

## 토끼 동방결절 활동전압에 대한 Na, K, Ca 및 Mg 이온의 영향

이 정 렬\* · 엄 용 의\*\*

-Abstract-

### Effect of Na, K, Ca and Mg ions on the Action Potential of the Sinoatrial Node in the Rabbit.

Jeong Ryul, Lee, M.D.\*, Yung E, Earm, M.D.\*\*

Isolated sinus node cells of the rabbit were used to assess the effects of extracellular Na, K, Ca and Mg concentrations on cardiac pacemaker activity. With intracellular glass micro-electrodes spontaneous action potentials of SA node were recorded and the effects of various ions and their blockers were analysed in terms of the cycle length, the amplitude and the duration of action potentials, the results obtained were as follows.

1. Sodium reduction (up to 30%) decreased the amplitude of action potential and lengthened the cycle length. TTX, specific blocker of Na channel slightly lengthened the cycle length.
2. Increasing potassium ion concentration, the duration of action potential decreased and the frequency increased in 6mM, however, spontaneous action potential was stopped in 24 mM. Barium ion known to be decreasing K conductance increased the duration of action potential but no significant change in the cycle length was noticed.
3. Calcium ion has shortening effect on the duration and the cycle length of action potential but not with dose-dependent manner. Cadmium ion (0.02mM) lengthened cycle length and the duration of action potential.
4. Increasing the concentration of magnesium ion the cycle length was lengthened, significantly.

### I. 서 론

심장이 자동능을 가지고 있다는 사실은 오래전부터 알려진 사실이다.

이 자동능은 심장의 pacemaker 조직의 특수한 발진

\*서울대학교 의과대학 흉부외과학교실

\*Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, College of Medicine Seoul National University

\*\*서울대학교 의과대학 생리학교실

\*\*Department of Physiology, College of Medicine, Seoul National University

기(generator)적 특성에 기인한 것이다. 또한 pacemaker 섬유군의 막전압 변화는 이러한 자동능을 가진 조직의 특성이다. Pacemaker에서 이완기의 막전압은 일정하지는 않지만, 전파되는 자극이 역치에 이를때까지 자발적으로 완만하게 탈분극을 일으키는 양상을 보여준다. Dudel과 Trautwein(1958) 등은 pacemaker 전압이 다음 두가지 요소의 상호 작용의 결과라고 제안하였다.

첫째가 자동적인 심박동의 원인이 되는 Na에 대한 고도의 막전도성이고, 둘째가 재분극과 이완기에 일어나는 K전도성의 변화이다. Trautwein과 Kassebaum(1961)

은 Na이 부족한 Tyrode 용액에 노출된 토끼의 동방 결절 세포에서 초기의 일시적인 과분극 상태를 관찰하였다고 보고했다.

이와 같이 심장의 자동능을 일으키는 기전은 전기 생리학적으로 어떤 이온의 세포막을 통한 이온, 전류로 생각되며, Noble 등(1968)은 Purkinje 섬유에서 pacemaker 전류로 생각되는 K-전류를 발견하게 되었다.

이후 그밖의 이온 전류로 Na-(Brown 등 1979), Ca-(Irisawa 등 1978) 전류들이 밝혀지게 되었다.

이와 아울러 이온들의 막을 통한 이동을 억제할 수 있는 물질들이 알려졌다. 이에 저자는 자동능을 보이는 토끼의 동방 결절 세포에서 Na, K, Ca, Mg, 이온 농도의 변화 및 이들 이온의 억제제를 사용하여 활동전압의 모양 및 빈도에 미치는 영향을 관찰하여 동방결절에서의 전기적 활동에 대한 이온들의 공헌도를 밝히고자 하였다.

## II. 실험 방법

### 1) 동방 결절의 절편

1 ~ 1.5 kg의 토끼를 머리를 강탄한 후에 심장을 꺼내서 100% O<sub>2</sub>로 포화된 Tyrode 용액에 넣은 후 심실을 절개하여 혈액을 씻어내고 우심방을 나머지 부분으로 부터 분리하고 상대 정맥과 하대 정맥을 절개하여 동방 결절 부위를 노출시켰다. 1시간 이상 회복시킨 후 면도날로 crista terminalis에 수직방향으로 폭 0.3 mm 길이 5 ~ 8 mm 되는 절편 2 ~ 3개를 잘라내고 stainless steel 핀으로 양쪽을 고정 한 후 준비 용기에서 30분 내지 1시간동안 방치 회복시켰다. 이때 대개의 절편은 그대로 자동능을 가지고 있거나 멈추었던 절편에서도 5분 이내에 회복이 되었다. 자동능을 보이는 절편을 실험 용기에 옮겨 사방을 가는 핀으로 고정하여 되도록 기계적 움직임을 줄이고자 하였다. 실험 용기는 Tyrode 용액으로 실온(18 ~ 20 °C)에서 관류시켰고, 모든 경우에 용액은 100% O<sub>2</sub>로 포화시켰다. 절편을 만드는데는 임체 현미경 시야에서 하였다.

### 2) 실험용액 및 장치

정상 Tyrode 용액의 조성은 NaCl 140 mM, KCl 3 mM, CaCl<sub>2</sub> 2 mM, MgCl<sub>2</sub> 1 mM, Glucose 5 mM 이었고 Tris-HCl 5 mM을 가하여 35 °C에서 pH가 7.4가 되게 하였으며 100% O<sub>2</sub>로 포화시켰다. 각 실험 용액의 조성은 정상 Tyrode 용액을 기준으로 Na은 정

상(100%) 및 정상의 60%, 30%로 만들었으며 K의 경우는 정상(3 mM) 및 6, 12, 24 mM로 만들었고 Ca은 정상(2 mM) 및 0.1, 1, 4, 8 mM로 만들었고, Mg의 경우 정상(1 mM) 및 4, 6 mM로 만들었다. 또한 각 이온의 억제제는 TTX(5 × 10<sup>-7</sup>), Ba(0.5 mM), Ca(0.02 mM) 등을 사용하였다. 실험용기는 0.2 ml 용량을 가진 것을 사용하였고 관류 속도는 LKB peristaltic pump를 사용하여 1 ml/min를 유지하였다. 막전압의 기록을 위하여 15 MΩ 정도의 저항을 가진 유리 미세 전극을 세포속에 삽입하였고 실험 결과는 Grass polygraph에 기록하면서 동시에 Apple II microcomputer를 이용하여 1 ~ 5 ms의 Sampling rate로 diskett에 수록하였다.

## III. 실험 성적

### 1) 세포밖 Na 농도의 영향

세포밖 Na 농도의 변화가 활동전압 및 최대 이완기 전압, 안정막 전압, 자동능의 빈도 등에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 세 가지 다른 Na 농도를 가진 실험 용액에서 실시하였다. a)가 정상 Na 농도의 용액으로 관류시켰을 때의 모양이고, b)는 각각 정상의 60%, 30% Na 농도로 관류시켰을 때의 그림이다(그림 1).

세포밖 Na 농도가 감소함에 따라 활동 전압의 크기와 빈도수가 현저히 감소하였고 최대 이완기 전압은 낮은

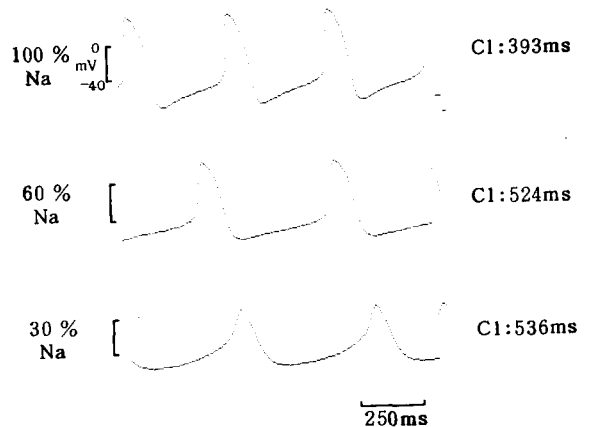


Fig. 1. Effect of sodium reduction on the action potential of the sinoatrial (SA) node of the rabbit. Sodium was replaced with the same concentration of lithium (chloride form). Sodium reduction decreased the amplitude of action potential and lengthened the cycle length.

Na 농도에 큰 영향을 받지 않았다.

급속 Na 전류 억제제인 TTX를 관류시켰을 경우(그림 2) 대조군과 비교하여 활동 전압, 최대 이완기 전압, 자동능의 빈도등의 변화를 보았다.

TTX에 의하여 활동 전압의 크기, 최대 이완기 전압에 큰 변화를 볼 수 없었으나 활동전압의 기간은 약간 연장되는 경향을 보였고 빈도수는 감소되었다.

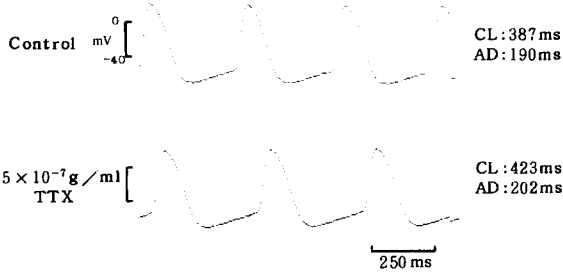


Fig. 2. Effect of tetrodotoxin (TTX) on the action potential of rabbit SA node. TTX in the concentration of  $5 \times 10^{-7}$  g/ml slightly lengthened the cycle length.

## 2) 세포밖 K 농도의 영향

자동능을 보이는 동방 결절의 활동 전압, pacemaker 전압등에 대한 K의 영향을 보기 위하여 4 가지 다른 농도의 K 용액에 토끼의 동방 결절을 관류시켰으며 그 결

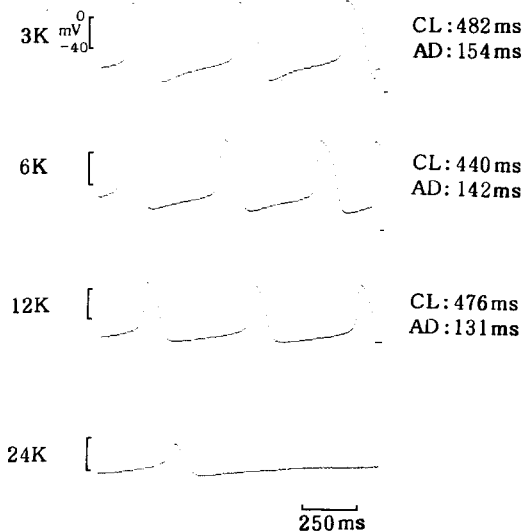


Fig. 3. Effect of potassium ion on the action potential rabbit SA node. Increasing the potassium concentration the duration of action potential decreased and the frequency (expressed as cycle length) increased in 6mM. Spontaneous action potential was finally stopped in 24mM K.

과는 그림 3에 나타내었다.

K 농도가 높아질 수록 활동 전압의 기간이 단축되고 활동 전압의 크기도 감소하는 것을 볼 수 있었다. 또한 K 농도가 증가할수록 최대 이완기 전압은 점차 감소하며 동시에 이완기 탈분극의 경사도 완만해졌다.

자동능의 빈도는 K 농도가 증가함에 따라 감소하였다. K 전류 억제제인 Ba를 관류시켰을 때의 토끼의 동방 결절의 활동 전압, pacemaker 전압의 변화는 그림 4와 같다.

Ba에 의하여 활동전압의 빈도는 약간 빨라지는 경향을 보였고 활동전압의 기간은 현저히 연장되었다.

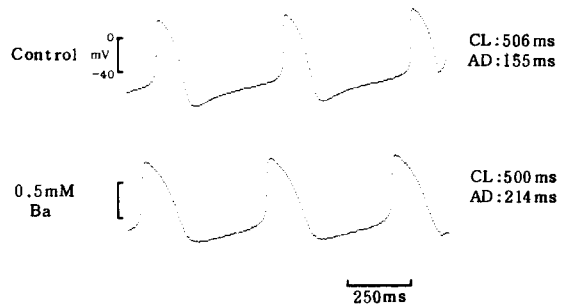


Fig. 4. Effect of barium ion on the action potential of SA node. It increased the duration of action potential but almost no change was noticed in the cycle length.

## 3) 세포밖 Ca 농도의 영향

동방 결절의 활동전압 최대 이완기 전압, 자동능의 빈도등에 대한 Ca 농도의 효과를 그림 5에 나타내었다.

Ca 농도 변화에 따라 cycle length의 차이는 현저하지 않았고 Ca 농도가 증가함에 따라 활동 전압의 크기와 최대 이완기 전압은 증가하였다. 반면 활동 전압의 기간은 Ca 농도가 증가함에 따라 점차 단축되는 것을 보였다.

Ca 전류 억제제인 Cd이 활동 전압 및 pacemaker 전압에 미치는 영향은 그림 6에 표시하였다.

Ca 전류 억제제인 0.02 mM Cd을 동방 결절에 관류시켰을 때 활동 전압의 빈도는 감소하였고 최대 이완기 전압은 오히려 약간 과분극되었으며 활동 전압의 기간은 약간 느려졌다.

## 4) 세포밖 Mg 농도에 관한 영향

세포밖 Mg 농도변화에 대한 토끼 동방 결절의 활동 전압, 최대 이완기 전압, 자동능의 빈도등에 미치는 영향을 그림 7에 나타내었다.

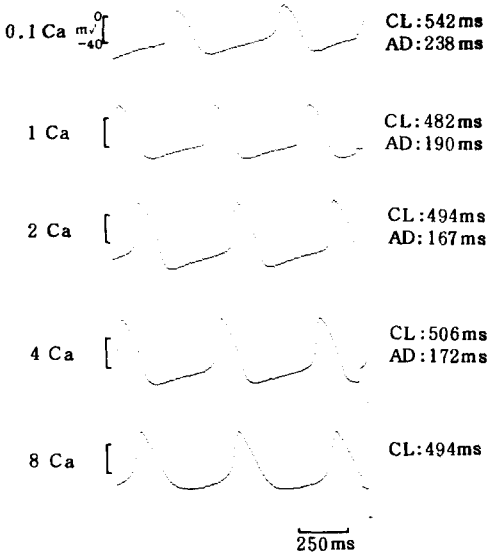


Fig. 5. Effect of calcium ion on the action potential of SA node. The cycle length and the duration of action potential tends to be shortened in higher concentrations of calcium but not dose-dependent manner.

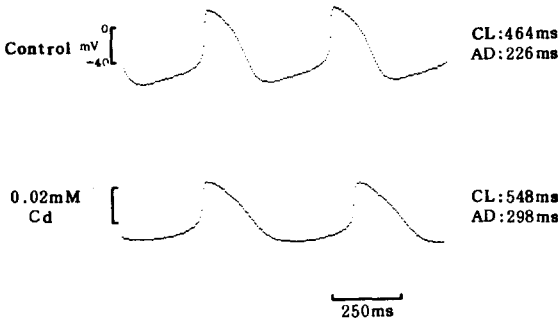


Fig. 6. Effect of calcium-blocker, cadmium ion in the concentration of 0.02mM. It lengthened the cycle length and the duration of action potential.

동방 결절의 pacemaker 세포의 막전위의 모양이나 변화 정도는 Mg 농도 변화에 따라 현저하게 변하지는 않았으며 최대 이완기 전압도 거의 변화가 없었다. 활동 전압의 높이는 약간 감소하였다. Mg 농도가 증가함에 따라 cycle length가 증가하였다.

#### IV. 고 찰

동방 결절의 pacemaker 전류는 전기 생리학적으로  $Na^+$  (Noma, Irisawa 1975),  $K^+$  (Noma and Irisawa

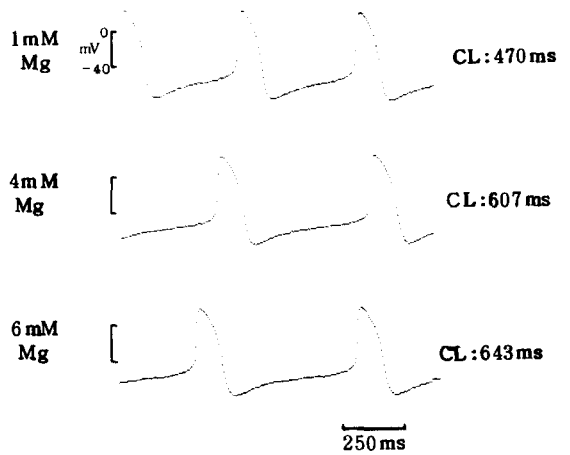


Fig. 7. Effect of magnesium ion on the action potential of SA node. Increasing the concentration of magnesium the cycle length was lengthened very much.

1974, Brown, DiFrancesco and Noble 1975)  $Ca^{++}$  (Noma and Irisawa 1976, Noma, Kotake and Irisawa 1980) 및  $Mg^{++}$  (Toda 1965) 등의 막을 통한 이동으로 생기는 이온 전류의 상호 작용으로 일어나는 것으로 되어 있다.

Na 농도가 감소함에 따라 동방 결절 세포의 최대 탈분극율이 감소한다는 사실은 심근 섬유에서와 마찬가지로 활동 전압의 초기 단계에 Na이 관여하고 있다는 증거가 된다. (Noma and Irisawa 1974) 그러나 Na 농도의 감소로 인한 활동 전압의 크기의 감소는 비교적 현저하지 않은데 이것은 활동 전압이 정상에 달했을때 동방 결절 세포내로 들어가는 이온 전류로 Na 이외의 다른 전류가 관여하고 있다는 것을 암시해 준다 (Noma 등 1974). 이때 원인이 되는 전류로 Ca이 제시되었다 (Niedergerke and Orkand 1966). 또한 세포밖 Na 농도가 감소함에 따라 최대 이완기 전압이 일시적으로 과분극되는 것을 볼 수 있는데 (Noma and Irisawa 1974), 반면 Toda와 West(1967)는 Na 농도 변화에 따라 최대 이완기 전압에 큰 변화가 없었다고 보고하였는데 이것은 안정기에 Na에 대한 상당량의 막전도성이 있다는 사실과 일치하지 않는다. 본 실험에서도 Na 농도 변화는 관찰할 수 없었다.

세포밖 K 농도가 증가함에 따라 활동 전압의 기간 및 크기가 모두 감소하였고, 최대 이완기 전압도 감소하는 양상을 보였다 (Vassalle 1964).

Noma와 Irisawa(1974)는 고농도의 K 용액에서 일시적인 과분극 상태를 관찰하였고 본 실험에서도 24mM

K 용액에서 일시적으로 자동능이 소실되었다. 동방 결절 세포의 완만 이완기 탈분극은 바로 전 활동 전압에 의해서 높아졌던 K 전도성이 시간이 지나감에 따라 감소한 결과로 생긴다고 생각이 된다 (Noma and Irisawa 1974).

최대 탈분극율과 막전압에 대한 Ca이온의 효과는 Purkinje섬유 (Weidmann 1955)에서와 비슷하다. 동방 결절 세포에서 지나치기 활동전압은 Ca농도가 증가함에 따라 증가하였는데 이것은 Ca의 내향 전류가 급속기 활동 전압의 주된 원인이 된다는 증거이다 (Noma and Irisawa 1975). 반면 활동 전압의 크기는 감소하였고 (Seifen 등 1964, Toda and West 1967). 또한 최대 이완기 전압도 감소하였다 (Noma and Irisawa 1975).

Toda와 West(1965)는 Mg의 세포밖 농도가 증가함에 따라 최대 이완기 전압 및 안정막 전압에는 큰 변화가 없었으나 활동 전압의 크기는 감소하였고 cycle length는 증가하였다고 보고했는데 본 실험에서도 일치하였다.

상기 이온들의 영향과 아울러 이들 이온 전류들의 억제제인 1) Na-전류억제제인 TTX(Dudel 등 1967), 2) K-전류억제제인 Ba(Yangihara and Irisawa), 3) Ca-전류억제제인 Cd 등의 효과를 관찰하였다.

결과는 각 이온에 의해 활동 전압의 기간이 증가하고 빈도수가 감소하는 것이 관찰되었으며 이것으로 Na-전류, K-전류, Ca-전류 등의 이온 전류가 pacemaker 활동의 원인이 된다는 간접적인 증거라고 생각된다.

## V. 결 론

동방 결절의 자동능의 기전을 밝히기 위하여 토끼의 동방 결절에서 절편을 만들어 유리 미세극으로 각기 다른 농도의 세포밖 Na, K, Ca, Mg 및 이들 이온 억제제를 포함한 용액에 관류시킨 후 활동 전압을 기록 분석하여 다음 결론을 얻었다.

1. 세포밖 Na 농도의 변화에 대하여는 Na 농도가 감소(100% Na → 30% Na)함에 따라 활동 전압의 크기 및 빈도수가 현저히 감소되었으며, 최대 이완기 전압은 Na 농도 변화에 따라 큰 변화가 없었다. Na 전류 억제제인 TTX( $5 \times 10^{-7}$  g/ml)에 의해 활동 전압의 빈도수는 감소하였으며 활동 전압의 기간은 약간 증가하였다. 활동 전압의 크기는 별 변화가 없었다.

2. 세포밖 K 농도 변화에 따른 영향은 K 농도가 높

을수록 활동 전압의 기간과 크기가 모두 감소하였으며 최대 이완기 전압과 이완기 탈분극의 경사도 감소하였다. 자동능의 빈도는 K 농도가 높아짐에 따라 점차 감소하는 경향을 보이다가 24 mM K 용액 속에서는 자동능이 소실되었다. K-전류 억제제인 Ba에 대한 영향은 활동 전압의 기간이 길어졌으며 cycle length는 별 변화가 없었다.

3. 세포밖 Ca 농도 변화에 대한 영향은 Ca 농도가 증가할수록 활동 전압의 크기 및 최대 이완기 전압이 증가하였다. 8mM Ca 용액에서는 이완기 탈분극이 양상이 직선이 아니고 완만한 곡선을 이루었다. Ca-전류 억제제인 Cd 용액 속에서는 활동 전압의 기간이 약간 연장되었으며 활동 전압의 빈도는 감소하였다.

4. 세포밖 Mg 농도 변화에 대하여는 Mg 농도가 증가함에 따라 활동 전압의 크기가 약간 감소하였으며 cycle length가 연장되었다.

## REFERENCES

- Burgen A.S.V., and K.G. Terroux. : *The membrane resting and action potentials of the cat auricle.* *J. Physiol., London* 119, 139-152, 1953.
- Draper, H.M., and Weidmann, S. : *Cardiac Resting and Action Potentials recorded with an Intracellular Electrode.* *J. Physiol., 1951, 115, 1984.*
- Dudel, J., und Trauwein, W. : *Der Mechanismus der Automatischen Rhythmischen Impulsbildung der Herzmuskelfaser.* *Arch. ges. physiol., 1958, 267, 533.*
- Dudel, S., Peper, K., Rudel, R. Trautwein, W. (1967): *The Effect of Tetrodotoxin on the membrane current in Purkinje fibers.* *Pflügers Arch. ges. Physiol.* 295, 213-226.
- Hodgkin, A.L., and Huxley, A.F. : *A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve.* *J. Physiol.* 1952, 117, 550.
- M. Vassalle. *Cardiac pacemaker potentials at different extra-and intracellular K Concentrations.* *Am. J. Physiol., 208 (4): 70-775, 1965.*
- Noble, D. : *Cardiac action and pacemaker potentials based on the Hodgkin-Huxley equations.* *Nature, 1950, 188, 495.*
- Noma, A. and Irisawa, H. *Electrogenic sodium Pump in Rabbit Sinoatrial node cell.* *Pflügers Arch.*

- 351, 117-182, 1974.
- Noma, A. and Irisawa, H. *Electrogenic sodium Pump in Rabbit Sinoatrial node cell. Pflügers Arch.* 351, 117-182, 1974.
- Noma, A. and Irisawa, H. : *The Effect of Na ion on the initial Phase of the S-A pacemaker action potentials. Jap. J. Physiol.* 24, 617-632 (1974).
- Noma, A. and Irisawa, H. : *Effects of Na and K on the resting membrane potential of the rabbit S-A node cell. Jap. J. Physiol.* 25, 287-302 (1975).
- Noma, A. and Irisawa, H. : *Effect of Ca ion on the rising phase of the action potential in the rabbit S-A node cells. Jap. J. Physiol.* 26, 93-99, (1976).
- Noma, A. and Irisawa, H. (1976) : *Membrane currents in the rabbit S-A node cell as studied by the double microelectrode method, Pflügers Arch.* 364, 45-52.
- Noma, A., Kotake, H. and Irisawa, A. (1980): *Slow inward current and its role mediating the chronotropic effect of Epinephrine in the rabbit S-A node Pflügers Arch,* 388, 1-9.
- Seifen, E., Schaer, and J.M. Marshall. : *Effect of Calcium on the membrane potential of single Pacemaker fibers and atrial fibers in isolated rabbit atria. Nature* 202, 1223-1224, 1964.
- Toda, N., and West, T.C. : *Changes in Sino-atrial node transmembrane potentials on vagal stimulation of the isolated rabbit atrium. Nature* 205, 808-809, 1965.
- Toda, N., and West, T.C. : *Interaction between Na, Ca, Mg and vagal stim. in the S-A node of rabbit, 1975.*
- Toda, N., and West, T.C. : *Interactions of K, Na and vagal Stimulation in the S-A node of the rabbit. Am. J. Physiol.* 212, 416-423, 1967.
- Tomita T., Yamamoto, J. : *Effects of removing the external Potassium on the smooth muscle of guinea pig taenia coll. J. Physiol. (Lond.)* 212, 851-868, (1971).
- Trautwein, W., and Kassebaum, D.G. : *On the mechanism of spontaneous impulse generation in the pacemaker of the heart J. Gen., Physiol.* 45:317-330, 1961.
- Weidmann, S. (1951): *Effect of current flow on the membrane Potential of cardiac muscle. J. Physiol.* 115, 227-236.