

Rehmanniae Radix 에 의한 가토 동방결절 및 유두근의 활동전압의 변동

한양대학교 의과대학 생리학교실

황보상 · 고상돈 · 신흥기 · 김기순

= Abstract =

Effects of Ethanol Extract of Rehmanniae Radix (RREE) on Resting and Action Potential of Rabbit Sinoatrial Node and Papillary Muscle

Bo Sang Hwang, Sang Don Koh, Hong Kee Shin and Kee Soon Kim

Department of Physiology, College of Medicine, Hanyang University

The present study was undertaken in order to investigate effect of ethanol extract of Rehmanniae radix(RREE) on electrophysiology of sinus node and papillary muscle. Rehmanniae radix is a herbal medicine which has been known to have diuretic, antipyretic, hemopoietic and cardiotoxic effects.

Action potentials were recorded by means of glass capillary microelectrode(technique) in rabbit sinoatrial nodal cells and papillary muscle cells which were superfused with either tyrode solution or tyrode solutions containing different amount of RREE.

The results obtained were as follows;

- 1) In both central and peripheral nodal cells maximum diastolic potential (MDP) and amplitude of action potential (APA) were not affected by RREE.
- 2) Action potential duration as expressed APD₆₀(time to 60% repolarization) of central and peripheral pacemaker cells were significantly prolonged following perfusion with tyrode solution containing 0.1% RREE.
- 3) The rates of spontaneous firing from central pacemaker cell were decreased by RREE at concentration of 0.05% and 0.1% while spontaneous rhythm of perinodal cell was decreased by 0.1% RREE.
- 4) The action potential duration of papillary muscle as expressed APD₆₀ were prolonged by 0.1% RREE.

서 론

Rehmanniae radix 는 Rhinanthaceae 과에 속하는 다년생 초본인 Rehmanniae glutinosa Lobschitz 의 근으로서 地黃, 地髓, 地精 및 陽精이라고도 불리운다. 지황은 이의 처리 저장법에 따라 生地黃, 乾地黃 및 熟地黃으로 구분이 되는데 숙지황은 생지황을 수차 반

복 증속하거나 砂仁油에 침지하였다가 증속 건조한 것이다.^{1,2)}

지황의 성분에 관하여서는 아직 충분히 밝혀져 있다고 할 수 없으나 지금까지 알려진 것들을 보면 catalpol, β-sitosterol, mannitriose, raffinose, sucrose, glucose, D-fructose, D-galactose, mannitol, stachyose, verbascose, stigmasterol, arginine 및 vitamin A 등을 들 수 있다.^{1,3)}

오래 전부터 생리학에서는 지황의 약제로서의 효능을 기술하고 있는 바 그 주요작용을 보면 강장, 이뇨, 강심, 보혈, 해열 및 완화작용등을 들 수 있으며, 또한 지황은 지혈작용 및 혈당농도 강하작용도 있는 것으로 알려져 있다^{1~3)}.

최근 양⁴⁾은 숙지황이 실험동물의 혈압 및 심장 기능에 미치는 영향을 구명한 연구로부터 숙지황은 예외없이 혈압을 하강시키며 대부분의 실험예에서 심장의 수축력도 저하시킨다고 하였으나 심박수에 미치는 효과에 관하여서는 기술한 바가 없었다. 그러므로 본 실험에서는 지황이 실험동물의 심장기능에 미치는 효과보다 더 구체적으로 추구하기 위하여 적출 가토 동방결절 및 유두근의 막전압에 미치는 지황의 영향을 관찰하였다.

실험재료 및 방법

1) 동방결절 조직 절편 제작

동방결절에서 nodal cell의 활동전압을 기록하기 위한 실험에서는 체중 1.5~2.0 kg의 가토 10마리를 성의 구별없이 사용하였다.

실험동물을 sodium pentobarbital(30 mg/kg)로 마취한 후 신속히 개흉하여 심장을 적출한뒤 100% 산소로 포화되어 있는 Tris-Tyrode 용액(NaCl 148, KCl 4.0, CaCl₂ 2.0, MgCl₂ 1.0, glucose 5.5, Tris 10 mM, pH 7.35~7.40)이 담긴 용기내로 옮기었다. 먼저 적출심장을 Tyrode 용액이 담긴 용기내에서 방실경계를 따라 절개하여 심실을 제거한 후 심방중격과 평행되게 상하행 대정맥 방향으로 절개하여 동방결절 부위가 노출되도록 절개하였다. 이어서 crista terminalis와 거의 수직방향으로 조직을 잘라 동방결절이 포함된 절편(2×5 mm)을 만든 후 Tyrode 용액속에 한 시간 내의 방치하여 회복시켰다.

2) 유두근의 적출

가토 유두근의 활동전압에 미치는 숙지황의 영향을 관찰하기 위한 실험에서는 체중 1.8~2.3 kg의 가토 5마리를 역시 성의 구별없이 사용하였다.

동방결절 조직절편을 만들 때와 같은 요령으로 심장을 적출하여 Tris-Tyrode 용액이 담긴 용기내로 옮긴 다음 용기저면 고무판에 핀으로 고정하였다. 완충용액 내에서 좌우심실경계를 따라 우심실벽을 절개하여 심실중격에서 돌출한 유두근을 노출시킨 후 이중 비교적 섬세하고 긴 것을 골라 적출한 후 적출 과정에서 조직

에 가해진 충격, 손상으로부터 회복되도록 30분이상 용기내에 방치하였다.

3) 미세전극의 제작 및 세포내 삽입

KCl의 주입이 용이하도록 된 모세유리관(Kwik-Fil Glass Capillary 1B 100 F-6, WPI)을 미세전극 제작기(vertical microelectrode puller, Model 700 D, David Kopf)를 이용하여 가늘게 뽑은 후, 주사기로 3 M KCl 용액을 채워 미세전극을 만들었으며 첨단저항이 20 MΩ 이상인 것만을 골라 사용하였다. 이렇게 제작한 전극을 micromanipulator(Narishige Mo-15)를 이용하여 해부현미경 하에서 동방결절에 있는 pacemaker cell이나 유두근 세포내로 삽입하였다.

Pacemaker cell이나 유두근을 Tris buffer-Tyrode 용액(35.5±0.2°C)으로 관류(7~8 ml/min)되고 있는 조직용기(3.5 ml)의 바닥에 핀으로 고정된 다음 미세전극을 삽입하여 세포에서 발생된 활동전압의 변동을 microprobe system(M-707 A, WPI)을 통하여 oscillograph(Grass Model 7)나 storage oscilloscope(Tektronix 564 B)에 기록하였다. 한편 유두근은 stimulus isolator(1850 A, WPI)를 사용하여 1/sec의 빈도로 자극하였다. 조직용기를 비롯하여 모든 기기는 접지되었으며 조직용기내에서의 조작은 Faraday cage 내에서 시행되었다.

4) 숙지황 추출액의 제조 및 투여

숙지황의 에타놀 추출액(ethanol extract of Rehmanniae radix: RREE)은 숙지황 300 gm을 추출용기에 넣고 여기에 ethanol을 첨가한 후 65~70°C의 항온조에서 5시간 증탕하면서 rotary vacuum evaporator(Nihon Rikakiki)를 사용하여 2~3회 반복 추출하므로서 농축액을 만들었다. 이렇게 얻은 RREE를 0.025, 0.05 및 0.1%의 용량이 되게 Tris buffer-Tyrode 용액에 용해하여 관류시켰으며 일정시간 후 RREE가 들어있지 않은 Tyrode 용액으로 세척하였다.

실험 결과

가) Central nodal cell의 활동전압에 미치는 RREE의 효과

가토의 동방결절에 있는 central nodal cell의 활동전압에 미치는 숙지황의 영향은 구명하고자 자동적으로 박동하고 있는 동방결절 조직절편에서 활동전압을

Table 1. Effects of Rehmanniae radix ethanol extract(RREE) on the action potentials of central nodal cells of rabbit sinoatrial node

	N	MDP(mV)	APA(mV)	APD ₆₀ (msec)	SR(impulse/min)
Control	15	72±2.2	76±3.2	107± 4.4	81±5.0
0.025% RREE	15	71±1.1	74±2.4	115±14.1	76±9.0
0.05% RREE	15	70±3.4	79±8.2	115±11.5	65±6.2*
0.1% RREE	15	73±2.2	81±4.2	143±11.7*	62±5.0*

All values are mean±S.E.

MDP=maximum diastolic potential and APA=action potential amplitude.

SR=Rate of action potential discharged from SAN and APD₆₀=time to 60% repolarization.

N=number of impalements.

All experimental values were compared with control values.

*: p<0.05

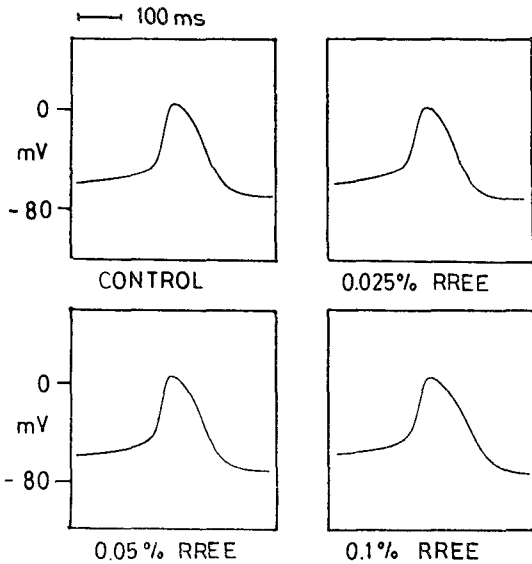


Fig. 1. Effects of Rehmanniae radix (RREE) on action potentials of central nodal cells of rabbit sinoatrial node.

기록하면서 0.025%, 0.05% 및 0.1%의 RREE를 투여하여 본 바 Table 1과 같은 결과를 얻었다(Fig. 1 및 2참조).

RREE 투여전 72±2.2 mV 이던 mean diastolic potential(MDP)는 0.025% 및 0.05% RREE 투여후 각각 71±1.1 mV 및 70±3.4 mV 로 감소하였으며, 0.1% RREE 투여후에는 73±2.2 mV 로 다소 증가하였으나 대조치와 비교하여 볼 때 유의한 차이는 찾아볼 수 없었다.

Central nodal cell의 활동전압의 크기(action potential amplitude: APA)는 0.025% RREE 투여 후

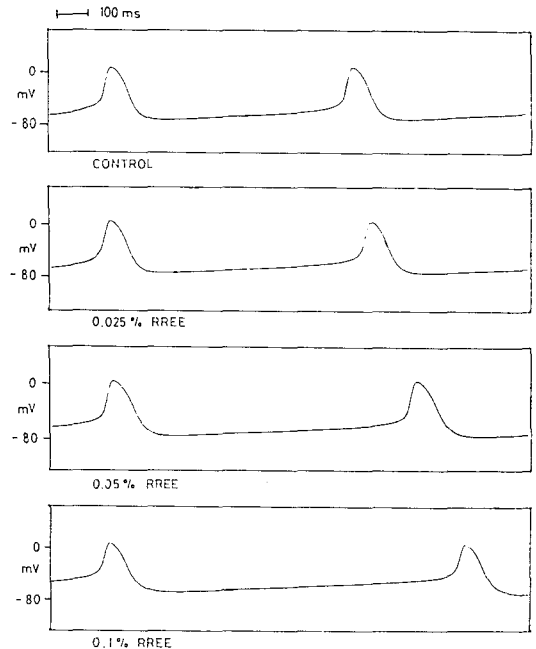


Fig. 2. Effects of Rehmanniae radix (RREE) on rate of action potentials discharged from central nodal cells of the rabbit.

74±2.4 mV 로서 대조치(76±3.2 mV) 보다 다소 감소를 볼 수 있었으며 또한 0.05% 및 0.1%의 RREE 투여 후에는 각각 79±8.2 mV 및 81±4.2 mV 로 증가됨을 관찰할 수 있었으나 이들의 변동을 대조치와 비교하여 볼 때 유의한 차는 아니었다.

또한 RREE가 활동전압의 지속시간에 미치는 영향을 알아보기 위하여 탈분극 후 막전압이 60%수준까지

Table 2. Effects of *Rehmanniae radix* ethanol extract(RREE) on the action potentials of peripheral nodal cells of rabbit sinoatrial node

	N	MDP(mV)	APA(mV)	APD ₆₀ (msec)	SR(impulse/min)
Control	15	78±1.5	92±2.1	100±6.2	64±3.9
0.025% RREE	15	77±1.4	92±2.0	102±4.1	58±2.7
0.05% RREE	15	77±1.3	93±1.3	115±6.5	52±4.5
0.1% RREE	15	78±1.6	97±4.4	137±8.8**	49±3.9*

All values are mean±S.E.

MDP=maximum diastolic potential and APA=action potential amplitude.

SR=Rate of action potential discharged from SAN and APD₆₀=time to 60% repolarization

N=number of impalements.

All experimental values were compared with control values.

*: p<0.05, **: p<0.01

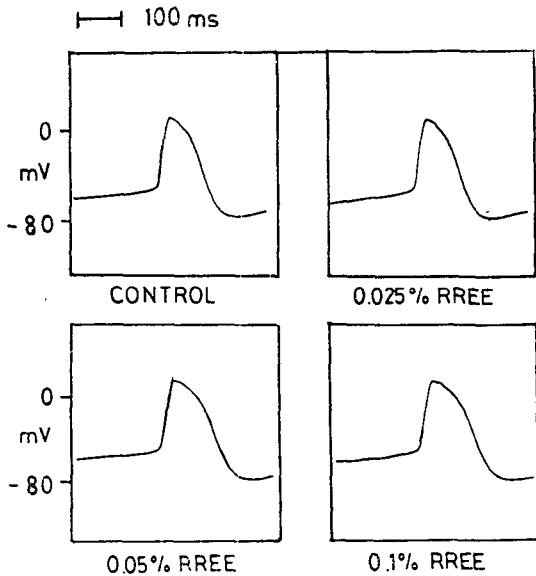


Fig. 3. Effects of *Rehmanniae radix* (RREE) on action potentials of peripheral nodal cells of rabbit sinoatrial node.

재분극되는 시간(APD₆₀)을 구하여 보았다.

RREE 투여전 107±4.4 msec 이던 APD₆₀은 0.025% 및 0.05%의 RREE 투여 후에는 115 msec 수준으로 변동하였으나 유의한 차이는 아니었다. 그러나 RREE를 0.1%의 용량으로 투여한 경우에는 APD₆₀은 143±11.7 msec로 현저하게 길어져 대조치와 비교하여 볼 때 유의(p<0.05)한 차이가 있음을 알 수 있었다.

한편 central nodal cell에서 자동적으로 발생하는 활동전압의 빈도에 미치는 RREE의 영향을 보면 Fig. 5와 같다(Table 1 및 Fig. 2). 동방결절 절편의 박동

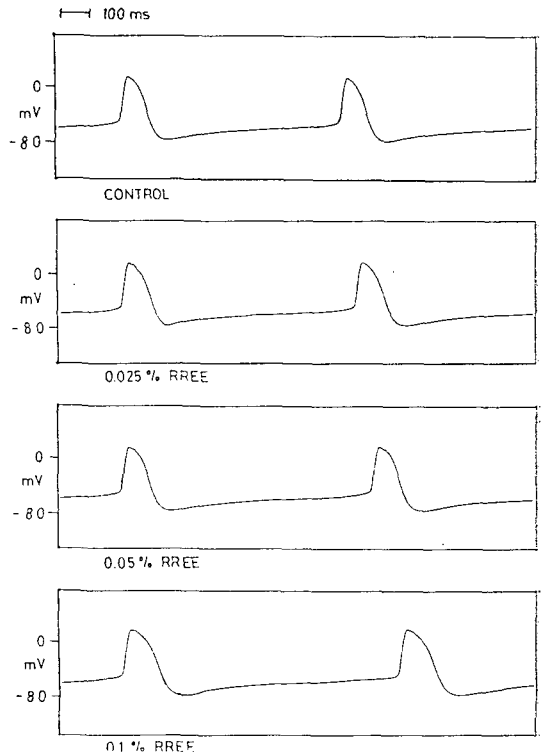


Fig. 4. Effects of *Rehmanniae radix* (RREE) on rate of action potentials discharged from peripheral nodal cells of the rabbit.

수는 RREE 투여 전에는 81±5.0/min 이었으나 0.05% 및 0.1%의 RREE 투여 후에는 각각 65±6.2/min 및 62±5.0/min로 감소되었는데 이들을 대조치와 비교하여 볼 때 유의(p<0.05)한 차이가 있음을 인정할 수 있었다.

Table 3. Effects of Rehmanniae radix ethanol extract(RREE) on the action potentials of rabbit papillary muscle.

	N	RMP(mV)	APA(mV)	APD ₆₀ (msec)
Control	15	85±1.4	108±3.8	162±14.7
0.025% RREE	15	85±2.3	109±2.5	176±15.4
0.05% RREE	15	86±1.6	107±4.5	172±11.3
0.1% RREE	15	89±2.2	110±2.4	209±14.2*

All values are mean±S.E.

RMP=resting membrane potential and APA=action potential amplitude.

APD₆₀=time to 60% repolarization.

All experimental values were compared with control values.

*: p<0.05

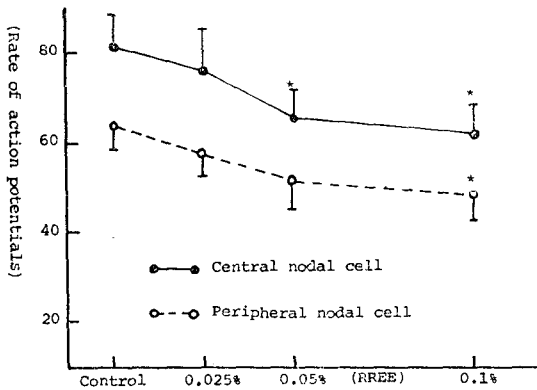


Fig. 5. Effects of Rehmanniae radix (RREE) on rates of action potential discharged from central and peripheral nodal cells.

*: p<0.05

나) Peripheral nodal cell의 활동전압에 미치는 RREE의 효과

동방결절과 심방근의 전이부위에 있는 것으로 믿어지는 peripheral nodal cell의 활동전압에 미치는 숙지황의 영향을 관찰하여 본 바 그 결과는 Table 2와 같다(Fig. 3 및 4).

RREE 투여 전 이들 nodal cell의 MDP는 78±1.5 mV 이었으며 APA는 92±2.1 mV로서 central pacemaker cell 보다 막전압이 대체로 큼을 알 수 있었다. 또한 APD₆₀은 100±6.2 msec로서 central nodal cell에서와 큰 차이가 없었으나 박동수는 64±3.9/min로서 현저히 낮았다(Fig. 4 및 5).

RREE를 0.1%의 용량으로 투여한 경우 MDP 및 APA가 각각 78±1.6 mV 및 97±4.4 mV로 변동하였으나 대조치와 비교하여 볼 때 유의한 차이는 발견

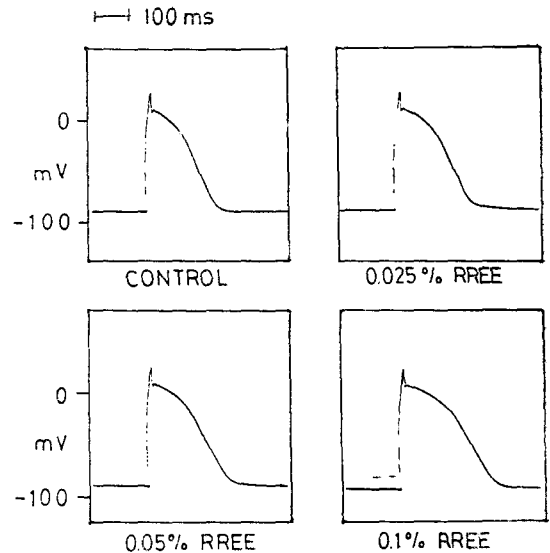


Fig. 6. Effects of Rehmanniae radix (RREE) on action potentials of rabbit papillary muscle.

할 수 없었다. 그러나 RREE(0.1%)투여 후에 APD₆₀은 137±8.8 msec로 변동되었는데 이는 대조치(100±6.2 msec)보다는 현저(p<0.01)하게 길었다.

한편 동방결절 절편의 박동수는 RREE에 의하여 감소되며 감소의 정도는 RREE의 투여용량에 비례하는 인상을 주었으나 0.1%의 RREE 투여시(49±3.9/min)만 대조치(64±3.9/min)에 비교하여 유의(p<0.05)하게 감소되었음을 알 수 있었다.

다) 유두근의 활동전압에 미치는 RREE의 효과

가토의 적출 유두근 세포의 전기생리학적 특성에 미치는 RREE의 영향을 관찰한 결과를 종합하여 보면

Table 3에서 보는 바와 같다(Fig. 6). RREE 투여 전 안정막 전위(RMP)와 APA는 각각 85 ± 1.4 mV 및 108 ± 3.8 mV로서 SA nodal cell과 비교하여 지나치게 전압이 현저히 큰 특성을 볼 수 있었다. 특히 유투근세포의 APA는 central pacemaker cell(76 ± 3.2 mV)과 비교하여 현저히 컸다.

RREE 투여 전 162 ± 14.7 msec 이던 APD_{60} 은 0.1% RREE 투여 후 209 ± 14.2 msec로 유의($p < 0.05$)하게 증가되었다.

고 찰

이차대전 직후 Graham 및 Gerard⁵⁾에 의해 capillary ultramicroelectrode가 고안된 후 각종 조직세포의 전기적 특성에 관한 학자들의 관심이 고조되었다. 1949년 Coraboeuf 및 Weidmann⁶⁾이 canine Purkinje 섬유에서 최초로 활동전압을 기록하였으며 Burgen 및 Terroux⁷⁾와 Woodbury 및 공동연구자⁸⁾는 각각 심방 및 심실근 세포에서 활동전압을 기록하는데 성공하였다.

일찍이 Aravanitaki⁹⁾가 달팽이 심장에서 prepotential의 존재를 보고한데 이어 Draper 및 Weidmann¹⁰⁾은 양의 Purkinje 섬유에서 slow diastolic depolarization을 기록한 바 있다.

그후 양서류 및 파충류 심장¹¹⁾의 pacemaker cell에서 미세전극법에 의하여 활동전압이 측정되었으며, 1955년에는 포유류의 pacemaker cell의 전기적 특성이 기술되었다¹²⁾.

심장의 여러 부위에서 기록한 활동전압은 모양, 크기 및 지속시간등에 있어 차이가 있으나 대체로 초기의 급속 탈분극기 후에 plateau가 따르는 것이 특징이다¹³⁾. 일반적으로 정상 nodal cell의 활동전압은 서서히 발생하고 낮은 plateau만으로 이루어진 것처럼 보인다.

즉 심근세포에서는 활동전압의 각 phase의 구분이 명확한데 반하여 pacemaker cell에서는 phase 1 및 2가 결여되어 있는 것이 보통이다. 이러한 활동전압의 생성은 심장조직세포막을 통한 이온들의 이동에 의한 이온전류에 의한다고 믿어지나 완전무결하게 밝혀져 있다고는 할 수 없다.

그러나 1964년 Deck, Dern 및 Trautwein¹⁴⁾이 심근세포에서 막전압 고정법을 고안하자 ionic current에 관한 연구가 성행하게 되었다. Pacemaker cell을 제외한 심장의 각 부위조직세포의 활동전압의 생성과정

(기전)을 보면 phase 0는 신속한 Na influx에 의하여¹⁵⁾, phase 1은 fast Na channel의 신속한 inactivation과 아울러 주로 K 및 Cl의 이동에 따른 초기 외향성 전류(i_{gr})에 의하여 나타난다고 한다¹⁶⁾.

또한 phase 2는 느리고 지속적인 재분극 과정으로서 방향이 동일하지 않은 여러개의 이온전류들에 의하여 형성되는 바 이 시기에는 시간 및 막전위에 따라 크기가 달라지는 Na 및 Ca에 의한 내향성 전류^{17~19)}(time voltage-dependent i_{Na} 및 i_{Ca})와 주로 K⁺에 의한 느린 외향성 전류(i_{X1})를 관찰할 수 있으며, 또한 anomalous rectification을 일으키는 i_{K1} 도 기록할 수 있다^{18, 20, 21)}.

또한 phase 3는 최종 재분극이 신속히 일어나는 시기로서 i_{X1} 이 증가되며 i_{Na} 및 i_{Ca} 의 흐름은 종식되는 때이며, X₂ channel을 통한 i_{X2} 의 존재도 보고²²⁾되고 있으나 정상적인 활동전압 생성에 관여하는 지는 명확히 알려져 있지 않다.

Phase 4는 특히 sinus node cell이나 Purkinje cell에서는 diastolic depolarization이 일어나는 시기이다.

한편 pacemaker cell에서는 그 형태적인 특성 때문에 ionic current에 관한 연구가 지연되었으나 1970년대에 들어와 Fozzard 및 Beeler²³⁾와 Noma 및 Irisawa 등²⁴⁾에 의하여 가토의 동방결절에 voltage-clamp법을 적용할 수 있게 되자 활기를 띄게 되었다. 지금까지 알려진 이온전류에는 TTX에 민감한 fast i_{Na} 와는 구별되는 i_s ²⁵⁾, 재분극에 관여하는 외향성 전류인 i_k ²⁶⁾, 및 일찍이 Purkinje fiber에서 기술된 i_{k2} ²⁷⁾와 유사하며, 과분극 pulse에 의해 활성화되는 내향성 전류인 i_f (i_h)^{28, 29)}등이 있으며 background current인 i_b ³⁰⁾는 시간에 무관하며 막전압에만 관여한다고 알려져 있다. 최근 Cd과 같은 i_s 차단제에 의하여서도 잔존하는 느린 Ca 전류($i_{Si, 2}$)의 존재가 보고^{31~33)}된 바 있다.

한동안 pacemaker potential은 K⁺-current에 의한다고 믿어졌으나³⁴⁾, 최근의 연구에 따르면 주로 Na⁺ 및 Ca⁺⁺의 이동 증가에 의하여 생성된다고 한다³⁵⁾.

본 실험에서 얻은 central 및 peripheral pacemaker cell의 MDP는 각각 72 ± 2.2 mV 및 78 ± 1.5 mV이었으며, APA는 각각 76 ± 3.2 mV 및 92 ± 2.1 mV이었다. Central pacemaker cell에서는 지나치게 전압(reversal potential)이 4 mV 정도인 데 반하여 peripheral nodal cell에서는 14 mV 정도였다. RREE는 어떤 농도에서도 central 및 peripheral pacemaker

cell의 MDP 나 'APA 에 유의한 변동을 일으키지는 못하였다.

그러나 RREE(0.1%) 투여후 central pacemaker cell의 APD₆₀는 107±4.4 msec 에서 143±11.7 msec 로 변동하였으며 perinodal cell(peripheral pacemaker)에서는 100±6.2 msec 에서 137±8.8 msec 로 연장되었다.

이상의 결과로 부터 RREE가 이들 pacemaker cell의 action potential duration을 유의하게 연장시킨다는 것을 알 수 있다.

한편 central pacemaker cell에서는 RREE 투여전 81±5.0/min 이던 자발성 흥분과 발생빈도가 0.05% 및 0.1%의 RREE 투여후 각각 65±6.2/min 및 62±5.0/min 로 유의하게 감소되었으며 또한 perinodal cell에서는 약물 투여전 64±3.9/min 이던 firing rate가 0.1% RREE 투여 후 유의하게 변동(49±3.9/min) 되었다.

본 실험에서 얻은 MDP, APA 및 APD 등은 타연구자들의^{8, 36~42)} 보고치와 비교하여 볼 때 대체로 비슷하나 다소의 차이가 있다면 이는 조직관류액의 온도 차이에 기인한다고 사료된다.

본 실험에서 central pacemaker와 perinodal cell을 비교하여 보면 MDP에는 큰 차이가 없으나 APA는 perinodal cell에서 높은 반면 firing rate는 central pacemaker에서 컸는데, 이는 Bleeker 등⁴³⁾의 실험결과와 일치한다고 볼 수 있다.

본 실험에서 pacemaker cell을 central과 peripheral로 구분한 것은 활동전압의 모양을 기준으로 하였으므로 이 구분법이 가장 이상적인 것이라고 하기는 어렵다.

가토는 타동물에 비하여 비교적 큰 SA node(6×2 mm or 7.2±0.6 mm²)를 갖고 있다고 하나^{44~46)}, 양자를 형태학적으로만 식별하는 것은 거의 불가능하다고 한다. 그간 SA node에 있는 P-cell과 T-cell의 형태학적 특성에 관하여서는 상당한 연구가 이루어졌으나 James⁴⁷⁾에 따르면 T-cell이 반드시 심방근 세포와 P-cell과의 연결 경계선에 있는 것도 아니므로 양자가 다 primary pacemaker로 작용할 수 있다고 한다.

Primary(dominant, true) 및 latent(follower, transitional, perinodal) pacemaker cell을 기능상으로서 식별하는 기준으로서 activation 시간^{12, 44, 48)}, diastolic depolarization의 신속성^{12, 48)}, phase 0 depolarization의 속도 및 diastolic depolarization

의 systolic depolarization으로의 이행시간^{48, 50)} 등이 제시되고 있다.

일반적으로 follower cell의 활동전압에는 fast component가 있으며^{49, 51~53)}, 이는 특히 [Na]의 감소에 민감하다는 관찰도 있다³⁴⁾. 최근 Bleeker 등⁴⁸⁾은 SAN의 compact zone에는 최소 5,000개의 pacemaker cell이 밀집되어 있고 이들 세포간에는 gap-junction(nexus)이 있어 흥분파의 발사가 동기화될 것이라고 시사하였다.

오랫동안 pacemaker cell 사이에는 nexi가 거의 결여되어 있다는 견해^{54~56)}가 지배적이어서 primary pacemaker 간의 동기화가 일어나는 기전에 관하여서도 미상한 점이 허다하였던 것이 사실이다. 1973년 James⁵⁷⁾는 동방 결절동맥이 pacemaker cell 간의 흥분파 발사의 동기화에 관여한다는 주장을 한때 이어 Sano 등⁵⁸⁾은 SAN에서 pacemaker cell의 활동전압이 electrotonic effect에 의하여 서로 acceleration 및 deceleration 되므로서 sinus rhythm을 결정한다고 하였으며 따라서 true pacemaker cell의 억압이나 latent pacemaker cell의 acceleration에 의하여 pacemaker의 전이가 가능하다고 볼 수 있다⁵⁹⁾.

오래 전부터 심장의 박동은 소수의 true(primary) pacemaker cell에서 자발적으로 발생된 흥분파가 follower cell에 전도되어 파급된다고 믿어졌으며 pacemaker cell은 마치 electrically coupled oscillator의 집단처럼 작용한다는 주장^{60, 61)}도 있었다.

본 실험에서 RREE를 투여하기 전에 가토 유두근의 활동 전압을 측정된 결과를 보면 안정막 전압(RMP) 및 활동전압(APA)은 각각 85±1.4 mV 및 108±3.8 mV이었으며 지나치기 전압(overshoot potential)은 23 mV 정도였다. RREE를 0.1%의 용량으로 투여한 경우 RMP 및 APA는 각각 89±2.2 mV 및 110±2.4 mV로 증가되었으나 유의한 변동은 아니었다.

그러나 약물 투여전 162±14.7 msec 이던 APD₆₀는 RREE(0.1%)투여 후 209±14.2 msec로 변동하므로서 유의하게 연장되었음을 볼 수 있었다.

일견하여 RREE는 0.025% 및 0.05%의 용량에서도 막전압에 dose-dependent한 영향을 미치는 것 같으나 통계학적으로 유의성을 찾아볼 수 없었다.

이상에서 보듯이 RREE는 0.1%의 농도에서 가토 pacemaker cell(central 및 peripheral)의 흥분과 발생빈도를 증가시키며 APD를 연장하였으며 유두근에서는 APD만을 연장함을 알 수 있다.

심장조직의 전기생리학적 특성은 동물의 종이나 세

포의 종류에 따라서 다르며 또한 각종 약물에 대한 반응도 서로 상이하다⁵⁹⁾. 이들 세포의 활동전압에 미치는 각종약물, 온도 및 pH 등의 영향은 궁극적으로는 이온전류의 변동을 통하여 일어난다.

일반적으로 pacemaker cell에서 Mn, Co, Cd 및 Mg 등은 i_{Ca} 를 차단함과 동시에 APD를 단축하나 Ni은 i_{Ca} 는 차단하나 APD는 연장하는 것으로 알려져 있다⁶²⁾.

일찍이 Kleinfeld⁶³⁾는 $[Ba]_o$ 의 증가는 SAN에서 흥분과 발생률, APA 및 APD 등에 영향을 미치나 반응의 크기나 방향이 일정하지 못하고 이중 APD만 제외없이 연장된다고 한데 이어 Toda⁶⁴⁾와 Reid 및 Hecht⁶⁵⁾는 각각 심방 및 심실근에서 $[Ba]_o$ 의 증가시 RMP는 감소하나 APD는 증가하며 자동능이 발생함을 보고하였다.

또한 pacemaker cell에서는 $[K]_o$ 가 증가하면 RMP는 감소하며^{45, 66-68)}, $[Na]_o$ 가 심히(정상치의 30%정도) 감소되면 자동능이 소실됨은 잘 알려진 사실이다⁶⁹⁾.

Vanadate가 가토 SAN에서 MDP를 감소시키며 자발성 흥분과 발생을 억제한다는 보고³⁶⁾도 있으며 aconite^{37, 38)}가 i_{Ca} 의 증가를 시키므로써 APD₆₀를 단축한다는 관찰도 있다. 1980년 Morad 및 Maylie⁶²⁾는 SAN의 rhythm은 $[Ca]_o$ 의 증가에 의하여서는 증가되고 $[K]_o$ 의 영향은 받지 않으나 Purkinje 섬유에서는 $[K]_o$ 및 $[Ca]_o$ 의 감소에 의하여 rhythm도 감소하며 $[Ca]_o$ 의 감소시 APD는 연장된다고 하였다. Niedergerke 및 Orkand⁷⁰⁾는 0.1~5 mV의 범위내에서 일반적으로 $[Ca]_o$ 가 증가하면 지나치기 전압이 커진다고 하였으며 Temte 및 Davis⁴⁰⁾는 관류액내의 Ca의 감소시 APD는 연장된다고 하였다.

최근 adenosine이 가토의 SAN에서 calcium의 투과성을 감소시키므로써 firing rate를 감소시킨다는 연구결과가 보고⁷¹⁾된 바 있다.

본 실험에서 SAN이나 유두근세포의 활동전압에 미치는 RREE의 영향은 $[Ca]_o$ 의 감소시의 효과와 같으므로 RREE는 세포내로의 Ca의 influx의 감소 즉 i_{Ca} 의 억제를 일으킬 수 있을 것으로 사료된다.

결 론

Rehmanniae radix의 에탄올 추출액이 가토의 동방결절 및 유두근 세포의 전기생리학적 특성에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 체외로 적출한 이들 세포에 미세전극을 삽입하여 RREE(0.25, 0.05 및 0.1%)를

투여하기 전후에 활동전압을 기록하였는 바 그 결과는 다음과 같다.

1) Central pacemaker cell의 MDP 및 APA는 각각 72 ± 2.2 mV 및 76 ± 3.2 mV이었으며 이들은 RREE에 의하여 변동하지 아니하였다.

2) RREE 투여전 107 ± 4.4 msec이던 central pacemaker cell의 APD₆₀는 0.1% RREE 투여 후 143 ± 11.7 msec로 유의하게 길어졌다.

3) Central pacemaker에서 생성되는 자발성 흥분파의 빈도는 0.05% 및 0.1% RREE 투여후 유의하게 감소되었다.

4) Peripheral pacemaker의 MDP 및 APA는 대체로 Central pacemaker 보다 컸으나 역시 RREE의 영향을 받지 않았는데 APD₆₀는 0.1% RREE 투여 후 유의하게 길어졌다.

5) RREE 투여전 64 ± 3.9 /min이던 peripheral pacemaker의 흥분과 발생빈도는 0.1% RREE 투여 후 49 ± 3.9 /min로 유의하게 감소되었다.

6) 가토 유두근 세포의 RMP 및 APA는 각각 85 ± 1.4 mV 및 108 ± 3.8 mV이었으며, 이들은 RREE에 의하여 변동되지 아니하였다.

7) 유두근 세포의 APD₆₀는 0.1% RREE 투여 후 유의하게 길어짐을 관찰할 수 있었다.

이상의 결과로 볼 때 RREE는 가토 pacemaker cell이나 유두근 세포에서 Ca influx의 감소, 즉 i_{Ca} 의 억제를 일으킬 것으로 사료된다.

REFERENCES

- 1) 이상인 : 본초학, 수서원, 1981, p.106.
- 2) 이선주, 이용주 : 생약학, 동명사, 1981, p.113.
- 3) 육창수 : 한국약품식물자원도감, 진명사, 1981, p.359.
- 4) 양순재 : 숙지황(*Rehmanniae radix*)이 가토의 혈압 및 심장수축력에 미치는 영향. 석사학위논문. 한양대학교 대학원, 1982.
- 5) Graham, J., Gerard, R.W.: *Membrane potentials and excitation of impaled single muscle fibers. J. Cell. Comp. Physiol.*, 28:99, 1946.
- 6) Coraboeuf, E., Weidmann, S.: *Potentiel de repos et potentiels d'action du muscle cardiaque, mesurés à l'aide d'électrodes intracellulaires. C.R. Soc. Biol. Paris*, 143:1329, 1949.
- 7) Burgen, A.S.V., Terroux, K.G.: *The membrane*

- resting and action potentials of the cat auricle. J. Physiol.*, 119:139, 1953.
- 8) Woodbury, L.A., Woodbury, S.W., Hecht, H. H.: *Membrane resting and action potentials of single cardiac muscle fibers. Circulation*, 1:264, 1950.
 - 9) Aravanitaki, A., Fersard, A., Kruta, A., Kruta, V.: *Reactions; electroniques du myocarde en fonction de sur tonus initial. Compt. Rend. Soc. Biol.*, 124:165, 1937.
 - 10) Draper, M.H., Weidmann, S.: *Cardiac resting and action potentials recorded with an intracellular electrode. J. Physiol. London*, 115:74, 1951.
 - 11) Brady, A.J., Hecht, H.H.: *On the origin of heart beat. Am. J. Med.*, 17:110, 1954.
 - 12) West, T.C.: *Ultramicroelectrode recording from the cardiac pacemaker. J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 115:283, 1955.
 - 13) Coraboeuf, E.: *Ionic basis of electrical activity in cardiac tissues, In Excitation and Neural Control of the Heart. Levy M N, Vassalle M Ed Washington, American physiological Society, 1982, p.1.*
 - 14) Deck, K.A., Dern, R., Trautwein, W.: *Voltage clamp technique in mammalian cardiac fibers. Arch. Ges. Physiol.*, 280:50, 1964.
 - 15) Weidmann, S.: *The effect of cardiac membrane potential on the rapid availability of the sodium carrying system. J. Physiol.*, 127:213, 1955.
 - 16) Kenyon, L., Gibbons, W.R.: *4-Aminopyridine and the early outward current of sheep Purkinje fibers. J. Gen. Physiol.*, 73:139, 1979.
 - 17) Reuter, H.: *Divalent cations as charge carriers in excitable membranes. Prog. Biophys. Mol. Biol.*, 26:1, 1973.
 - 18) Beeler, G.W., Reuter, H.: *Reconstruction of the action potential of ventricular myocardial fibers. J. Physiol.*, 268:177, 1977.
 - 19) Mainwood, G.W., McGuigan, J.A.S.: *Evidence for inward calcium current in the absence of external sodium in rat myocardium. Experientia*, 33:67, 1977.
 - 20) Noble, D., Tsien, R.W.: *The repolarization process of heart cells. In Electrical phenomena in the heart(De Mollo ed). Academic Press, New York, 1979.*
 - 21) Noble, D.: *The initiation of the heart beat(2nd Ed). Clarendon Press, Oxford, 1979.*
 - 22) Fozzard, H.A., Gibbons, W.R.: *Action potential and conduction of heart muscle. Am. J. Cardiol.*, 31:182, 1973.
 - 23) Fozzard, H.A., Beeler, G.W.: *The voltage clamp and cardiac electrophysiology. Circ. Res.*, 37:403, 1973.
 - 24) Noma, A., Irisawa, H.: *Membrane currents in the rabbit sinoatrial node cell as studied by double microelectrode method. Pflügers Arch.*, 364:45, 1976.
 - 25) Noma, A., Kotake, H., Irisawa, H.: *Slow inward current and its role in mediating the chronotropic effects of epinephrine in the rabbit sinoatrial node. Pflügers Arch.*, 368:1, 1980.
 - 26) Yanagihara, K., Irisawa, H.: *Potassium current during the pacemaker depolarization in rabbit sinoatrial node cell. Pflügers Arch.*, 388:255, 1980.
 - 27) DiFrancesco, D.: *A study of ionic nature of the pacemaker current $i_f(i_{K_2})$ in Purkinje fibers. J. Physiol. London*, 314:377, 1981.
 - 28) Brown, H.F., DiFrancesco, D., Noble, S.J.: *Cardiac pacemaker oscillation and its modulation by autonomic transmitters. J. Exp. Biol.*, 81:175, 1979.
 - 29) Yanagihara, K., Irisawa, H.: *Inward current activated during hyperpolarization in the rabbit sinoatrial node cell. Pflügers Arch.*, 385:11, 1980.
 - 30) Brown, H.F.: *Electrophysiology of the sinoatrial node. Physiol. Rev.*, 62:505, 1982.
 - 31) Lee, E., Lee, K.S., Noble, D., Spindler, A.J.: *A very slow inward current in single ventricular cells. J. Physiol.*, 345:6, 1983.
 - 32) Lee, E., Lee, K.S., Noble, D., Spindler, A.J.: *A new, very slow inward Ca current in single ventricular cells of adult guinea-pig. J. Physiol.*

- iol.*, 346:75, 1984.
- 33) 엄용의, 김기환, 황상익 : 토끼 동방결절에서 완만 내향전류의 *slow component*에 관한 연구. 대한생리학회지, 18:9, 1984.
 - 34) Irisawa, H.: *Electrical activity of rabbit sinoatrial node as studied by double sucrose gap method. In Proc. Satellite Symp. 25th Intern. Congr. Europ. Brussels: Presses Académiques Euorpéenes, 1972, p.242.*
 - 35) Maylie, J., Morad, M., Weiss, J.: *A study of pacemaker potential in rabbit sinoatrial node: measurement of potassium activity under voltage clamp condition. J. Physiol. London, 311: 161, 1981.*
 - 36) 조용문, 방효원, 엄대용, 이상돈 : 집토끼 동방결절의 활동전압에 미치는 *vanadate*의 효과. 중앙의대지, 9:269, 1984.
 - 37) 정학기, 조성일, 엄대용, 이상돈 : 심근의 전기적 및 기계적 성질에 미치는 부자부타놀 분획의 효과. 중앙의대지, 6:309, 1981.
 - 38) 권명중, 조성일, 엄대용, 이상돈 : *Higenamine*이 심근의 활동전압 및 수축에 미치는 영향. 중앙의대지, 6:543, 1981.
 - 39) Wit, A.L., Cranefield, P.F.: *Effect of verapamil on the sinoatrial and atrioventricular nodes of the rabbit and the mechanism by which it arrests reentrant atrioventricular nodal tachycardia. Circ. Res., 35:413, 1974.*
 - 40) Temte, J.V., Davis, L.D.: *Effect of calcium concentration on the transmembrane potentials of Purkinje fibers. Circ. Res., 20:32, 1967.*
 - 41) Marshall, J.M.: *Effects of low temperatures on transmembrane potentials of single fibers of the rabbit atrium. Circ. Res., 5:664, 1957.*
 - 42) 오형균, 엄대용, 이상돈 : 산 열기 변화가 개구리 심방근 활동전압에 미치는 효과. 중앙의대지, 8:47, 1983.
 - 43) Bleeker, W.K., Mackaay, A.J.C., Masson-Pévet, M., Bouman, L.N., Becker, A.E.: *Functional and morphological organization of the rabbit sinus node. Circ. Res., 46:11, 1980.*
 - 44) Sano, T., Yamagishi, S.: *Spread of excitation from sinus node. Circ. Res., 16:423, 1965.*
 - 45) Seyama, I.: *Characteristics of the rectifying properties of the sino-atrial node cell of the rabbit. J. Physiol. London, 255:379, 1976.*
 - 46) James, T.N.: *Anatomy of the cardiac conduction system in the rabbit. Circ. Res., 20:638, 1967.*
 - 47) James, T.N.: *The sinus node. Am. J. Cardiol., 40:965, 1977.*
 - 48) Paes de Carvalho, A.: *Cellular electrophysiology of the atrial specialized tissues. In the Specialized Tissues of the Heart, Paes de Carvalho A, de Mello WC, Hoffman B F Ed. New York, Elsevier, 1961, p.115.*
 - 49) Kohlhardt, M., Figulla, H.R., Tripathi, O.: *The slow membrane channel as the predominant mediator of the excitation process of the sinoatrial pacemaker cell. Basic. Res. Cardiol., 71:17, 1976.*
 - 50) Trautwein, W., Uchizono, K.: *Electron microscopic and electrophysiologic study of the pacemaker in the sinoatrial node of the rabbit heart. Z Zellforsch Mikrosk Anat., 61:96, 1963.*
 - 51) Yamagishi, S., Sano, T.: *Effect of tetrodotoxin on the pacemaker action potential of the sinus node. Proc. Jap. Acad., 42:1194, 1966.*
 - 52) Kreitner, D.: *Evidence for the existence of a rapid sodium channel in the membrane of rabbit sinoatrial node cells. J. Mol. Cell. Cardiol., 7:655, 1975.*
 - 53) Noma, A., Yanagihara, K., Irisawa, I.: *Ionic currents in rabbit sinoatrial node cells. In The Sinus Node, Bonke F I M Ed. The Hagas/Boston/London, Martinus Nijhoff, 1978, p.301.*
 - 54) Trandum-Jensen, J.: *The fine structure of the atrial and atrioventricular(AV) junctional specialized tissues of the rabbit heart. In the Conduction System of the Heart, Wellens H J J, Lie K I, Leiden M J J, Stenfert Kroese B V; 1976, p.55.*
 - 55) James, T.N., Sherf, L., Fine, G., Morales, A. R.: *Comparative ultrastructure of the sinus node in man and dog. Circulation, 24:139, 1966.*
 - 56) Ayettey, A.S., Navaratnam, V.: *The T-tubule*

- system in the specialized and general myocardium of the rat. *J. Anat.*, 127:125, 1978.
- 57) James, T.N.: *The sinus node as a servomechanism. Circ. Res.*, 32:307, 1973
- 58) Sano, T., Sawanobori, T., Adaniya, H.: *Mechanism of rhythm determination among pacemaker cells of the mammalian sinus node. Am. J. Physiol.*, 235(4):H379, 1978.
- 59) Irisawa, H.: *Comparative physiology of the cardiac pacemaker mechanism. Physiol. Rev.*, 58:461, 1978.
- 60) Winfree, A.T.: *Biological rhythms and the behavior of populations of coupled oscillators. J. Theor. Biol.*, 16:15, 1967.
- 61) Torre, V.: *A theory of synchronization of the heart pacemaker cells. J. Theor. Biol.*, 61:55, 1976.
- 62) Morad, M., Maylie, J.: *Calcium and cardiac electrophysiology, some experimental considerations. Chest.*, 78:166, 1980.
- 63) Kleinfeld, M., Stein, E., Meyers, S.: *Effects of barium chloride on resting and action potentials of ventricular fibers of the frog. Circ. Res.*, 2:488, 1954.
- 64) Toda, N.: *Barium-induced automaticity in relation to calcium ions and norepinephrine in the rabbit left atrium. Circ. Res.*, 27:45, 1970.
- 65) Reid, A., Hecht, H.H.: *Barium-induced automaticity in right ventricular muscle in the dog. Circ. Res.*, 21:849, 1967.
- 66) Irisawa, H., Seyama, I., Noma, A.: *Resting and action potentials of rabbit sinoatrial node cells. In Developmental and Physiological Correlates of Cardiac Muscle. Lieberman M, Sano T Ed. New York, Raven, 1975, p.287.*
- 67) Toda, N., West, T.C.: *Interactions of K, Na and vagal stimulation in the S-A node of the rabbit. Am. J. Physiol.*, 212:416, 1967.
- 68) Toda, N., West, T.C.: *Interaction between Na, Ca, Mg and vagal stimulation in the S-A node of the rabbit. Am. J. Physiol.*, 212:424, 1967.
- 69) Noma, A., Irisawa, H.: *Effects of Na⁺ and K⁺ on the resting membrane potential of the rabbit sinoatrial node cell. Japan J. Physiol.*, 25:287, 1975.
- 70) Niedrgerke, R., Orkand, R.K.: *The dual effect of calcium on the action potential of the frog heart. J. Physiol.*, 184:291, 1966.
- 71) 김기환, 호원경 : 동방결절 활동전압에 대한 아미노산 효과. 대한생리학회지, 18:19, 1984.