+} phases를 관찰하였고 그중 세포간질액 내에 있는 Ca^{2+} 이라고 생각되는 phase I의 Ca^{2+} 은 수축력에 무관하나 sarcoplasmic reticulum 혹은 sarcotubule 내에 있는 Ca^{2+} 이라고 생각되는 phase II의 Ca^{2+} 이 심근수축에 관계한다고 하였다. 그러나 그후 Langer 등 (Sanborn and Langer 1970, Langer et al 1971)은 수축성 Ca^{2+} (contractile Ca^{2+})의 결합부위가 세포 표면이고 phase I이 수축성 Ca^{2+} 의 일차적인 근원지(primary source)라고 하였으며 이 phase I의 해부학적인 부위

는 구명하기 어렵지만 근육막, t-tubule 혹은 sarcolemmal vesicle 일 것이라고 추측하였다. 그리고 심박 동헛수의 변화에 따른 심근세포의 Ca^{2+} 이동이 phase II에 특이하게 관련되는 것은(Langer 1965) 세포막이나 juxtasarcolemmal site로부터 수축성 Ca^{2+} 유리의 증감에 따른다고 하였고 E-C coupling에는 이 phase II의 Ca^{2+} 이 직접 참여하고 La^{3+} 도 이 phase II의 Ca^{2+} 교환을 제한함으로써 E-C uncoupler로 작용한다고 하였으며 이 phase II의 많은 부분이 sarcoplasmic reticulum내에 있는 Ca^{2+} 일 것이라고 하였다.

그후 Langer 및 Frank (1972)는 배양된 심근세포의 단일층에서 2개의 Ca^{2+} 이동역학 phases가 있으며 그 중 phase I의 Ca^{2+} 이 심근수축에 관계하고(contractile dependent) La^{3+} 은 이 세포막에 표면적으로(superficial) 결합된 Ca^{2+} 을 변위(displacement)하여 phase I을 없애 버리고 수축력을 감소시킨다고 하였다. 또 실제로 전자현미경에 의한 관찰에서 La^{3+} 이 세포의 외판(external lamina)과 기저막에 국한되어 있고 단일막(unit membrane)을 뚫고 들어가지 않는 것을 관찰하여 세포막에 부착된 Ca^{2+} 이 수축력 유지에 관여한다고 하였다.

또한 Bailey 및 Dressel (1968)은 고양이 심장에서 Ca^{2+} 의 이동역학에 3개의 compartments가 있는데 Ca II의 소실율과 수축력 감소율이 서로 비슷하였고 수축력이 Ca II compartment의 Ca^{2+} 양에 대수적으로 비례하는 것으로 미루어 이 Ca II compartment내의 Ca^{2+} 이 수축력 유지에 직접 참여하고 이 pool로부터 동작전위 발생때 Ca^{2+} 이 일정한 율로 유리된다고 하여 Niedergerke (1963)의 "activator Ca^{2+} "의 유리와 같은 기전으로 설명하였다. 이들은 이 Ca II가 Langer 등의 phase I과 phase II에 해당하는 것이라 하였고 이 Ca II의 반감기가 inulin 세척곡선의 반감기보다 짧았다고 하여 이 Ca II가 세포외액의 Ca^{2+} 일 것이라는 암시를 주었으나 이것은 inulin이 충분히 확산되지 않았기 때문일 것이라고 하여 이 compartment의 해부학적인 부위에 대해서는 전연 언급이 없었다. 또한 Bailey 및 Harvey (1969)는 염소의 heart-lung preparation에서 ouabain이 Ca II에 Ca^{2+} 이 들어가는 양을 증가시키어 positive inotropy를 나타내고 이 Ca II가 Niedergerke (1963)이 말한 labile pool에 해당한다고 하였으며 Ca II의 이온화된 Ca^{2+} 이 수축력에 영향을 준다고 하였다(Niedergerke 1957). 그리고 Ca II의 해부학적인 부위에 대해서는 이 Ca II의 용적이 세포내 물의 용적보다 크다고 하여 세포내와 세포외 공간을 합친 것임을 암시해 주나 이에 대한 자세한 언

급을 하지 않았다. Ong 및 Bailey (1972)는 Ca^{2+} 이 고갈(depletion)된 심장조직내로의 Ca^{2+} uptake의 역학에는 두개의 phases가 있는데 Ca I은 수축력의 복귀에 밀접한 관계가 없으나 coupling 과정에는 거의 결정적으로 필요하고 Ca II가 수축력의 복귀에 관계있고 수축력의 유지에 결정적으로 필요하다고 하였다. 여기에 La^{3+} 을 처치하면 Ca I이 소멸되고 Ca II에는 아무 변화가 없으나 수축성이 소멸되는 것으로 미루어 Ca I의 Ca^{2+} 이 Ca II로 부터의 Ca^{2+} 유리를 증대한다고 하여 동작전위때 근육막이나 t-tubule에서 나오는 Ca^{2+} 이 "제동기(trigger)"로써 수축기전을 활성화하는 reticular Ca^{2+} 을 유리하게 한다고 하였다. 저자도 토끼심장에서 3 compartments의 Ca^{2+} 이동역학을 얻어 위에 언급한 실험들과 일치함을 보았고, Teiger 및 Farah (1967)의 토끼심방에서 3 phases와 DeCaro (1967)의 역시 같은 토끼심방에서 2 phases와도 같은 결과를 보였다. 이들의 모든 실험을 통해 볼 때 포유동물의 심장조직에는 적어도 두개 이상의 Ca^{2+} compartments가 있다는 것을 알 수 있다(DeCaro 1967). 본 실험의 토끼심방에서 Ca II의 반감기가 모든 온도에서 수축력의 반감기보다 짧은 것($p < 0.05$)으로 미루어 봐서 Ca II의 Ca^{2+} 만이 전적으로 수축성에 관계하는 것(Langer 1964, Langer 1965, Langer et al 1967, Bailey and Dressel 1968, Bailey and Harvey 1969)이 아니라 Ca III의 Ca^{2+} 도 수축성에 관계하리라는 것을 알 수 있다. 그러므로 심근수축에 Ca III의 Ca^{2+} 이 관계한다면 온도를 낮춤에 따라 Ca III에서 Ca^{2+} 이 유리된 후 deactivation 되는 율이 줄어들므로(실제로 Ca III의 반감기는 온도를 낮춤에 따라 의외있게 길어졌다($p < 0.01$.) 수축력 감소율도 감소하리라는 것을 쉽게 예측할 수 있고 본 실험에서 이 감소율이 약간 감소했지만 의외있게 감소하지 못한 것은 토끼심장 조직내의 Ca III pool이 비교적 크기 때문일 것이라고 생각된다(Langer 1963, Winegrad and Shanes 1962, Langer and Frank 1972).

자라에서는 포유동물과는 달리 심근세포내의 sarcoplasmic reticulum이 비교적 덜 발달되어 있기 때문에(Fawcett and Selby 1958, Leak 1967) 세포내의 Ca^{2+} pool (intracellular Ca^{2+} pool)이 적을 것이라고 추정되었던 바 실제로 Ca^{2+} 이동역학이 1~2개의 compartments이었고 서서히 교환되는, 혹은 매우 단단히 결합된 Ca^{2+} compartment (slowly exchangeable or tightly bound Ca^{2+} compartment)는 볼 수가 없었다. 그러나 Okita (1971)는 자라(Amyda) 심장조직은 다른 냉혈동물과는 달리 특이하게 sarcoplasmic reticu-

lumen이 잘 발달되어 있다고 보고하였으나 탄 포유동물 즉 토끼 등의 것과 동시에 비교하지 않았기 때문에 저자는 토끼심장에 비해서는 아직 덜 발달되었을 것으로 추측은 하나 이것은 앞으로 더욱 추구하여야 할 것이다. 또한 자라의 심장에서 수축력의 소실도 1~2개의 phases로 나뉘어져 있음을 볼 수 있었다. $Ca I$ 의 반감기가 수축력 phase I의 반감기보다 각 온도에서 모두 짧고($p < 0.01$) $Ca II$ 의 반감기도 수축력 phase II의 반감기보다 각 온도에서 모두 짧아($p < 0.01$) 자라심장에서도 수축성은 우선 $Ca I$ 과 $Ca II$ 의 Ca^{2+} 에 의한다는 것을 알 수 있고 $Ca II$ 가 완전히 세척됐음에도 불구하고 수축력이 아직 많이 남아 있다는 사실로 미루어 보아 세포내의 매우 서서히 교환되는(very slowly exchangeable) Ca^{2+} 이나 강하게 결합된(tightly bound) Ca^{2+} 이 수축성을 유지시키고 있는 것으로 생각된다. 그러나 이 양이 매우 적어 본 실험상의 Ca^{2+} 세척곡선에 나타나지 않은 것이 아닌가 생각된다.

각 compartments들의 해부학적인 부위를 규명하기 위하여 inulin도 같이 관류하였던 바 inulin은 세포외액에만 존재하는 물질임에도 불구하고 토끼심장조직에서 2 compartments, 자라심장조직에서는 1~2 compartments로 나뉘어져 있음을 관찰한 것은 매우 흥미 있는 일이다. 토끼심장에서 Inulin II의 반감기는 $Ca II$ 의 반감기보다 각 온도에서 의의있게 길어($p < 0.01$) 토끼심장조직에서는 $Ca II$ 가 완전히 세포외액의 compartment임을 강력히 시사해 주고 $Ca III$ 의 반감기는 Inulin II의 반감기보다 굉장히 길어 세포내의 compartment임을 시사해 주고 있으며 자라심장 조직에서도 $Ca II$ 와 Inulin II의 반감기가 서로 비슷하여 여기서도 $Ca II$ 가 세포외액의 compartment임을 암시해 주고 있다. 즉 수축성의 유지에 필요한 Ca^{2+} 은 토끼, 자라심장 공히 세포외액에 존재한다는 것을 의미한다. Niedergerke (1963-a)는 개구리심장에서 수축에 관계하는 Ca^{2+} 의 일부는 바깥매질(external medium)에, 일부는 특이한 조직 pool (specific tissue pool)에서 온다고 하였고 Bailey 등(1971)은 세포외액내의 Ca^{2+} 농도를 감소시켰을 때 수축력의 감소를 봄으로써 세포외액의 Ca^{2+} 이 수축성을 유발한다고 하였다(Niedergerke 1963, Sanborn and Langer 1970, Langer et al 1971, Langer and Frank 1972, Ong and Bailey 1972).

inulin의 세척곡선이 2 compartments로 나누어졌다는 것은 세포외액 compartment 자체가 2 phases로 나누어졌다는 것을 말해 주고 이것은 심장조직내의 두께가 균일하지 않고 혈관의 분포가 균일하지 않아 심장조직내에 과관류부위(over-perfused area)와 저관류

부위(under-perfused area)가 존재하리라는 것을 암시해 준다. 이런 사실로 미루어 본 실험에서 사용된 관류장치나 방법으로는 각 compartment가 정확히 어느 해부학적인 부위를 나타내느냐를 규명하기 어렵다는 것을 시사해 준다.

그러므로 각 compartment의 정확한 해부학적인 부위를 알기 위하여는 다른 관류장치와 방법을 써야 할 것이다.

자라심장에서 세포내 서서히 교환되는 Ca^{2+} pool이라고 인정되는 $Ca III$ 는 본 실험의 세척곡선상에서는 나타나지 않았으나 이 pool이 수축성에 관계한다는 것은 온도를 $15^{\circ}C$ 에서 $20^{\circ}C$, $25^{\circ}C$ 혹은 $30^{\circ}C$ 로 올렸을 때 수축력 phase II의 반감기가 짧아졌고($p < 0.02$) 다시 $35^{\circ}C$ 로 올렸을 때 더욱 짧아졌다($p < 0.02$). 이것으로 미루어 온도를 높이면 Ca^{2+} 의 deactivation process의 작용이 활발하여져서 Ca^{2+} 의 손실이 커졌기 때문일 것이라고 생각되나 원래 세포내의 Ca^{2+} 양이 적기 때문에 세척곡선상에서 발견이 안됐을 것이라고 생각된다.

Fenn 등(1960)은 낮은 온도가 Ca^{2+} 교환성을 감소시킨다고 하였고 이것은 본 실험에서 토끼심장의 경우 $Ca III$ 가 낮은 온도에서 그 반감기가 길어지는 것과 자라심장의 경우 수축력감소의 반감기가 높은 온도에서 짧아지는 것과 매우 잘 일치하였다.

V. 결 론

적출된 토끼심장과 자라심장을 사용하여 Langendorff 관류장치로 관류한 후 Ca^{2+} , inulin의 세척곡선과 수축력의 변화를 분석하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 토끼심장에서는 2개의 inulin compartments, 3개의 Ca^{2+} compartments와 대수적으로 직선인 수축력 감소곡선을 얻었다.
2. 자라심장에서는 1~2개의 inulin compartments, 1~2개의 Ca^{2+} compartments, 그리고 1~2 phases의 수축력 감소곡선을 얻었다.
3. 토끼, 자라심장 공히 $Ca I$ 과 $Ca II$ 는 세포외액 compartment 이었고 토끼심장에서는 $Ca III$ 는 세포내 compartment 라고 생각된다.

자라심장에서는 $Ca III$ 가 발견되지 않았다. 이것은 세포내 Ca^{2+} pool 중 가장 크다고 생각되는 sarcoplasmic reticulum이 자라심장 조직내에는 비교적 덜 발달되어 있어서 이 결과로 자라심장내의 세포내 Ca^{2+} pool이 작기 때문일 것이라고 생각된다.

4. 토끼, 자라심장 공히 $Ca II$ 의, 즉 세포외액 중의

Ca^{2+} 의 수축성에 우선적으로 관계하고 Ca^{2+} , 즉 세포 내액중의 Ca^{2+} 도 수축력 유지에 관계하였다. 즉 세포외액중의 Ca^{2+} 이 우선 세포내로 들어가 세포내 Ca^{2+} pool에 있는 Ca^{2+} 을 활성화시키는 “제동기(trigger)” 혹은 “activator”로 작용할 것이라는 가능성을 암시해 준다.

참 고 문 헌

- Bailey, L.E., and P.E. Dressel.: *Correlation of contractile force with a calcium pool in the isolated cat heart.* *J. Gen. Physiol.* 52:969, 1968.
- Bailey, L.E., and S.C. Harvey.: *Effect of ouabain on cardiac ^{45}Ca kinetics measured by indicator dilution.* *Am. J. Physiol.* 216:123, 1969.
- Caldwell, P.C.: *Factors governing movement and distribution of inorganic ions in nerve and muscle.* *Physiol. Rev.* 48:1, 1968.
- Chipperfield, D.: *The effect of ouabain on mitochondrial calcium, in vitro.* *Life Sci.* 8:39, 1969.
- DeCaro, T.F.: *Correlation between kinetically defined calcium compartments and contractile response in rabbit atrium.* *Nature* 215:1182, 1967.
- Ebashi, S.: *Ca^{2+} binding activity of vesicular relaxing factor.* *J. Biochem. (Tokyo)* 50:236, 1961.
- Fawcett, D.W., and C.C. Selby.: *Observations on the fine structure of the turtle atrium.* *J. Biophysic. Biochem. Cytol.* 4:63, 1958.
- Gabel, L.P., I. Bihler, and P.E. Dressel.: *Contractibility, metabolism and pharmacological reactions of isolated gas perfused cat hearts.* *Circ. Res.* 19:891, 1966.
- Geddes, L.A.: *The direct and indirect measurement of blood pressure.* *Year Book Medical Publishers, Inc. Chicago, U.S.A.* 1970.
- Henrotte, J.G., E. Cosmos, and W.O. Fenn.: *Ca^{2+} exchange in isolated turtle ventricle.* *Am. J. Physiol.* 199:779, 1960.
- Krip, G., B. Ostrow, and L.E. Bailey.: *The effect of gas perfusion on myocardial contractility and inotropic effect of ouabain.* *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* 190:322, 1971.
- Langer, G.A., and A.J. Brady.: *Ca^{2+} flux in the mammalian ventricular myocardium.* *J. Gen. Physiol.* 46:703, 1963.
- Langer, G.A.: *Kinetic studies of Ca^{2+} distribution in ventricular muscle of the dog.* *Circ. Res.* 15:393, 1964.
- Langer, G.A.: *Ca^{2+} exchange in dog ventricular muscle: Relation to frequency of contraction and maintenance of contractility.* *Circ. Res.* 17:78, 1965.
- Langer, G.A., and J.S. Frank.: *Lanthanum in heart cell culture; effect of calcium exchange correlated with its localization.* *J. Cell. Biol.* 54:441, 1972.
- Leak, L.V.: *The ultrastructure of myofibers in a reptilian heart; the boa constrictor.* *Am. J. Anat.* 120:553, 1967.
- Mager, M., and G. Farese.: *Direct photometric analysis of serum calcium with glyoxal bis (2-hydroxyanyl).* *Clin. Chem.* 12:234, 1966.
- Niedergerke, R.: *The rate of action of Ca^{2+} ions on the contraction of heart.* *J. Physiol.* 138:506, 1957.
- Niedergerke, R.: *Movement of Ca^{2+} in frog ventricles at rest and during contracture.* *J. Physiol.* 167:515, 1963.
- Niedergerke, R.: *Movement of Ca^{2+} in beating ventricles of the frog heart.* *J. Physiol.* 167:551, 1963-a.
- Okita, S.: *The fine structure of the ventricular muscle cells of the soft-shelled turtle heart (Amyda), with special reference to the sarcoplasmic reticulum.* *J. Electron. Microsc. (Tokyo)* 20:107, 1971.
- Riggs, D.S.: *The mathematical approach to physiological problems.* *The Williams and Wilkins Co., Baltimore, Md, U.S.A.* 1963.
- Sanborn, W.G., and G.A. Langer.: *Specific uncoupling of excitation and contraction in mammalian cardiac tissue by lanthanum.* *J. Gen. Physiol.* 56:191, 1970.
- Seok Doo Ong, and L.E. Bailey.: *Two functionally distinct calcium pools in excitation-contraction.*

- tion coupling process. Experientia* 28:1446, 1972.
- Shelburne, J.C., S.D. Serena, and G.A. Langer.: *Rate-tension staircase in rabbit ventricular muscle; relation to ionic change. Am. J. Physiol.* 213:1115, 1967.
- Shine, K.I., S.D. Serena, and G.A. Langer.: *Kinetic localization of contractile Ca^{2+} in rabbit myocardium. Am. J. Physiol.* 221:1408, 1971.
- Shreiner, G.E.: *Inulin determination by means of resorcinol. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* 74:117, 1950.
- Teiger, D.G., and A. Farah.: *Ca^{2+} movements in resting and stimulated rabbit atria. J. Pharmacol. Exp. Ther.* 157:8, 1967.
- Theodore, P.S., and W.A. Brodsky.: *Transient acceleration of transmural water flow by inhibition of Na transport in turtle bladders. Am. J. Physiol.* 219:590, 1970.
- Washington, F.D., and Murphy, J.V.: *Ca^{2+} uptake by rat kidney mitochondria and its dependence on respiration and phosphorylation. J. Biol. Chem.* 237:2670, 1962.
- Wassermann, O., and W.C. Holland.: *Effect of calcium and ouabain on atrial contraction (1) Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* 189:213, 1971.
- Winegrad, S., and A.M. Shanes.: *Calcium flux and contractility in guinea pig atria. J. Gen. Physiol.* 45:371, 1962.