

기니픽 심근의 전기생리학적 특성에 미치는 α_1 -Adrenoceptor 자극효과

金 鎮 祥
전북대학교 수의과대학
(1993년 2월 2일 접수)

Effects of α_1 -adrenoceptor stimulation on ventricular electrophysiological properties of guinea pigs

Jin-sang Kim
College of Veterinary Medicine, Chonbuk National University
(Received Feb 2, 1993)

Abstract : The effects of α_1 -adrenergic stimulation on membrane potential, intracellular sodium activity (a_{Na^+}), and contractility were investigated in the isolated papillary muscle of euthyroid, hyperthyroid, and hypothyroid guinea pigs. Cardiac alterations in the thyroid state have been shown to induce marked changes in action potential characteristics, the most pronounced shortening of action potential duration by hyperthyroidism and an increase in duration by hypothyroidism. 10^{-5} M Phenylephrine produced a decrease in a_{Na^+} in euthyroid and hypothyroid preparations, but an increase in a_{Na^+} in hyperthyroid ones. The major findings were that phenylephrine produced a stronger positive inotropic effect (PIE) without initial negative inotropic effect (NIE) in hyperthyroid preparations, while phenylephrine produced markedly NIE in hypothyroid ones. The alterations in membrane potential, a_{Na^+} , and contractility were abolished by 3×10^{-5} M prazosin in hypothyroidism. In hypothyroid ventricular muscle, the decrease in a_{Na^+} caused by phenylephrine were not abolished or reduced by 10^{-5} M strophanthidin, 10^{-5} M TTX, 3×10^{-4} M lidocaine, or 10^{-5} M verapamil. These results indicate that the α_1 -adrenoceptor-mediated decrease in a_{Na^+} is not associated with a stimulation of the $Na^+ - K^+$ pump, inhibition of the Na^+ or Ca^{2+} channel in hypothyroid ventricular muscle. 10^{-5} M Phenylephrine decreased a_{Na^+} but increased a_{Na^+} in the presence of a PKC activator phorbol dibutyrate (PDB_u).

In conclusion, it is suggested that the following sequence of events in response to phenylephrine occur in guinea pig ventricular muscle. First, changes in thyroid state may contribute to the ventricular electrophysiological properties or ion transport system. Second, the adrenoceptor-mediated initial transient NIE may be associated with the decrease in a_{Na^+} by PKC activation.

Key words : α_1 -adrenoceptor, membrane potential, intracellular sodium activity, hyperthyroid, hypothyroid.

서 론

심장기능 조절은 교감신경계에 의해 지배되고 이때 관련된 수용체가 α - 및 β -adrenoceptor로 분류되고 있

는데 교감신경 전달물질은 주로 β -adrenoceptor를 경유하여 작용하는 것으로 잘 알려져 있다. 그러나 심장에 있어서 α -adrenoceptor의 역할에 대해서는 많은 관심의 대상이 되지 못하고 있다. 심장에서 α_1 -adrenoceptor의

작용기전에 대한 최근 보고에 의하면 α_1 -adrenoceptor는 세포막의 G-단백을 경유하여 phospholipase C(PLC)를 활성화시켜 PIP₂(phosphatidyl-inositol 4, 5-bisphosphate)의 가수분해를 증가시키고¹⁻³, α_1 -adrenoceptor agonist인 phenylephrine에 의한 PIP₂ 가수분해는 결국 신호 전달체의 2nd messenger인 IP₃(inositol trisphosphate)와 DG(diacylglycerol)를 생성한다.^{4,5} 그래서 IP₃는 sarcoplasmic reticulum에서 Ca²⁺의 유리를 자극하고^{3,4}, DG는 protein kinase C(PKC)를 활성화시켜 이 PKC가 세포의 Ca²⁺ 통로, Na⁺-H⁺ 교환기 및 K⁺ 통로 등에 작용할 수 있다.^{4,6,7}

α_1 -adrenoceptor 자극으로 rat 심근에서는 세 단계의 수축반응이 나타난다. 즉, 초기 일시적 positive 수축반응(PIE, positive inotropic effect) 이어서 일시적 negative 수축반응(NIE, negative inotropic effect) 그리고 지속적인 PIE를 나타내는데^{4,8,9}, Otani et al^{4,9}과 Iwakura et al⁷에 의하면 흰쥐 심장에서 일시적인 수축력 증가는 IP₃에 의한 세포내 Ca²⁺의 유리에 의하고 지속적인 PIE는 DG에 의한 PKC활성으로 Ca²⁺ 통로 혹은 Na⁺-Ca²⁺ 교환기 활성으로 인해 Ca²⁺ 유입증가 등으로 PIE가 나타난다고 하였으나 일시적인 NIE 기전에 대해서는 밝히지 못하고 있다. 흰쥐 심근과 달리 α_1 -adrenoceptor 자극으로 기니픽 심근에서는 일시적인 NIE에 이어서 지속적인 PIE를 나타내는데^{10,11} 이 일시적 NIE 효과가 세포내 Na²⁺ 활성도(a_{Na}ⁱ) 감소와 관련되고 이 a_{Na}ⁱ 감소는 Na²⁺ 통로 억제에 의하며¹⁰, Purkinje fiber에서 α_1 -adrenoceptor 자극에 의한 a_{Na}ⁱ 감소효과는 Na⁺-K⁺ pump가 활성화되기 때문이라고 한다.¹¹ 그러나 최근 저자는 갑상선 기능에 따라 기니픽 심근에서 α_1 -adrenoceptor 자극에 의한 수축력과 a_{Na}ⁱ 변동 효과를 관찰한 결과 일시적인 NIE와 a_{Na}ⁱ 감소효과가 밀접하게 관련되고 갑상선기능 저하증 기니픽 심근에서 a_{Na}ⁱ 감소효과는 Na⁺-K⁺ pump나 Na⁺ 통로를 통해 일어날 수 없고 a_{Na}ⁱ 감소효과가 PKC 활성화와 관련될 수 있음을 관찰하여 보고하는 바이다.

재료 및 방법

실험동물 :

1. 정상 guinea pig : 체중 250g 내외의 건강한 guinea pig를 암·수 구별없이 사용하였다.

2. Guinea pig의 hyperthyroidism과 hypothyroidism 유도 : 갑상선 기능항진증은 체중 250g 내외의 guinea pig에 9~12일간 L-thyroxine(Sigma)을 0.3mg/kg 매일 2회씩 복강내 투여하여 유도하였고, 갑상선 기능저하증은 생후 3주일된 체중 130~140g의 guinea pig에 propylt-

hiouracil(PTU, Sigma)이 0.05% 함유된 음수를 45~55일간 급여하여 유도하였다.

갑상선 호르몬 측정 : 혈청내 thyroxine(T₄)과 triodothyronine(T₃)는 RIA법에 따라 Abbott Laboratories Co의 diagnostic kit를 사용하여 측정하였다.

수축력, 세포내 Na⁺ 활성도(a_{Na}ⁱ) 및 막전위 측정 : 각 갑상선 기능별 guinea pig를 두부 타격으로 희생시켜 경동맥을 절단하여 방혈시킨 뒤 심장을 적출하여 산소로 포화(97% O₂, 3% CO₂)된 tyrode 용액(pH 7.3~7.4)에 넣어 혈액을 제거하였다.

Stereozoom 하에서 우심실로부터 직경이 약 0.5~1mm, 길이가 약 2~3mm의 유두근을 적출하여 tissue chamber에 넣어 고정하고 유두근의 원위부는 tension transducer에 연결하여 수축력을 측정하였다. 전기자극은 1Hz로 실시하면서 chamber 통로를 통해 산소가 포화된 영양액(36~37°C, 137mM, NaCl, 5.4 mM KCl, 1.05mM MgCl₂, 0.45mM NaH₂PO₄, 11.9mM NaHCO₃, 1.8mM CaCl₂ 및 5mM dextrose)를 관류시켰다. 수축력이 일정해지면 3M KCl이 채워진 일반 미세전극을 세포내에 삽입하여 막전위를 측정하고 이 막전위가 일정해지면 Na⁺ 이온에 선택적으로 작용하는 neutral carrier로 만들어진 Na⁺-이온 선택적 미세전극을 일반전극 가까이 삽입하여 세포내 Na⁺ 활성도를 측정하였다.

Na⁺ 선택적 미세전극의 calibration은 실험전후 표준 용액으로 실시하였다.

이용기기 및 사용약물 : 이용기기는 전기자극기(Model 305-R, WPI), 전기자극 조절기(1835-B, WPI), electrometer(FD 223, WPI), microprobe system(KS-700, WPI), recording system(30-V 740-00, Guld), oscilloscope(5113, Tektronix), tension transducer(M-405, Cambridge), stereozoom microscope(Olympus), illuminator(Dsenner Inc) micromanipulator(Proir) 및 vibration isolator table(Harvard)등이었다.

사용약물은 tetrodotoxin(Sankyo), phenylephrine, strophanthidin, verapamil, atenolol, lidocaine, prazosin 및 phorbol dibutyrate(이상 Sigma)등이었다.

결 과

T₄와 PTU 처리가 guinea pig의 심장 무게에 미치는 영향 : 갑상선기능항진을 유도하기 위하여 8~10일간 투여한 결과 체중 kg당 심장의 무게가 4.3±0.3(mean±S.D) g으로 대조군 3.2±0.2 g에 비하여 현저히 증가되었고, 갑상선 기능저하를 유도하기 위하여 45~55일간 P-TU를 급여한 결과 체중 kg당 2.6±0.2 g으로써 대조군

Table 1. Indicators of thyroid status in control and experimental animals

	Heart weight/body weight (g/kg)	Serum thyroid hormone levels		RMP (mV)
		Thyroxine ($\mu\text{g/dl}$)	Triiodothyronine (ng/ml)	
Euthyroid	3.2 \pm 0.02(31)	2.53 \pm 0.10(10)	0.40 \pm 0.30(10)	-83.3 \pm 2.5
Hyperthyroid	4.3 \pm 0.03(30)*	258.3 \pm 14.6(10)*	6.56 \pm 0.82(10)*	-81.6 \pm 2.8
Hypothyroid	2.6 \pm 0.02(31)*	0.57 \pm 0.02(10)*	0.12 \pm 0.03(10)*	-80.7 \pm 5.8

Values are mean \pm SEM. Numerals in parentheses are numbers of experiments.

RMP : resting membrane potential.

* Significantly different from euthyroid ($p < 0.01$).

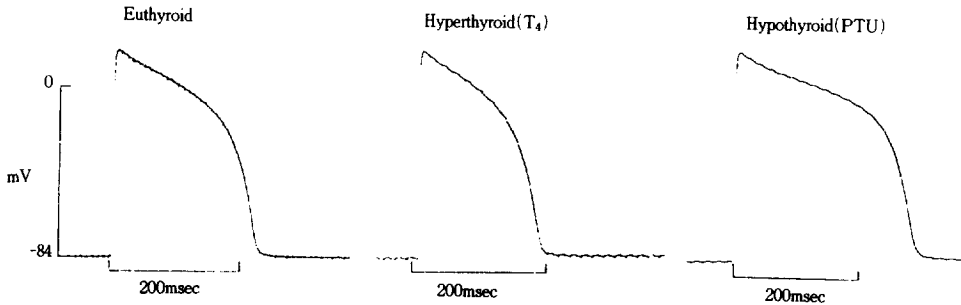


Fig 1. Representative action potentials recorded from ventricular papillary muscles isolated from euthyroid, hyperthyroid and hypothyroid guinea pigs.

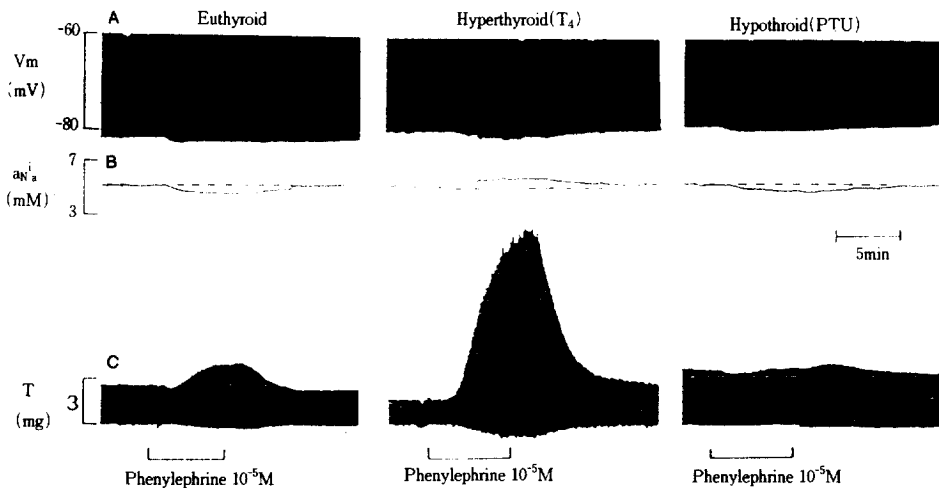


Fig 2. Effects of phenylephrine on membrane potential (V_m), intracellular Na^+ activity (a_{Na^+}), and twitch force (T) in euthyroid, hyperthyroid and hypothyroid guinea pig papillary muscles. A, B, and C : recordings of V_m , a_{Na^+} and T respectively.

에 비하여 현저한 감소현상을 보였다(Table 1).

T₄와 PTU가 혈청내 갑상선 호르몬에 미치는 영향 :
갑상선 기능을 알아보기 위하여 RIA 방법으로 기니픽의 혈청내 T₄와 T₃를 분석하여 Table 1과 같은 결과를 얻었다. T₄처리군은 혈청내 T₄치가 258.3 \pm 14.6 $\mu\text{g/dl}$ 로써 대조군 2.53 \pm 0.09 $\mu\text{g/dl}$ 에 비하여 극히 높았고,

혈청내 T₃치는 6.56 \pm 0.82 ng/ml로써 역시 대조군 0.40 \pm 0.30 ng/ml에 비해 고도의 유의성 있는 증가치를 보였다. 그리고 PTU 처리군의 혈청내 T₄치는 0.57 \pm 0.2 $\mu\text{g/ml}$ 로써 대조군에 비하여 현저한 감소현상을 보였고, T₃치 역시 0.12 \pm 0.03 ng/ml로 대조군 및 T₄ 처리군에 비하여 현저히 감소하였음을 보여 T₃ 및 PTU 처리

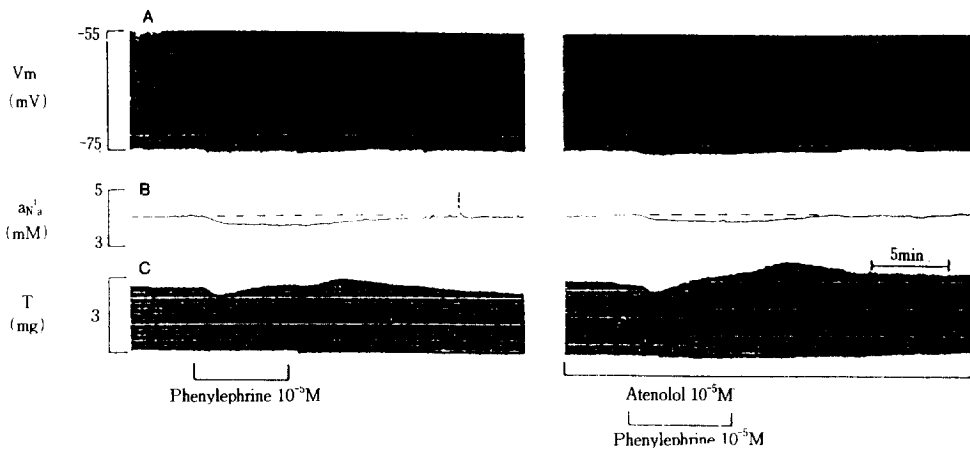


Fig 3. Effects of phenylephrine on membrane potential (V_m), intracellular Na^+ activity (a_{Na^+}), and twitch force (T) in the presence of atenolol in hypothyroid guinea pig papillary muscle. Other legends are the same as in Fig 2.

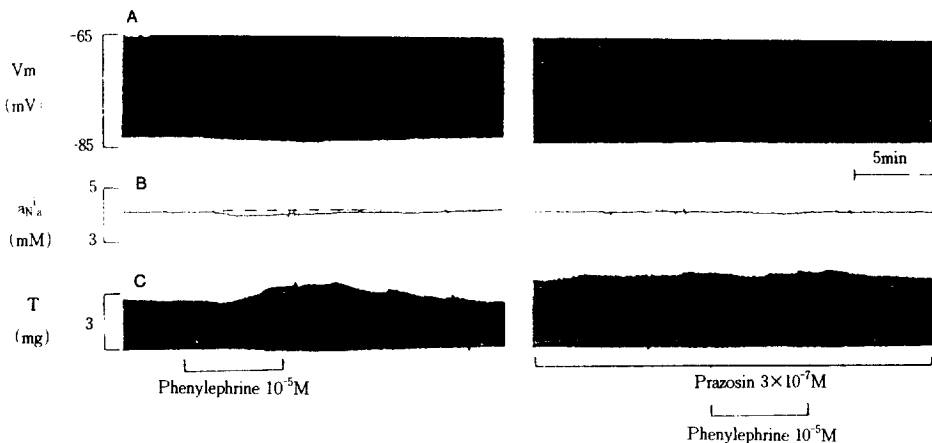


Fig 4. Effects of phenylephrine on membrane potential (V_m), intracellular Na^+ activity (a_{Na^+}), and twitch force (T) in the presence of prazosin in hypothyroid guinea pig papillary muscle. Other legends are the same as in Fig 2.

로 인하여 갑상선 기능의 상태를 유도한 기니픽의 심장근을 이용하여 실험에 사용하였음을 알 수 있었다.

갑상선 기능별 심근의 활동전위 형태 및 세포막 전위의 변화: Fig 1은 갑상선 기능별 심근의 활동전위 형태를 나타내고 있다. 갑상선기능항진상태에서 활동전위 plateau의 경사가 증가하고 기능저하상태에서는 감소하였음을 볼 수 있다. 가장 현저한 변화로써 기능항진 기니픽에서 활동전위기간이 짧아지고 기능저하증 기니픽에서 길어지는데 30% 재분극(APD_{30})과 90% 재분극(APD_{90})으로 나타내면 정상 기니픽의 APD_{30} 과 APD_{90} 이 159 ± 15 msec(mean \pm SD)와 227 ± 15 msec에 비하여 기능항진증 기니픽에서는 112 ± 14 msec와 153 ± 10 msec

로 현저히 짧아지고 기능저하증 기니픽에서는 188 ± 21 msec와 257 ± 19 msec로 현저히 연장되었다. 1 Hz로 자극되는 심근세포에서 일반전극을 삽입하여 1시간 이상 이완기 막전위가 일정해지면 자극을 멈춘다. 자극을 멈춘후 안정막 전위가 일정하게 안정되면 이때의 전위치를 기록하였다. Table 1에서 보는 바와 같이 정상, 기능항진증 및 기능저하증 기니픽 심근에서 안정막 전위는 -83.3 ± 2.5 , -81.6 ± 2.8 및 -80.7 ± 5.8 mV로 각 상태에 따라 유의성 있는 변동을 관찰하지 못했다.

정상, 갑상선 기능항진증 및 기능저하증 기니픽 박동 심근에서 막전위, 세포내 Na^+ 활성도(a_{Na^+})와 수축력에 미치는 phenylephrine의 영향: Fig 2는 각 갑상선 기능

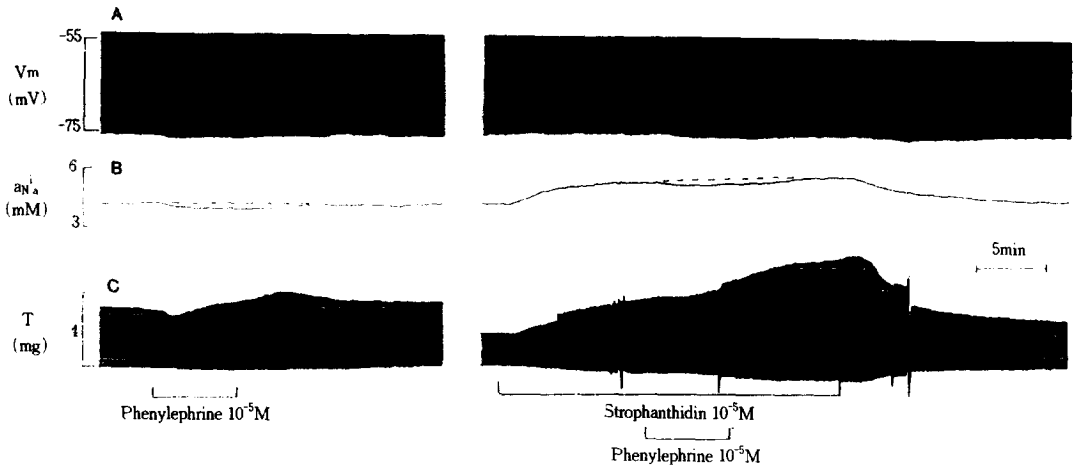


Fig 5. Effects of phenylephrine on membrane potential (V_m), intracellular Na^+ activity (a_{Na^+}), and twitch force (T) in the absence (left panel) or presence (right panel) of strophanthidin in hypothyroid ventricular papillary muscle. Other legends are the same as in Fig 2.

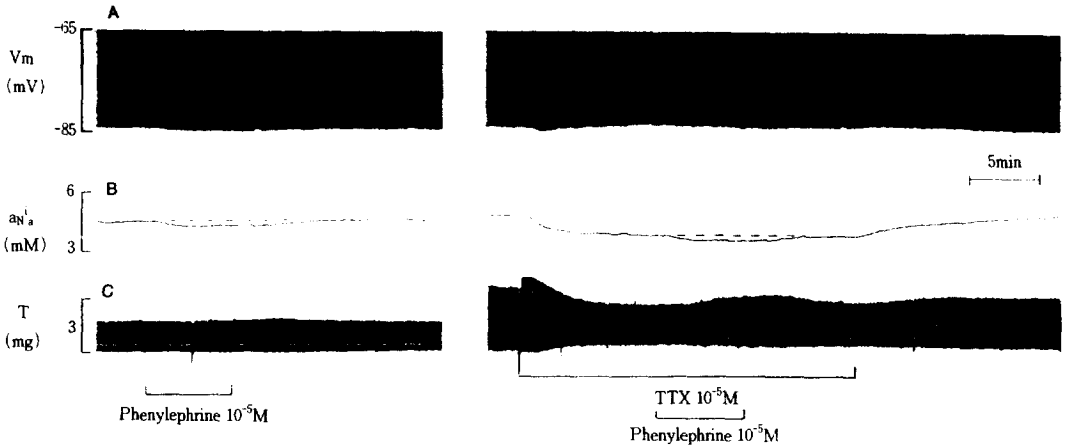


Fig 6. Effects of phenylephrine on membrane potential (V_m), intracellular Na^+ activity (a_{Na^+}), and twitch force (T) in the absence (left panel) or presence (right panel) of tetrodotoxin in hypothyroid ventricular papillary muscle. Other legends are the same as in Fig 2.

별 박동심근에서 막전위, a_{Na^+} 와 수축력에 미치는 phenylephrine의 효과를 관찰한 것이다. $10^{-5}M$ Phenylephrine을 6분간 투여할 때 모든 군에서 이완기 막전위가 약간 과분극되었다. 정상군과 기능저하중 심근에서 a_{Na^+} 가 4.91 ± 0.38 (mean \pm SD, $n=9$)에서 4.64 ± 0.38 mM로, 4.58 ± 0.89 ($n=9$)에서 4.25 ± 0.88 mM로 각각 0.28 ± 0.11 mM과 0.33 ± 0.1 mM이 감소하였으나 이와는 대조적으로 갑상선 기능항진중 심근에서는 5.57 ± 0.7 mM에서 6.07 ± 0.8 ($n=10$) mM로 0.5 ± 0.1 mM이 증가하였다. 수축력은 대조군에서 약 66%가 증가하였고, 갑상선기능항진중 심근에서 약 680%가 증가하고 갑상선

기능저하중 심근에서는 단지 약 8%의 증가현상을 보였다. 정상 심근에서는 초기 수축력 감소현상이 가끔 관찰되었지만 항진중 심근에서는 초기 수축력 감소현상을 볼 수 없었고, 기능저하중 심근에서는 뚜렷한 초기 수축력 감소 현상이 나타났다.

갑상선 기능 저하중 기니피크 심근에서 phenylephrine 효과에 미치는 atenolol의 영향: Phenylephrine은 α_1 -adrenoceptor에 선택적인 agonist로 알려져 있으나 β -adrenoceptor에 작용하여 β -adrenoceptor 자극 효과를 나타낼 수 있으므로 β -adrenoceptor 자극에 의한 영향을 차단하고 α_1 -adrenoceptor의 자극 효과를 관찰하기 위

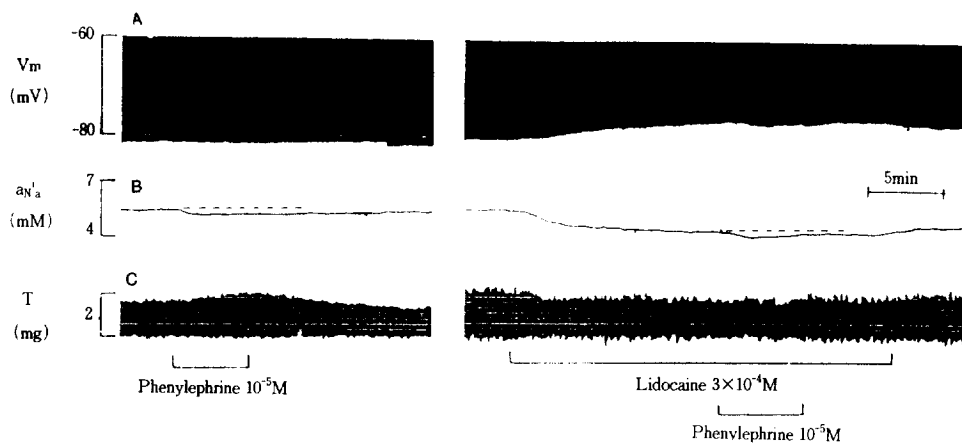


Fig 7. Effects of phenylephrine on membrane potential (V_m), intracellular Na^+ activity (a_{Na^+}) in the absence (left panel) or presence (right panel) of lidocaine in hypothyroid ventricular papillary muscle. Other legends are the same as in Fig 2.

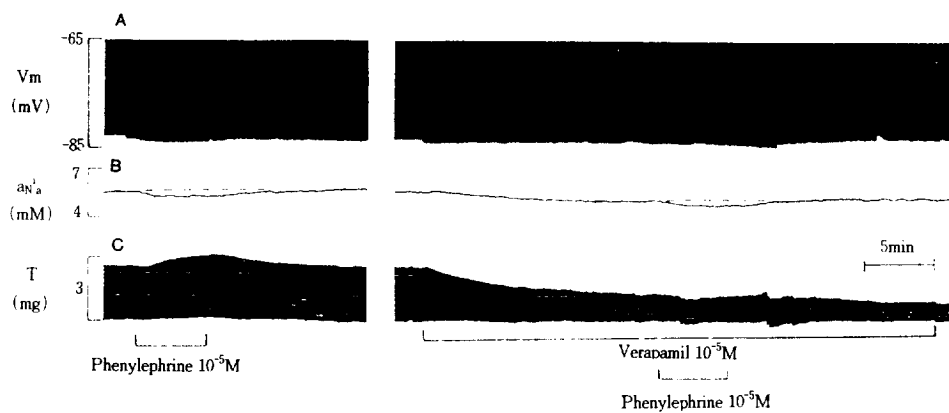


Fig 8. Effects of phenylephrine on membrane potential (V_m), intracellular Na^+ activity (a_{Na^+}), and twitch force (T) in the absence (left panel) or presence (right panel) of verapamil in hypothyroid ventricular papillary muscle. Other legends are the same as in Fig 2.

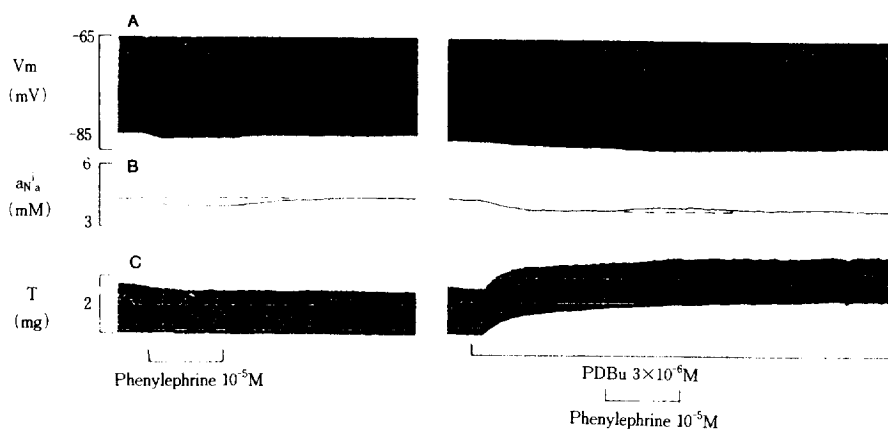


Fig 9. Effects of phenylephrine on membrane potential (V_m), intracellular Na^+ activity (a_{Na^+}), and twitch force (T) in the absence (left panel) or presence (right panel) of phorbol dibutyrate (PDBu) in hypothyroid ventricular papillary muscle. Other legends are the same as in Fig 2.

해 β -adrenoceptor의 길항제인 atenolol 10^{-5} M 존재하에서 phenylephrine의 효과를 관찰하였다(Fig 3). Atenolol 자체는 $a_{N_a}^i$ 및 심근 수축력을 약간 감소시켰다. 10^{-5} M phenylephrine은 이완기 막전위를 과분극시켰고 이 과분극이 atenolol에 의해 감소되었고, atenolol은 phenylephrine의 $a_{N_a}^i$ 감소 효과를 약간 억제하였다(0.1mM). 수축력은 phenylephrine에 의해 초기 일시적인 수축력 감소에 이어서 경미한 증가를 보였는데 이러한 효과는 atenolol에 의해 영향 받지 않았다.

갑상선기능저하증 기니피크 심근에서 phenylephrine 효과에 미치는 prazosin의 영향: Phenylephrine에 의한 막전위, $a_{N_a}^i$ 및 수축력 변동이 α_1 -adrenoceptor 자극 이외의 결과인가를 관찰하기 위해 α_1 -adrenoceptor 차단제인 3×10^{-7} M prazosin 존재하에서 phenylephrine의 효과를 관찰하였다(Fig 4).

Prazosin을 전처리하고 phenylephrine을 투여한 결과 막전위, $a_{N_a}^i$ 및 수축력 변동 효과가 모두 소실되었다. 이는 phenylephrine의 제동 효과가 α_1 -adrenoceptor를 통해 일어남을 시사한다.

갑상선기능저하증 기니피크 심근에서 phenylephrine에 의한 막전위, $a_{N_a}^i$ 수축력 변동 효과에 미치는 strophanthidin의 영향: Phenylephrine에 의한 막전위 과분극, $a_{N_a}^i$ 감소 및 수축력 변동이 Na^+ - K^+ pump 억제 기전을 통한 효과인가를 확인하기 위해 strophanthidin 존재하에서 phenylephrine의 영향을 관찰하였다. 10^{-5} M strophanthidine은 경미한 탈분극, $a_{N_a}^i$ 증가(4.0 mM에서 5.2 mM) 및 지속적인 수축력증가를 일으켰다.

Fig 5에서 보는 바와 같이 10^{-5} M phenylephrine은 과분극을 일으켰다. 이 과분극이 strophanthidine에 의해 영향받지 않았다. Phenylephrine은 $a_{N_a}^i$ 를 3.9에서 3.5 mM로 감소시켰고, strophanthidin 존재하에서도 5.2에서 4.8 mM로 감소시켰다. 그리고 수축력은 대조상태에서 현저한 초기 수축력 감소에 이어서 경미한 수축력 증가를 보였는데 이같은 변동이 strophanthidine에 의해 억제되지 않았다. 이와같은 결과는 phenylephrine에 의한 이완기 막전위 과분극, $a_{N_a}^i$ 및 수축력 변동효과가 Na^+ - K^+ pump 활성기전을 통한 것이 아님을 보여준다.

갑상선 기능저하증 기니피크 심근에서 phenylephrine에 의한 막전위 과분극, $a_{N_a}^i$ 감소 및 수축력 변동효과에 미치는 tetrodotoxin의 영향: Phenylephrine에 의한 $a_{N_a}^i$ 감소가 fast sodium channel를 통한 Na^+ 유입억제에 의한 결과인지를 알아보기 위하여 fast sodium channel blocker인 tetrodotoxin(TTX) 존재하에서 phenylephrine의 영향을 관찰하였다(Fig 6). 10^{-5} M TTX은 경미한 막전위의 탈분극, 현저한 $a_{N_a}^i$ 감소(4.8에서 3.8 mM), 수축

력 감소를 보였다. 10^{-5} M phenylephrine은 막전위를 과분극시켰고 이 과분극이 TTX에 의해 약간 억제되었다. Phenylephrine에 의한 $a_{N_a}^i$ 는 4.5에서 4.3 mM로 0.2 mM를 감소시켰고, TTX 존재하에서도 대조상태와 비슷하게 3.8에서 3.6 mM로 0.2 mM를 감소시켰다. 수축력은 초기 감소효과 없이 경미한 증가를 보였는데 TTX 존재하에서도 억제되지 않았다. 이와같은 결과는 phenylephrine에 의한 $a_{N_a}^i$ 감소 효과가 TTX-sensitive Na^+ 통로와 관계없이 일어날 수 있음을 알 수 있다.

갑상선기능저하증 기니피크 심근에서 phenylephrine에 의한 막전위 과분극, $a_{N_a}^i$ 감소 및 수축력 변동효과에 미치는 lidocaine의 영향: 갑상선기능저하증 기니피크 심근에서 fast sodium channel blocker인 lidocaine이 phenylephrine에 의한 과분극과 $a_{N_a}^i$ 감소 효과에 미치는 영향을 관찰하였다(Fig 7). 3×10^{-4} M Lidocaine은 점진적인 탈분극과 함께 2.7mM의 $a_{N_a}^i$ 를 감소시켰다. 10^{-5} Phenylephrine은 이완기 막전위를 과분극시켰고 이 효과가 lidocaine에 의해 억제되지 않았다. 대조상태에서 phenylephrine은 $a_{N_a}^i$ 을 0.2 mM 감소시켰는데 lidocaine 존재하에도 0.2 mM를 감소시켜 lidocaine에 의해 영향받지 않았다. 이와같은 결과는 phenylephrine에 의한 과분극 및 $a_{N_a}^i$ 감소 효과가 lidocaine sensitive- Na^+ channel을 통한 영향이 아님을 알 수 있었다.

갑상선기능저하증 기니피크 심근에서 phenylephrine에 의한 막전위 과분극 $a_{N_a}^i$ 감소 및 수축력 변동효과에 미치는 verapamil의 영향: Phenylephrine에 의한 막전위의 과분극과 $a_{N_a}^i$ 감소 효과가 Ca^{2+} channel을 통한 효과인가를 확인하기 위해 L-type Ca^{2+} channel blocker인 verapamil 존재하에서 phenylephrine의 영향을 관찰하였다(Fig 8). 10^{-5} M Verapamil은 막전위 탈분극과 약 0.6 mM의 $a_{N_a}^i$ 을 감소시키고 현저하게 수축력을 감소시켰다.

Phenylephrine은 막전위를 현저히 과분극시켰고 이 과분극 효과는 verapamil에 의해 차단되지 않았다. Phenylephrine은 $a_{N_a}^i$ 을 5.4에서 5.1 mM로 0.3 mM을 감소시켰고 verapamil 존재하에서도 5.2에서 4.9 mM로 0.3 mM를 감소시켜 verapamil에 의해 $a_{N_a}^i$ 감소 효과가 영향받지 않았다. 그러나 수축력은 phenylephrine에 의해 약 20%정도 증가되었고 이 증가효과가 verapamil에 의해 억제되었다. 이는 phenylephrine에 의한 $a_{N_a}^i$ 감소효과가 L-type calcium channel를 경유한 Na^+ 유입억제현상이 아님을 알 수 있었다.

갑상선기능저하증 기니피크 심근에서 phenylephrine에 의한 막전위 과분극 $a_{N_a}^i$ 감소 및 수축력 변동 효과에 미치는 phorbol dibutyrate의 영향: α_1 -adrenoceptor 자극

에 의한 막전위, $a_{N_a}^i$ 및 수축력 변동효과가 PKC 활성화에 의한 결과인지를 알아보기 위하여 PKC 활성화제로 알려진 phorbol dibutyrate(PDBu) 존재하에서 phenylephrine의 효과를 관찰하였다. PDBu는 막전위의 과분극, $a_{N_a}^i$ 를 약 0.3 mM 감소 그리고 수축력의 장력을 증가시켰다. 10^{-5} M phenylephrine은 과분극을 일으켰고 이 과분극이 PDBu에 의해 억제되지 않았다. 그리고 대조상태의 phenylephrine은 $a_{N_a}^i$ 을 4.2에서 3.8 mM로 약 0.4 mM를 감소시켰으나 이와는 대조적으로 PDBu 존재하에서 phenylephrine은 0.2 mM의 $a_{N_a}^i$ 을 증가시켰다. 수축력은 이 감소 효과가 phenylephrine에 의해 약간 감소되었고 PDBu에 의해 약간 억제된 경향을 보였다(Fig 9). 갑상선기능저하증 기니피크 심근에서 α_1 -adrenoceptor 자극시 $a_{N_a}^i$ 을 증가시키는 기전과 감소시키는 두 기전이 있는데 $a_{N_a}^i$ 를 감소시키는 기전은 phorbol ester sensitive 기전에 의해 PKC가 활성화되어 일어날 수 있음을 알 수 있다.

고찰

심장은 교감신경계의 많은 지배를 받고 있기 때문에 어떠한 원인으로 adrenoceptor의 숫적변동 또는 친화성 변화는 심장기능을 변동시킬 수 있고, 심장의 주된 기능은 기계적 pump로서의 역할이기 때문에 어떠한 원인으로 전기생리학적 변동 또는 생화학적 변화는 심장의 기계적 변동 즉, 수축력을 변동시킬 수 있다. 그런데 이와같이 심장기능을 조절할 수 있는 요인들이 갑상선 기능에 따라 변동되거나 변화할 수 있다고 한다.¹²

많은 연구자들은 실험동물과 사람에서 갑상선의 기능이 변동됨에 따라 심장의 β -adrenoceptor 뿐만 아니라 α -adrenoceptor의 숫적변동 및 친화성 변화를 보고 하였는데 특히 갑상선기능항진 및 갑상선 호르몬에 의해 α -adrenoceptor의 숫적 또는 밀도가 감소하고¹³⁻¹⁵, 갑상선기능저하나 PTU에 의해 α -adrenoceptor의 숫적 증가 및 밀도가 증가^{13, 14, 16} 한다고 한 반면 감소^{13-15, 17, 18}한다고 한다. 그리고 Ishac et al¹⁸은 갑상선기능저하증에서 catecholamine에 반응하는 수축반응이 α -adrenoceptor 증가에 의하고 α_1 -adrenoceptor 자극효과가 현저히 강화된다고 하였다. 그러나 갑상선기능저하 환자에서 phenylephrine에 반응성이 저하하고 norepinephrine치가 증가하는데 이는 수용체 또는 활성도 감소와 관련된다고 한다.¹⁹ 본 실험에서 α_1 -adrenoceptor 자극에 의한 수축력 변동으로 볼 때 갑상선기능항진증 심근에서 현저하게 증가되었고 반면 기능저하증 심근에서는 경미한 증가를 보여 갑상선기능저하로 인한 α -adrenoceptor의 숫적 증가나 phenylephrine에 대한 반응성이 증가되

었다고는 할 수 없었다. 그리고 갑상선 호르몬의 약리·생화학적 작용기전에 대해서 갑상선 호르몬이 심장 세포막의 Na^+ - K^+ ATPase와 Ca^{2+} -ATPase의 활성도를 증가시킨다.²⁰⁻²² 일부 전기 생리학적 특성에 관한 연구로서 갑상선 호르몬이 심근 세포막의 Ca^{2+} 이온 통로를 증가시키거나 감소시키고^{23, 24}, 기니피크 심장 세포에서 slow inward current 및 Ca^{2+} current를 증가시킨다는 보고가 있다.^{25, 26} 이와같이 갑상선 기능에 의한 심근 또는 심근세포의 이온 전달 및 β -adrenoceptor의 작용 등이 추가되어 왔으나 α -adrenoceptor와 이온 전달계의 관계에 대해서는 거의 밝혀져 있지 않았다.

본 연구에서 실험적으로 갑상선기능항진증과 기능저하증으로 유도시킨 기니피크 심근을 분리하여 실험한 결과 각 갑상선 기능별 기니피크 심근의 α_1 -adrenoceptor 자극에 의해 심근의 전기 생리학적 특성이 변동되었음을 관찰하였다. 정상 심근에서는 $a_{N_a}^i$ 가 대부분의 실험예에서 감소하였으나 초기 수축력 감소는 때로 나타나지 않고 지속적인 수축력 증가를 보였다. 갑상선기능항진증 심근에서는 모든 실험예에서 $a_{N_a}^i$ 가 증가하였고, 초기 수축력 감소는 전혀 나타나지 않고 강력한 수축력 증가를 보였다. 그리고 기능저하증 심근에서는 $a_{N_a}^i$ 가 정상 심근보다 더욱 감소되었고 특히 현저한 초기 수축력 감소에 이어서 경미한 수축력 증가를 나타냈다. 이와같은 결과는 갑상선 기능에 따라 심장기능이 조절될 수 있음을 의미하며 이때 $a_{N_a}^i$ 의 변동은 주요한 원인이 될 수 있다고 하겠다. α_1 -adrenoceptor 자극으로 강력한 수축력 증가를 보인 갑상선기능항진증 심근에서 $a_{N_a}^i$ 가 증가했고 기능저하증 심근에서 $a_{N_a}^i$ 감소와 일치하게 초기 수축력 감소가 일어났음은 수축력 조절에 $a_{N_a}^i$ 가 관련되고 α_1 -adrenoceptor 자극에 의한 $a_{N_a}^i$ 효과는 갑상선 기능에 따라 변동될 수 있음을 시사한다. 또 하나 전기 생리학적 변동을 살펴보면 대부분의 연구자들은 심장에서 갑상선 호르몬 또는 갑상선기능항진증으로 인해 APD가 단축됨을 보였고,²⁶⁻²⁸ 이와 대조적으로 갑상선기능저하인 심장 세포나 심근에서 APD의 연장을 보고하였다.²⁶⁻²⁹ 그리고 안정막전위에 대해서는 갑상선 상태에 따라 변화가 없음을 밝혔다.²⁶⁻²⁸ 본 연구에서도 상기의 보고들과 같이 APD 단축 및 연장 그리고 안정막전위에 대해 일치된 결과를 얻었고, 갑상선 기능에 따른 APD 변화기전에 대해서는 더 연구하지는 않았으나 갑상선 호르몬에 의한 전기 생리학적 특성이 APD에서 나타날 수 있으므로 APD의 변화기전에 대해서는 더욱 규명되어야 할 것이다.

APD를 결정하는 요인으로는 첫째 K^+ 통로의 개구시간에 의해 결정되고, 둘째 세포내 Ca^{2+} 이 나갈때 Na^+

-Ca²⁺ 교환기를 통해 나가는데 양이온이 하나 더 들어와 탈분극이 유지됨으로써 활동전위의 phase 2가 생긴다.³⁰ 그리고 흰쥐 심근에서 갑상선 호르몬에 의한 APD 단축효과가 Na⁺-pump 자극으로 인하며³¹ 만성적 갑상선기능항진으로 인한 APD 변화가 심장비대에 의한 결과인가를 확인하기 위해 실험동물에 T₄를 투여한 직후 APD가 단축효과가 있음을 관찰하여 심근세포의 심장비대에 의한 변화는 아니고 갑상선 호르몬과 관련된 단백질 합성에 의한 효과임을 밝혔다.²⁷ 또한 흥미를 느끼게 하는 것은 APD 갑상선 기능, 산소 소모율과 각각 대사율이 다른 동물간의 상호관계가 밀접하다는 것이다.²⁹ 산소 소모율이 적은 동물일수록 APD는 연장되고 개, 기니피크, moli-rat, rat, 마우스, shrew 순서에 따라 체중이 적고 산소 소모율이 클수록 APD는 감소함을 보고하였다.²⁹ 항은 동물에서 갑상선 호르몬이 산소 소모율을 조절한다³²는 것으로 미루어 보아 APD, 갑상선 기능과 산소 소모율간의 상호관계는 밀접한 것으로 추정된다.

Otani et al⁴, Otani et al⁹과 Iwakura et al⁷에 의하면 α₁-adrenoceptor 자극시 나타나는 PIE는 Na⁺-H⁺ 교환기 활성화, Na⁺-Ca²⁺ 교환기, 세포내 Ca²⁺ 유리 및 Ca²⁺ 통로를 통한 Ca²⁺ 유입에 의해 일어나는데 이들은 PKC 자극에 의한다고 한 반면 Endou et al⁸은 PIE에 PKC가 관여하지 않는다고 한 바 있다. 이렇게 흰쥐 심근이나 심장 세포에서 α₁-adrenoceptor 자극시 나타나는 PIE 기전에 대한 많은 보고가 있으나 NIE 기전에 대해서는 명확하지 않다.

최근 Zaza et al¹¹은 Purkinje fiber를 phenylephrine으로 자극할 때 automaticity가 감소하고 a_{N₁A}가 감소하는데 그 원인이 Na⁺-K⁺ pump의 자극에 의하며, Wang et al¹⁰은 기니피크 심근에서 α₁-adrenoceptor 자극으로 초기 NIE가 a_{N₁A}의 감소와 관련되며 이 a_{N₁A} 감소 기전이 TT-X-sensitive Na⁺ 통로와 관련된다고 하였다. 그러나 본 실험에서 갑상선기능저하증 기니피크 심근의 α₁-adrenoceptor를 자극할 때 나타나는 a_{N₁A} 감소와 뚜렷한 NIE 효과가 Na⁺-K⁺ pump 억제제인 strophanthidin에 의해 차단되거나 억제되지 않아 Na⁺-K⁺ pump 활성화에 의해서 a_{N₁A}가 감소하거나 NIE가 나타나는 것은 아닐 것으로 추측된다. 아울러 fast Na⁺ 통로 차단제로 알려진 T-TX나 lidocaine에 의해서도 a_{N₁A} 감소 효과 NIE가 차단되지 않음을 Na⁺ 통로를 통한 Na⁺ 유입 감소의 결과라고 할 수 없었다. 이와같은 결과는 동물이나 실험표본의 차이일 수 있으나 저자는 a_{N₁A}의 감소와 NIE가 일치하며 뚜렷한 반응을 나타내는 갑상선기능저하증 심근을 이용하였다는 사실은 NIE 기전에 대한 명확한 증거를

얻고자 하였던 것이다. 또 하나의 a_{N₁A} 변동기전으로 Ca²⁺ 통로나 Na⁺-Ca²⁺ 교환기를 경유한 경우이다. 세포내의 Na⁺와 Ca²⁺이 electrochemical gradient에 따라 양측으로 Na⁺-Ca²⁺ 교환기가 작동할 수 있으므로 세포내 Ca²⁺이 증가되면 Na⁺-Ca²⁺ 교환기가 Ca²⁺을 감소시키는 방향으로 작용하여 Ca²⁺을 제거하고 Na⁺를 증가시킨다.³³ 그러나 이 실험에서 NIE가 Na⁺이 들어가는 Na⁺-Ca⁺ 교환기에 의해서라면 Ca²⁺이 제거되면서 수축력이 감소하여 NIE가 나타나고 a_{N₁A}가 증가되어야 하는데 실제로 NIE는 나타났고 a_{N₁A}는 증가되지 않고 감소하여 α₁-adrenoceptor 자극으로 Na⁺-Ca²⁺ 교환기를 통한 NIE가 나타나지 않은 것으로 추정되나 P-DBu 존재하에서는 a_{N₁A} 증가 효과가 나타났으므로 Na⁺-Ca²⁺ 교환기전을 경유할 수 있음을 배제할 수는 없겠다. 또한 L-type Ca²⁺ 통로 차단제인 verapamil 자체로 수축력 및 a_{N₁A} 감소를 보여 Ca²⁺ 통로를 통해 a_{N₁A}가 증가되거나 감소될 수 있음을 시사하고 있으므로 verapamil 존재하에서 α₁-adrenoceptor 자극에 의한 a_{N₁A} 감소 효과가 차단되지 않아 Ca²⁺ 통로 억제로 a_{N₁A}가 감소되거나 NIE가 나타나는 결과가 아님을 알 수 있다.

끝으로 Endou et al⁸은 PIE는 PKC를 경유하지 않고 NIE가 PKC를 경유한 효과임을 밝혔으나 이들은 수축력에 의한 실험적 결과로 보였다. 심근의 수축력을 결정하는 가장 중요한 이온이 Ca²⁺이지만 이 Ca²⁺을 조절하는 인자가 바로 Na⁺이다. 즉, 세포내의 Na⁺ electrochemical gradient에 의해 Na⁺ 그리고 Ca²⁺이 변동되고 수축력이 변동된다. 그래서 수축력과 a_{N₁A} 동시 측정 은 이들 기전을 설명하는데 유용할 수 있다. 본 실험에서 α₁-adrenoceptor 자극으로 a_{N₁A}가 감소하였고, PKC 활성화제인 PDBu 존재하에서는 a_{N₁A}가 증가되었다. 이는 α₁-adrenoceptor 자극으로 a_{N₁A}를 증가와 동시에 감소시키는 기전이 있는데 a_{N₁A}의 감소 기전은 PKC를 경유한 결과임을 시사하지만 감소기전에 관하여는 이온 전달계의 규명과 함께 증가시키는 기전에 대해서는 더욱 연구해 보아야 할 것으로 사료된다.

결 론

정상, 갑상선기능항진 및 기능저하증 기니피크 심근에서 phenylephrine에 의한 α₁-adrenoceptor 자극으로 변동되는 막전위 세포내 Na⁺ 활성화도(a_{N₁A}) 및 수축력을 측정 한 결과는 다음과 같다.

1. 정상 기니피크의 심장 무게는 3.2±0.2 g 이었고, 갑상선기능항진증과 기능저하증 기니피크 심장의 무게는 각각 4.3±0.3 g과 2.0±0.2 g으로 유의성 있게 증가하였다.

2. 정상 기니픽의 심근의 활동전위기간(APD₉₀, 재분극 90%)은 227±15 msec이었고, 갑상선기능항진증과 기능저하증 기니픽 심근의 APD₉₀는 각각 163±10 msec과 257±19 msec로 유의성 있게 단축 혹은 연장되었다.

3. 정상 갑상선기능항진증 및 기능저하증 기니픽 심근에서 10⁻⁵M phenylephrine에 의한 α₁-adrenoceptor 자극으로 모두 과분극을 일으켰다.

4. 정상과 갑상선기능저하증 기니픽 심근에서 10⁻⁵M phenylephrine은 a_{N_a}ⁱ를 각각 0.27 mM과 0.33 mM을 감소시켰으나 갑상선기능항진증 기니픽 심근에서는 a_{N_a}ⁱ을 0.5 mM 증가시켰다.

5. 갑상선기능항진증 기니픽 심근에서 10⁻⁵M phenylephrine은 수축력을 현저히 증가시켰고, 갑상선기능저하증 기니픽 심근에서 a_{N_a}ⁱ 감소와 일치하게 초기 수축력 감소를 일으켰다.

6. 갑상선기능저하증 기니픽 심근에서 10⁻⁵M phenylephrine에 의한 막전위, a_{N_a}ⁱ 및 수축력 변동이 3×10⁻⁷M prazosin으로 차단되었다.

7. 갑상선기능저하증 기니픽 심근에서 10⁻⁵M phenylephrine에 의한 a_{N_a}ⁱ 감소가 10⁻⁵M strophanthidin, 10⁻⁵M tetrodotoxin, 3×10⁻⁴M lidocaine 및 10⁻⁵ M verapamil에 의하여 영향받지 않았다.

8. 갑상선기능저하증 기니픽 심근에서 10⁻⁵M phenylephrine이 a_{N_a}ⁱ를 감소시켰으나 PKC활성제인 phorbol dibutyrate 존재하에서는 증가시켰다.

정상 갑상선기능항진증 및 기능저하증 기니픽 심근에서 α₁-adrenoceptor 자극에 의한 이상과 같은 실험결과를 요약하면 갑상선 기능에 따라 전기 생리학적인 이온 전달계의 특성이 변할 수 있고, 갑상선 저하증 기니픽 심근에서의 a_{N_a}ⁱ 감소는 초기 수축력의 감소의 원인이 될 수 있다. 이와같은 a_{N_a}ⁱ 감소가 PKC와 관련되며 Na⁺-K⁺ pump 활성, Na⁺ 통로 억제 또는 Ca²⁺ 통로 억제에 의한 결과가 아닌 것으로 추측된다.

참 고 문 헌

1. Otani H, Hitomi, Dipak KD. Evidence that phosphoinositide response is mediated by α₁-adrenoceptor stimulation, but not linked excitation-contraction coupling in cardiac muscle. *Biochem Biophys Res Comm* 1986 ; 136 : 863~869.
2. Wilhelm S, Hasso S, Jens S, et al. Increase in IP₃ precedes α-adrenoceptor-induced increase in force of contraction in cardiac muscle. *Eur J Pharmacol* 1987 ; 140 : 109~111.

3. Brown JH, Buxton IL, Brunton LL. α₁-Adrenergic and muscarinic cholinergic stimulation of PI hydrolysis in adult rat cardiomyocytes. *Circ Res* 1985 ; 57 : 532~537.
4. Otani H, Otani H, Das DK. α₁-adrenoceptor-mediated phosphoinositide breakdown and inotropic response in rat left ventricular papillary muscles. *Circ Res* 1988 ; 62 : 8~17.
5. Okumura K, Kawai T, Hashimoto H, et al. Sustained diacylglycerol formation in norepinephrine-stimulated rat heart is associated with α₁-adrenoceptor. *J Cardiovasc Pharmacol* 1988 ; 11 : 651~656.
6. Putney JW. Formation and actions of calcium-mobilizing messenger, inositol 1, 4, 5-triphosphate. *Am J Physiol* 1987 ; 252 : 6149~6159.
7. Iwakura K, Hori M, Watanabe Y, et al. α₁-adrenoceptor stimulation intracellular pH and Ca²⁺ in cardiomyocytes through Na⁺/H⁺ and Na⁺/Ca⁺ exchange. *Eur J Pharmacol* 1990 ; 186 : 29~40.
8. Endou M, Hattori Y, Tohse N, et al. Protein kinase C is not involved in α₁-adrenoceptor mediated positive inotropic effect. *Am J Physiol* 1991 ; 260 : H27~H36.
9. Otani H, Otani H, Uriu T, et al. Effects of inhibitors of protein kinase C and Na⁺/H⁺ exchange on α₁-adrenoceptor-mediated inotropic response in the rat left ventricular papillary muscle. *Br J Pharmacol* 1990 ; 100 : 207~210.
10. Wang DY, Gong Qy, Chae SW, et al. The negative inotropic response to α₁-adrenergic stimulation is associated with a decrease in intracellular sodium activity. Federation of American for Experimental Biology 1990 ; 74th Annual Meeting(abstract).
11. Zaza A, Kline RP, Rosen MR. Effects of α-adrenergic stimulation on intracellular sodium activity and automaticity in canine Purkinje fibers. *Circ Res* 1990 ; 66 : 416~426.
12. Morkin E, Flink IL, Goldman D. Biochemical and physiologic effects of thyroid hormone on cardiac performance. *Prog Cardiovasc Dis* 1983 ; 25 : 435~463.
13. Sharma VK, Banerjee SP. Alpha adrenergic receptor in rat heart. *J Biol Chem* 1978 ; 253 : 5277~5279.
14. Gunasekera RD, Kuriyama H. The influence of thyroid states upon responses of the rat aorta to catecho-

- lamines. *Br J Pharmacol* 1990 ; 99 : 541~547.
15. Limas C, Limas CJ. Influence of thyroid status on intracellular distribution of cardiac adrenoceptor. *Circ Res* 1987 ; 61 : 824~828.
 16. Kunos G, Mucci L, O'Regan S. The influence of hormonal and neural factors on rat heart adrenoceptors. *Br J Pharmacol* 1980 ; 71 : 371~386.
 17. Noguchi A, Whitsett JA. Ontogeny of alpha-adrenergic receptors in the rat myocardium : effects of hypothyroidism. *Eur Pharmacol* 1983 ; 86 : 43~50.
 18. Ishac E, Pennefather JN, Handberg GM. Effect of changes in thyroid state on atrial α - and β -adrenoceptors, adenylate cyclase activity and catecholamine levels in the rat. *J Cardiovasc Pharmacol* 1983 ; 5 : 396~405.
 19. Poliker R, Kennedy B, Ziegler M, et al. Decreased sensitivity to α -adrenergic stimulation in hypothyroid patients. *J Clin Endocrinol Meta* 1990 ; 70 : 1761~1764.
 20. Philipson KD, Edelman IS. Characteristics of thyroid-stimulated Na^+ - K^+ -ATPase of rat heart. *Am J Physiol* 1977 ; 232 : C202~C206.
 21. Kim D, Smith TW. Effects of thyroid hormone on calcium handling in cultured chick ventricular cells. *J Physiol* 1985 ; 364 : 131~149.
 22. Rudinger A, Mylotte KM, Davis PJ, et al. Rabbit myocardial membrane Ca-adenosine triphosphatase activity : stimulation *in vitro* by thyroid hormone. *Arch Biochem Biophys* 1984 ; 229 : 379~385.
 23. Kim D, Smith TW, Marsh JD. Effects of thyroid hormone on slow calcium channel function in cultured chick ventricular cells. *J Clin Invest* 1987 ; 80 : 88~94.
 24. Hawthorn MH, Gengo P, Wei XY, et al. Effect of thyroid status on β -adrenoceptors and calcium channels in rat cardiac and vascular tissue. *Arch Pharmacol* 1988 ; 337 : 539~544.
 25. Rubinstein I, Binah O. Thyroid hormone modulates membrane currents in guinea-pig ventricular myocytes. *Arch Pharmacol* 1989 ; 705~711.
 26. Binah O, Rubinstein, I, Gilat E. Effects of thyroid hormone on the action potential and membrane currents of guinea pig ventricular myocytes. *Eur J Physiol* 1987 ; 409 : 214~216.
 27. Felzen B, Sweed Y, Binah O. Electrophysiological effects of thyroid hormones in guinea-pig ventricular muscle : Time course and relationships to blood levels. *J Cell Cardiol* 1989 ; 21 : 1151~1161.
 28. Sharp NA, Neel DS, Parsons RL. Influence of thyroid hormone levels on the electrical and mechanical properties of rabbit papillary muscle. *J Mol Cell Cardiol* 1985 ; 17 : 119~132.
 29. Binah O, Arieli R, Beck R, et al. Ventricular electrophysiological properties : is interspecies variability related to thyroid state ? . *Am J Physiol* 1987 ; 252 : H1265~H1274.
 30. Egan TM, Noble SJ, Powell T, et al. Sodium-calcium exchange during the action potential in guinea pig ventricular cells. *J Physiol* 1989 ; 411 : 639~661.
 31. Philipson KD, Edelman IS. Thyroid hormone control of Na^+ - K^+ -ATPase and K^+ -dependent phosphatase in rat heart. *Am J Physiol* 1977 ; 232 : C196~C201.
 32. Ismail-Beigi F, Edelman IS. Mechanism of thyroid calorigenesis : role of active sodium transport. *Proc Natl Acad Sci* 1970 ; 67 : 1071~1078.
 33. Allen TJ, Noble AD, Reuter H. Sodium calcium exchange. Oxford University Press 1989.