

Rat 적출심방 운동성에 대한 Prostaglandin F₂ alpha 와 Ouabain 작용의 비교

영남대학교 의과대학 약리학교실

이 광 윤

= Abstract =

Comparative Effects of Prostaglandin F₂ alpha and Ouabain on the Isolated Rat Atria

Kwang Youn Lee

Department of Pharmacology, College of Medicine, Yeungnam University, Taegu

Comparative effects of PGF₂α and ouabain on the isolated rat(Sprague-Dowley) atria were studied.

The isolated rat atria were prepared for isometric myography in the isolated organ bath containing Feigen's solution perfused with 95% O₂ and 5% CO₂, and the pH of the medium was maintained at 7.4.

The cumulative concentration-response relationship revealed the positive inotropic effects of both drugs with the higher potency of PGF₂α and the higher efficacy of ouabain.

PGF₂α showed a positive chronotropic effect, but ouabain showed a tendency of increasing the contraction rate.

In low-Ca(1.4 mM) medium, the positive inotropic and chronotropic effect of PGF₂α(by 3×10⁻⁸M) were preponderant(p<0.05~p<0.005) over those of ouabain(by 3×10⁻³M). Ca⁺⁺-addition(cumulative, to 2.8, 4.2, 5.6, and 7.0 mM) into the medium evoked the more sensitive response in the PGF₂α group than in the ouabain group.

In low-K(2.8 mM) medium, the PGF₂α(3×10⁻⁸M) group and the ouabain(3×10⁻³M) group showed similar tensions(DT and RT) and contraction rates. And both group showed significantly(p<0.05~p<0.01) higher tensions and contraction rates than those of the control group. By the cumulative addition of the K⁺(to 4.2, 5.6, 7.0 and 8.4 mM), only the DT of the PGF₂α group was sustained at significantly(p<0.05~p<0.01) higher level than the DT of the control group. The K⁺-addition inhibited the positive inotropic effect of ouabain significantly(p<0.05).

The cumulative addition of lidocaine in high concentrations(1×10⁻⁵ to 1×10⁻³M) evoked no significant influence on the inotropic activities of PGF₂α and ouabain, but significant(p<0.05) antagonistic effects on the chronotropic activities of both drugs. However, the high concentration of lidocaine revealed a similar influence on the PGF₂α and ouabain effects.

β-blockade with propranolol could not inhibit the positive inotropic and chronotropic effect

* 이 논문은 1983년도 문교부 학술연구조성비에 의하여 연구되었음.

of PGF₂α.

In conclusion, it is presumed that PGF₂α may have some more active mechanism of accelerating the influx of Ca⁺⁺ across the cell membrane of the isolated rat atria as compared with ouabain, and the action site may be located at the cell membrane.

As a supposition which needs further investigations, it is presumed that PGF₂α may have its specific membrane receptors on the atrial muscle or sinus node cells.

서 론

Prostaglandin F₂ alpha(PGF₂α)의 심근에 대한 작용은 실험동물에 따라 차이가 있으나, rat의 심근에 대해서는 대개 그 수축력을 증가시키는 것¹⁻⁴⁾으로 보고되고 있다. 그러나 그 작용기전은 명백히 밝혀지지 않았으며, 현재까지 알려진 PGs의 여러가지 조직 또는 세포에서의 작용기전으로서 cyclic AMP의 합성과 관련이 있다는 보고⁵⁻⁸⁾와 세포막이나 sarcoplasmic reticulum(SR)에서의 Ca⁺⁺이동과 관련이 있다는 보고⁹⁻¹¹⁾들이 있다. Metsä-Ketelä¹¹⁾는 PGF₂α의 심근에 대한 작용기전으로서 Ca⁺⁺관련설이 보다 유력하다고 하였다.

저자는 PGF₂α의 작용기전을 규명하기 위한 연구의 일환으로서, 이미 그 작용기전이 비교적 잘 알려진 ouabain을 택하여 양자의 rat 적출심방에 대한 작용을 비교해보기로 하였다. Ouabain을 포함한 강심배당체는 Na⁺, K⁺-ATPase를 억제하고, 그 결과 세포내액에 증가된 Na⁺이 세포외액의 Ca⁺⁺과 교환(Na⁺-Ca⁺⁺ exchange)됨으로써 Ca⁺⁺의 세포내 유입이 증가되며 따라서 심근의 수축력이 증가한다¹²⁻¹⁵⁾. 또 이러한 강심배당체의 작용에 영향을 줄 수 있는 인자로서 K⁺농도¹⁶⁻¹⁸⁾ 또는 국소마취제(특히 lidocaine)²⁰⁻²³⁾등이 있다. 그러나 PGF₂α의 양성변력성 또는 양성변시성 작용과 K⁺농도나 lidocaine과의 상호관계에 관한 보고는 찾아보지 못하였다. 이에 저자는 PGF₂α와 ouabain의 rat 적출심방 운동성에 대한 작용을 비교함에 있어서 이들 약물의 작용에 미치는 Ca⁺⁺, K⁺ 및 lidocaine의 영향을 관찰하고, 동시에 PGF₂α가 아드레날린성 β-수용체에 작용하는지의 여부를 관찰하기 위해 다음과 같은 실험을 하였으며, 그 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

체중240 g 이상의 rat(Sprague-Dowley)를 단두하여 사혈시키고 즉시 흉곽을 절개하여 S-A node를 손상하

지 않도록 주의하면서 심장을 적출하였다. 적출된 심장은 0~2°C의 완충액 내에서 심방의 양끝에 clip을 연결한 후 즉시 심방을 절제하여 적출장기 실험조에 현수하였다. 영양액은 Feigen's solution을 사용하였고, 온도는 37°C로 유지하였으며, 95%산소와 5%탄산가스의 혼합기체를 공급하여 pH를 7.4로 유지하였다. Feigen's solution의 조성(mM)은 다음과 같다.

NaCl; 154, KCl; 5.63, CaCl₂; 5.59 NaHCO₃; 7.14, Dextrose; 5.55.

현수된 적출심방은 myograph(F-60, Narco)와 physiograph(MK IV-P, Narco)를 사용하여 등척성수축시의 수축기장력(developing tension, DT)과 이완기장력(resting tension, RT)을 측정하였으며, 동시에 biotachometer coupler를 사용하여 적출심방의 수축빈도(contraction rate, CR)를 측정하였다. 이 실험에 사용된 약물은 일본 小野藥品社 「Prostarmon F注-1000」(PGF₂α), 독일 Merck제 「g-Strophanthin Krist.」(ouabain), 국전원료약품상사제 「Lidocaine 분말」, 미국 Ayerst Laboratories제 「Inderal」(propranolol) 및 미국 Ereon Laboratories제 「Isuprel」(isoproterenol)을 사용하였으며, 이들중 PGF₂α와 ouabain의 희석액은 차광된 용기에 보관하였다.

1) 누적농도반응관계(Cumulative Concentration-Response Relationship)

적출심방을 정상 Feigen's solution(normal medium) 내에서 30분간 방치하여 안정시킨 후, 제 1군에는 PGF₂α를, 제 2군에는 ouabain을 누적첨가하였다. PGF₂α는 3×10⁻⁹M로부터 0.5 log 농도의 간격으로 9×10⁻⁸M 까지 첨가하였고, ouabain은 3×10⁻⁴M로부터 9×10⁻³M 까지 같은 간격으로 첨가하였다. Medium 내에 PGF₂α 또는 ouabain을 첨가하였을 때 대개 1~3분 이내에 운동성의 변화가 나타났으며, 약 5분이 경과하면 더 이상의 변화가 인지되지 않을 만큼 안정되었다. 그리하여 약물첨가의 시간 간격은 5분을 원칙으로 하고 변화가 있다고 인정되면 안정될 때까지 기다린 후에 첨가하였다.

2) PGF₂α와 ouabain 작용에 대한 Ca⁺⁺ 농도의 영향

적출심방을 normal medium에서 30분간 안정시킨 후, 저칼슘(1.4 mM) 영양액으로 대체하여 다시 30분간 적응시켰다. 제 1군은 대조군으로서 CaCl₂용액을 5분 간격으로 2.8, 4.2, 5.6 및 7.0 mM 까지 누적첨가하였고, 제 2군은 PGF₂α(3×10⁻⁸M) 존재하에서, 제 3군은 ouabain(3×10⁻³M) 존재하에서 각각 대조군과 같은 방법으로 Ca⁺⁺를 첨가하였다.

3) PGF₂α 및 ouabain 작용에 대한 K⁺농도의 영향

이 실험은 Ca⁺⁺농도의 영향에 관한 실험과 같은 방법으로 행하였으나 저칼륨 medium의 K⁺농도는 2.8 mM이었으며 4.2, 5.6, 7.0 및 8.4 mM로 K⁺를 누적첨가하였다.

4) PGF₂α 및 ouabain 작용에 미치는 lidocaine의 영향

적출심방을 normal medium에서 30분간 적응시킨 후 lidocaine을 1×10⁻⁵M로 부터 1×10⁻³M까지 0.5 log 농도의 간격으로 누적첨가 하였다. 대조군은 lidocaine만을 첨가하였고, PGF₂α군은 3×10⁻⁸M 존재하에서, ouabain군은 3×10⁻³M 존재하에서 위와 같이 시행하였다. 이 때 lidocaine 첨가의 시간 간격은 5분으로 하였다.

5) PGF₂α 작용에 대한 propranolol의 영향

Normal medium에 propranolol 3×10⁻⁶M을 첨가하여 80분간 방치한 후에 isoproterenol 1×10⁻⁶M를 첨가하였으며, 이 후 10분간 기다렸다가 PGF₂α(3×10⁻⁸M)를 첨가하여 그 반응을 관찰하였다.

이 실험에 사용된 적출심방은 실험조내에 현수한 즉시 0.3g의 기본장력을 가한 후 안정시켰다.

성 적

1) 누적농도반응관계

PGF₂α와 ouabain의 누적첨가로 인한 적출심방 운동성의 변화는 Fig. 1.에 도시한 바와 같다. PGF₂α군의 경우 농도의 증가에 따라 장력 및 수축빈도가 증가하였다. 즉 수축기장력은 9×10⁻⁸M에서부터 증가의 유의성이 인정되었으며(p≤0.05), 9×10⁻⁸M에서는

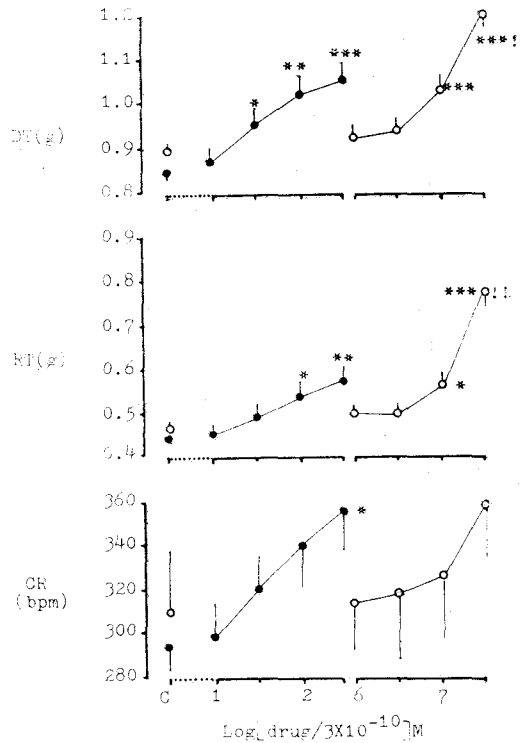


Fig. 1. Cumulative concentration-response relationship of PGF₂α and ouabain on the spontaneous beating activity of the isolated rat atria.

○—○ ouabain ●—● PGF₂α, C; control(O concentration).

Values; Mean±S.E.(n=7)

*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.005;vs. control

!p<0.05, !!p<0.01; significantly different

from maximal effect of PGF₂α

DT: developing tension, RT: resting tension

CR: contraction rate, bpm: beats per minute

1.06×0.038 g으로서 약물첨가전의 0.84±0.023 g에 비해 25%의 증가(p≤0.005)를 보였다. 이완기장력은 3×10⁻⁸M에서부터 유의하였고(p≤0.05), 수축빈도는 9×10⁻⁸M에 이르러 358±20.3 bpm으로서 21%이상의 증가(p≤0.05)를 보였다.

Ouabain의 누적첨가시 적출심방의 운동성은 PGF₂α의 경우와 같이 농도에 병행하여 증가하는 경향을 보였다. 즉 ouabain의 농도 3×10⁻³M에서 수축기장력은 1.04±0.029 g(p≤0.005), 이완기장력은 0.57±

0.018g ($p \leq 0.05$)으로 증가하였고, 이후 농도가 증가됨에 따라 매우 급격한 증가를 보였다. $9 \times 10^{-8}M$ 에서는 수축기장력이 $1.21 \pm 0.039 g$ 으로서 ouabain 첨가전의 $0.90 \pm 0.010 g$ 에 비하여 34%이상 증가하였고 ($p \leq 0.005$), 이완기장력은 $0.78 \pm 0.036 g$ 으로서 ouabain 첨가전의 $0.48 \pm 0.006 g$ 에 비하여 62%이상 증가하였다 ($p \leq 0.005$). 이 때 수축빈도 또한 농도에 병행한 증가경향을 보였고, $9 \times 10^{-8}M$ 의 고농도에서는 $360 \pm 27.3 bpm$ 으로서 ouabain 첨가전의 $312 \pm 28.8 bpm$ 에 비해 유의하지는 않으나 15%이상의 증가경향을 보였다.

2) PGF₂α 와 ouabain 작용에 대한 Ca⁺⁺ 농도의 영향

Fig. 2.는 Ca⁺⁺농도의 변화에 따른 각 군의 장력과 수축빈도의 변화를 도시한 것이다. 대조군은 1.4 mM의 저칼슘 medium으로 대체했을 때 그 장력과 수축빈도가 normal medium에서 (Fig. 1참조)보다 감소되었는데, 수축기장력은 $0.55 \pm 0.026 g$ ($p \leq 0.005$), 이완기장력은 $0.39 \pm 0.023 g$ (nonsignificant), 수축빈도는 $230 \pm 7.86 bpm$ ($p \leq 0.01$)이었다.

저칼슘 medium에 Ca⁺⁺을 첨가하여 그 농도를 누적증가시켰을 때 적출심방의 장력과 수축빈도는 Ca⁺⁺농도의 증가와 병행하여 증가하는 경향을 보였고, normal medium과 유사한 농도(5.6 mM)에 이르렀을 때 그 수축기장력은 $0.80 \pm 0.015 g$, 이완기장력은 $0.40 \pm 0.026 g$ 으로서 normal medium에서의 장력에 가깝게 회복되었다.

PGF₂α ($3 \times 10^{-8}M$) 존재하에서는 1.4 mM의 저칼슘농도하에서도 수축력은 비교적 강하게 유지되었으며 (DT: $0.75 \pm 0.030g$, RT: $0.50 \pm 0.026 g$), 이는 ouabain ($3 \times 10^{-8}M$) 존재하에서 Ca⁺⁺농도를 1.4 mM로 하였을 때 (DT: $0.61 \pm 0.011 g$, RT: $0.38 \pm 0.008 g$)에 비해 유의하게 (≤ 0.005) 높았다. 동시에 수축빈도 또한 PGF₂α 존재하에서는 $289 \pm 8.7 bpm$ 로서 ouabain 존재하에서의 $246 \pm 8.7 bpm$ 에 비하여 유의하게 ($p \leq 0.05$) 높았다. 이후 Ca⁺⁺농도가 점차 증가함에 따라 PGF₂α 군이나 ouabain 군을 막론하고 대조군과 같이 그 수축력과 수축빈도가 증가하는 경향을 보였다. PGF₂α 군의 수축력이나 수축빈도는 Ca⁺⁺농도가 7.0 mM에 이르기까지 ouabain 군의 수축력이나 수축빈도에 비하여 계속 유의하게 ($p \leq 0.05 \sim p \leq 0.005$) 높게 유지되었으며, Ca⁺⁺농도가 증가함에 따라 그 차이가 약간 커지는 경향을 보였다. Fig. 3의 B는 ouabain ($3 \times 10^{-8}M$) 존재하에서 Ca⁺⁺첨가로 인한 수축력의 변화양상이며, Fig.

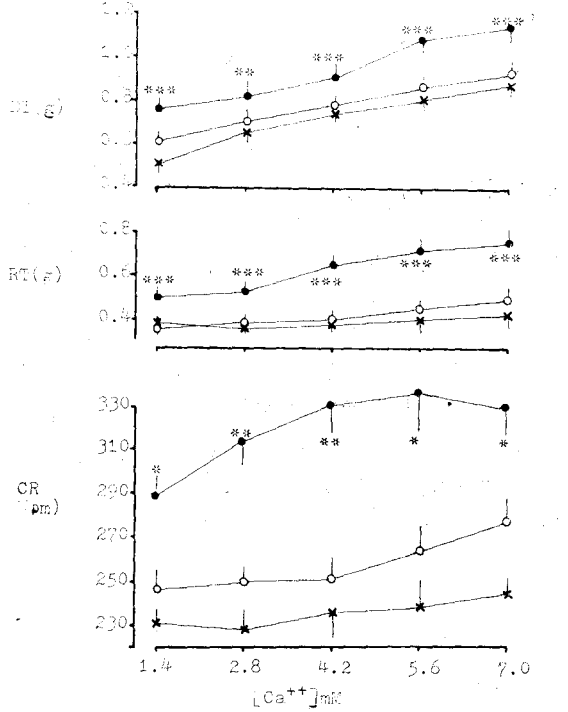


Fig. 2. Influence of low-calcium and cumulative addition of calcium on the PGF₂α and ouabain-induced contractility of the isolated rat atria.

●—● PGF₂α ($3 \times 10^{-8}M$),
○—○ ouabain ($3 \times 10^{-8}M$)
×—× control, Values: Mean \pm S.E. (n=7)
* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.005$: significantly different from ouabain
DT: developing tension, RT: resting tension, CR: contraction rate, bpm: beats per minute

3의 C는 PGF₂α ($3 \times 10^{-8}M$) 존재하에서 Ca⁺⁺첨가로 인한 수축력의 변화양상으로서 전형적인 예를 도시한 것이다. Ouabain 존재하에서 Ca⁺⁺을 첨가하였을 때는 대조군 (Fig. 3의 A)에서와 같이 완만한 증가양상을 보였으나, PGF₂α 군의 경우는 일시적으로 대조군에서보다 급격한 증가가 있는 후 평탄하게 유지되는 것을 볼 수 있었다.

3) PGF₂α 와 Ouabain 작용에 대한 K⁺ 농도의 영향

저칼슘 medium (2.8 mM)에서 적출심방의 수축력은 normal medium에서의 수축력에 비하여 보다 높은 경향이 있으나 유의하지는 않았다 (Fig. 4).

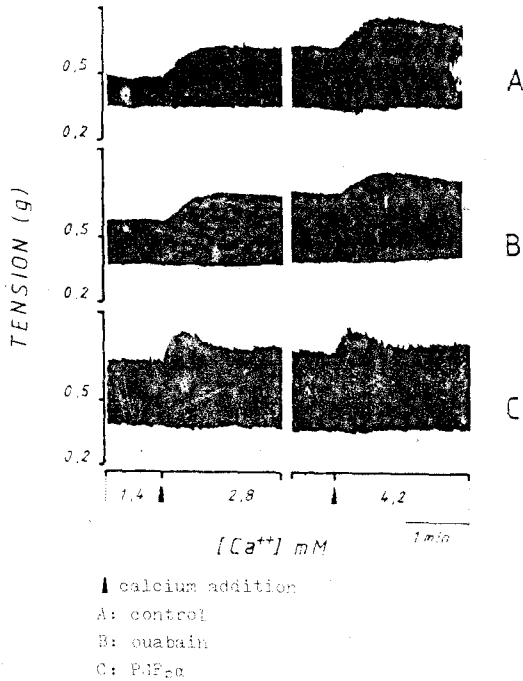


Fig. 3. Characteristic features of rising tension of the isolated rat atria by Ca⁺⁺-addition into the medium.

그러나 수축빈도에 있어서는 158±15.8 bpm 으로서 normal medium 에서보다 현저하게 (p≤0.005) 낮았으며, K⁺첨가가 누적됨에 따라 점차 증가하는 경향을 보였다.

실험군의 수축력은 Fig. 4와 같이 저칼륨 medium (2.8 mM)에서부터 K⁺농도가 증가함에 따라 점차 감소하는 경향을 보였다. 먼저 수축기장력을 보면 PGF₂α 군에서는 K⁺농도가 2.8 mM에서부터 8.4 mM 까지 증가될 때 1.13±0.05 g에서부터 1.02±0.050 g 까지 감소되는 경향을 보였고, ouabain 군에서는 1.13±0.038 g에서부터 0.94±0.040 g 까지 유의하게 (p≤0.05) 감소되었다. 이 성적을 대조군과 비교해보면 PGF₂α 군은 K⁺농도 2.8 mM에서부터 8.4 mM 까지 계속 유의하게 (p≤0.05~p≤0.01) 낮았으며, ouabain 군은 2.8 mM 부터 4.2 mM 까지는 대조군에 비해 유의하게 (p≤0.05~p≤0.01) 낮았으나, normal medium 과 유사한 5.6 mM에서 대조군에 비한 유의성이 소실되었다. 한편 이완기장력은 PGF₂α 군이나 ouabain 군이 대조군에 비해서는 높이 유지되는 경향을 보였으나 PGF₂α 군과

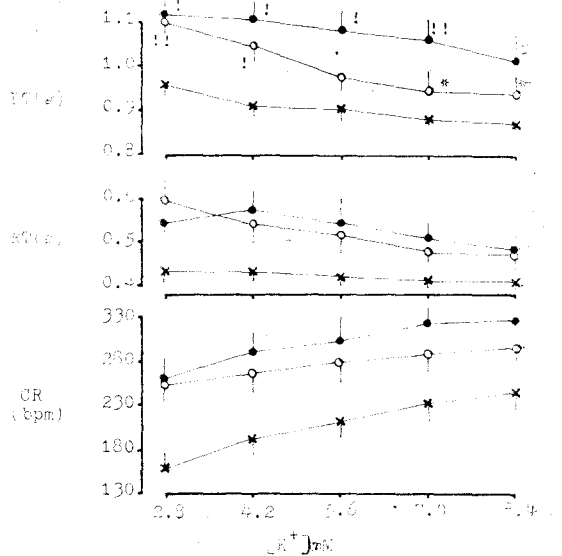


Fig. 4. Influence of low-potassium and cumulative addition of potassium on the PGF₂α- and ouabain-induced contractility of the isolated rat atria.

●—● PGF₂α(3×10⁻⁸M),
○—○ ouabain(3×10⁻³M)
×—× control, Values; Mean±S.E.(n=7)
*p<0.05; vs. 2.8 mM,
!p<0.05, !!p<0.01; vs. control
DT: developing tension, RT: resting tension, CR: contraction rate, bpm: beats per minute

ouabain 군 상호간에는 유의한 차이가 인정되지 않았다. 수축빈도를 보면 K⁺농도 2.8 mM에서는 PGF₂α 군이나 ouabain 군이 대조군에 비해서 유의하게 (p≤0.05~p≤0.01) 높았으며, K⁺이 누적첨가됨에 따라 각각 증가하는 경향을 보였다.

4) PGF₂α 와 Ouabain 작용에 대한 lidocaine 의 영향

Fig. 5는 PGF₂α(3×10⁻⁸M)와 ouabain(3×10⁻³M) 존재하에서 lidocaine 을 첨가하였을 때의 수축력과 수축빈도를 나타낸 것이다. 수축기장력이나 이완기장력은 PGF₂α 군이나 ouabain 군에서 대조군보다 높이 유지되

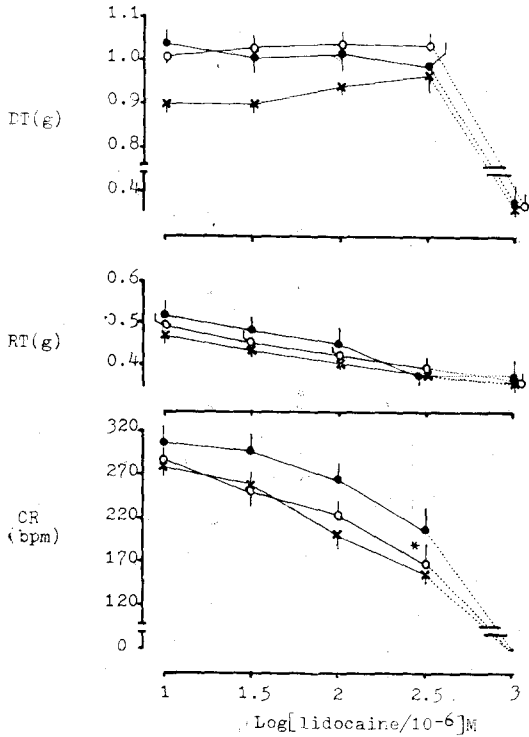


Fig. 5. Influence of lidocaine on the PGF₂α and ouabain-induced contractility of the isolated rat atria.

●—● PGF₂α (3×10⁻⁸M),
○—○ ouabain (3×10⁻³M)
×—× control, Values; Mean±S.E. (n=7)
*p<0.05; vs. 1×10⁻³M

Dotted line suggests sudden arrest, and the values in 1×10⁻³M are resting tension, 0 amplitude and 0 bpm.

DT: developing tension, RT: resting tension, CR: contraction rate, bpm: beats per minute

는 경향을 보였으나 유의성은 인정되지 않았다. 또 두 약물에 의한 수축기장력이 lidocaine 첨가로 인하여 유의하게 변화하지도 않았다. 다만 lidocaine 첨가로 인하여 양군의 수축빈도가 현저히 (p≤0.05) 감소하였으며, lidocaine 농도가 1×10⁻³M 일 때는 모든 예에서 자율 수축이 정지되었다. 이 때 ouabain 군과 PGF₂α 군의 성적간에는 유의한 차이가 없었다.

5) PGF₂α 작용에 대한 propranolol 의 영향

Fig. 6에서 보는 바와 같이 isoproterenol 1×10⁻⁶M

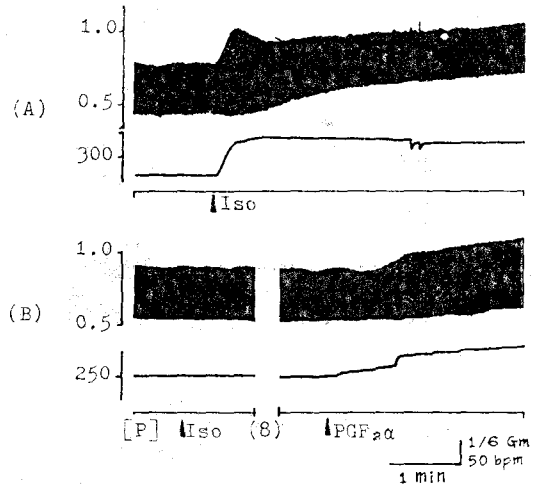


Fig. 6. Influence of β-blockade on the PGF₂α induced contractility of the isolated rat atria.
▲ Iso: addition of isoproterenol (1×10⁻⁶M)
▲ PGF₂α: addition of PGF₂α (3×10⁻⁸M)
[P]: existence of propranolol (3×10⁻⁶M) in the medium

(8): 8 minutes lapse of time

A; Response to addition of isoproterenol into normal medium

B; PGF₂α was added into the bath after complete blockade of isoproterenol action by propranolol.

에 의한 적출심방 운동성 증가작용(Fig. 6의 A)은 propranolol 3×10⁻⁶M에 의하여 완전히 봉쇄되었고(Fig. 6의 B), propranolol 천치치로 isoproterenol의 작용이 봉쇄된 상태에서도 PGF₂α (3×10⁻⁸M) 첨가로 인한 수축력과 수축빈도의 증가가 나타났다.

고 찰

PGF₂α는 rat 적출심장의 수축력을 향진시키고^{1,2)}, rat 배양심근세포의 운동성을 향진시킨다³⁾. 또 PGF₂α는 rat 적출심방에 대해서도 양성변력성 및 양성변시성 작용을 나타낸다⁴⁾.

Ouabain이 심근 수축력을 증가시킨다는 것은 주지의 사실이나 심방의 운동성에 미치는 강심배당체의 작용에 관해서는 다음과 같은 보고들이 있다. 즉 Hoffman과 Bigger¹²⁾는 digitalis가 심방근에 대한 직접작용으로서 그 막전위를 감소시키고 심방근세포의 전도속도를 감소시켜 대량에서는 그 흥분성을 마비시킨다고 하였다. 이외에도 강심배당체의 S-A node^{24,25)} 또는 심

방근^{26,27)}에 대한 전도속도 지연 또는 흥분성 억제에 관한 보고들도 있다. 이상의 보고들과는 달리 저자의 실험결과는 ouabain이 rat 적출심방의 수축빈도를 증가시키는 경향을 보였다. 이 흥미로운 사실에 대하여 추후 더 깊은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

PGF₂α는 Fig. 1에서 보는 바와 같이 rat 적출심방에 대하여 양성변력성 및 양성변시성 작용을 보였고, ouabain 또한 강한 양성변력성 작용을 나타내었다. 이때 PGF₂α는 ouabain보다 매우 낮은 농도에서 수축력의 유의한 증가 및 최대효능을 나타내었으며, 반면 최대효능 그 자체는 ouabain이 높았다. 이 실험에서 적출심방의 수축력이나 수축빈도에 대하여 유사한 정도의 효과를 내는 두 약물의 농도는 PGF₂α 3×10⁻⁸M와 ouabain 3×10⁻⁸M이었다. 따라서 medium내 전해질 농도의 변화, 또는 lidocaine 첨가가 각 약물의 효과에 미치는 영향을 관찰하기 위한 실험에서는 PGF₂α는 3×10⁻⁸M를 ouabain은 3×10⁻⁸M를 사용하기로 하였다.

저칼슘농도에서 PGF₂α의 효과는 ouabain의 효과보다 높은 것으로 나타났으며, Ca⁺⁺첨가로 인한 수축력 및 수축빈도의 증가 또한 급격하고 높은 경향을 보였다. Ca⁺⁺과 관련된 PGs와 ouabain의 작용기전에 관한 연구보고는 다음과 같은 것들이 있다. Endoh⁹⁾는 PGE₁이 심근세포의 세포막을 통한 Ca⁺⁺의 유입을 조장한다고 하였고, Moura와 Simpkins¹⁰⁾는 심근세포에서 PGE₁과 PGF₁α가 Ca-pool size를 증가시키나 PGE₂와 PGF₂α는 그렇지 못하다고 하였다. 그러나 Metsä-Ketelä¹¹⁾는 PGF₂α가 rat의 적출심방에서 Ca⁺⁺ uptake를 증가시킨다고 하였다. 한편 ouabain은 Na⁺, K⁺-ATPase의 활성을 억제하여 Na⁺-Ca⁺⁺ exchange를 유발함으로써 Ca⁺⁺유입을 증가시키고 양성변력성작용을 나타낸다^{13~15)}고 한다. 이는 즉 ouabain의 양성변력성작용은 세포내 Na⁺의 증가로 인하여 수동적으로 교환되는 Ca⁺⁺의 유입에 의해 이루어진다는 이론이라할 수 있겠다.

심근세포막의 탈분극시에 약간의 Ca⁺⁺유입이 있다^{28~30)}는 것이 일반적으로 인정되는 실이며, 이때 유입되는 Ca⁺⁺자체만으로는 ECC(excitation-contraction coupling)를 수행하기에 충분치 않고, 유입된 Ca⁺⁺이 SR로부터 충분한 양의 Ca⁺⁺을 유리시킨다는 설 즉 “Ca-induced release of Ca”^{31~35)}이 있다. 또 Nakajima와 Endoh³⁶⁾, Baylor와 Oetliker³⁷⁾ 및 Guyton³⁸⁾ 등은 탈분극이 T-tubule의 membrane을 따라 이동하면서 Ca⁺⁺에 대한 SR의 막투과성을 변화시켜 그 결과

SR로부터 Ca⁺⁺이 유리된다는 “depolarization-induced release of Ca”설을 주장하였다. 위의 두 가지 설은 어느 것이나 심근세포의 수축력 변화는 세포내의 유리 Ca⁺⁺농도의 변화에 의해 초래된다^{39~41)}는 설과 통한다고 하겠다.

저칼슘 medium(1.4 mM)에서 적출심방의 운동성이 약화된 것은 medium내 Ca⁺⁺농도가 부족할 때는 세포내의 유리 Ca⁺⁺ 또한 감소된다는 것을 시사하며, 이때 ouabain의 변력성작용이 미약하게 나타난 것은 Na⁺과 교환될 수 있는 medium내의 Ca⁺⁺이 충분하지 못하였기 때문인 것으로 추측된다(Fig. 2). Ca⁺⁺첨가로 medium내 Ca⁺⁺농도가 증가됨에 따라 운동성이 항진된 것은 세포내 유리 Ca⁺⁺의 증가가 병행된 것으로 해석되며, 이때의 PGF₂α의 작용은 ouabain과 차이가 있다. 즉 Fig. 2에서 보는 바와 같이 저칼슘 medium에서 PGF₂α군은 ouabain군에 비해 현저하게 높은 운동성(DT; p≤0.01~p≤0.05, RT; p≤0.005, CR; p≤0.05~p≤0.01)을 보였고, Ca⁺⁺이 첨가됨에 따라 보다 급격히 증가되는 경향을 보였으며, Fig. 3에서와 같이 Ca⁺⁺첨가시의 순간적인 수축력 변화도 PGF₂α군에서는 대조군이나 ouabain군에 비해 보다 예민하였다. 이러한 사실들로 미루어 보아 PGF₂α는 세포막을 통한 Ca⁺⁺유입에 ouabain보다는 더 능동적인 어떤 촉진기능을 가지고 있다고 생각된다.

K⁺농도의 변화가 PGF₂α나 ouabain작용에 미치는 영향은 양자간의 차이가 현저하지는 않았으나, ouabain쪽에 보다 큰 영향을 미치는 것으로 나타났다. Eisner와 Lederer¹⁷⁾는 K⁺-depletion이 Purkinje-fiber와 심실근에서 Na⁺, K⁺-pump의 기능을 억제한다고 하였고, Ildefonse 등¹⁸⁾은 저칼륨농도시에 세포내의 K⁺농도가 세포외액에 비해 상대적으로 높기 때문에 이로 인한 세포외액의 Ca⁺⁺과 세포내액의 K⁺과의 직접적인 교환이 일어날 수 있을 것이라고 제안하였다. 이러한 보고들에 의해 고찰해보면 저칼륨농도시에는 Na⁺, K⁺-pump의 기능 억제로 양성변력성작용이 기대되며, 또 Ca⁺⁺-K⁺의 교환으로 인하여 K⁺의 세포외 유출이 증가되면 막전위의 안정화(hyperpolarization)로 인한 음성변시성 작용이 동반될 것으로 기대된다. 이 실험에서 저칼륨 medium으로 대체했을 때 수축력이 약간 증가되는 경향과 수축빈도가 현저히 감소되는 현상을 보인 것은 이에 부합되는 결과로 볼 수 있다.

Fig. 4에서 보는 바와 같이 ouabain 존재하에서 medium내의 K⁺농도가 증가함에 따라 심방의 수축기장력이 유의한 감소를 보인 것은 PGF₂α군에서 나타난

결과와 비교가 된다. 이는 저칼륨 medium 에서는 ouabain의 수축기장력 증가효과와 저칼륨농도의 효과가 상가적으로 나타났으나 K⁺첨가로 인하여 후자의 효과가 감소되어 장력의 감소경향이 나타난 것으로 생각되며, K⁺농도가 정상 이상으로 증가되었을 때 유의한 감소가 나타난 것은 첨가된 K⁺이 ouabain의 작용에 대하여 약간의 길항효과를 나타낸 것으로 추측할 수 있다. 그러나 PGF₂α 존재하에서는 K⁺첨가로 인한 수축기장력의 감소가 유의하지 않았고, 대조군과 비교적 평행한 경향을 보인 것은 K⁺농도의 증가가 PGF₂α 고유의 작용기전에는 별다른 영향을 미치지 않기 때문인 것으로 생각된다.

Lidocaine은 심근에서 Na⁺의 유입을 방해^{20,42,43})하고, phase 4의 K⁺유출을 증가시켜, 근세포막을 재분극 시킨다^{18~20})는 보고들이 있다. Mandel과 Bigger⁴⁴)는 lidocaine이 1×10⁻⁵M 이하의 저농도에서는 심방조직의 동작전위 또는 활동성에 별 효과가 없으며, 1×10⁻⁴M 이상의 고농에서 동작전위의 진폭을 감소시키고 불응기와 재분극 상태를 연장시킨다고 하였다. 이에 근거하여 이 실험에서는 1×10⁻⁵M 이상의 고농도를 사용하여 PGF₂α나 ouabain의 작용에 대한 lidocaine의 영향을 관찰하였다. 그 결과를 예측하기 전에 S-A node 세포의 특성을 고려할 필요가 있다. Morad와 Maylie⁴⁵) 및 Knorr 등⁴⁶)들은 S-A node에서의 자동능 발생에는 K⁺유출의 감쇠도 포함이 되나 Ca⁺⁺의 유입이 결정적인 역할을 한다고 하였다. 또 Brown과 Noble⁴⁷) 및 Norma와 Irsawa⁴⁸)들은 S-A node 세포에는 phase 4의 K⁺유출 현상이 존재하지 않고 phase 4 탈분극은 phase 3의 K⁺유출의 감쇠 및 phase 1, 2의 Ca⁺⁺유입에 의한다고 하였다. 그러므로 lidocaine의 작용기전 중 phase 4의 K⁺유출에 관한 내용은 이 실험결과의 고찰 대상에서 제외하여도 무방하리라고 생각되며, 다만 phase 0 탈분극의 원인이 되는 Na⁺유입의 방해에 관해서만 고려하면 될 것이다. Fig. 5에서 보는 바와 같이 PGF₂α나 ouabain의 수축력에 미치는 효과는 lidocaine 첨가로 인해서 유의한 변화를 보이지 않았고 수축빈도에 대한 작용은 양자가 같은 양상으로 현저히 억제되었다. 즉 lidocaine의 Na⁺유입 억제작용은 적출심방의 수축빈도를 감소시킨 결과로 나타났으며, 세포내 유리 Ca⁺⁺의 증가로 인한 양성변력성작용은 억제하지 못하였다.

PGF₂α는 rat 적출심방에서 세포막을 통한 Ca⁺⁺유입을 ouabain에 비해 보다 능동적으로 촉진시키는 기전으로 작용하는 것 같고, medium내의 K⁺농도 변화에

의해서도 ouabain에 비해 영향을 적게 받는다. 그러므로 적어도 Na⁺, K⁺-ATPase의 억제라는 ouabain의 작용과는 다른 기전으로 작용한다고 생각되며, Ca⁺⁺에 대한 유입촉진기능을 수행하기 위해서는 세포막에 직접 작용하여 탈분극의 plateau(phase 2)를 연장시키거나 Ca⁺⁺ channel의 활성화에 결정적 역할을 할 가능성이 있다. 심근세포막에는 아드레날린성 β-수용체가 존재하며, 이 수용체의 자극에 의해 양성변력성 및 양성변시성 작용이 나타난다는 것은 잘 알려진 사실이다. 그러나 실제로 PGF₂α가 아드레날린성 β-수용체에 작용한다는 보고는 찾아보지 못하였으며, 반대로 Endoh³⁹)는 PGE₁의 양성변력성작용이 pindolol에 의해서 길항되지 않았다고 하였다. 이 실험에서 propranolol 전처치로 아드레날린성 β-수용체를 봉쇄한 적출심방에서도 PGF₂α의 작용은 방해받지 않았던 점으로 보아 rat의 S-A node 또는 심방근 세포막에는 PGF₂α가 결합할 수 있는 어떤 막수용체가 존재하는 것으로 추측된다. 이에 관해서는 추후 antagonist의 연구 또는 ligand binding study 등을 통하여 증명될 수 있을 것으로 기대된다.

요 약

PGF₂α의 rat 적출심방에 대한 작용을 ouabain의 작용과 비교하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

PGF₂α의 양성변력성작용은 ouabain의 작용에 비해 potency가 강하고 efficacy는 낮았다.

Ouabain은 PGF₂α의 양성변시성작용과 유사한 양성변시성 경향을 나타내었는데 이 점에 대해 추후의 탐구가 요구된다.

PGF₂α(3×10⁻⁸M)의 작용은 저칼륨농도(1.4 mM)에서 ouabain(3×10⁻³M)보다 현저히(≤0.05~p≤0.00) 강하게 나타났고, medium내에 첨가되는 Ca⁺⁺에 대하여도 보다 예민하게 반응하였다.

저칼륨 medium(2.8 mM) 또는 medium내 K⁺첨가는 PGF₂α보다 ouabain의 작용에 더 큰 영향을 미쳤다.

PGF₂α와 ouabain의 작용에 미치는 lidocaine(1×10⁻⁵M 이상의 고농도)의 영향은 매우 흡사하여 별다른 차이점을 볼 수 없었다.

Propranolol(3×10⁻⁶M)로써 전처치하여 아드레날린

※ 이 연구를 위하여 많은 지도와 도움을 베풀어 주신 경북 의대 생리학교실 주영은 교수님과 동 약리학교실 김중영교수님의 여러분께 깊은 감사를 드립니다.

성 β-수용체를 봉쇄한 적출심방에서 PGF₂α의 양성변력성 및 양성변시성 작용은 방해받지 않았다.

이상의 결과로 보아 PGF₂α는 ouabain의 Na⁺, K⁺-ATPase 억제기전과는 달리 PGF₂α 고유의 막수용체에 작용하여 Ca⁺⁺의 세포내 유입을 촉진시키는 기전으로 작용하는 것으로 추측되며, 그 수용체의 동정(identification)은 추후의 연구과제로 남는다.

參 考 文 獻

- 1) DeDeckere, E.A.: *Effects of prostaglandins on coronary flow rate and left ventricular work in isolated rat heart.* *Euro. J. Pharmacol.*, 58: 211-3, 1979.
- 2) Karmazyn, M., Leung, C.K.H. and Dhalla, N.S.: *Prostaglandin actions and interactions on isolated perfused rat hearts.* *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 57:1275-82, 1979.
- 3) Martinez, T.T., Collins, G.A. and Walker, M.J.A.: *The effect of prostaglandins on the beating activity of cultured heart cells.* *Prostaglandins*, 14:449-61, 1977.
- 4) Lee, K.Y. and Choo, Y.E.: *Effect of prostaglandin F₂ alpha on the spontaneous contractile activity in the isolated rat atrium.* *Kyungpook University Med. J.*, 22:70-8, 1981.
- 5) Monchada, S., Flower, R.J. and Vane, J.R.: *Prostaglandins, Prostacycline, and Thromboxane A₂.* In: *The pharmacological basis of therapeutics*, 6th ed. edited by Gilman, A.G., Goodman, L.S. and Gilman, A., New York, Macmillan Publishing Co., 1980, pp.668-81.
- 6) Kanggasaho, M., Metzä-Ketelä, T. and Vapaatalo, H.: *Effects of prostaglandins on rat cardiac adenylate cyclase.* *Euro. J. Pharmacol.*, 52: 93-8, 1978.
- 7) Gorman, R.R., Fitzpatrick, F.A. and Miller O.V.: *Reciprocal regulation of human platelet cAMP levels by thromboxane A₂ and prostacycline.* *Adv. Cycl. Nucl. Res.*, 9:597-609, 1978.
- 8) Lee, J.B.: *Cardiovascular-Renal effects of prostaglandins.* *Arch. Intern. Med.*, 133:56-76, 1974.
- 9) Endoh, M.: *Effects of prostaglandin E₁ on the positive inotropic actions of noradrenaline, nerve stimulation and calcium in the isolated blood perfused papillary muscle of the dog.* *Euro. J. Pharmacol.*, 39:259-65, 1976.
- 10) Moura, A. and Simpkins, H.: *The effects of hormones and prosaglandins on the calcium pools in cultured myocardial cells.* *Mol. Cell. Endocrinol.*, 5:349-57, 1976.
- 11) Metzä-Ketelä, T.: *Cyclic AMP-dependent and independent effects of prostaglandins on the contraction-relaxation cycle of spontaneously beating isolated rat atria.* *Acta Physiol. Scand.*, 112:481-5, 1981.
- 12) Hoffman, B.F. and Bigger, J.T. Jr.: *Digitalis and allied cardiac glycosides.* In: *The Pharmacological basis of therapeutics*, 6th ed. edited by Gilman A.G., Goodman L.S. and Gilman, A., New York, Macmillan Publishing Co., 1980, pp.729-60.
- 13) Besch, H.R. Jr., Allen, J.C., Glick, G. and Schwartz, A.: *Correlation between the inotropic action of ouabain and its effects on subcellular enzyme systems from canine myocardium.* *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 171:1-12, 1970.
- 14) Akera, T., Larsen, F.S. and Brody, T.M.: *Correlation of cardiac sodium-and potassium-activated adenosine triphosphatase activity with ouabain-induced inotropic stimulation.* *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 173:145-51, 1970.
- 15) Langer, G.A.: *Calcium in mammalian myocardium. localization, control, and effects of digitalis.* *Circ. Res. Suppl. III(to 34, 35):91-8.*
- 16) Davidson, S. and Surawicz, B.: *Ectopic beats and atrioventricular conduction disturbances in patients with hypopotassemia.* *Archs. Intern. Med.*, 120:280-5, 1967.
- 17) Eisner, D.A. and Lederer, W.J.: *The role of the sodium pump in the effects of potassium depleted solutions on mammalian cardiac muscle.* *J. Physiol(london).*, 294:279-301, 1979.
- 18) Hdefonse, M., Roche, M. and Rougier, O.: *Effects of modifications of th extracellular potassium concentration on excitation-contraction coupling in frog atrial fibers.* *J. Physiol.*,

- 263:249-50, 1976.
- 19) Goto, M., Tsuda, Y. and Yatani, A.: *Two mechanisms for positive inotropism of low-K Ringer in bullfrog atrium. Nature(London), 268:755-7, 1977.*
- 20) Carmeliet, E. and Saikawa, T.: *Shortening of the action potential and reduction of pacemaker activity by lidocaine, quinidine and procainamide in sheep cardiac Purkinje fibers. an effect on Na or K currents? Circ. Res., 50:257-72, 1982.*
- 21) Bigger, J.T. Jr. and Mandel, W.J.: *Effect of lidocaine on the electrophysiological properties of ventricular muscle and Purkinje fibers. J. Clin. Invest., 49:63-77, 1970.*
- 22) Arnsdorf, M.F. and Bigger, J.T. Jr.: *Effects of lidocaine hydrochloride on membrane conductance in mammalian cardiac Purkinje fibers. J. Clin. Invest., 51:2253-63, 1972.*
- 23) Witting, J., Harrison, L.A. and Wallace, A.G.: *Electrophysiological effects of lidocaine on distal Purkinje fibers of canine heart. Am. Heart J., 56:69-78, 1973.*
- 24) Dhingra, R.C., Amat-Y-Leon, F., Wyndham, C., Wu, D., Denes, P. and Rosen, K.M.: *The electrophysiological effects of ouabain on sinus node and atrium in man. J. Clin. Invest., 56:555-62, 1975.*
- 25) Scherlag, B.J., Abelleira, J.L., Narula, O.S. and Samet, P.: *The differential effects of ouabain on sinus, A-V nodal, His bundle and idioventricular rhythms. Am. Heart J., 81:227-35, 1971.*
- 26) Mendez, C. and Mendez, R.: *The action of cardiac glycosides on the excitability and conduction velocity of the mammalian atrium. J. Pharmacol. Exp. Ther., 121:402-13, 1957.*
- 27) Ferrier, G.R.: *Effects of tension on acetylcholine-induced transient depolarizations and after contractions in canine myocardial and Purkinje tissues. Circ. Res., 38:156-67, 1976.*
- 28) Jundt, H., Porzig, H., Reuter, H. and Stucki, J.W.: *The effect of substances releasing intracellular calcium ions on sodium-dependent calcium efflux from guinea pig auricles. J. Physiol(Lond), 246:229-53, 1975.*
- 29) Rich, T.L. and Langer, G.A.: *A comparison of excitation-contraction coupling in heart and skeletal muscle: an examination of "calcium-induced calcium release". J. Mol. Cell. Cardiol., 7:747-65, 1975.*
- 30) Langer, G.A., Serena, S.D. and Nudd, L.M.: *Localization of contractile-dependent Ca: comparison of Mn and verapamil in cardiac and skeletal muscle. Am. J. Physiol., 229:1003-7, 1975.*
- 31) Ford, L.E. and Podlisky, R.J.: *Regenerative calcium release within muscle cells. Science, 167:58-9, 1970.*
- 32) Ford, L.E. and Podolsky, R.J.: *Intracellular calcium movements in skinned muscle fibers. J. Physiol(Lond), 223:21-33, 1972.*
- 33) Fabiato, A. and Fabiato, F.: *Excitation-contraction coupling of isolated cardiac fibers with disrupted or closed sarcolemmas: calcium-dependent cyclic and tonic contractions. Circ. Res., 31:293-307, 1972.*
- 34) Endoh, M.: *Conditions required for calcium-induced release of calcium from the sarcoplasmic reticulum. Proc. Jap. Acad., 51:467-72, 1975.*
- 35) Fabiato, A. and Fabiato, F.: *Contractions induced by a calcium triggered release of calcium from the sarcoplasmic reticulum of single skinned cardiac cells. J. Physiol(London), 249:469-95, 1975.*
- 36) Nakajima, Y. and Endoh, M.: *Release of calcium induced by "depolarization" of the sarcoplasmic reticulum membrane. Nature, 246:216-8, 1973.*
- 37) Baylor, S.M. and Oetlicker, H.: *Birefringence experiments on isolated skeletal muscle fibers suggest a possible signal from the sarcoplasmic reticulum. Nature, 253:97-101, 1975.*
- 38) Guyton, A.C.: *Textbook of Medical Physiology. 6th ed., Philadelphia, W.B. Saunders Co., 1981, pp.150-64.*

- 39) Winegrad, S. and Shanes, A.M.: *Calcium flux and contractility in guinea pig atria*. *J. Gen. Physiol.*, 45:371-94, 1962.
- 40) Langer, G.A.: *Calcium exchange in dog ventricular muscle: Reaction to frequency of contraction and maintenance of contractility*. *Circ. Res.*, 17:78-89, 1965.
- 41) Katz, A.M.: *Regulation of cardiac muscle contractility*. *J. Gen. Physiol.*, 50:185-96, 1967.
- 42) Lee, K.S., Hume, J.R., Giles, W. and Brown, A.M.: *Sodium current depression by lidocaine and quinidine in isolated ventricular cells*. *Nature*, 291:325-7, 1981.
- 43) Weld, F.M. and Bigger, J.T. Jr.: *Effect of lidocaine on the early inward transient current in sheep cardiac Purkinje fibers*. *Circ. Res.*, 37:630-9, 1975.
- 44) Mandel, W.J. and Bigger, J.T. Jr.: *Electro-physiologic effects of lidocaine on isolated canine and rabbit atrial tissue*. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 178:81-93, 1971.
- 45) Morad, M. and Maylie, J.: *Calcium and cardiac electrophysiology*. *Chest*, 78:166-73, 1980.
- 46) Knorr, A., Wagner, J. and Schuman, H.: *On the importance of external calcium for sinus node automaticity in spontaneously beating guinea pig atria*. *Arch. Pharmacol. Toxicol.*, 5:79-86, 1979.
- 47) Brown, H.F. and Noble, S.J.: *Effects of adrenaline on membrane currents underlying pacemaker activity in frog atrial muscle*. *J. Physiol (Lond.)*, 238:51-3, 1974.
- 48) Norma, A. and Irisawa, H.: *Electrogenic sodium pump in rabbit sinoatrial node cell*. *Pfluegers Arch.*, 351:177-82, 1974.