

토끼 심방근 및 혈관 평활근에서의 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환기전에 관한 연구**

서울대학교 의과대학 생리학교실, 소아과학교실*
및 충북대학교 의과대학 생리학교실†

김 희 주*† · 문 형 로* · 엄 응 의 · 호 원 경†

(1988년 2월 28일 접수)

= Abstract =

$\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ Exchange System in Atrial Trabeculae and Vascular Smooth Muscle of the Rabbit

Hee Ju Kim*†, Hyung Ro Moon*, Yung E Earm and Won Kyung Ho†

Department of Physiology and Department of Pediatrics, College of Medicine Seoul National University*

†Department of Physiology, College of Medicine Chungbuk Natinal University†

In order to elucidate the regulatory mechanism of intracellular calcium ion concentrations, contractions or contractures induced by Na^+ -removal, calcium-application or ouabain-treatment as an index of $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchange activity were studied in atrial muscle or vascular smooth muscle (aorta and renal artery) of the rabbit.

The magnitude of low sodium contractures in atrial trabeculae increased with sigmoid shape when external sodium concentrations were reduced to sodium-free condition, whereas that of calcium contracture intensified in a parabolic pattern when external calcium concentrations were elevated to 8 mM. Na^+ -removal contractures were induced in a duration-dependent manner to K^+ -free exposure and same findings were observed with ouabain treatment.

Na^+ -free contractures were not affected by verapamil treatment, but stimulated by $100 \mu\text{M Mn}^{2+}$ and inhibited by high concentrations of Mn^{2+} (2~8 mM) in a dose-dependent manner.

Ryanodine which is known to suppress the release of calcium from internal store abolished spontaneous twitch contractions induced by K^+ -free solution, but had no effect on the development of Na^+ -free contractures.

Na^+ -free contractures were not always induced in vascular smooth muscle preparations. Contractures by 0 mM Na^+ were usually seen in aorta, but not often in renal artery. 50 mM K^+ , noradrenaline (NA) and angiotensin II (AII) always evoked very large contraction in all preparations of vascular smooth muscle. Contractures developed by 0 mM Na^+ were not sensitive to verapamil treatment as in atrial trabeculae, but were abolished by $100 \mu\text{M Mn}^{2+}$. In contrast to Na^+ -free contractures, Mn^{2+} (100 μM) had no effect on the contractures induced by NA or 50 mM K^+ . Caffeine in the concentration of 10 mM evoked transient contracture in the distal renal artery.

The rate of spontaneous relaxation in caffeine contracture was dependent upon the concentrations of external sodium, and had double component of relaxation when the rate of relaxation was plotted in the semilogarithmic scale of relative tension versus time. Especially late components of relaxation had more direct relation to Na^+ concentrations. It could be concluded that $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchange mechanism

*서울지병원 소아과

**본 연구는 충북대학교 학술진흥 연구비 및 1988년도 서울대학교병원 연구비로 이루어 졌음.

in the heart has a large capacity, inhibited by Mn^{2+} but not by verapamil and ryanodine, while Na^+/Ca^{2+} exchange system in vascular smooth muscle has a very low capacity especially in small artery, inhibited by low concentration of Mn^{2+} ($100 \mu M$) but not affected by verapamil and ryanodine.

Key Words: Na^+/Ca^{2+} exchange, Atrial trabeculae, Renal artery of rabbit, Na^+ -removal contracture, Ca^{2+} -blockers

서 론

세포내 Ca^{2+} 은 기본적인 세포의 생리적 기능을 조정하는 2차전령으로서 매우 중요한 역할을 담당하고 있다. Ca^{2+} 에 의하여 조절되는 과정으로는 대표적으로 흥분-수축 연결기전, 흥분-분비 연결기전, 세포-세포 연락기전, 세포분열, 난자수정 그리고 빛감각기전 (phototransduction) 등을 들 수가 있다 (Campbell, 1983).

Ca^{2+} 이 2차전령 역할을 수행하기 위해서는 안정 상태에서 세포내 농도 ($[Ca^{2+}]_i$)가 매우 낮아야만 가능하다. 실제로 여러 세포에서 세포내 Ca^{2+} 을 측정 한 결과 50~300 nM의 범위에 있고 (Blinks et al., 1982; Campbell, 1983; Blinks, 1986) 심장세포의 경우에도 대개 50~200 nM 근처에 있다 (Sheu et al., 1984; Murphy et al., 1985; Cannell et al., 1986).

안정시에 이와 같이 낮은 Ca^{2+} 농도를 유지하기 때문에 적은 농도의 Ca^{2+} 변화라도 커다란 신호로 변화가 된다 (Blaustein, 1985). 따라서 대부분의 세포는 안정시 혹은 활동시에 세포내 Ca^{2+} 농도를 낮게 유지하기 위한 여러과정이 잘 발달되어 있어야만 한다. 심장근에서도 활동전압이 발생하면 세포밖 Ca^{2+} 이 세포내로 들어가고 세포내 저장고로부터 Ca^{2+} 이 유리되어 소위 흥분-수축 연결에서 결정적인 역할을 Ca^{2+} 이 담당하고 있다 (Fozzard, 1977; Fabiato, 1983). 따라서 세포내 Ca^{2+} 을 낮게 유지하기 위하여 여러기전이 알려져 있다. 그 기전들을 보면 다음과 같다.

1) 막전압 혹은 화학물질 (주로 신경전달 물질)에 의하여 세포밖 Ca^{2+} 이 세포내로 들어가는 Ca^{2+} 통로

2) ATP에 의존하여 세포내 Ca^{2+} 을 축적하였다가 신호에 의하여 세포내로 유리하는 근장그물 (sarcoplasmic reticulum)

3) 역시 ATP 등 에너지를 이용하여 Ca^{2+} 을 축적하고 Na^+ 의존성으로 Ca^{2+} 을 세포내로 유리하는 미토콘드리아 (mitochondria)

4) calmodulin이나 parvalbumin같은 세포내 Ca^{2+} 을 완충시키는 단백질

5) ATP를 써서 Ca^{2+} 을 세포밖으로 퍼내는 Ca^{2+} 펌프

6) Na^+ 경사에 의존하여 Ca^{2+} 을 세포내로 혹은 세포밖으로 내보낼 수 있는 Na^+/Ca^{2+} 교환기전 등이 알려져 있다 (Sheu & Blaustein, 1986).

이중에서 1) 기전은 주로 Ca^{2+} 을 세포내로 증가시키는 것이고, 2)3)4) 기전은 Ca^{2+} 을 완충하는 기전이 한정되어 있는 기전이며, 세포내 Ca^{2+} 농도를 항상 낮게 유지하기 위한 기전은 5)6) 기전 즉 Ca^{2+} 펌프와 Na^+/Ca^{2+} 교환기전이라고 할 수 있다.

Na^+/Ca^{2+} 교환기전을 주로 살펴보면 Na^+/Ca^{2+} 교환기전의 맨처음 시작은 Ringer (1883, 1885)에 의하여 Na^+ 과 Ca^{2+} 이 심장근에 길항적으로 작용한다는 보고부터이다.

그후 Wilbrandt & Koller (1948)는 심근수축력이 $[Ca^{2+}]_o/([Na^+]_o)^2$ 에 비례함을 발견하였고 Lüttgau & Niedergerke (1958)는 이러한 원칙이 연속 (twitch) 크기에서만 적용되는 것이 아니고 경축 (contracture)의 경우에도 성립됨을 발견하였다. 이러한 비례 현상을 Lüttgau & Niedergerke (1958)는 세포막표면에 음이온을 띤 결합장소 R이 있어 Ca^{2+} 과 결합하여 CaR 을 형성하면 수축력이 커지고 Na^+ 과 결합하여 Na_2R 을 형성하면 수축력이 감소한다고 해석하였다. 그러나 실제로 Na^+ 과 Ca^{2+} 이 반대방향으로 이동한다는 사실을 발견한 것은 Reuter & Seitz (1968)가 심장근에서 방사성 동위원소의 이동량을 측정하여 얻은 결과와 Baker et al. (1967, 1969), Blaustein & Hodgkin (1968, 1969)이 오징어 거대축삭 돌기에서 측정한 결과가 맨 처음이었다. 이들 결과는 모든 Ca^{2+} 의 이동은 Na^+ 의 이동과 연계되어 반

대방향으로 일어난다는 것이었다. 그 후 많은 연구자들이 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환기전의 존재, 교환비율, 기타 영향을 주는 인자들에 대하여 연구를 계속하고 있어 교환비율이 $3\text{Na}^+ : 1\text{Ca}^{2+}$ 이고 전압 발생적 (electrogenic)이며 세포내 Ca^{2+} 농도를 낮게 유지하는 기전으로 생각하고 있다 (Mullins, 1981; Philipson, 1985; Kimura et al., 1986; Earm & Irisawa, 1986).

그러나 혈관 평활근에서는 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환기전의 성상이 심장근에 비하여 알려져 있지 않다. Bohr et al. (1969)은 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환기전이 혈관 평활근에서 세포내 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 를 결정하는 기능을 담당하여 혈관 긴장도를 유지하는 직접적인 역할을 한다고 주장하였으며, Reuter et al. (1973)은 토끼 대동맥에서 세포밖 Na^+ 농도를 낮게 하니 Ca^{2+} 의 세포내로 부터의 유출 (efflux)은 줄고 세포내로의 유입 (influx)은 증가 되었다고 보고하여 혈관 평활근에도 심장근에서와 같은 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환기전이 존재함을 증명하였다. 그러나 이제까지의 대부분의 실험은 대동맥 등 큰 동맥에서 주로 행하여졌기 때문에 모든 평활근에 적용하기 어렵고 더구나 생리적인 의의는 아직 잘 모르고 있는 상태이다 (Blaustein, 1977; Brading & Lategan, 1985).

특히 작은 혈관 평활근에서의 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환기전에 대해서는 그 공현도에 이견이 많다. Lang & Blaustein (1980)은 Na^+ 펌프 억제와 $[\text{Na}^+]_o$ 의 감소가 혈관 저항을 증가시키는 결과로부터 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환기전이 작은 혈관에서도 직접적으로 근긴장에 관여한다고 주장하였으나 Mulvany et al. (1984, 1985)은 작은 동맥에서 같은 실험을 하여 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환기전은 존재하나 오직 특별한 경우에만 작용하고 보통의 경우에는 Ca^{2+} 펌프가 주된 작용을 한다고 주장하였다.

이에 저자는 심장근, 혈관 평활근에서 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환기전의 활성도 및 성질의 유사점, 차이점을 관찰하고 혈관 평활근도 대동맥, 신동맥, 신동맥 말단부 등에서 부위에 따른 차이점을 비교 관찰하고자 하였다. 아울러 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환기전을 억제하는 억제제의 감수성 (sensitivity), 막전압과의 관계, 세포내 Ca^{2+} 저장고 기능과의 관계도 분석하고자 본 연구를 시행하였다.

실 험 방 법

1. 심방근 및 trabeculae

체중 1 kg 내외의 토끼를 후두부를 강타하고, 경동맥을 통해 실혈시킨 후 심장을 적출하여 100% 산소로 포화된 실온의 Tyrode 용액이 든 준비 용기에 옮겼다. 심실을 절개하여 심장속 혈액을 씻어내고 우심방만을 분리시켰다. 상대정맥 쪽 crista terminalis에서 우심방으로 나가는 부분에서 직경 $100 \mu\text{m}$ 내외, 길이 3~4 mm되는 심방 trabeculae를 노출시켰다. trabeculae 근은 심방벽이나 다른 trabeculae와 붙지 않는 것만을 사용하였다. 양쪽 끝을 무명실 한가닥으로 묶었는데 한쪽 끝은 고리를 만들어 장력 변환기에 연결할 수 있게 하였다. 이와 같은 조작은 입체 현미경 (Prior) 시야 ($\times 14$)에서 하였고, 다시 1시간 가량 실온에서 회복시켰다. 심방근은 하대정맥 쪽에서 폭 0.5 mm, 길이 5 mm 정도의 절편을 같은 방법으로 만들어 회복시켰다.

2. 대동맥 및 신동맥 평활근 절편

마찬가지로 1 kg 내외의 토끼를 후두부를 강타하고, 경동맥을 통해 실혈시킨 다음, 대동맥은 흉부 대동맥, 신동맥은 오른쪽 신장으로 가는 신동맥을 대동맥쪽과 신장내부를 절개하여 유리시켰다.

100% 산소로 포화된 Tyrode 용액이 든 준비 용기에 옮겨 대동맥 부분은 절개하여 폭 0.2 mm, 길이 2 mm되는 절편으로 만들었으며, 신동맥도 역시 신장에 가까운 부위 (대개는 분지후 부분)와 대동맥에 가까운 부위를 나누어 각각 환상 (ring shape)으로 절개하여 같은 크기의 절편으로 만들었다. 양쪽 끝을 무명실 한가닥으로 trabeculae에서와 동일한 방법으로 묶어 회복시켰다.

회복된 절편은 용량 0.5 ml 가량인 perspex로 된 실험용기에 옮겼다. 실험용액은 37°C 의 Tyrode 용액을 100% 산소로 포화시켜 사용하였다. 절편 한쪽 끝은 가는 핀으로 고정하였고 고리가 있는 쪽은 미세조정기 (micromanipulator, Narishige)에 부착된 미세장력 변환기 (micro-tension transducer, Akens)에 연결하여 등장성 수축 (isometric tension)의 크기를 측정하였다. 용액의 관류는 정수압을 이용하였으며

온도는 항온순환기 (Haake, FE 2)를 사용하여 35°C를 유지하였다. 장력 변환기는 전치증폭기 (pre-amplifier)를 통하여 생리기록기 (Device 및 Grass)에 연결 기록하였다.

용액 : Tyrode 용액의 조성은 NaCl 140 mM, KCl 3 mM, CaCl₂ 2 mM, MgCl₂ 1 mM, glucose 5 mM이고, pH는 Tris를 사용하여 (5 mM) 35°C에서 pH 7.4가 되게 만들었다. Na⁺ 제거용액은 같은 mole 수의 Tris로 대체하여 만들었으며 50 mM K⁺ 용액은 같은 mole 수의 Na⁺을 제거하고 만들었다. 기타의 조성변화는 오스몰 농도를 고려하지 않고 첨가 혹은 생략하여 만들었다.

Na⁺ 펌프억제 목적으로 ouabain (Sigma)을 10⁻⁵ M 농도로 사용하였고, 약물은 verapamil (Knoll), MnCl₂ (Sigma), ryanodine (Penick), noradrenaline (Sigma), caffeine (Sigma), angiotensin II (Hoechst) 등을 사용하였다.

3. 심방근에서의 막전압 기록

심방근에서 ouabain이나 0 mM Na⁺에 의하여 경축이 나타나는 경우 막전압의 변화를 동시에 기록하였다. 유리미세전극은 외경 1.5 mm의 유리관을 puller로 뽑아 만들었고 3 M KCl을 채워 전기저항 30 MΩ 이상인 것만을 골라서 사용하였다. 막전압의 기록은 미세전극 전치증폭기를 통하여 oscilloscope (Tektronix) 및 생리기록기 (Grass)에 기록하였다. 많은 경우 경축이 일어나면서 전극이 세포내로부터 빠져 나와서 경축의 크기가 크게 나타나는 경우에는 막전압을 측정할 수 없었다.

4. 실험 결과의 분석

본 연구에서 사용한 토끼는 총 97마리였으나 실제로 실험 결과를 얻은 것은 약 50마리에서 었다. 실험도중 심방근인 경우 0 mM K⁺, 0 mM Na⁺의 노출시 일정한 경축 및 경축회복 곡선을 보인 것들만을 실험 조건이 잘 조절된 경우로 삼아서 분석에 이용하였고, 대동맥이나 신동맥의 경우에는 50 mM K⁺ 용액에 의해서 전형적인 K⁺ 경축의 모양과 비슷한 크기를 나타낼 경우만을 분석에 이용하였다. 따라서 조건을 가하여 변화를 보인 것은 모두 유의한 것으로 간주하였다. 그러나 동일한 경향을 보이는 실험

이 5회 이상 반복되는 경우만을 채택하여 그 대표적인 예를 제시하였다.

따라서 정성적인 변화를 주로 관찰하였기 때문에 통계학적인 분석 방법은 사용하지 않았다.

실 험 성 적

1. 심방근에서의 Na⁺/Ca²⁺ 교환기전

1) Na⁺, Ca²⁺ 농도 변화에 따른 경축의 크기 : 심방 trabeculae에서 Na⁺/Ca²⁺ 교환기전의 지표로서 두가지 방법을 택하였다. 첫째 방법은 0 mM K⁺-Tyrode 용액에 10분간 노출시켜 Na⁺-K⁺ 펌프를 억제하여 세포내 Na⁺ 농도를 증가시킨 다음 0 mM Na⁺-Tyrode 용액으로 관류시켜 경축을 일으키는 것이고 둘째 방법은 10⁻⁵ M의 ouabain으로 일정시간 처치할 때 나타나는 경축의 크기를 측정하거나 10⁻⁶ M ouabain이 포함된 0.1 mM Ca²⁺-Tyrode 용액으로 30분간 전처리 후 2 mM Ca²⁺ 혹은 여러 다른 Ca²⁺ 농도로 바꿔주었을 때 나타나는 경축의 크기를

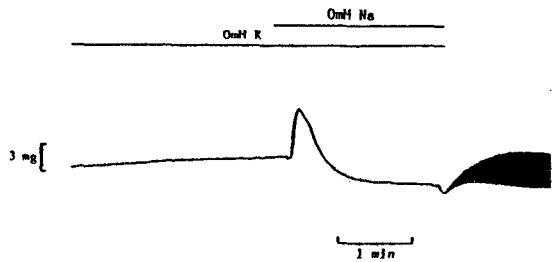


Fig. 1. Sodium-free contracture in the atrial trabeculae of the rabbit. After the exposure to K⁺-free Tyrode solution for 10 minutes in order to increase intracellular sodium concentration, contracture which reached maximum in 15 seconds and relaxed spontaneously, appeared in 0 mM K⁺, 0 mM Na⁺ solution (Na⁺ was replaced by equimolar Tris). Spontaneous twitch contractions usually appeared during K⁺-free perfusion and just after washing off with normal Tyrode solution. Tonic tensions developed gradually in K⁺-free solution and transient relaxation appeared immediately after perfusion of normal Tyrode solution. The magnitude of contracture was considered as the index of Ca²⁺-influx via Na⁺/Ca²⁺ exchange mechanism.

측정하는 방법이었다. Fig. 1은 0 mM K^+ 용액으로 10분간 전처리한 다음에, 0 mM Na^+ , 0 mM K^+ 용액으로 관류시에 나타나는 경축 발생 및 이완과정을 보인 것이다. 0 mM K^+ 용액 처치중에 기본장력이 서서히 증가함을 보이고, 0 mM Na^+ 에 의하여 아주 빠른 경축이 발생함을 나타내고 있다. 이 때의 경축은 계속 유지되지 못하고 스스로 이완하는 현상을 보였으며 정상 Tyrode 용액으로 바꿔주니 거꾸로 더욱 이완되는 일과성 변화를 보인 뒤에 자발적 수축이 반복되어 나타났다. 0 mM Na^+ 에 노출되었을 때 나타나는 경축은 세포내 Na^+ 이 밖으로 나오면서 동시에 세포밖 Ca^{2+} 이 세포속으로 들어가는 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환기전에 의한 것임을 알 수 있으나 자발적 이완현상은 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환기전이 비활성화된 것이

지, 세포내 Na^+ 이 감소하고 Ca^{2+} 이 증가되어 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환기전을 일으키는 원동력 (driving force)의 감소때문인지, 혹은 다른 Ca^{2+} 원충기전의 활성화에 의한 상쇄작용인지는 알 수 없었다. 그리고 정상 Tyrode 용액으로 바꿔줬을 때 나타나는 일과성 이완은 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환기전이 반대방향으로 작동하여 세포내 Ca^{2+} 농도를 더욱 낮게 만들기 때문인 것으로 생각된다. $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환기전에 의하여 나타나는 Na^+ 제거 경축의 Na^+ 농도에 따른 변화와 Ca^{2+} 경축의 Ca^{2+} 농도에 따른 변화를 관찰하였다. Fig. 2A는 Na^+ 제거 경축이 세포밖 Na^+ 농도에 따라서 크기가 달라지는 것을 나타낸 것이다. 0 mM Na^+ 에서 경축의 크기가 가장 컸고 Na^+ 농도가 증가함에 따라서 경축의 크기는 감소하여 125 mM 이상에서는 거의 경축이 발생하지 않았다. Na^+ 농도에 따른 경축의 크기를 0 mM Na^+ 일 때의 경축에 대한 비율로서 그려본 것이 Fig. 2B이다. 상대적인 경축 발생의 크기는 Na^+ 농도 증가에 따라서 S자 (sigmoid) 모양을 보였다.

Ca^{2+} 경축의 크기가 Ca^{2+} 농도에 따라 달라지는 모양을 Fig. 3A에 나타내었다. 이 경우 10^{-5} M의 ouabain이 포함된 0.1 mM Ca^{2+} -Tyrode 용액에 30분 이상 전처리 한 다음 여러 Ca^{2+} 농도로 바꿨을 때 나타나는 경축들을 보인 것이다. Na^+ 제거 경축 때와는 달리 경축 발생 자체가 매우 느리고 plateau를 이루는 경우가 많았고 4 mM Ca^{2+} 이상에서 부터는 자연적 이완을 보였다. 그러나 자연적 이완 속도는 Na^+ 제거 경축의 경우보다 매우 느렸다. 마찬가지로 8 mM Ca^{2+} 에서 발생하는 경축의 크기를 100%로 하여 상대적인 경축의 크기를 Ca^{2+} 농도별로 그려본 것이 Fig. 3B이다. Na^+ 제거 경축시와는 달리 Ca^{2+} 농도증가에 따라서 포물선 (parabola)의 모양을 보였다.

2) Na^+-K^+ 펌프 억제 정도와 Na^+ 제거 경축의 크기 : $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환기전의 활동은 세포 안팎의 Na^+ 및 Ca^{2+} 농도 경사에 의한 원동력에 의존한다. 세포내 Na^+ , Ca^{2+} 농도를 실험자의 의도대로 변화시키는 것이 대단히 어렵기 때문에 상대적으로 증가시키는 방법을 사용하였다. 즉 0 mM K^+ 에 관류하는 시간을 세포내 Na^+ 농도증가의 상대적인 기준으로 잡아 Na^+ 제거 경축에 어떤 변화가 나타나는가를 관찰하

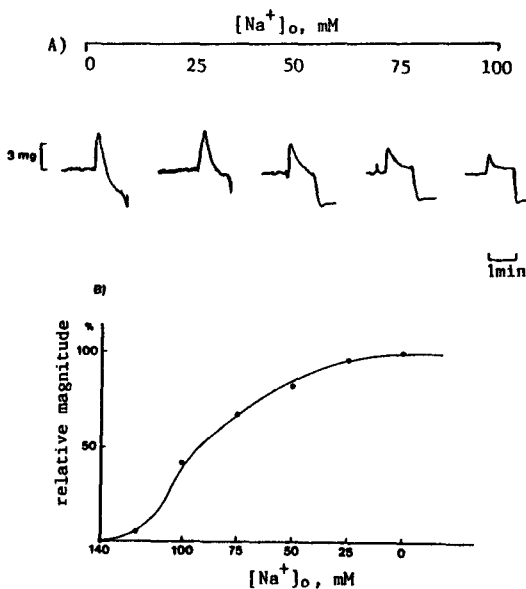


Fig. 2. Effect of the extracellular sodium concentrations on the magnitude on contracture in atrial trabeculae. (A): The amplitude of the contracture was maximum at 0 mM Na^+ and decreased in a dose-dependent manner. (B): The relationship between Na^+ concentrations and relative amplitude of contractures expressed as a percentage of the amplitude of contracture at 0 mM Na^+ -Tyrode solution. The curve shows sigmoid pattern which means that Na^+ binding to $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchange carrier has the property of co-operativity.

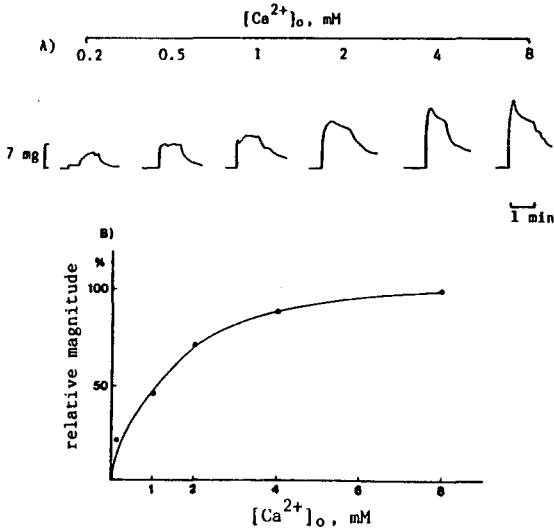


Fig. 3. Effect of calcium concentrations on the development of contractures in atrial trabeculae. (A): Contractures developed in various concentrations of Ca^{2+} . After pretreatment of 0.1 mM Ca^{2+} and 10^{-6} M ouabain for 30 minutes, 0.2 mM to 8 mM Ca^{2+} -Tyrode solutions were applied and contractures were induced. (B): The relationship between the various extracellular calcium concentrations and the amplitude of contractures. Amplitude of contractures were expressed as a percentage of the amplitude of contracture at 8 mM Ca^{2+} -Tyrode solution. The curve shows parabolic (or hyperbolic) pattern which means there are no cooperativity between calcium and Na^+/Ca^{2+} exchange carrier.

었다. Fig. 4A는 0 mM K^+ 전처치 없이 바로 0 mM Na^+ 에 노출시켰을 때 나타나는 Na^+ 제거 경축의 크기(아래 그림)와 막전압의 변화(윗 그림)를 본 것이다.

일과성으로 막전압이 과분극되면서 아주 작은 크기의 경축이 나타났다. Fig. 4B는 3분동안 0 mM K^+ 에 전처치한 다음 0 mM Na^+ 에 노출시킨 실험 결과이다. 0 mM K^+ 에 의해 막전압은 재분극되고 간혹 활동전압을 나타냈으나 수축은 거의 변화가 없었다. 0 mM Na^+ 으로 바꿔주니 막전압은 과분극되다가 다시 저분극되었으며 이때 작은 경축이 나타나고 막전압이 다시 조금 과분극될 때 좀 더 큰 경축이 나

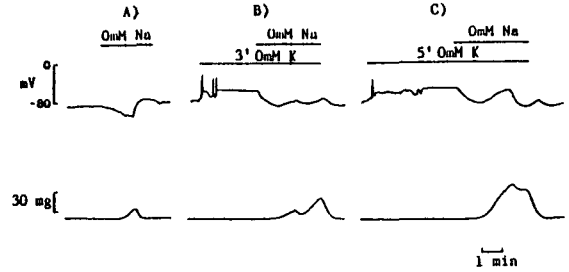


Fig. 4. Effect of the duration of exposure to 0 mM K^+ in atrial muscle. (A): Membrane potential (upper trace) and tension (lower trace) change by application of 0 mM Na^+ -Tyrode solution without pretreatment of 0 mM K^+ . Membrane potential was hyperpolarized gradually and small tension was developed. But depolarized and relaxed spontaneously in the presence of 0 mM Na^+ -Tyrode solution. (B): Effect of 3 minutes pretreatment before the 0 mM Na^+ application. Membrane potential was depolarized and showed spikes during 0 mM K^+ treatment but immediately after the application of 0 mM Na^+ , membrane potential was hyperpolarized initially and fluctuates. Mechanical tensions were developed after the hyperpolarization and larger contracture appeared when membrane potential fluctuates. But it was very difficult to correlate the change in membrane potential and the development of tension. (C): 5 minutes exposure to 0 mM K^+ before 0 mM Na^+ application. Tension which was developed by 0 mM Na^+ was larger than 3 minutes exposure to 0 mM K^+ .

타났다. Fig. 4C는 5분동안 0 mM K^+ 에 전처치한 다음 0 mM Na^+ 에 노출시킨 경우이다. 막전압은 3분때와 비슷한 변화 양상을 보였으나 경축은 매우 크게 발생되었다. 즉 0 mM K^+ 에 의해 Na^+ 펌프가 억제되는 시간이 길면 길수록 경축 발생이 큰 것으로 보아 세포내 Na^+ 농도가 0 mM K^+ 에 노출되는 시간에 비례하여 증가된 것으로 해석할 수 있겠다. 5분 이상 0 mM K^+ 에 노출시켰을 때 Na^+ 제거 경축이 대단히 커서 막전압 측정이 불가능하였다.

3) Ca^{2+} 억제제의 효과 : Na^+/Ca^{2+} 교환기전에 대한 Ca^{2+} 억제제의 효과를 분석하였다. 10^{-5} M의 ouabain에 노출시키면 기본장력이 서서히 증가하는

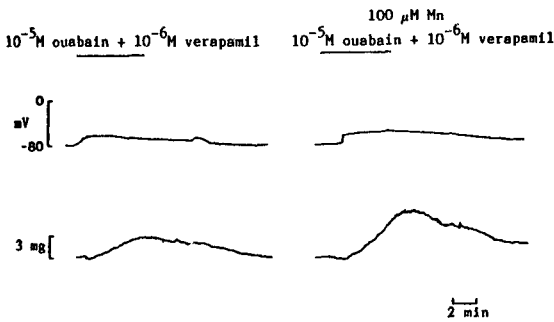


Fig. 5. Effect of the low concentration ($100 \mu\text{M}$) of manganese ion on the development of ouabain-induced contractures in the atrial muscle. (A): Effect of 10^{-5}M ouabain on the membrane potential (upper trace) and tension (lower trace) in the presence of 10^{-6}M verapamil in order to block voltage-sensitive Ca^{2+} -channel. Ouabain depolarized membrane potential and induced a tonic tension developed gradually. (B): Effect of $100 \mu\text{M}$ Mn^{2+} . In the presence of Mn^{2+} , membrane potential was depolarized and tonic tension was developed as in (A), but depolarization was more pronounced and larger contracture was developed.

데 기본장력의 증가를 Na^+ 펌프 억제후 나타나는 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환기전의 결과로서 해석하였다. Fig. 5는 3~5분간 10^{-5}M ouabain이 포함된 Tyrode 용액으로 관류하였을 때 나타난 결과를 보인 것이다.

10^{-6}M 의 verapamil 처치는 ouabain에 의하여 나타나는 경축발생에 아무런 효과도 나타내지 않았다. 따라서 verapamil을 Ca^{2+} 통로의 활성화로 인한 세포내 Ca^{2+} 농도변화를 예방하기 위하여 사용하였다.

Fig. 5A는 10^{-5}M ouabain에 의하여 막전압이 저분극되고 서서히 증가하는 모양을 보인 것이다. 똑같은 조건에서 $100 \mu\text{M}$ Mn^{2+} 으로 전처리 한 다음 10^{-5}M ouabain에 노출시켰을 때의 변화를 Fig. 5B에 나타내었다. Fig. 5A에 비하여 저분극이 오래 지속되고 경축의 크기가 커진 것을 알 수 있다. 이와 같은 Mn^{2+} 의 효과를 좀 더 자세히 본 것이 Fig. 6이다. 맨 왼쪽 대조 경축에서 부터 Mn^{2+} 농도를 2, 4, 8, 16 mM로 증가시켰을 때 0 mM Na^+ 에 의한 경축은 점차 억제되었다. 16 mM Mn^{2+} 에서는 경축이 거의 발생되지 않았다. Ca^{2+} 억제제로 알려진 Mn^{2+} 은

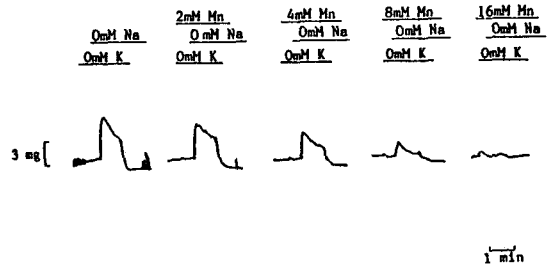


Fig. 6. Effect of manganese ion concentrations on the Na^+ -free contractures in atrial trabeculae. Mn^{2+} suppressed the development of Na^+ -removal contractures in dose-dependent manner. Spontaneous twitch contractions disappeared from 2 mM Mn^{2+} .

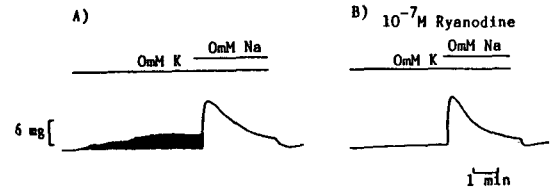


Fig. 7. Effect of ryanodine on the Na^+ -free contracture in the atrial trabeculae. (A) Control record of 0 mM K^+ , 0 mM Na^+ exposure experiment. (B) Effect of 10^{-7}M ryanodine pretreatment. Ryanodine was applied 10 minutes before the application of 0 mM Na^+ . Spontaneous twitch contraction during 0 mM K^+ exposure completely disappeared but contracture developed by 0 mM Na^+ was not affected by ryanodine.

$100 \mu\text{M}$ 정도의 낮은 농도에서는 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환기전을 촉진하고 2 mM 이상의 농도에서는 농도에 비례하여 억제함을 알 수 있었다.

4) 세포내 Ca^{2+} 저장고와 Na^+ 제거 경축 : Na^+ 제거에 의하여 발생하는 경축의 크기와 세포내 Ca^{2+} 저장고의 활동과의 관계를 살펴보기 위하여 근장그물로부터 Ca^{2+} 유리를 억제하는 물질로 알려진 ryanodine을 사용하여 보았다. Fig. 7에 보인 것처럼 왼쪽 대조 실험에서 (Fig. 7A) 0 mM K^+ 에 의하여 자발적 수축이 보이다가 0 mM Na^+ 에 의하여 경축을 보인 절편에 10^{-7}M 의 ryanodine을 10분간 전처리한 다음 동일한 과정을 반복하였다. ryanodine 처리시에는 0 mM K^+ 에 의하여 나타나는 자발적 수

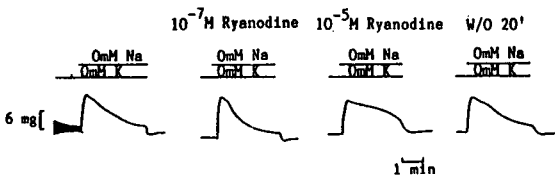


Fig. 8. Effect of ryanodine concentrations on the Na-free contracture in atrial trabeculae. At the concentration of 10^{-7} M ryanodine suppressed spontaneous twitch contractions but had no effect on the development of Na⁺-free contracture. Ryanodine at the concentration of 10^{-5} M had little effect on the magnitude of Na⁺-free contracture, but prolonged the time course of relaxation significantly. After washing off for 20 minutes (W/O 20'), Na⁺-free contracture was almost recovered from ryanodine.

축현상이 완전히 소실되었다(Fig. 7B). 따라서 근장 그물에서의 Ca²⁺ 유리는 거의 억제되었다고 생각할 수 있었다. 그러나 0 mM Na⁺에 의하여 나타나는 경축은 발생속도, 크기, 자연이완 등 모든 점이 ryanodine 처치전과 동일하였고 자연이완 속도는 오히려 빨라졌다. 즉 Na⁺ 제거에 의하여 나타나는 경축은 세포내로 부터의 Ca²⁺ 유리기전과는 거의 관계가 없음을 알 수 있었다. 그러나 Fig. 8에서 보인 것처럼 ryanodine의 농도가 낮을 경우에는 자연이완 속도가 약간 빨라졌으나 10^{-5} M의 농도에서는 대조군에 비해서도 현저히 느려졌다. 약 20분간 정상용액으로 씻어내니 자연이완 속도가 상당히 회복하였다. 모든 경우에 Na⁺ 제거 경축의 크기는 그리 큰 변화가 없었고, ryanodine 농도에 따라 이완되는 속도에만 변화가 있었다. 이는 높은 농도의 ryanodine은 어떤 경로를 통해서 Na⁺/Ca²⁺ 교환기전 자체나 혹은 세포내 Ca²⁺ 완충기전에 영향을 주고 있음을 시사한다고 볼 수 있겠다.

2. 혈관 평활근에서의 Na⁺/Ca²⁺ 교환기전

1) Na⁺ 제거경축의 기록 : 혈관 평활근 특히 동맥 평활근에서는 자발적 수축현상이 없기 때문에 수축을 일으키는 방법으로 50 mM K⁺, 3~5 μM noradrenaline (NA), 혹은 100 nM angiotensin II (AII)를 투여하여 수축을 유발하였다.

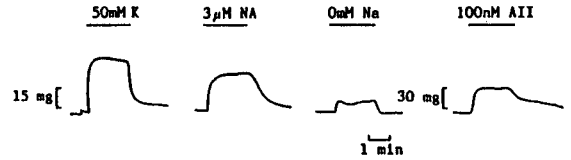


Fig. 9. Contractions developed by 50 mM K⁺, 3 μM noradrenaline (NA), Na⁺-free and 100 nM angiotensin II (AII) in the thoracic aorta of the rabbit. Magnitude of contraction by 50 mM K⁺ was maximum and all other contractions was expressed as a percentage of contraction by 50 mM K⁺. Contraction by 0 mM Na⁺ was about 20%, by 3 mM NA was about 60%.

Fig. 9는 흉부 대동맥 절편에서 기록한 수축곡선으로 50 mM K⁺과 100 nM AII에 의해서 가장 큰 수축을 보였고 3 μM NA때는 작은 크기의 장력이 발생하였다. 0 mM K⁺으로 전처치하지 않고 바로 0 mM Na⁺ 용액으로 관류하니 50 mM K⁺때에 일어났던 경축의 약 20%에 달하는 작은 수축을 보였고, 심장에서와 같이 ouabain이나 0 mM K⁺으로 전처치를 하지 않았다. 그 이유는 전처치 자체에 의하여 느린 경축이 발생하고 그 크기가 상당히 커서 0 mM Na⁺에 의한 경축발생을 잘 볼 수 없었기 때문이었다. 본 실험에서는 50 mM K⁺에 의해서 발생하는 수축을 기준으로 삼고 그 크기에 대한 상대적인 비율로서 수축정도를 비교하였다. 다음 Fig. 10에 보인 것처럼 혈관 직경이 매우 가는 동맥 평활근에서 같은 결과를 본 것이다. 이 경우에는 신동맥중 대동맥에 가까운 부분을 환상(ring shape) 절편으로 만들어 길이 2 mm 이하인 것을 사용하였다. 이때 50 mM K⁺, 3 μM NA, 100 nM AII 등에 의하여 발생한 수축을 보였다. 50 mM K⁺ 용액에서는 대동맥 평활근에서와는 달리 빠른 수축을 보이고 곧 이완되는 일종의 위상성(phasic) 수축형태가 나타난 다음 긴장성(tonic) 수축성분이 유지되었다. NA의 경우에는 비교적 느린 수축이 발생하고 조금 증가하거나 혹은 plateau를 유지하는 모양을 보였으며 AII에 의해서는 빠른 수축 후에 느린 자발적 이완이 뒤따랐다. 같은 절편에서 0 mM Na⁺에 의해서 아주 작은 수축이 발생하였는데 50 mM K⁺에 의해서 발생하는 수

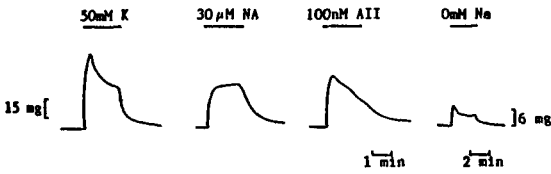


Fig. 10. Contractions by 50 mM K^+ , 3 μM NA, 100 nM AII and 0 mM Na^+ in proximal renal artery. Contraction by 50 mM K^+ was maximum and had two components of initial phasic and later tonic contraction. Contraction by NA was maintained plateau but contraction by AII spontaneously relaxed. By the application of 0 mM Na^+ , very small contraction (10% of contraction by 50 mM K^+) appeared.

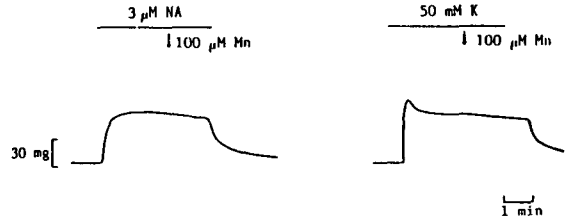


Fig. 12. Effect of 100 μM Mn^{2+} on the contractions developed by 3 μM NA or 50 mM K^+ in distal renal artery. Mn^{2+} in the concentration of 100 μM had no effect on the contractions by NA or 50 mM K^+ .

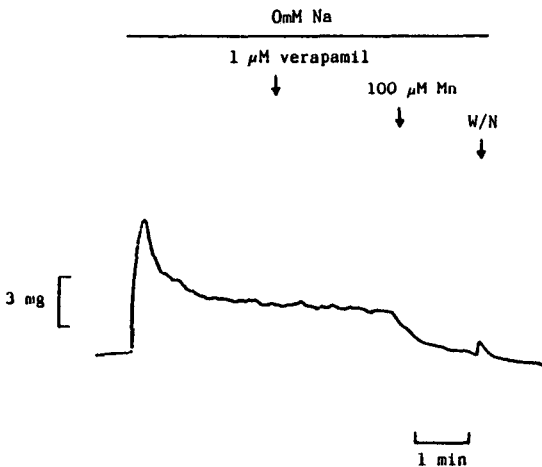


Fig. 11. Effect of Ca^{2+} -blockers on the Na^+ -free contracture in proximal renal artery. Contractions by 0 mM Na^+ were not reduced by 10^{-6} M verapamil but completely relaxed by 100 μM Mn^{2+} .

축의 10% 정도의 크기를 보였다. 그러나 신통맥 말단부(분지후)의 경우에는 0 mM Na^+ 에 의해서 거의 수축이 기록되지 않았다.

신통맥 기시부도 절편에 따라 Na^+ 제거경축이 나타나는 정도가 아주 차이가 많았다. 이는 아마도 직경이 작은 혈관 평활근에서는 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환기전의 능력(capacity)이 아주 작기 때문인 것으로 생각되

었다.

2) 평활근 수축에 대한 Ca^{2+} 차단제의 작용 : Fig. 11에 0 mM Na^+ 에 의해서 발생한 경축에 대하여 Ca^{2+} 차단제가 어떤 효과를 가지고 있는가를 관찰한 결과를 보였다. 위상성 성분이 사라지고 긴장성 성분이 계속될 때 1 μM 의 verapamil을 투여하였더니 아무런 변화도 일으키지 못 하였다. 그러나 100 μM 의 Mn^{2+} 을 투여하니 곧 이완이 일어났다. 심방근에서는 100 μM Mn^{2+} 에 의하여 Na^+ 제거 경축이나 ouabain에 의한 경축의 크기를 증가시킨 것과는 정반대의 효과를 보였다. 마찬가지로 3 μM NA이나 50 mM K^+ 에 의해서 발생한 수축에 100 μM 의 Mn^{2+} 을 투여하여 보았다(Fig. 12). 두 경우 모두 약간 감소하는 경향을 보이기는 하였으나 뚜렷하지는 않았고 정상 Tyrode 용액으로 갈아 주어야만 이완이 일어났다.

이번에는 1 μM verapamil로 전처리한 다음 50 mM K^+ 에 의한 수축을 일으켜 보았다. Fig. 13에 보인 것처럼 1 μM verapamil로 전처리한 다음 50 mM K^+ 을 가하여 수축을 일으키니 초반부의 위상성 성분이 나타나는 위치에서 작은 위상성 수축이 일어나고 바로 자발적 이완이 일어났다. 즉 verapamil은 50 mM K^+ 에 의하여 열리는 세포막 Ca^{2+} 통로를 모두 차단하여 이런 효과를 보인 것으로 생각된다. 정상 Tyrode 용액으로 씻어냈을 때 시간 경과에 따라 verapamil의 차단효과가 회복되는 것을 오른쪽 세 그림에서 보았다.

3) 평활근 수축과 세포내 Ca^{2+} 저장고 기능과의 관계 : 평활근 수축을 일으키는데 필요한 Ca^{2+} 의 원

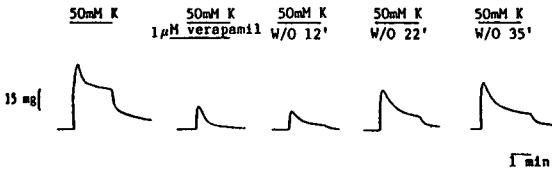


Fig. 13. Effect of verapamil on the contraction induced by 50 mM K⁺ in distal renal artery. First left record is control experimental result and second record is contraction induced by 50 mM K⁺ after 15 minutes pretreatment of 1 µM verapamil. Only the first phasic component was developed and later tonic component was abolished. In 12 minutes after changing with normal Tyrode solution (center record), it was not recovered yet but after 35 minutes the tension phasic contraction by 50 mM K⁺ (far right record) was almost recovered.

천을 짐작하기 위하여 세포내 Ca²⁺ 저장고로부터 Ca²⁺ 유리를 억제하는 ryanodine의 효과를 관찰하였다. Fig. 14에 보인 것처럼 (A) 그림은 50 mM K⁺에 의해 발생한 수축에 대한 ryanodine의 효과를 본 것이다. 왼쪽 그림은 ryanodine 처치 전 대조 실험 결과이고 오른쪽 그림은 2 µM의 ryanodine을 투여한 결과이다. 전체적으로 크기가 감소하였는데 특히 초반부의 위상성 성분이 뚜렷하게 감소하였다. 아래 (B) 그림은 5 µM NA에 의해서 발생한 수축 그림이다. 2 µM의 ryanodine에 의하여 50 mM K⁺ 때와 비슷하게 초반부의 수축성분이 현저히 감소하였다. 이 결과는 50 mM K⁺이나 NA에 의하여 발생하는 수축중에는 처음 일부분이 세포내 저장고로부터 유리되는 Ca²⁺이 관여하였으리라는 것을 시사하는 간접적인 증거라 할 수 있겠다.

4) Ca²⁺ 유출에 대한 Na⁺/Ca²⁺ 교환기전의 영향 : 작은 평활근에서는 0 mM Na⁺에 의해서 수축이 잘 발생하지 않는다는 사실 자체가 Na⁺/Ca²⁺ 교환기전의 공헌도가 그리 크지 않음을 시사해 주지만 과연 어느 정도로 관여하는지 혹은 전혀 관여하지 않는지를 판단하기는 어려웠다. 그래서 Na⁺/Ca²⁺ 교환기전이 관여하는 정도를 다음 실험방법에 의하여 짐작하고자 하였다. 즉 세포내 저장고로부터 Ca²⁺을 유리하는 작용을 가진 것으로 알려진 caffeine을

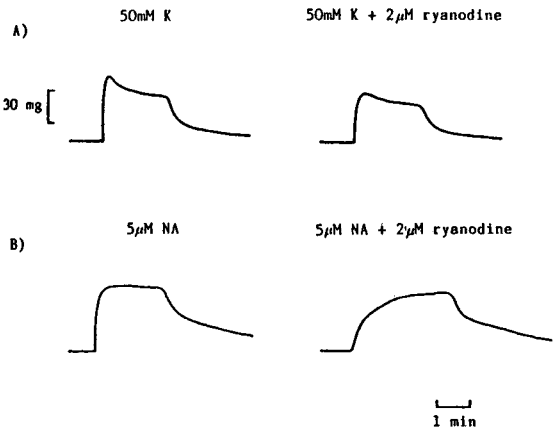


Fig. 14. Effect of ryanodine on the contractions induced by 50 mM K⁺ or 5 µM NA in distal renal artery. (A): Ryanodine effect on the contraction by 50 mM K⁺. Left record is control and right one is contraction in the presence of 2 µM ryanodine. Initial phasic component decreased prominently. (B): Effect of ryanodine on the contraction by 5 µM NA. Early fast component of NA induced contraction did not appear and slow increasing tension was induced in the presence of 2 µM ryanodine.

투여하고 이때 Tyrode 용액에 포함된 Na⁺ 농도를 변화시켰을 때 caffeine 경축의 이완속도가 어떻게 달라지는가를 관찰하였다. Fig. 15에서 보인 것처럼 (a) (b) (c)는 10 mM caffeine에 140 mM, 75 mM, 0 mM로 Na⁺ 농도를 변화시켜 이완속도를 본 결과이다. Na⁺ 농도가 낮아질수록 최고 수축에서부터 이완되는 양상에 상당한 차이가 있었다. 그리고 0 mM Na⁺과 caffeine을 같이 투여한 경우에는 최고수축의 크기 자체가 140 mM Na⁺이나 75 mM Na⁺ 때보다 현저히 증가되었다.

(d) 그림에 이완되는 양상을 각각의 Na⁺ 농도별로 최고값을 100%로 잡아 상대적 크기를 대수 스케일 그래프로 시간축에 도시하였다. 세 경우 모두 단일 직선을 그을 수 없었다. 그러나 임의로 이완되는 성분을 두가지로 나누어 기울기가 다른 두 직선으로 분해하여 보았다.

처음 성분은 140 mM Na⁺, 75 mM Na⁺, 0 mM Na⁺ 모두 비슷한 기울기로 이완함을 알 수 있었으

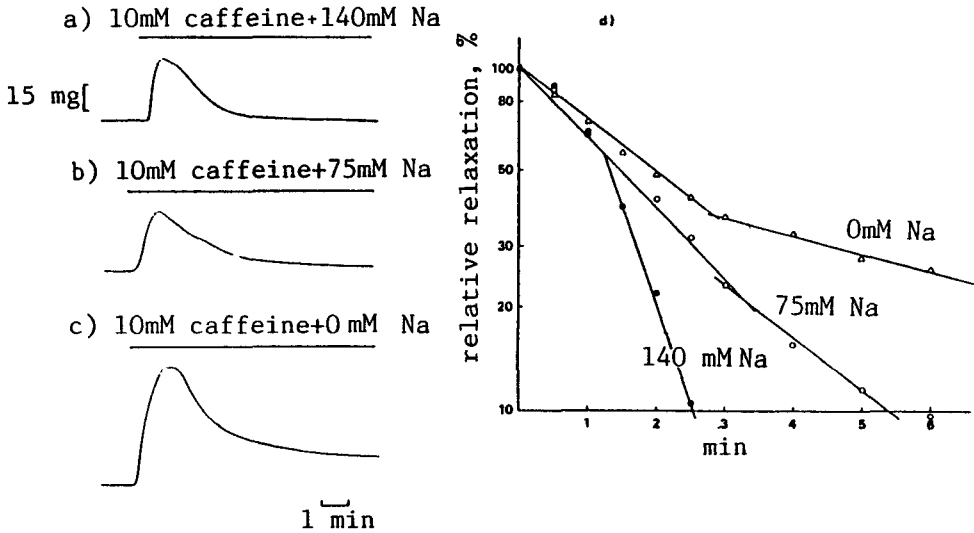


Fig. 15. Effect of sodium concentrations on the rate of relaxation induced by 10 mM caffeine in distal renal artery. The rate of relaxation was dependent upon the concentration of Na^+ , a) 140 mM Na^+ b) 75 mM Na^+ c) 0 mM Na^+ . In 0 mM Na^+ , developed tension induced by 10 mM caffeine was larger than other concentrations of Na and spontaneous relaxation did not reach the initial control level. When the rate of relaxation was plotted in the semilogarithmic scale of relative tension versus time, it had two component with different time courses (d). First component has almost same slope in three different Na^+ concentrations but the slopes of second components are much different, suggesting that they could be related to the activity of $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchange system.

나 두번째 성분(임의적으로 그린)은 세 군사이에 현저한 차이를 보였다.

140 mM Na^+ 때에 처음 성분보다 더 빠른 기울기로 이완이 일어났으나, 75 mM Na^+ 때는 처음 성분보다 약간 느려지고, 0 mM Na^+ 때는 매우 느려져서 안정 기준선까지 결코 이완되지 않았다. 이상의 사실로 보아 이완의 두번째 성분은 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환기전에 의해 크게 영향을 받는 부분이라 볼 수 있겠다.

고 찰

심장 세포막에서의 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환기전은 막전압에 따라 달라지고, 막전압 발생적 (electrogenic)이며 교환비율은 1개의 Ca^{2+} 에 대하여 3개 혹은 그 이상의 Na^+ 이 이동되어 Na^+ 이동방향으로 막전류를 발생한다고 알려져 있다 (Brading & Lategan, 1985; Sheu & Blaustein, 1986).

따라서 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환기전은 활동전압 기간중 막

전압에 따라서 활동이 달라지고 활동전압을 일으키는 이온전류로서도 관여하며, 주기의 시기에 따라 세 포내로 Ca^{2+} 을 이동시키거나 혹은 세포내 Ca^{2+} 을 낮춰주는 작용을 가지고 있어서 기계적 수축력에도 영향을 줄 수 있다 (Mullins, 1979, 1981; Noble, 1984).

지금 현재로서는 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환기전을 선택적으로 억제할 수 있는 차단제가 없기 때문에 활동전압을 일으키는 어떤 전류가 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환전류인지 알 수 없으며 또한 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환전류만을 완전히 분리할 수는 없는 상황에 있다 (Hadley et al., 1985).

그러나 Eisner & Lederer (1985)의 모형 (model)을 따라서 생각해 보면 안정시 (즉 이완기)에 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환전류의 역전전압 (reversal potential, $E_{\text{Na/Ca}}$)은 안정 막전압보다 약간 (+)쪽에 있다. 따라서 소량의 Ca^{2+} 이 세포밖으로 이동하는 방향으로 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환기전이 작동하여 Ca^{2+} 펌프와 함께 세포내 Ca^{2+} 을 낮게 유지한다. 그러나 활동전압의 급속상승기 (upstroke phase O)에는 $V_m - E_{\text{Na/Ca}}$ 가 (+)값을 갖게 되어 이때는 Ca^{2+} 을 세포속으로, Na^+ 은 세포밖으

로 이동하도록 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환기전이 작동한다. 따라서 Ca^{2+} 은 plateau 동안 계속 세포속으로 들어와 막전압에 따라서 열리는 Ca^{2+} 통로와 저장고로부터의 Ca^{2+} 유리와 함께 세포내 Ca^{2+} 농도를 높게 유지한다. 막전압은 K^+ 통로가 열려서 재분극이 일어나고 $V_m - E_{\text{Na}/\text{Ca}}$ 값은 (-)값이 되어 Ca^{2+} 을 세포밖으로 내보내는 방향으로 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환기전이 작동한다. 따라서 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환기전은 활동전압 초기에는 Ca^{2+} 을 세포내로 이동시키고 나중에는 세포내 Ca^{2+} 을 낮게 유지하는 작용을 가진 셈이다. 그러나 V_m , $E_{\text{Na}/\text{Ca}}$, 그리고 $V_m - E_{\text{Na}/\text{Ca}}$ 는 심장주기 동안에 계속 변화하기 때문에 선택적인 억제제가 존재하지 않는한, $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환기전의 역할을 정확히 분석할 수는 없다. 이러한 어려운 상태하에서 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환기전을 연구하는데 이용되는 실험방법을 들면 방사선 동위원소를 이용한 물질이동 측정, 장력발생 측정, 막전압 측정, 이온 감수성 미세전극 (ion-sensitive microelectrode)이나 광학적 방법을 이용한 세포내 Ca^{2+} 농도 측정 등 여러가지 방법이 있다 (Eisner & Lederer, 1985). 그러나 어느 방법이든 완전하게 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환기전만을 선택적으로 측정할 수는 없으며 더욱 문제를 복잡하게 하는 것으로 세포막 및 세포내에는 Na^+ , Ca^{2+} 이동에 관여하는 다른 기전들이 존재한다. 본 실험에서는 수축실험을 주로하고 일부 실험에서는 막전압을 측정하여 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환기전의 특성을 분석하였다. 수축은 주로 0 mM K^+ 용액으로 전처리 하거나 ouabain으로 전처리하여 즉 Na^+ 펌프를 억제하여 세포내 Na^+ 농도를 올라가게 한 다음 0 mM Na^+ 용액을 가하여 Na^+ 제거 경축을 유발하였다. 0 mM K^+ 이나 ouabain의 전처리는 Na^+ 펌프를 억제하여 세포내 Na^+ 농도가 증가하고 또 세포내 Ca^{2+} 농도도 증가하며 수축력도 증가함이 보고되었다 (Lee & Dagostino, 1982; Sheu & Fozzard, 1982). 따라서 Na^+ 펌프 억제기간 동안에는 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환기전이 서서히 작동하여 Na^+ 을 내보내고 Ca^{2+} 을 세포내로 들어가게 하는 효과를 가진 것으로 설명한다. 이 기전이 바로 digitalis가 강심작용을 나타내는 것으로 설명하고 있다 (Allen et al., 1985).

이와 같은 상태에서 0 mM Na^+ 으로 처치하면 Na^+ 농도 경사는 완전히 역전되고 Ca^{2+} 농도 경사

는 여전히 세포밖에서 안쪽으로 향하므로 Ca^{2+} 이 세포내로 들어가고 Na^+ 이 나오는 교환기전이 대단히 활발하게 되어 Na^+ 제거 경축이 일어나게 된다 (Chapman, 1979). 이렇게 일어난 Na^+ 제거 경축의 크기는 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환기전에 의하여 대부분 일어난 것으로 볼 수 있으며 Na^+ 제거 경축에 대한 Na^+ 의 영향이나 Ca^{2+} 경축에 대한 Ca^{2+} 의 영향을 분석하면 $\text{Na}^+ : \text{Ca}^{2+}$ 교환기전이 약 3 : 1을 보였다 (Kim, 1987). 본 실험 결과에서도 Na^+ 제거 경축의 Na^+ 농도에 따른 영향이 S자 모양을 보이고, Ca^{2+} 경축의 Ca^{2+} 농도에 따른 영향이 포물선을 그리는 것으로 보아 3 $\text{Na}^+ : 1 \text{Ca}^{2+}$ 의 교환비율은 간접적이긴 하나 적용됨을 알 수 있었다.

· 심장근에서의 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환기전 :

위에서도 살펴본 것처럼 심장근에서의 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환기전은 세포내 Ca^{2+} 제거기전으로서 매우 중요하다. 일반적으로 Ca^{2+} 차단제들의 효과를 살펴보았다. 우선 유기차단제는 Na^+ 제거 경축이나 ouabain에 의하여 발생하는 경축에 영향을 주지 못하였고 무기 차단제로 Mn^{2+} 을 사용하였더니 낮은 농도 (100 μM)에서는 오히려 ouabain에 의한 수축과 Na^+ 제거 경축의 발생을 크게 하였다. Mn^{2+} 농도를 높여서 2 mM~16 mM로 하니 용량에 따라서 점차 억제되어 16 mM에서 거의 소실됨을 보였다. 높은 농도의 Mn^{2+} 에 의한 억제작용은 잘 알려져 있으나 (Eisner & Lederer, 1985; Kimura et al., 1986), 낮은 농도에서의 촉진 효과는 예상하지 못했던 결과였다. 낮은 농도에서의 Mn^{2+} 은 그 자체로서 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환기전의 활동을 촉진하는지 혹은 다른 기전을 통하여 일어나는지는 본 실험으로서는 구분할 수 없었다. 또 세포내 Ca^{2+} 저장고에서의 Ca^{2+} 유리작용이 Na^+ 제거 경축에 얼마나 관여하나를 알기 위하여 Ca^{2+} 유리 억제제로 알려진 ryanodine을 사용하여 보았다. 0 mM K^+ 에 의한 자발적 수축이 완전 소실되는 것으로 보아 세포내 저장고로부터의 Ca^{2+} 유리가 대부분 억제됨을 확인하였으며 혹은 SR의 Ca^{2+} 을 유리시키는 transient inward current를 통한 Ca^{2+} 유입이 없어져서 생길 수도 있다. 이때 Na^+ 제거 경축 발생은 아무런 영향도 받지 않았다.

이는 Na^+ 제거에 의하여 발생하는 경축은 세포내 Ca^{2+} 저장고로부터의 Ca^{2+} 유리와는 거의 무관하게

세포밖에서 세포 속으로 들어간 Ca^{2+} 에 의해서 일어난 것으로 볼 수 있었다.

심장에서의 이러한 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환기전의 존재는 특히 고혈압의 원인을 규명하는데 큰 관심을 끌고 있다. 고혈압은 오래전부터 Na^+ 대사와 밀접한 관계를 가진 것으로 알려져 왔었다.

Tobian & Binion (1952)은 맨 처음 고혈압 환자의 신동맥에서 Na^+ 농도가 올라가 있는 것을 발견하였다. 또한 K^+ 을 제거하거나 강심제를 투여하여 Na^+ 펌프를 억제시키면 동맥 절편에서 장력이 올라가는 것을 발견하였고 (Leonard, 1957; Jones, 1980, 1981), 강심제를 오래 투여한 사람에서 말초 혈관 저항이 증가됨이 보고되었고 (Mason & Braunwald, 1964), 세포밖 Na^+ 농도를 낮추었을 때 동맥의 장력이 증가하고, 세포밖 K^+ 을 약간 올렸을 때 동맥의 장력이 감소함이 보고되었다 (Hinke & Wilson, 1962).

이러한 일련의 결과들로부터 Friedman et al. (1959)은 평활근의 긴장도를 결정하는 가장 기본적인 인자는 Na^+ 농도경사라고 하였다. 1969년 Bohr et al.은 Na^+ 농도경사 변화에 의한 장력 발생을 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환기전으로 설명하였고 이어서 Reuter et al. (1973)은 대동맥 평활근에서 세포밖 Na^+ 을 감소시키면 장력발생이 증가하고 Ca^{2+} 의 세포내 이동량이 증가함을 관찰하였고, Blaustein (1977)은 이를 종합하여 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환기전의 혈관 평활근 장력발생의 Na^+ 의존성을 설명하는 기전이라는 가설을 발표하였다. 그는 세포내 Ca^{2+} 농도조절 및 Ca^{2+} 유출의 원동력인 Na^+ 농도경사를 만드는 기전이 바로 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환기전이라고 주장하였다. 그러나 그후 많은 실험 결과 혈관 평활근에서는 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환기전의 존재 및 역할에 대한 반론이 제기되었다. 만약 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환기전이 세포내 Ca^{2+} 농도를 조절하는 주요 기전이라면 Na^+ 농도경사와 수축 장력 사이에는 밀접한 관계를 나타내야 한다. 그러나 많은 경우에 그와 같은 가설은 부정되었다. 즉 세포밖 Na^+ 농도를 줄였을 경우에 수뇨관(ureter)에서는 전혀 수축이 일어나지 않았고 (Aickin et al., 1984), Na^+ 펌프를 억제하였을 경우에도 전혀 수축이 일어나지 않는 경우, 일과성 수축만 일어나는 경우 혹은 지속적 수축을 나타내는 경우 등 반응이 일정하지 않았다 (Karaki et

al., 1978). 그리하여 많은 연구자들은 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환기전보다는 ATP 의존성 Ca^{2+} 펌프의 존재와 그 역할을 더욱 중시하게 되었다 (Casteels & van Breemen, 1975; van Breemen et al., 1979).

그러나 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환기전이 존재하지 않는다는 사실을 증명하는 것도 또한 어렵다 (Brading & Lategan, 1985).

$\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환기전의 존재 유무를 판단하는데는 많은 경우 Na^+ 펌프를 억제한 다음 Ca^{2+} 유입 증가, Ca^{2+} 유출 감소, 세포내 Ca^{2+} 농도의 증가 등으로 교환기전의 존재를 설명하여 왔다. 그러나 Na^+ 펌프 억제에 따르는 다른 기전들의 가능성을 모두 제외시켜야만 이 설명은 합당해진다.

지금까지 Na^+ 펌프 억제에 의하여 나타나는 효과를 아래의 세가지로 요약할 수 있다.

첫째는 Na^+ 펌프 억제가 혈관벽에 존재하는 내인성 신경말단으로부터 신경전달물질의 유리를 촉진한다는 실험적 결과이다 (Brokaert & Godfraind, 1973; Bonaccorsi et al., 1977; Karaki & Urakawa, 1977; Katsugari et al., 1978). 그러나 Na^+ 펌프 억제에 의하여 발생한 수축은 α -adrenergic block (Ozaki et al., 1978)이나 6-OH dopamine으로 신경을 파괴시킨 후에도 존재하는 것으로 보아 (Mulvany et al., 1984), 신경전달물질의 유리에 의한 수축이라는 가설은 제외할 수 있다.

두번째로는 Na^+ 펌프 억제 결과 막전압이 저분극되고 저분극은 막전압에 예민한 Ca^{2+} 통로를 활성화시켜 세포내로 Ca^{2+} 의 이동이 일어나 수축이 발생할 수 있다는 보고이다 (Hendrickx & Casteels, 1974; Hermsmeyer, 1976; Hirst & van Helden, 1982). 그러나 Ca^{2+} 차단제를 사용하여 막전압의 저분극에 의해 나타나는 쥐의 혈관 수축이 거의 억제됨을 관찰하였으나 오랜시간 ouabain으로 처치한 다음, 밖의 Na^+ 농도를 줄였을 때 수축이 발생하였고, 이때의 수축은 Ca^{2+} 차단제의 존재하에서도 소실되지 않음을 보고하였다 (Mulvany et al., 1984).

마찬가지로 Ozaki & Urakawa (1970)는 장시간 0 mM K^+ 에 노출시켜 Na^+ 펌프를 억제하여 일어난 수축은 Ca^{2+} 억제제의 영향을 잘 받지 않으나 고농도의 K^+ 에 의하여 유발된 수축은 Ca^{2+} 억제제에 의하여 완전 소실됨을 보고하였다. 따라서 Na^+ 펌프 억

제에 의하여 나타나는 수축의 많은 성분이 저분극에 의하여 Ca^{2+} 통로가 활성화되어 나타나나 일부 수축 성분은 Na^+/Ca^{2+} 교환기전에 의한 것임을 시사한다.

세번째로는 세포내의 Na^+ 증가가 세포내 Ca^{2+} 저장고로부터 Ca^{2+} 을 유리시킬 가능성이 있다. 이 기전은 세포내 pH와 밀접한 관계를 가지고 있고 세포내 pH 변화는 Ca^{2+} 완충능력을 변화시켜 수축이 증가할 가능성이 있다. 또 세포막에는 Na^+/H^+ 교환기전도 존재함이 보고되어 (Thomas, 1977; Aickin & Thomas, 1977), 세포내 Na^+ 농도가 증가되면 세포내 H^+ 농도가 증가되어 세포내 산성화가 일어나게 된다. 세포내 산성화는 수축단백의 Ca^{2+} 에 대한 감수성을 감소시키고 (Vaughan-Jones et al., 1983), 세포내 기관에서의 Ca^{2+} 을 많이 유리시킨다. 두 작용은 서로 상반되기 때문에 Na^+ 증가효과가 어떻게 영향을 미칠 것인가를 판단하는 것은 대단히 어렵다 (Brading & Lategan, 1985).

이상의 사실로부터 Na^+ 펌프 억제에 의한 수축의 증가는 여러 기전에 영향을 주어 세포내 Ca^{2+} 농도를 변화시킬 수 있으나 여전히 Na^+/Ca^{2+} 교환기전의 존재를 완전히 부정할 수는 없는 셈이다.

본 연구에서는 대동맥 평활근에서 0 mM Na^+ 에 의하여 나타나는 수축을 Na^+/Ca^{2+} 교환기전에 의하여 Ca^{2+} 이 세포 속으로 들어가서 나타나는 것으로 해석하였다. 이러한 Na^+ 제거에 의한 수축은 실험실에서 드물게 나타났으나 직경이 작은 실험실에서 기록을 할 수가 없었다.

또 특징적인 현상은 0 mM Na^+ 에 의하여 나타난 수축이 1 μ M verapamil에 의해서는 전혀 영향을 받지 않았으나 100 μ M의 Mn^{2+} 에 의하여 억제되는 점이었다. 수노관에서 0 mM Na^+ 에 의하여 발생한 수축은 Ca^{2+} 차단제에 의하여 억제되지 않았으나 10 mM 정도의 높은 농도에서만 억제되었다는 보고 (Aickin et al., 1984)와는 많은 차이를 보인다.

50 mM K^+ 이나 3 μ M의 NA에 의하여 발생하는 수축은 100 μ M의 Mn^{2+} 에 의하여 전혀 영향을 받지 않는 것으로 보아 막전압에 의해 활성화되는 Ca^{2+} 통로나 NA 등에 의하여 화학적인 결합에 의하여 열리는 Ca^{2+} 통로를 통한 현상은 아니라고 할 수 있다. 아마도 실험실에서 발생하는 Na^+ 제거 수축이 Mn^{2+}

에 특별히 감수성이 높아서 억제되었을 것으로 생각된다. 그리고 세포내 저장고로부터 Ca^{2+} 이 유리되어 나타날 가능성을 50 mM K^+ 과 5 μ M NA에서 ryanodine을 사용하여 실험하여 본 결과 처음 위상성 성분은 세포내로부터 유리된 Ca^{2+} 에 의한 것임을 알 수 있었으나 0 mM Na^+ 에 의한 수축에 대한 효과는 알 수가 없었다. 따라서 방법상의 어려움 때문에 caffeine으로 Ca^{2+} 을 유리시킨 다음 Na^+ 농도를 변화시켜 Ca^{2+} 의 re-uptake나 유출에 의하여 영향을 받을 것으로 생각되는 이완속도를 측정하였다. Na^+ 농도감소에 따라 실험액 평활근의 이완속도가 상당히 느려졌다. 따라서 Na^+ 농도 감소는 세포내 Ca^{2+} 농도를 낮게하는 기전에 영향을 준다는 사실을 알 수 있었다. 이것으로부터 Ca^{2+} 농도를 낮게하는 기전인 Ca^{2+} 의 re-uptake와 Na^+/Ca^{2+} 교환기전에 의한 Ca^{2+} 유출 중 어느것에 영향을 주었을 것인가를 구분하기는 어려웠다. 그러나 Na^+/Ca^{2+} 교환기전에 영향을 주어 즉 Ca^{2+} 유출을 감소시켜 나타난 결과라고 보는 것이 타당할 것으로 생각된다. 앞으로 세포내 Ca^{2+} 저장고로부터 Ca^{2+} 유리에 0 mM Na^+ 이 어떤 영향을 주는지, 평활근 세포에 Na^+/Ca^{2+} 교환기전이 과연 존재하는지, 존재하면 어느 정도로 Ca^{2+} 농도 유지에 관여하는지는 세포내 Na^+ 및 Ca^{2+} 농도를 실험자의 의도대로 바꿔줄 수 있는 세포내 투석법이 개발되어야 가능하리라 생각된다.

결 론

세포내 Ca^{2+} 을 낮게 유지하는데 큰 공헌을 하는 것으로 알려진 Na^+/Ca^{2+} 교환기전을 살펴보기 위하여 심방근과 혈관평활근에서 Na^+ 제거에 의하여 발생하거나 변화하는 수축의 크기 및 이완을 측정하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) 심방근에서 0 mM K^+ 이나 ouabain 전처치후 Na^+ 제거는 아주 빠른 경축을 일으켰으며 자발적 이완을 보였다. 이때 경축의 크기는 연축의 크기보다 월등히 컸다.

2) Na^+ 제거 경축은 세포외 Na^+ 농도 감소에 따라 증가하였으며 증가양상은 S자 모양이었다. Ca^{2+} 경축은 Ca^{2+} 농도증가에 따라 증가하였고 포물선 모양을 보였다.

3) $100 \mu\text{M}$ 의 Mn^{2+} 은 Na^+ 제거 경축 및 ouabain에 의한 경축의 크기를 크게하였으나 2mM 이상의 농도에서는 경축의 발생을 억제하였다.

4) 세포내 Ca^{2+} 저장고로부터 Ca^{2+} 유리를 억제하는 ryanodine은 Na^+ 제거 경축 발생에 영향을 주지 않았다.

5) 대동맥 평활근에서 Na^+ 제거 경축의 크기는 50mM K^+ 에 의한 경축의 약 20%에 달하였고 신동맥 평활근에서는 10% 혹은 그 이하로 측정이 불가능한 경우가 많았다.

6) 신동맥에서 발생하는 Na^+ 제거 경축은 $1 \mu\text{M}$ verapamil에는 전혀 영향을 받지 않았으나 $100 \mu\text{M}$ Mn^{2+} 에 의해 소실되었다.

7) 신동맥에서 caffeine에 의하여 발생한 수축은 세포밖 Na^+ 농도에 따라 이완속도가 변화하였다. Na^+ 농도 감소에 따라 이완속도가 현저히 느려졌다.

이상의 사실로부터 심방근에서는 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환기전의 기능이 활발하고 높은 농도의 Mn^{2+} 에 의해 억제되나 신동맥 평활근에서는 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 교환기전의 활동이 비교적 적고 Na^+ 제거 경축이 낮은 농도의 Mn^{2+} 에 의해 억제됨을 알 수 있었다.

REFERENCES

- Aickin CC & Thomas RC (1977). An investigation of the ionic mechanisms of intracellular pH regulation in mouse soleus muscle fibres. *J Physiol* 273, 295-316
- Aickin CC, Brading AF & Burdyga Thv (1984). Evidence for sodium-calcium exchange in the guinea-pig ureter. *J Physiol* 347, 411-430
- Allen DG, Eisner DA & Wray SC (1985). Sodium pump: Birthday present for digitalis. *Nature* 316, 647-648
- Baker PF, Blaustein MP, Hodgkin AL & Steinhardt RA (1967). The effect of sodium concentration on calcium movements in giant axons of *Loligo forbesi*. *J Physiol* 192, 43-44
- Baker PF, Blaustein MP, Hodgkin AL & Steinhardt RA (1969). The influence of calcium on sodium efflux in squid axons. *J Physiol* 200, 431-458
- Blaustein MP & Hodgkin AL (1968). The effect of cyanide on calcium efflux in squid axons. *J Physiol* 198, 46-48
- Blaustein MP & Hodgkin AL (1969). The effect of cyanide on the efflux of calcium from squid axons. *J Physiol* 200, 497-527
- Blaustein MP (1977). Sodium ions, calcium ions, blood pressure regulation and hypertension; a reassessment and a hypothesis. *Am J Physiol* 232, C165-C173
- Blaustein MP (1985). Intracellular calcium as a second messenger. What's so special about calcium? In: Rubin RP, Weiss GB & Putney JW (ed) *Calcium in Biological System*. Plenum Press, New York, p23-33
- Blinks JR, Wier WG, Hess P & Prendergast FG (1982). Measurement of Ca^{2+} concentrations in living cells. *Prog Biophys Mol Biol* 40, 1-114
- Blinks JR (1986). Intracellular [Ca^{2+}] measurement. In: Fozzard HA et al. (ed) *The Heart and Cardiovascular System*. Raven Press, New York, p671-702
- Bohr DF, Seidel C & Sobieski J (1969). Possible role of sodium-calcium pumps in tension development of vascular smooth muscle. *Microvasc Res* 1, 335-343
- Bonaccorsi A, Hermsmeyer K, Smith CB & Bohr DF (1977). Norepinephrine release in isolated arteries induced by K-free solution. *Am J Physiol* 232, H140-H145
- Brading AF & Lategan TW (1985). Na-Ca exchange in vascular smooth muscle. *J Hypertension* 3, 109-116
- Brokaert A & Godfraind T (1973). The Actions of ouabain on isolated arteries. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 203, 393-395
- Campbell AK (1983). *Intracellular Calcium-Its Universal Role as Regulator*. Wiley, New York
- Cannell MB, Wier WG, Berlin JR, Marban E & Lederer WJ (1986). Free intracellular calcium in normal and calcium-overloaded rat heart cells: Digital imaging fluorescent microscopy using fura-2. *Biophys J* 49, 466a (abstract)
- Casteels R & van Breemen C (1975). Active and passive Ca^{2+} fluxes across cell membranes of the guinea-pig taenia coli. *Pflügers Arch* 359, 197-207
- Chapman RA (1979). Excitation-contraction coupling in cardiac muscle. *Prog Biophys Molec Biol* 35, 1-52
- Earm YE & Irisawa H (1986). Effects of pH on the Na-Ca exchange current in single ventricular cells of the guinea-pig. *Jpn Heart J* 27 (Suppl), 153-158
- Eisner DA & Lederer WJ (1985). Na-Ca exchange: stoichiometry and electrogenicity. *Am J Physiol* 236,

C189-C202

- Fabiato A (1983). Calcium-induced release of calcium from the cardiac sarcoplasmic reticulum. *Am J Physiol* 245, C1-C14
- Fozzard HA (1977). Heart: Excitation-contraction coupling. *Annu Rev Physiol* 39, 201-220
- Friedman SM, Jamieson JD & Friedman C (1959). Sodium gradient smooth muscle tone and blood pressure regulation. *Circ Res* 7, 44-53
- Hadley RW, Hume JR, Kaczorowski GJ, Siegl PKS & Vassilev PM (1985). Block of "creep currents" in single frog atrial cells by vesicular Na/Ca exchange inhibitors. *J Physiol* 369, 89P
- Hendrickx H & Casteels R (1974). Electrogenic sodium pump in arterial smooth muscle cells. *Pflügers Arch* 346, 299-306
- Hermesmeyer K (1976). Electrogenesis of increased norepinephrine sensitivity of arterial vascular muscle in hypertension. *Circ Res* 38, 362-372
- Hinze JAM & Wilson ML (1962). Effects of electrolytes on contractility of artery segments in vitro. *Am J Physiol* 203, 1161-1166
- Hirst GDS & van Helden DF (1982). Ionic basis of the resting potential of submucosal arterioles in the ileum of the guinea-pig. *J Physiol* 333, 53-67
- Jones AW (1980). Contents and fluxes of electrolytes. In: Bohr DF, Somlyo AP & Sparks HV (ed) *Handbook of Physiology: The Cardiovascular System II. Vascular Smooth Muscle*. American Physiological Society, Bethesda, p253-299
- Jones AW (1981). Vascular smooth muscle and alterations during hypertension. In: Büllbring E, Brading AF, Jones AW & Tomita T (ed) *Smooth Muscle: An Assessment of Current Knowledge*. Edward Arnold, London, p397-429
- Karaki H, Ozaki H & Urakawa N (1978). Effects of ouabain and potassium-free solution on the contraction of isolated blood vessels. *Eur J Pharmacol* 48, 439-443
- Karaki H & Urakawa N (1977). Possible role of endogenous catecholamines in the contractions induced in rabbit aorta by ouabain, sodium-depleting and potassium depletion. *Eur J Physiol* 43, 65-73
- Katsugari T, Fukushi Y & Suzuki T (1978). Neuronal epinephrine as mediator for ouabain-induced smooth muscle contraction. *Eur J Pharmacol* 47, 407-413
- Kim EY (1987). Na-Ca exchange ratio in rabbit atrial muscle. M.S. thesis, Seoul National University (in Korean)
- Kimura J, Noma A & Irisawa H (1986). Na-Ca exchange current in mammalian heart cells. *Nature* 319, 596-597
- Lang S & Blaustein MP (1980). The role of the sodium pump in the control of vascular tone in the rat. *Circ Res* 46, 463-470
- Lee CO & Dagostino M (1982). Effect of strophanthidin on intracellular Na ion activity and twitch tension of constantly driven canine cardiac Purkinje fibers. *Biophys J* 40, 185-198
- Leonard E (1957). Alteration of contractile response of artery strips by a potassium-free solution, cardiac glycosides and changes in stimulation frequency. *Am J Physiol* 189, 185-190
- Lüttgau HC & Niedergerke R (1958). The antagonism between Ca and Na ions on the frog's heart. *J Physiol* 143, 486-505
- Mason DT & Braunwald E (1964). Studies on digitalis, X. Effects of ouabain on forearm vascular resistance and venous tone in normal subjects and in patients in heart failure. *J Clin Invest* 43, 532-543
- Mullins LJ (1979). The generation of electric currents in cardiac fibers by Na/Ca exchange. *Am J Physiol* 236, C103-C110
- Mullins LJ (1981). *Ion Transport in Heart*. Raven Press, New York
- Mulvany MJ, Aalkjaer C & Petersen TT (1984). Intracellular sodium, membrane potential and contractility of rat mesenteric small arteries. *Circ Res* 54, 740-749
- Mulvany MJ (1985). Changes in sodium pump activity and vascular contraction. *J Hypertension* 3, 429-436
- Murphy EJR & Lieberman M (1985). Cytosolic free calcium in chick heart cells. Its role in cell injury. *J Mol Cell Cardiol* 17, 221-231
- Noble D (1984). The surprising heart: a review of recent progress in cardiac electrophysiology. *J Physiol* 353, 1-50
- Ozaki H & Urakawa N (1970). Na-Ca exchange and tension development in guinea-pig aorta. *Arch Pharmacol* 309, 171-178
- Ozaki H, Karaki H & Urakawa N (1978). Possible role of Na-Ca exchange mechanism in contractions in-

- duced in guinea-pig aorta by potassium free solution and ouabain. *Arch Pharmacol* 304, 203-209
- Philipson KD (1985). Sodium-calcium exchange in plasma membrane vesicles. *Annu Rev Physiol* 47, 561-571
- Reuter H & Seitz N (1968). The dependence of calcium efflux from cardiac muscle on temperature and external ion composition *J Physiol* 195, 451-470
- Reuter H, Blaustein MP & Haeusler G (1973). Na-Ca exchange and tension development in arterial smooth muscle. *Philos Trans R Soc Lond [B]* 265, 87-94
- Ringer S (1883). A further contribution regarding the influence of the different constituents of the blood on the contraction of the heart. *J Physiol* 4, 29-42
- Ringer S (1885). Further observations regarding the antagonism between calcium salts and sodium, potassium and ammonium salts. *J Physiol* 18, 425-429
- Sheu SS & Fozzard HA (1982). Transmembrane Na^+ and Ca^{2+} electrochemical gradients in cardiac muscle and their relationship to force development. *J Gen Physiol* 80, 325-381
- Sheu SS, Sharma VK & Banerjee SP (1984). Measurement of cytosolic free calcium concentration in isolated rat ventricular myocytes with quin 2. *Circ Res* 55, 830-834
- Sheu SS & Blaustein MP (1986). Sodium/calcium exchange and regulation of cell calcium and contractility in cardiac muscle. In: Fozzard et al. (ed) *The Heart and Cardiovascular System*. Raven Press, New York, p509-553
- Tobian L & Binion JT (1952). Tissue cations and water in arterial hypertension. *Circulation*. 5, 754-758
- Thomas RC (1977). The role of bicarbonate, chloride and sodium ions in the regulation of intracellular pH in snail neurones. *J Physiol* 273, 317-338
- van Breemen C, Aarason P & Loutzenhiser R (1979). Sodium-calcium interactions in mammalian smooth muscle. *Pharmacol Rev* 30, 167-208
- Vaughan-Jones RD, Lederer WJ & Eisner DA (1983). Ca^{2+} ions can affect intracellular pH in mammalian cardiac muscle. *Nature* 301, 522-524
- Wilbrandt W & Koller H (1948). Die Calciumwirkung am Froschherzen als Funktion des Ionengleichgewichts zwischen Zellmembran und Umgebung. *Helv Physiol Pharmacol Acta* 6, 208-221