

## 저온관류 흰쥐 심방표본의 Catecholamine 및 Ouabain 반응에 관한 연구

연세대학교 의과대학 약리학교실

<지도 洪 思 爽 교수>

安 英 秀 · 裴 玲 淑

=Abstract=

### Effects of catecholamine and ouabain on isolated rat atrium suspended in hypothermic bath

Y.S. Ahn and Y.S. Pae

(Directed by Professor Sa Suk Hong, M.D.)

*Department of Pharmacology, Yonsei University College of Medicine  
Seoul, Korea*

Recently several reports have claimed that the bath temperature changes, such as lower bath temperature, produce supersensitivity on the positive chronotropic effect of catecholamine in cat, mouse and guinea pig atria. However, others showed controversial results against temperature-dependent supersensitivity.

Similarly, the inotropic effect of ouabain is diminished in febrile state, however some investigators indicated that cardiac glycoside showed less toxicities and less effects in hypothermic condition.

In this study, the effects of norepinephrine and epinephrine on inotropy and chronotropy in isolated rat atria was investigated by changing the temperature of bath (30°C, 35°C and 38°C). In addition, the effects of ouabain on atria in hypothermic bath was also studied.

The followings are the results.

1. At the lower bath temperature isolated rat atrial rate was decreased and contractility was increased.
2. The chronotropic responses to norepinephrine and epinephrine in 38°C were decreased when the bath temperature lowered to 35°C or 30°C, while the inotropic responses were not affected.
3. Hypothermic supersensitivity to norepinephrine or epinephrine was not observed in rat atrium.
4. The inotropic response to ouabain was potentiated but chronotropic response was diminished by a lowering in the bath temperature.

In conclusion, the chronotropic response of rat atrium to catecholamine was decreased, however, hypothermic supersensitivity was no longer present in rat atrium and the inotropic response of ouabain was increased at lower bath temperature.

\* 본 연구는 1975년도 연세의대 유한연구비 YH 75-11의 일부 보조로 이루어졌음.

서 론

저온법은 생체대사율을 저하시킬 목적으로 사용되며 특히 심장의과에서 흔히 응용되고 있다. 그러나 저온법으로 인한 심실세동(ventricular fibrillation) 발생은 치명적 부작용이다. 심실세동의 유발기전은 심장의 요소도 관여되나 심장자체에 대한 직접작용 특히 심장내 자율신경계 기능 변동과 밀접한 관계가 있다고 강조되고 있다(Falck 등, 1972).

Szekeres 및 Lénárd(1969)는 저온에서 catecholamine의 심박수 및 심근수축력 항진효과가 억압된다고 보고 하였으나 근래 마우스, 토끼, 해명(guinea pig) 및 고양에서 저온으로 심박동이 항진되어 오히려 supersensitivity 현상을 나타낸다고 한다(Schneider 및 Gillis, 1966; Muñoz-Ramírez 등, 1973).

한편 체온에 따른 cardiac glycoside 특히 ouabain의 효과를 관찰하여 Cotten 및 Brown(1957), Angelakos(1958) 등은 저온에서 독성 및 심근수축반응의 약화를 보고하였으나 Kokenge 및 Van Zwieten(1973)은 정상보다 높은 체온에서 ouabain의 심근수축효과가 저조하다는 상반된 보고도 있다.

이에 본실험은 흰쥐적출심방에서 온도변화에 따른 약물반응의 변동을 관찰하기 위하여 관류액 온도를 30°C, 35°C 및 38°C로 변화시키면서 catecholamine 및 ouabain의 심박 및 심근수축반응을 검색하였다.

실험재료 및 방법

실험동물로는 200 g 안팎의 흰쥐를 암수 구별없이 사용하였으며 경한 ether 마취하에 개흉하여 심장을 적출하고 영양액내에서 심방을 분리하였다. 적출된 심방은 95% O<sub>2</sub> 와 5% CO<sub>2</sub>를 계속 공급받는 영양액이 든

muscle chamber 내에 한 끝을 고정하고 다른 끝은 0.5 g의 tension으로 force displacement transducer (FT03, Grass)에 고정하여 Grass polygraph model 7에 연결시켜 자율적 심방운동을 묘사하였고 다시 storage oscilloscope (Tektronix Type 564)에 연결하여 심박수를 산출하였다.

Muscle chamber 내 영양액 온도는 bath controller-circulator (Haake Model E 52)로 일정하게 보온된 물을 muscle chamber 이중벽 사이로 계속 순환시켜 조정하였다. 또한 영양액내에 온도계를 부착시켜 온도를 확인하고 30°C, 35°C, 38°C로 올리면서 3가지 온도에서 실험하였으며, 온도변경시에는 영양액을 갈아주면서 30분 이상 방치하여 심박수 및 심근수축력이 일정해진 후 실험하였다.

본 실험에 사용된 영양액은 흰쥐 적출심방 기능을 비교적 잘 유지시키는 조성으로 수정하였으며 그 조성은 다음과 같다(mEq). Na 145, K 3.7, Cl 149.6, Mg 2.3, Ca 5.0, HCO<sub>3</sub> 8.3 H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.8, SO<sub>4</sub> 2.3, glucose 10.0. 제 1 표는 타 보고자의 영양액 조성과의 본 실험에 사용한 영양액 조성을 비교한 것이다.

실험성적

1. 온도에 따른 심박 및 심근수축력의 변동

30°C 영양액내에 적출 심방을 30분 이상 방치하면 심박수 및 심근수축력은 각각 163±2.8 및 0.52±0.013 g을 나타내고 35°C로 영양액온도를 상승시키면 180±3.4 및 0.45±0.017 g, 38°C에서 200±6.7 및 0.41±0.012 g의 심박 및 심근수축력의 변동을 나타내어 온도를 상승시켜 줄에 따라 심박 증가 및 심방수축력의 감소를 볼 수 있었다(Table 2).

Table 1. Composition of various nutritive solution used for isolated rat heart

Authors	Ypma (1972)	Landmark (1971)	Tomlinson & Dahlla (1972)	Johansson (1973)	Henry (1975)	Zetler & Strubelt (1971)	Kunos & Nickerson (1977)
Ka	145.0	149.0	143.4	145.0	137.55	143.0 158.5 156.0	137.4
K	3.7	4.7	5.3	6.05	5.92	5.9 5.8 2.7	5.7
Cl	149.6	138.0	126.4	127.3	131.73	127.7 132.6 150.0	123.5
Mg	2.3	1.05	2.3	1.25	1.19	1.2 1.27 —	1.1
Ca	5.0	2.0	5.1	1.25	2.25	2.5 2.5 1.8	1.8
HCO <sub>3</sub>	8.3	20.0	25.0	15.5	15.5	2.5 25.5 11.9	22.1
H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.8	0.4	2.4	1.25	1.19	1.2 2.1 2.1	1.1
SO <sub>4</sub>	2.3	—	2.3	1.25	1.19	1.2 1.27 1.1	1.1
Glucose	10.0	11.0	10.0	8.6	11.5	5.0 5.6 5.6	11.1

**Table 2.** Changes of atrial rate and contractile force with increasing temperature

	30°C(29)	35°C(30)	38°C(21)
Atrial rate	163±2.8	180±3.4	200±6.7
Contractile force (g)	0.52±0.013	0.45±0.017	0.41±0.012

( ): No. of experiments.

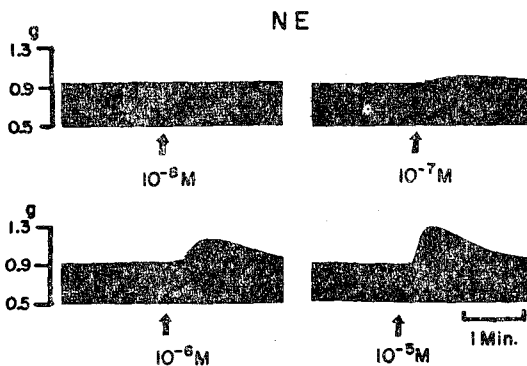
**2. Catecholamine 반응에 대한 온도의 영향**

30°C 영양액으로 보온된 심방에 norepinephrine 을 적용하면 10<sup>-8</sup>, 10<sup>-7</sup>, 10<sup>-6</sup> 및 10<sup>-5</sup>M 농도에서 약물투여전에 비해 각각 심박수는 2.2, 34.6, 46.7 및 50.0%의 증가를, 심근수축력은 11.5, 28.6, 48.2 및 65.4%의 증가를 나타내어 두 반응 모두 norepinephrine 농도증가에 따라 항진되었다. 영양액 온도를 35°C 및 38°C로 증가시키면 norepinephrine 에 의한 심박수증가 반응은 더욱 강하게 나타나나 심근수축력 증가반응은 온도변화의 영향을 받지 않았다(Fig. 1 및 2).

30°C의 영양액에 epinephrine 10<sup>-8</sup>, 10<sup>-7</sup>, 10<sup>-6</sup> 및 10<sup>-5</sup>M 을 각각 적용하면 심박수는 13.0, 33.3, 56.5 및 60.9%의 증가를, 심근수축력은 16.7, 25.0, 33.3 및 43.5%의 증가를 보였으며, norepinephrine 과 마찬가지로 영양액 온도를 상승시키면 epinephrine 의 심박수 증가현상은 현저하나, 심근수축력의 증가에는 별 영향을 주지 않았다(Fig. 3).

**3. 온도변화에 따른 catecholamine 심박수반응 민감도**

온도에 따른 심박반응의 민감도를 비교하기 위하여

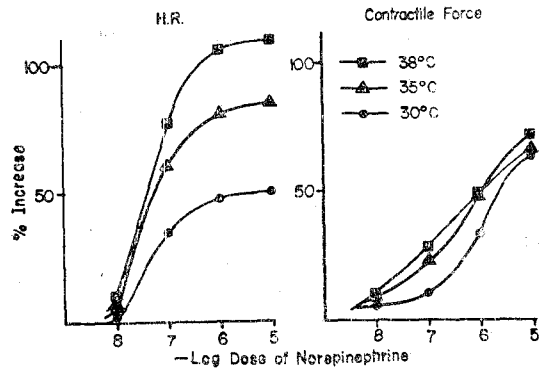


**Fig. 1.** Responses of rat atria to various doses of norepinephrine.

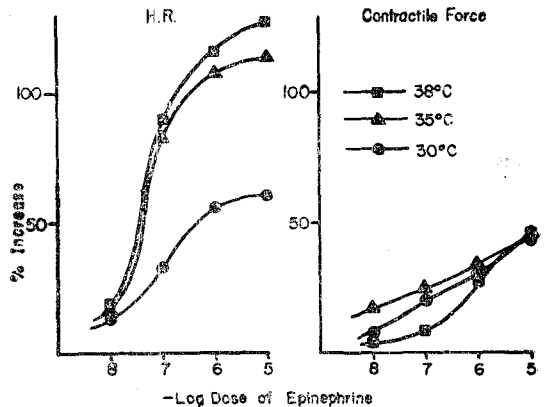
Fig. 1 및 Fig. 2의 심박수에 대한 효과를 Atrial Response (%)

$$= \frac{\text{Observed rate} - \text{Control rate}}{\text{Maximal rate} - \text{Control rate}} \times 100$$

의 식(Trendelenburg, 1963; Muñoz-Ramírez, 1973). 에 의거 산출하여 비교한 바 Fig. 4에서 보는 바와 같이 catecholamine 의 심박수 증가효과는 온도에 따르는 민감도의 차이를 나타내지 않았다.



**Fig. 2.** Dose-response curves of norepinephrine with various bath temperature in isolated rat atria. All values are percent increase in response to control value. Left : Heart rate Right : Contractile force



**Fig. 3.** Dose-Response curves of epinephrine with various bath temperature in isolated rat atria. All values are percent increase in response to control value. Left : Heart rate Right : Contractile force

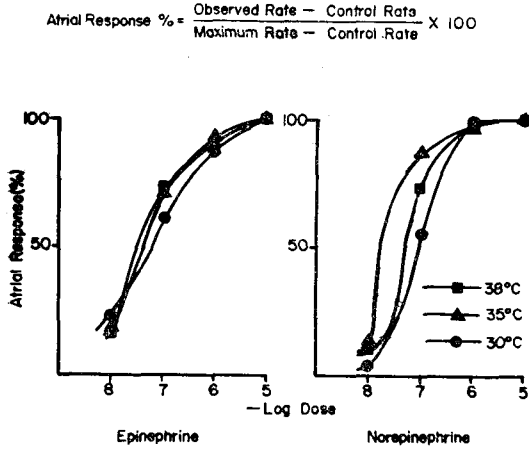


Fig. 4. Dose-response curves of epinephrine and norepinephrine in atrial rate according to the above formula.

4. Ouabain 반응에 대한 온도의 영향

30°C 에서 흰쥐 적출심방에 ouabain 을 적용하면  $5 \times 10^{-6}M$  이하에서는 심박수의 변동이 없으나  $10^{-5}$ ,  $5 \times 10^{-5}$  및  $10^{-4}M$  농도에서는 처치전에 비해 각각 5.5, 7.6 및 31.5%의 증가율을 보였다. 영양액의 온도를 35°C 및 38°C로 증가 조정하면  $5 \times 10^{-5}M$  이상의 농도에서 온도상승에 따라 심박수 증가효과가 강하게 나타났으며 38°C에서  $10^{-4}M$ 의 적용은 일시적인 강한 심박증가에 이어 부정맥이 출현되었다(Fig. 5).

한편 심근수축력 증가효과는  $10^{-5}M$  이하의 저농도에서는 온도에 따른 변화가 없거나 온도상승으로 효과가 강해지는 경향이 나타나나  $5 \times 10^{-5}M$  이상의 농도에서는 온도상승으로 오히려 심근수축효과의 약화가 초래되었다(Fig. 6).

고 찰

일반적으로 저온법은 심근의 산소 소모량 저하, 심박수 감소 및 심근수축력의 증가를 나타내어 심기능 효율을 증가시킨다고 보고되어 있다(Gerola 등 1959; Reissmann 및 Van Citters, 1956).

Norepinephrine 혹은 epinephrine 등의 심박 및 심근수축력 증가효과는 저온에서 감소된다고 하며(Cotten 및 Brown, 1957; Booker, 1950; Szekeres 및 Lénárd 1969) 본 실험에서도 두 catecholamine 의 심박수 증가에 대한 최고 효능은 온도저하로 감소됨을 볼 수 있으나 심근수축력 증가효과에는 별 영향이 없었다.

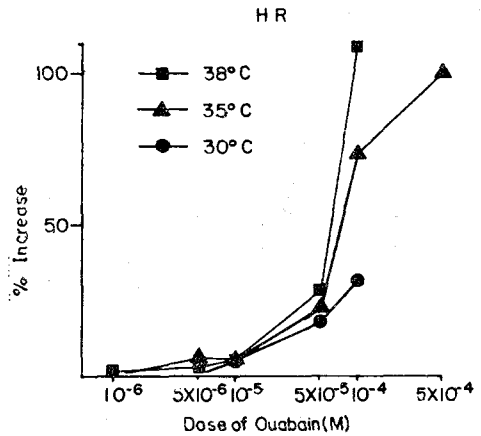


Fig. 5. Changes of ouabain effects on isolated atrial rates with various bath temperature in rat (Values are expressed as percent increase to control).

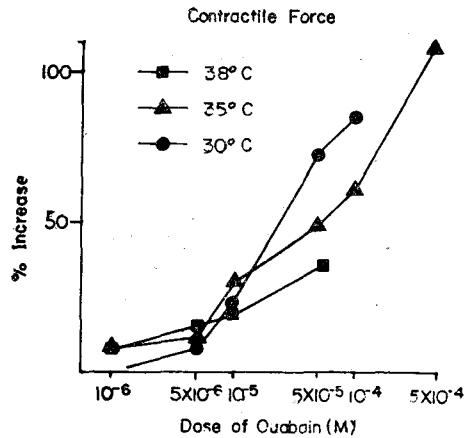


Fig. 6. Changes of ouabain effects on isolated atrial contractile forces with various bath temperature in rat (Values are expressed as percent increase to control).

최근 마우스, 해명 및 고양이에서는 catecholamine 의 심박수 증가효과가 온도저하에 따라 항진되는 supersensitivity 현상이 나타난다고 보고되어 그 기전으로 catecholamine 재흡수능의 저하, 비특이성 조직 결합의 저하, catecholamine 분해효소인 monoamine oxidase 및 catechol-O-methyl transferase 의 활성저하 등으로 인한 catecholamine 의 축적등이 관여하여 나타난다고 추측하고 있다(Schneider 및 Gillis, 1966; Muñoz-Ramírez, 1973). 또한 이 supersensitivity 는 저온으로 교감신경수용체의 변화(Kunos 및 Szentivanyi,

1968; Buckley 및 Jordan, 1970)가 초래되어 나타날 수도 있다고 하나 Muñoz-Ramírez 등(1973)은 이 현상의 개입을 부정하고 있다. 저온법에 의한 심실성 부정맥 특히 심실세동은 저온으로 인한 심근의 super-sensitivity 현상으로 설명되기도 한다(Falck 등 1972).

본 실험결과로 흰쥐에 있어서 저온에 의한 super-sensitivity 현상여부를 보기 위하여 Trendelenburg (1963)와 Muñoz-Ramírez 등(1973)의 식에 의거 산출하여 보았으나 supersensitivity를 관찰할 수 없었다. 이런 현상은 저온에서 흰쥐심장의 epinephrine 심박수 증가효과가 해명 및 토끼에 비해 약하다는 보고(Kruta, 1955)로 미루어 보아 동물에 따른 차이점으로 추측될 수 있다. 또한 심박수 증가현상은 궁극적으로 ion의 세포내의 이동에 연유되며 본 실험에 사용된 영양액의 조성은 다른 영양액에 비해 낮은  $[K^+]$ 과 높은  $[Cl^-]$  및  $[Ca^{++}]$ 으로 이러한 ion 조성의 차이에 의해 super-sensitivity 현상이 나타나지 않을 가능성도 있다고 생각하며 이는 앞으로 더 추구할 과제이다.

Cardiac glycoside의 심장효과는 저온에서 감소되며 독성도 경감된다고 보고되고 있다(Cotten 및 Brown, 1957; Angelakos, 1958). 그러나 임상적으로 고열환자에 있어서 cardiac glycoside의 필요량이 증가된다고 하며 이 현상도 약리학적(藥學的) 변화 혹은 대사속도의 증가에 기인될 수도 있으나 심근자체의 약물반응 저하가 큰 이유라 설명하고 있다(Kokenge 및 Van Zwieten, 1973). 본 실험에서 ouabain의 심근수축력 증가효과는  $5 \times 10^{-6}M$  이하의 농도에서는 온도상승에 따른 영향은 별로 없으나 고농도에서는 온도상승으로 심근수축력 증가효과가 약화됨을 알 수 있다. 그러나 심박수 증가현상은 오히려 온도상승으로 증강(增強)되고 특히  $38^\circ C$ 에서는  $10^{-4}M$ 의 농도로 부정맥이 야기되어 고농도에서는 온도가 상승할수록 독성이 강해질 수 있는 가능성을 보여준다.

일반적으로 심근수축력은 세포내  $[Ca^{++}]$  증가의 결과라고 설명되며 심박수 증가효과는  $[K^+]$  및  $[Na^+]$  (혹은  $[Cl^-]$ )의 세포막 투과력변화에 의한 potential 변화와 밀접한 관련을 가지고 있으므로 본 실험에 사용된 두가지 물질 즉 catecholamine 및 cardiac glycoside의 온도에 따른 효과변동을 규명하려면 이 ion들의 이동현상을 동시에 추구하여야 가능하다.

## 결 론

흰쥐의 적출심방을 사용하여 영양액의 온도를  $30^\circ C$ ,

$35^\circ C$  및  $38^\circ C$ 로 바꾸면서 norepinephrine, epinephrine 및 ouabain의 심박과 심근수축 반응에 대한 영향을 검색하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 흰쥐 적출심방의 심박수는 낮은 온도에서 느려지고 심근수축력은 증강되었다.

2. Norepinephrine 및 epinephrine은 저온에서 심박수증가의 최고효능치는 낮아지나 심근수축력 증가효과는 온도의 영향을 받지 않았다.

3. Norepinephrine 및 epinephrine의 심박수 증가효과의 민감도는 온도의 영향을 받지 않았다.

4. 저온에서 ouabain의 심박수 증가효과는 저조하나 심근수축력 항진반응은 증강되었다.

이상의 성적으로 보아 흰쥐심방에서 catecholamine에 대한 민감도는 온도의 영향을 받지 않으나 ouabain은 저온에서 심근수축 항진반응이 강화되고 독성은 약화됨을 알 수 있다.

## REFERENCES

- 1) Angelakos, E.T., Torres, J. and Driscoll, R.: *Ouabain on the hypothermic dog heart. Am. Heart. J.* 56:458-462, 1958.
- 2) Booker, W.M.: *Comparison of the action of adrenaline and noradrenaline on the isolated perfused guinea pig heart during normothermia and hypothermia. Arch. Intern. Pharmacodyn.* 124:11-20, 1960.
- 3) Buckley, G.A. and Jordan, C.C.: *Temperature modulation of  $\alpha$ - and  $\beta$ -adrenoceptors in the isolated frog heart. Br. J. Pharmacol.* 38: 394-398, 1970.
- 4) Cotten, M.deV. and Brown, T.G. Jr.: *Effects of pressor amines and ouabain on the heart and blood pressure during hypothermia. J. Pharmacol. Exp. Ther.* 121:319-329, 1957.
- 5) Falck, B., Nielsen, K.C., Owman, C., Persson, H. and Sporrang, B.: *Adrenergic mechanisms in the development of hypothermic ventricular fibrillation in the isolated perfused heart of the cat. Europ. J. Pharmacol.* 17: 66-74, 1972.
- 6) Gerola, A., Feinberg, H. and Katz, L.N.: *Myocardial oxygen consumption and coronary blood flow in hypothermia. Am. J. Physiol.*

- 196:719-725, 1959.
- 7) Henry, P.D.: *Positive staircase effect in rat heart. Am. J. Physiol.* 228:360-364, 1975.
  - 8) Johansson, B.: *Effects of propranolol and a new 'cardioselective'  $\beta$ -blocker, H93/26, on responses of isolated rat atria to isoprenaline and noradrenaline. Europ. J. Pharmacol.* 24:194-204, 1973.
  - 9) Kokenge, F. and Van Zwieten, P.A.: *The influence of hyperthermia on the pharmacokinetic behaviour of cardiac glycosides. Vol. 2 Symposium on drugs and heart metabolism. First congress of the Hungarian pharmacological society. 1971. pp. 233-241, 1973.*
  - 10) Kruta, V.: *J. Physiol. (Paris)* 47:667, 1955. Cited from Fuhrman, G.J. and Fuhrman, F.A.: *Ann. Rev. Pharmacol.* 1:65-78, 1961.
  - 11) Kunos, G. and Nickerson, M.: *Effects of sympathetic innervation and temperature on the properties of rat heart adenoceptors. Br. J. Pharmacol.* 59:603-614, 1977.
  - 12) Kunos, G. and Szentivanyi, M.: *Evidence favouring the existence of a single adrenergic receptor. Nature* 217:1077-1078, 1968.
  - 13) Landmark, K.: *The action of promazine and thioridazine in isolated rat atria. 1. Effects on automaticity, mechanical performance, refractoriness and excitability. Europ. J. Pharmacol.* 16:1-7, 1971.
  - 14) Muñoz-Ramírez, H., Haavik, C.O. and Ryan, C.F.: *Temperature-dependent supersensitivity to isoprenaline in mouse atria. Europ. J. Pharmacol.* 22:43-46, 1973.
  - 15) Reissmann, K.R. and Van Citters, R.L.: *Oxygen consumption and mechanical efficiency of the hypothermic heart. J. Appl. Physiol.* 9:427-430, 1956.
  - 16) Schneider, F.H. and Gillis, C.N.: *Hypothermic potentiation of chronotropic response of isolated atria to sympathetic nerve stimulation. Am. J. Physiol.* 211:890-896, 1966.
  - 17) Szekeres, L. and Lénárd, G.: *Acta Physiol. Acad. Sci. Hung.* 16:221, 1959. Cited from Fuhrman, G.J. and Fuhrman, F.A.: *Ann. Rev. Pharmacol.* 1:65-78, 1961.
  - 18) Tomlinson, C.W. and Dhalla, N.S.: *Myocardial contractility. II. Effect of changes in cardiac function on the subcellular distribution of calcium in the isolated perfused rat heart. Canad. J. Physiol. Pharmacol.* 50:853-859, 1972.
  - 19) Trendelenburg, U.: *Supersensitivity and subsensitivity to sympathomimetic amines. Pharmacol. Rev.* 15:225-276, 1963.
  - 20) Ypma, J.F.A.M.: *Adaptation of refractory period of rat ventricle to changes in heart rate. Am. J. Physiol.* 223:894-897, 1972.
  - 21) Zetler, G. and Strubelt, O.: *Actions of antiarrhythmic drugs on refractory period and contractility of isolated rat and guinea pig atria. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 271:335-345, 1971.