

쥐의 좌심방에서 세포막을 통한 Ca^{2+} Flux에 영향을 주는 약물이 자극빈도-장력 곡선에 미치는 영향

연세대학교 의과대학 생리학교실

김찬윤* · 안석균* · 서창국 · 강두희

(1989년 10월 16일 접수)

= Abstract =

The Influence of Several Durgs Affecting Ca^{2+} Influx on Frequency-tension Curve of Rat Left Atrium

Chan Yun Kim*, Sok Kyun Ahn*, Chang Kook Suh and Doo Hee Kang

Department of physiology Yonsei University College of Medicine

Cardiac muscles show stimulation frequency-dependent tension changes i.e. Bowditch phenomenon and Woodworth phenomenon, the former is an increase of tension with the increase of stimulation frequency, whereas the latter is an increase of tension with a decrease of stimulation frequency. Bowditch phenomenon is seen in the range of frequency 1.0 cps and above, and Woodworth phenomenon below the frequency 1.0 cps in the most of mammalian cardiac atrium. To throw some light on the possible mechanism of both phenomena in rat atrium, influences of drugs affecting Ca^{2+} influx through the plasma membrane (verapamil, La^{3+} , norepinephrine) and Ca^{2+} release from sarcoplasmic reticulum (SR) on frequency-tension curve were studied.

The results obtained are summarized as follows:

1) At low temperature (27.5°C), both Bowditch and Woodworth phenomenon were demonstrated. But Bowditch phenomenon disappeared at the temperature above 32.5°C.

2) At 27.5°C, in the presence of verapamil, a Ca^{2+} channel blocker, a time course of change in the frequency-tension was studied. It was found that Bowditch phenomenon was affected before the Woodworth phenomenon, then the former was completely disappeared. At 32.5°C, where no Bowditch is seen in normal atrial muscle, Bowditch phenomenon was reappeared by an administration of norepinephrine suggesting again that slow inward current of such as Ca^{2+} channel is closely related to Bowditch phenomenon.

3) At 27.5°C, in the presence of La^{3+} , although tensions were decreased at all stimulation frequencies, Bowditch and Woodworth phenomenon were still demonstrated. However in the presence of both La^{3+} and verapamil, Bowditch phenomena was disappeared suggesting that La^{3+} is less effective in blocking Ca^{2+} channel than verapamil.

4) At 27.5°C, in the presence of ryanodine, an inhibitor of calcium release from SR, Woodworth phenomenon was disappeared, which was consistent with previous reports of others, suggesting that Ca^{2+} release from SR is closely related to Woodworth phenomenon.

본 연구의 일부는 연세대학교 의과대학 학생연구비(1987년도)로 이루어졌음.

*연세 대학교 의과대학 4학년 재학생.

From the above findings, it may be concluded that Bowditch phenomenon is dependent on the magnitude of Ca^{2+} influx through slow channel and Woodworth phenomenon is dependent on the amount of Ca^{2+} stored in SR.

Key Words: Frequency-tension curve, Ca^{++} influx, Ca^{++} antagonists, Rat artial muscle

서 론

심방근은 자극빈도에 따라 장력의 크기가 다르게 나타나며, 이를 자극빈도-장력 곡선 (frequency-tension curve)이라 한다. 자극빈도를 증가시키에 따라 장력이 증가하는 현상을 Bowditch 현상이라고 하고, 자극빈도를 감소시키에 따라 장력이 증가하는 현상을 Woodworth 현상이라 하는데 (Niedergerke, 1956; Hajdu, 1969), 이런 자극빈도-장력의 관계는 동물의 종류에 따라서 차이가 나고 같은 동물에서도 심근의 부위에 따라 다르게 나타나지만 궁극적으로 세포내 Ca^{2+} 농도의 변화에 기인할 것임은 용이하게 추측할 수 있다 (Koch-Weser & Blinks, 1963; Edman & Johannson, 1976). 이 세포내 Ca^{2+} 농도에 영향을 주는 요인은 수 없이 많을 뿐 아니라 상호 의존적이어서 심근의 수축력에 영향을 주는 Ca^{2+} 의 근원을 규명하기는 그리 쉽지 않다. 그러나 이에 관여하는 중요한 것들은 세포막에서 각종 기전에 의하여 유입 또는 유출되는 Ca^{2+} 의 양과 세포내 Ca^{2+} 의 저장소 중의 하나인 sarcoplasmic reticulum (SR)에서 유입 또는 유출되는 Ca^{2+} 의 양 등을 들 수 있다.

포유류와는 달리 양서류 (예, 개구리)의 심방근은 해부학적으로 SR의 발달이 미비한데, 양서류의 심방근에서는 포유류 심방근에서 나타나는 Woodworth 현상이 나타나지 않는다 (Frank et al, 1975). 이러한 사실로 미루어 포유류 심방근의 Woodworth 현상은 SR과 밀접한 연관이 있다고 생각하고, 반대로 SR의 발달이 미비한 양서류의 심방근에서도 잘 나타나는 Bowditch 현상은 세포막을 통해 세포내로 이동되는 Ca^{2+} 에 의존적이라고 생각될 수 있다. 또한 SR에서의 Ca^{2+} 유리를 선택적으로 억제한다고 알려진 ryanodine (Rd)을 처리하면 포유류의 심방근에서 Woodworth 현상이 사라지는데 이것으로 보아 Woodworth 현상이 SR에서의 Ca^{2+} 유리에 의한

다는 주장을 더욱 뒷받침 할 수 있다.

위의 여러가지 사실로 보아, 포유류의 심방근에서는 낮은 자극빈도에서의 장력 형성에는 세포내 Ca^{2+} 저장소인 SR의 Ca^{2+} 이 상대적으로 더 중요한 역할을 하며, 높은 자극빈도의 장력 형성에는 세포막을 통한 Ca^{2+} 의 이동이 더 큰 영향을 준다고 생각할 수 있지만 아직도 완벽하게 증명된 것은 아니다 (Edman & Johannson, 1976).

이와 관련하여 흥미있는 사실은 쥐의 심방근의 자극빈도-장력 곡선이 온도 변화에 따라 Bowditch 현상이 나타나기도 하고 소실되기도 한다는 것이다 (Penefsky et al, 1972). 즉 낮은 온도 ($27.5^{\circ}C$)에서는 Bowditch 현상 및 Woodworth 현상이 모두 나타나지만, 높은 온도 ($32.5^{\circ}C$ 이상)에서는 Woodworth 현상만 나타나고 Bowditch 현상은 소실된다.

따라서 본 실험에서는 쥐의 심방근에서 Bowditch 현상이 주로 세포막을 통한 Ca^{2+} 이동기전에 의존적 인지라 Woodworth 현상이 주로 세포내 Ca^{2+} 저장소의 하나인 SR로 부터 유출되는 Ca^{2+} 에 의존적 인지를 관찰하고자 하였다. 즉 쥐 심방근의 온도 변화에 따라 자극빈도-장력 곡선의 변화를 이용하여 Bowditch 현상 및 Woodworth 현상이 모두 나타나는 낮은 온도에서 세포막을 통한 Ca^{2+} influx를 저하시키는 약물 즉, verapamil과 lanthanum (La^{3+})을 투여하면 Bowditch 현상이 소실되는지를 보고자 하였고, 또한 Woodworth 현상만 나타나는 높은 온도에서 세포막을 통한 Ca^{2+} influx를 증가시키는 약물 즉 norepinephrine을 투여하면 이때에 Bowditch 현상이 나타나서 그 자극빈도-장력 곡선의 모양이 $27.5^{\circ}C$ 에서의 정상적 것과 유사하게 되는지를 관찰하였다. 또한 세포내 기관인 SR내의 Ca^{2+} 저장량은 궁극적으로 세포막을 통한 Ca^{2+} 의 이동량에 의존하기 때문에 세포막을 통한 Ca^{2+} 유입 증대 또는 감소의 초기의 장력 변화를 보되 Bowditch 또는 Woodworth 현상 중 어느 것이 먼저 영향을 받느냐를 측정하는 것이 중요할 것이므로 본 실험에서는 고정된

자극빈도에서 세포막을 통한 Ca^{2+} 이동량에 영향을 주는 여러 약물을 투여한 때 부터 장력의 변화의 시간 경과를 측정하였다.

실험 방법

1. 실험재료 및 측정장치

실험동물로는 150-200 gm의 Wistar rat를 암수 구별없이 사용하였다. 흰쥐의 두부를 강타한 후, 재빨리 심장을 적출하여 산소화된 실험용액(Krebs-Henseleit solution에는 95% O_2 +5% CO_2 를 사용하고 Tyrode solution에는 100% O_2 를 사용하였다)에 담고, 부드럽게 마사지하여 심장에 남아있는 혈액을 제거하였다. 이렇게 깨끗이 씻은 심장을 새로운 동일 실험용액에서 좌심방을 절제 분리한 다음, 장력 측정을 위한 표본으로 사용하였다. 시약은 L-arterenal bitartrate (Norepinephrine, Sigma Chemical Co., USA), $LaCl_3 \cdot 6H_2O$ (La^{3+} , Fisher

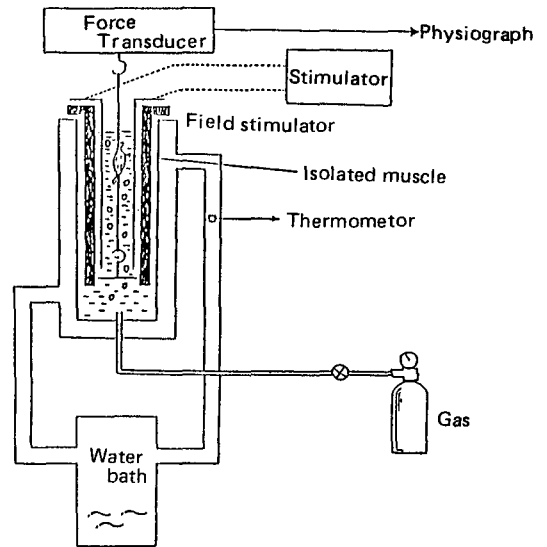


Fig. 1. Schematic diagram of experimental setup for the measurements of twitch tension of cardiac atrial muscle.

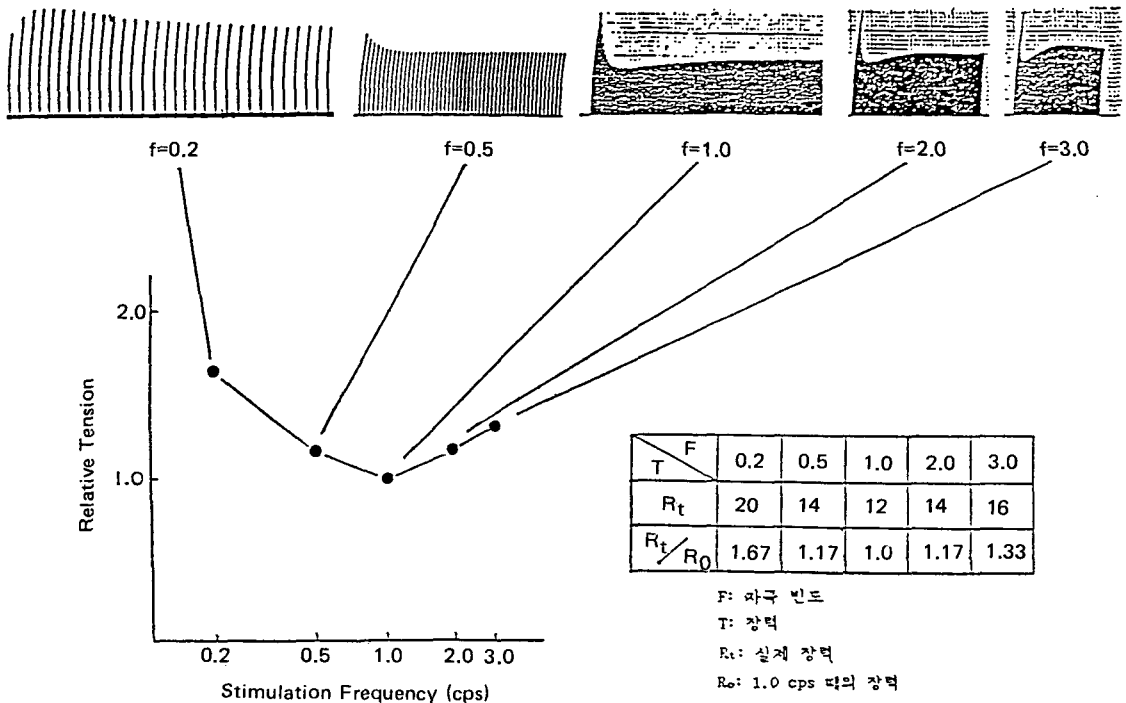


Fig. 2. Stimulation frequency-tension curve. Steady state tension at each frequency was shown as relative tension to the tension at 1.0 cps.

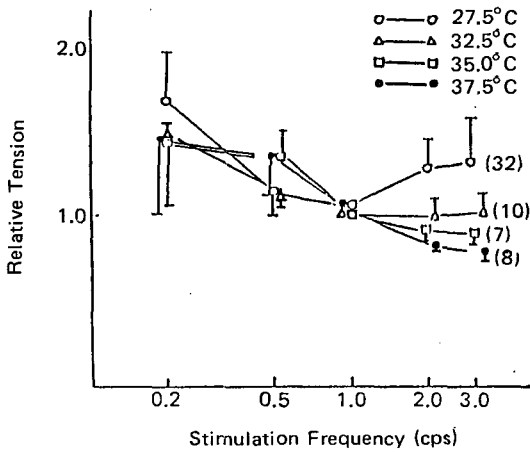


Fig. 3. Effects of temperature on frequency-tension curve.

Contractile strengths were presented as relative tensions to the control steady state tension at 1.0 cps. Note that relative tensions at high frequencies decrease at high temperature above 28°C. For details, see Method section. Data represent the mean \pm S.E. and numbers in parenthesis represent the number of experiments.

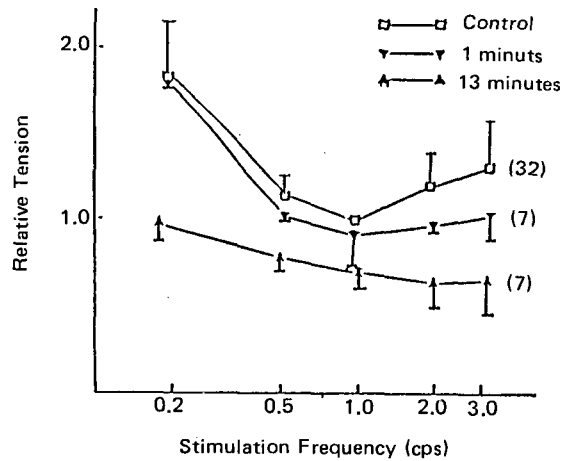


Fig. 4. Effects of verapamil on frequency-tension curve at 27.5°C.

Contractile strengths were presented as relative tensions to the control steady state tension at 1.0 cps. With a brief treatment (1 min) of verapamil, the relative tensions were first diminished at high frequencies, and with a longer treatment (13 min), the relative tensions were diminished at both high and low frequencies. Data represent the mean \pm S.E. and numbers in parenthesis represent the number of experiments.

Scientific Co., USA)와 verapamil hydrochloride (Verapamil, Sigma Chemical Co., USA)를 사용하였으며 norepinephrine, La^{3+} , verapamil 투여시는 실험용액으로 Tyrode solution (NaCl 133.5 mM, KCl 4 mM, $MgSO_4$ 1.2 mM, $NaHPO_4$ 0.3 mM, Tris 10 mM, $CaCl_2$ 1.8 mM, Glucose 10 mM)을 사용했고, 그외는 모두 modified Krebs-Henseleit (KH) solution (NaCl 118 mM, KCl 4 mM, KH_2PO_4 1.0 mM, $NaHCO_3$ 27.2 mM, $MgSO_4$ 1.2 mM, $CaCl_2$ 1.8 mM, Glucose 10 mM)을 사용했다.

좌심방의 양쪽 끝을 외과용 비단 실 (6/0 Mersilk, Ethicon)로 묶고, 온도가 일정하게 유지되고, 충분히 산소화된 실험용액이 담겨 있는 chamber 밑바닥에 한쪽 끝을 고정하고, 다른 한쪽은 force transducer (Myograph F-60, Narco Bio-system)에 연결하여 좌심방의 등척성 수축력을 Physiograph (MK-III-9, Narco Bio-system)에 기록하였다 (Fig. 1). 좌심방을 수조에 고정하는 다음, stimulator (model SD5C, Grass instruments, USA)를 백금선에 연결한 field stimulation 방법을 이용하여 역치전압의 1.3배

되는 전압으로 자극하였다. 근육의 안정시 장력을 점점 늘여서 최대장력이 발생하는 길이를 찾아 그 근육길로 고정하였다. 그 후 1시간 동안 1.0 contraction per second (cps)로 전기자극하여 수축력이 평형상태에 이르도록 하였다.

2. 온도변화시 좌심방의 수축력 측정

수축력이 평형에 이른 후에 chamber의 온도를 27.5, 32.5, 35.0 및 37.5°C로 되게 항온장치 (model WB-70, International Engineering Co.)를 이용하여 변화시켰다. 각 온도에서는 자극빈도를 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 cps로 변화시키면서 자극하여 평형상태 수축력 (Rt)을 얻었다. 이렇게 얻은 값은 1.0 cps에서의 평형상태 수축력 (R_0)에 대한 상대값으로 표시했다 (Fig. 2).

3. 약물처치 후 시간별 장력 측정

수조의 온도를 일정하게 유지하고 각 자극빈도에

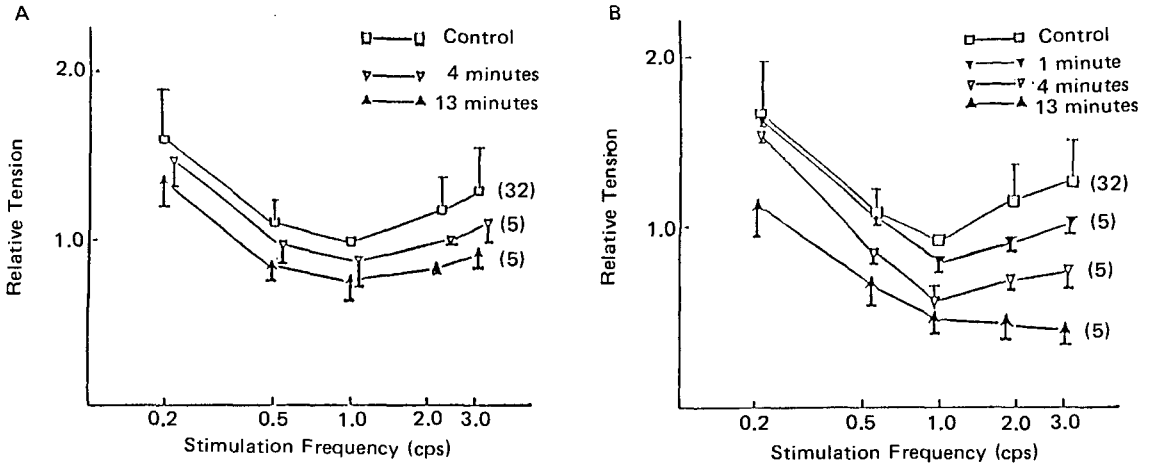


Fig. 5. Effects of La^{3+} alone and simultaneous administration of verapamil and La^{3+} on the frequency-tension curve at $27.5^{\circ}C$.

- A: La^{3+} alone; Contractile strengths were presented as relative tensions to the control steady state tension at 1.0 cps. The relative tensions at all stimulation frequencies are decreased, but both Bowditch and Woodworth phenomena are still demonstrated.
- B: $La^{3+} + Ve$; Contractile strengths were presented as relative tensions to the control steady state tension at 1.0 cps. The relative tensions at high frequencies were affected more than La^{3+} treatment alone. Data represent the mean \pm S.E. and numbers in parenthesis represent the number of experiments.

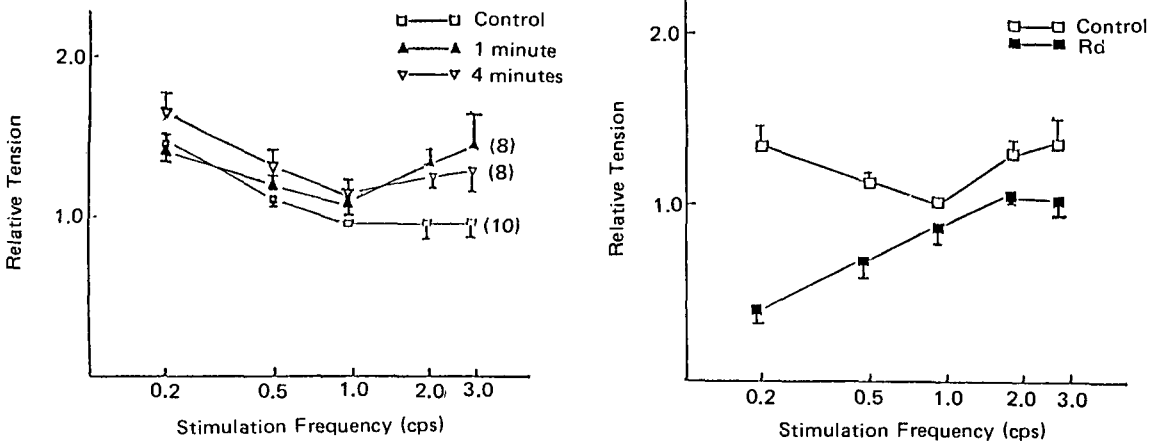


Fig. 6. Effects of norepinephrine on the frequency-tension curve at $32.5^{\circ}C$.

Contractile strengths were presented as relative tensions to the control steady state tension at 1.0 cps. The relative tensions were significantly increased at high frequencies. Data represent the mean \pm S.E. and numbers in parenthesis represent the number of experiments.

Fig. 7. Effect of ryanodine on the frequency-tension curve at $32.5^{\circ}C$.

Contractile strengths were presented as relative tensions to the control steady state tension at 1.0 cps. The relative tensions are significantly decreased at low frequencies after Rd treatment. Data represent the mean \pm S.E. of 5 experiment.

서의 평형 수축력을 얻은 후에 약물 반응을 보았다. 약물에 대한 반응의 시간적 경과를 약물 투여전에 각 자극빈도에 따른 평형 장력의 크기를 측정된 후 약물을 투여하여 매분 경과 때의 장력을 측정하여 이를 약물 투여전의 1.0 cps의 수축력에 대한 분율로 나타내었다. Fig. 4, 5, 6, 7에 나타낸 시간은 가장 뚜렷한 변화를 나타내는 때를 임의로 택한 것이다. Verapamil, La³⁺과 Rd은 27.5°C에서 첨가하였고, norepinephrine은 32.5°C에서 첨가하였다. 이때의 약물의 농도는 실험 결과에 기술하였다.

이 실험이 끝난 후 약물을 세척하여 심근의 상태를 약물 투여전으로 회복시키거나 또는 다른 심방 절편에서 자극빈도를 다른 값으로 고정하여 같은 요령으로 약물의 효과를 관찰하였다.

실험 결과

1. 온도변화에 따른 자극빈도-장력 곡선의 변화

근육절편이 담긴 chamber의 온도를 27.5, 32.5, 35.0, 37.5°C로 온도조절 장치로 조절하여 각각의 온도에서 자극빈도를 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 cps로 변화시켜 장력을 측정하였다. 이렇게 측정된 장력의 크기는 각 온도에서 1.0 cps의 장력 값에 대한 상대적 장력값으로 표시하여 이를 log (cps)에 대하여 나타내어 자극빈도-장력 곡선을 얻었다(Fig. 3).

온도 27.5°C의 자극빈도-장력 곡선에서는 Woodworth 및 Bowditch 현상이 모두 나타났으나 32.5°C, 35.0°C로 온도를 점차 상승시키에 따라 Bowditch 현상이 소실되었으며 37.5°C에서는 2.0, 3.0 cps로 자극빈도를 증가시킬 때 장력은 오히려 감소하여 Woodworth 현상 만이 남아 있었다.

2. 온도 27.5°C에서 verapamil 처치시 자극 빈도-장력 곡선의 시간적 변화

Bowditch와 Woodworth 현상이 모두 나타나는 27.5°C에서 Ca²⁺ channel blocker인 verapamil (0.55 μM)을 투여한 후 시간에 따른 장력 변화를 verapamil 투여전의 1.0 cps의 장력에 대한 분율로 표시하여 이들 결과를 Fig. 4에 나타냈다. Verapamil 처치 1분 후에 2.0과 3.0 cps에서는 상대적 장력이 초

기부터 크게 감소하였고, 1.0 cps에서도 장력이 감소하였다. 즉 verapamil에 의해 초기에 Bowditch 현상이 먼저 소실되었고, 시간이 흐르면 Woodworth 현상도 감소하는데 verapamil 투여 13분 후에는 이것도 거의 사라졌다.

3. 온도 27.5°C에서 La³⁺ 처치시 자극빈도-장력 곡선의 시간적 변화

온도 27.5°C에서 Ca²⁺의 competitive inhibitor인 La³⁺에 의해 Bowditch 현상이 어떻게 변화하는지를 관찰하기위해 La³⁺ 0.4 mM을 투여한 후 자극빈도와 장력과의 관계의 시간적 변화를 verapamil 투여 때와 같은 방법으로 관찰하였다(Fig. 5A). La³⁺에 의해 심방근의 장력 크기는 높은 자극빈도와 낮은 자극빈도에서 특별히 차이가 나지않고 모든 자극빈도에서 비슷한 정도로 전체적으로 감소되었으나 Bowditch 및 Woodworth 현상은 그대로 나타났다.

그러나 27.5°C에서 La³⁺과 verapamil을 동시에 처치할때 위와 같은 실험방법으로 자극빈도-장력 곡선의 변화를 보면 낮은 자극 빈도에서 장력 감소가 나타났지만 높은 자극빈도에서 장력감소가 먼저 일어나면서 Bowditch 현상이 사라졌다(Fig. 5B). 이를 위의 La³⁺을 단독 투여한 결과와 비교하면 흥미 있는 대조를 이룬다. 즉 본 실험에서 La³⁺, verapamil을 동시에 처치한 1분 후에는 Bowditch 현상이 먼저 감소하였고 4분 후에는 높은 자극 빈도와 낮은 자극 빈도에서 비슷한 정도로 감소하다가 13분 후에는 Bowditch 현상이 거의 사라졌다.

4. 온도 32.5°C에서 norepinephrine 처치시 자극빈도-장력 곡선의 시간적 변화

Woodworth 현상만 나타나는 32.5°C에서 norepinephrine 10⁻⁶M을 투여한 후 자극빈도와 장력과의 관계의 시간적 변화를 Fig. 6에 나타내었다.

Norepinephrine 투여 초기(1분)에 높은 자극빈도(2.0, 3.0 cps)에서는 상대적 장력의 크기가 유의하게 증가하였고, 낮은 자극빈도(0.5, 1.0 cps)에서는 norepinephrine 투여 4분 후 부터 장력이 증가하기 시작하였으며, 0.2 cps에서는 대조군의 장력보다 약간 증가되거나 거의 유사하였다. 즉 높은 자극빈도 일수록 장력이 일찍 증가하였으며 이 온도에서 정상

의 쥐의 심방근에서는 나타나지 않던 Bowditch 현상이 norepinephrine에 의해 다시 나타났다.

5. 온도 27.5°C에서 ryanodine 처치시 자극빈도-장력 곡선의 변화

27.5°C에서 ryanodine에 의해 Woodworth 현상이 어떻게 변화하는지를 보기 위해 Rd ($5 \times 10^{-8}M$)를 투여한 후 자극빈도와 장력과의 관계를 위와 동일한 방법으로 관찰하여 Fig. 7에 나타내었다. Rd 투여후 Bowditch 현상은 거의 그대로 유지되는데 반해 Woodworth 현상은 소실되었다.

고 찰

심근 장력의 크기는 심근에 가해지는 자극빈도에 의하여서도 다르게 나타나며, 이러한 현상을 자극빈도-장력 곡선이라 한다(Gibbons, 1986).

세포내의 Ca^{2+} 농도를 증가시키는 과정을 세포내 Ca^{2+} 활성화 과정이라 한다면 여기에 속하는 것으로 $Na^{+}-Ca^{2+}$ exchange의 reverse mode, Ca^{2+} channel을 통한 Ca^{2+} 의 유입, 세포내 Ca^{2+} 저장소인 SR에서의 Ca^{2+} 유리 및 Ca^{2+} -induced Ca^{2+} release 등이 있고, 세포내 Ca^{2+} 농도를 감소시키는 과정을 세포내 Ca^{2+} 비활성화 과정이라 한다면 여기에는 $Na^{+}-Ca^{2+}$ exchange의 forward mode, 세포막의 Ca^{2+} ATPase에 의한 세포외로의 수송, SR로의 Ca^{2+} 의 재진입 과정 등이 포함된다. 세포내 Ca^{2+} 의 농도가 이와 같은 Ca^{2+} 활성화, 비활성화 과정에 의해 조절된다면 자극빈도에 따른 장력의 변화도 이 두 과정에 의해 결정될 것으로 생각된다.

포유류의 심근, 특히 심방근의 경우에는 직접 심근 수축에 기여하는 Ca^{2+} 의 많은 부분이 세포내 Ca^{2+} 저장소에서 유래한다고 한다(Gibbons, 1986). 그러나 세포막을 통해 이동된 Ca^{2+} 이 Ca^{2+} -induced Ca^{2+} release라는 기전을 통하여 세포내의 Ca^{2+} 저장소에서의 Ca^{2+} release를 조절하고(Fabiato & Fabiato, 1975), 그리고 세포내 저장소의 Ca^{2+} 또한 궁극적으로 세포막밖의 Ca^{2+} 에서 유래함을 생각하면, 세포막을 통하여 유입되는 Ca^{2+} 의 중요성을 쉽사리 이해할 수 있다.

이러한 여러 기전 중 하나의 변화는 궁극적으로

세포내의 다른 Ca^{2+} 양에 영향을 줄 것이므로 약물 투여 후 평형에 도달한 후의 장력을 측정하여 자극빈도-장력 곡선을 비교하고 그 결과 Bowditch나 Woodworth 현상에 관여하는 Ca^{2+} 의 근원을 분석하기는 곤란한 점이 있다.

따라서 본 실험에서는 세포막에 작용하는 약물을 그 작용 발현이 SR에 작용하는 약물에 비하여 더 빠를 것으로 가정하여 각 약물 투여 후 위의 자극빈도-장력 곡선의 시간적 변화를 관찰하여 Bowditch 및 Woodworth 현상 중 어떤 것이 먼저 영향을 받는가를 관찰하였다.

특히 쥐의 심방근은 흥미롭게도 온도의 변화에 따라 자극빈도-장력 곡선이 달라 지는데 Fig. 3에서 보는 바와 같이 27.5°C에서는 높은 자극빈도에서 자극빈도 증가에 따른 심근장력이 증가하는 Bowditch 현상이 분명히 나타나고 32.5°C에서는 Bowditch 현상이 소실되었다. 이러한 결과는 다른 연구자들의 보고와 같다(Penefsky et al, 1972).

이와 같은 온도 변화에 따른 자극빈도-장력 곡선의 차이를 이용하여 Bowditch 현상이 존재하는 27.5°C에서는 세포막을 통한 Ca^{2+} 이동을 억제하는 verapamil과 La^{3+} 을 투여하고 이들 약물 투여 후 자극빈도-장력 곡선의 시간적 변화를 관찰하여 이 온도에서 나타났던 Bowditch 현상이 Woodworth에 비하여 먼저 소실되는지를 관찰하였다. 반대로 Bowditch 현상이 나타나지 않던 32.5°C에서는 세포막을 통한 Ca^{2+} 이동을 증가시키는 norepinephrine을 처치할 때 이 현상이 나타나는지를 보기 위하여 같은 요령으로 자극빈도-장력의 시간적 변화를 관찰하였다. 이 결과 27.5°C에서 slow inward current blocker인 verapamil(Ehara & Kaufmann, 1978; Fleckenstein, 1986)에 의해 초기에는 Bowditch 현상이 소실되고 Woodworth 현상은 유지되다가 결국 시간이 흐르면 낮은 자극빈도에서도 장력이 감소하였는데, 이로써 verapamil이 작용하는 Ca^{2+} channel이 높은 자극빈도일수록 좀 더 심근장력 형성에 큰 역할을 담당함을 알 수 있다(Fig. 4). 낮은 자극빈도에서는 verapamil 처치 초기에 심근장력의 변화가 나타나지 않았는데 이것은 Woodworth 현상은 이와 같은 약물 투여 초기에 세포막을 통한 Ca^{2+} 이동 감소에 별로 영향을 받지 않기 때문으로 생각된다

다. 그러나 시간이 흐르면 결국 낮은 자극빈도에서도 장력이 감소하는데 이것은 verapamil에 의해서 세포막을 통한 Ca^{2+} 이 감소하여 이것이 궁극적으로는 세포내의 다른 Ca^{2+} 저장소의 Ca^{2+} 도 저하시킴으로써 나타나는 현상이라 생각된다.

온도 27.5°C에서 Ca^{2+} 의 상경적 억제제 (competitive inhibitor)로 알려진 La^{3+} (Sanborn & Langer, 1970; Nathan et al, 1988)을 처치한 결과를 보면, La^{3+} 이 Bowditch 현상에 좀더 특이하게 작용할 것이라는 처음의 기대와는 좀 다르게 모든 자극빈도에서 전반적인 장력의 감소를 나타내었으나 Bowditch 현상과 Woodworth 현상은 그대로 유지되었다 (Fig. 5A). 그러나 La^{3+} 과 verapamil을 동시에 처치하였을 때는 La^{3+} 단독 처치 때와는 달리 초기에 Bowditch 현상의 감소가 먼저 일어났고 전반적인 장력 감소가 일어나다가 후기에는 Bowditch 현상이 거의 소실되었다 (Fig. 5B). 이것은 La^{3+} 의 Ca^{2+} channel에서의 작용이 verapamil 보다 특이적이지 않기 때문으로 생각된다.

온도 32.5°C, 즉 자극빈도-장력 곡선에서 Bowditch 현상이 거의 소실되는 온도에서 세포막에 있는 β -adrenergic receptor에 작용하여 (Marks et al, 1986) slow inward current를 증가시켜서 positive inotropic effect를 일으키는 것으로 알려진 (Reuter, 1974) norepinephrine을 처치하여 자극빈도-장력 곡선의 시간적 변화를 관찰하였다 (Fig. 6). Norepinephrine에 의해 빠른 시간에 (1분) Bowditch 현상이 다시 나타나는 것으로 보아 Bowditch 현상이 세포막을 통한 Ca^{2+} 과 밀접한 연관이 있음을 다시 확인할 수 있었다.

한편, Woodworth 현상이 세포내 Ca^{2+} 저장소로부터 유리되는 Ca^{2+} 과 연관성이 있는지 확인하기 위하여 27.5°C에서 SR에서 Ca^{2+} 유리를 억제하는 것으로 알려진 Rd (Sutko et al, 1985; Gibbons & Sleator, 1986)을 처치하여 관찰한 바 (Fig. 7), Rd 투여 후 초기부터 Bowditch 현상은 그대로 유지되는데 비해 Woodworth 현상이 소실되었다. 이러한 결과로 Woodworth 현상은 세포내 Ca^{2+} 저장소, 특히 SR에서부터 유리되는 Ca^{2+} 과 밀접한 연관이 있는 것으로 생각된다. 이는 다른 연구자들의 보고와 일치한다 (Hajdu, 1969).

본 실험의 결과를 종합하여 볼 때 Bowditch 현상은 세포막 Ca^{2+} channel을 통한 Ca^{2+} 에 의존적으로 생각된다. 하지만 이것이 구체적으로 어떠한 기전에 의하여 이루어지는 지는 이 실험의 결과만으로 단정짓기는 어렵다. 자극빈도가 증가함에 따라 세포내 Na^{+} 활성도가 증가하고 이와같이 높아진 Na^{+} 활성도에 의해 2차적으로 Na^{+} - Ca^{2+} exchange의 reverse mode가 활성화되어 Ca^{2+} 유입이 증가하여 Bowditch 현상이 나타난다는 주장이 있지만 (Cohen et al, 1982; Langer et al, 1976)이 교환기전에 선택적으로 작용하는 약물이 발견되지 않은 현시점에서 이를 증명하기는 곤란한 점이 있다.

이상과 같은 본 실험 결과로 쥐의 심방에서 나타나는 Bowditch 현상은 세포막을 통한 Ca^{2+} 의 유입에 의존적이고 Woodworth 현상은 세포내 Ca^{2+} 저장소, 특히 SR에서 유리되는 Ca^{2+} 에 더 의존적이라고 사료되는 바이다.

결 론

쥐의 심방근에서 나타나는 Bowditch와 Woodworth 현상의 기전의 일부를 밝히고자 Ca^{2+} blocker인 verapamil과 La^{3+} 과, Ca^{2+} slow inward current를 증가시키는 norepinephrine등이 이러한 현상에 미치는 영향을 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 낮은 온도 (27.5°C)에서는 Bowditch 현상과 Woodworth 현상이 모두 존재하였지만 온도가 증가함에 따라 (32.5°C ~ 37°C) Bowditch 현상이 사라졌고 Woodworth 현상은 계속 존재하였다.

2) 온도 27.5°C에서는 Ca^{2+} channel blocker인 verapamil 처치시 Bowditch 현상이 먼저 감소하였으며, 32.5°C에서 norepinephrine을 처치한 결과 정상에서는 나타나지 않던 Bowditch 현상이 나타나는 것으로 보아 Ca^{2+} channel을 통한 slow inward current가 Bowditch 현상과 밀접한 관계가 있을 것으로 생각된다.

3) 온도 27.5°C에서 Ca^{2+} competitive inhibitor인 La^{3+} 처치시 전 자극 빈도에서 공히 장력 감소가 나타나나 Bowditch 현상에는 거의 영향을 미치지 않았다. 그러나 27.5°C에서 Verapamil과 La^{3+} 은 Ca^{2+} channel에 대한 작용이 verapamil 보다 특이적이지

못한 것으로 생각된다.

4) 온도 27.5°C에서 ryanodine을 처리한 결과 Woodworth 현상이 사라지는 것으로 보아 세포내 Ca^{2+} 저장소인 SR로 부터의 Ca^{2+} 유리가 Woodworth 현상과 밀접한 관계가 있는 것으로 생각된다.

이상과 같은 실험 결과로 쥐의 심방근에서 나타나는 Bowditch 현상은 세포막을 통한 Ca^{2+} 유입에 의존적이고 Woodworth 현상은 세포내 Ca^{2+} 저장소, 특히 SR에서 유리되는 Ca^{2+} 에 더 의존적이라고 사료되는 바이다.

REFERENCES

- Cohen CJ, Fozzard HA & Sheu SS (1982). Increase in intracellular sodium ion activity during stimulation in mammalian cardiac muscle. *Circ Res* 50, 651-662
- Ehara T & Kaufmann R (1978). The voltage time dependent effects of verapamil on the slow inward current in isolated cat ventricular myocardium. *J Pharmacol Exp Ther* 207, 49-55
- Edman KAP & Johansson M (1976). The contractile state of rabbit papillary muscle in relation to stimulation frequency. *J Physiol* 254, 565-581
- Fabiato A & Fabiato F (1975). Contraction induced by a calcium triggered release of calcium from the sarcoplasmic reticulum of single skinned cardiac cells. *J Physiol* 249, 469-495
- Frank M, Albrecht I, Sleator WW & Robinson RB (1975). Stereological measurements of atrial ultrastructures in the guinea pig. *Experientia* 31, 578-579
- Fleckenstein A (1986). Calcium antagonism in heart and smooth muscle. John Wiley & Sons, Inc. p 51-56
- Gibbons WR (1986). Cellular control of cardiac contraction. In Fozzard et al. (ed) *The heart & cardiovascular system chapter* 36. Raven press, p 747-775
- Gibbons WR & Sleator WW (1986). Cellular control of cardiac contraction. In "The heart and cardiovascular system" edited by Hozzard HA et al. Raven Press, 784
- Hajdu S (1969). Mechanism of the Woodworth staircase phenomenon in heart and skeletal muscle. *J Physiol* 216, 206-214
- Koch-Weser J & Blinks JR (1963). The influence of the interval between beats on myocardial contractility. *Pharmacol Rev* 15, 601-652
- Langer GA, Frank JS, Muddy M & Seraydarran K (1976). Sialic acid; effect of removal on calcium exchange ability of cultured heart cells. *Science* 193, 1013-1015
- Marks P, Im WB, Sonn JK & Lee CO (1986). Effect of NE and C-AMP on intracellular Na^+ ion activity and contractile force in canine cardiac Purkinje fibers. *Circ Res* 59, 390-397
- Nathan RD, Kanaik K, Clark RB & Giles W (1988). Selective block of calcium current by lanthanum in single bullfrog atrial cells. *J Gen Physiol* 91, 549-572
- Niedergerke R (1956). The staircase phenomenon & action of calcium on the heart. *J Physiol (London)* 134, 569-583
- Penefsky ZJ, Buckley NM & Litwak RS (1972). Effect of temperature and calcium on force-frequency relationships in mammalian ventricular myocardium. *Pflugers Arch* 332, 271-282
- Reuter H (1974). Exchange of calcium ions in the mammalian myocardium. *Circ Res* 34, 559-605
- Sanborn WG & Langer GA (1970). Specific uncoupling of excitation and contraction in mammalian cardiac tissues by lanthanum. *J Gen Physiol* 56, 191-217
- Sutko JL, Ito K & Kenyon JL (1985). Ryanodine, a modifier of sarcoplasmic reticulum calcium release in striate muscle. *Fed Proc* 44, 2984-2988