

기니픽 유두근에서 α_1 -adrenoceptor 자극에 의한 세포내 pH와 Na^+ 증가는 $\text{Na}^+\text{-H}^+$ 교환기를 경유

김진상

전북대학교 수의과대학
(1994년 12월 30일 접수)

α_1 -adrenoceptor stimulation increases intracellular pH and Na^+ via $\text{Na}^+\text{-H}^+$ exchange in guinea pig papillary muscle

Jin-sang Kim

College of Veterinary Medicine, Chonbuk National University
(Received Dec 30, 1994)

Abstract : The effect of α_1 -adrenoceptor(α_1 -AR) stimulation on intracellular pH(pH_i), Na^+ activity(a_{Na^+}) and contractility were investigated in isolated papillary muscles of euthyroid or hyperthyroid guinea pig with conventional microelectrode, Na^+ or H^+ -selective microelectrodes, and tension transducer.

Stimulation of the α_1 -AR by phenylephrine produced a decrease in a_{Na^+} in euthyroid preparations. This decrease in a_{Na^+} was abolished in presence of PKC activator, phorbol dibutyrate, and increased contrary to decrease. Phenylephrine also increased a_{Na^+} in hyperthyroid ones. However, phenylephrine produced an increase in pH_i in both euthyroid and hyperthyroid ones. These changes were blocked by prazosin, an antagonist of α_1 -AR. These findings suggest that the changes in a_{Na^+} and pH_i are mediated by a stimulation of $\text{Na}^+\text{-H}^+$ exchange via α_1 -AR stimulation. This study focused on the increase in a_{Na^+} , pH_i and contractility. The increase in pH_i was blocked by amiloride or EIPA, $\text{Na}^+\text{-H}^+$ exchange inhibitors. Therefore, the increase in a_{Na^+} and pH_i mediated by α_1 -AR appeared to be due to an influx of Na^+ and a reduction of H^+ through $\text{Na}^+\text{-H}^+$ exchange. This study also revealed that the increase in pH_i and a_{Na^+} might be related to the sustained positive inotropic response. The a_{Na^+} increase may contribute to the intracellular Ca^{2+} through the $\text{Na}^+\text{-Ca}^{2+}$ exchange, and the pH_i increase could cause an increase in the Ca^{2+} sensitivity of myofilaments and may augment the α_1 -AR-mediated positive inotropic response.

Key words : α_1 -adrenoceptor, intracellular pH, intracellular sodium activity, phenylephrine, $\text{Na}^+\text{-H}^+$ exchange

서론

심장에서 α_1 -adrenoceptor(α_1 -AR) 자극은 수축력 증

가^{1,2}, 심근 비대³, 단백질 합성⁴과 부정맥의 원인⁵ 등 많은 생리학적 작용을 나타내고 있는데 수축력 증가 기전으로 IP_3 에 의한 세포내 Ca^{2+} 저장소로부터 Ca^{2+} 유리⁶,

PKC 활성화로 인한 Ca^{2+} 통로 개구⁷ 및 Na^+H^+ 교환기 활성화 등이 보고되었다^{2,8,9,10}. 이들 작용 기전 중 Na^+H^+ 교환기가 활성화 되면 세포내 H^+ 의 제거로 인한 alkalization으로 myofilament의 Ca^{2+} 감응도가 증가하여 수축력 증가요인이 될 수 있다¹¹. 그러나 초기 많은 연구자들은 α_1 -AR 자극에 의한 Na^+H^+ 교환기 활성화에 의한 수축력 증가 현상을 설명하고 있으나 Na^+ 와 H^+ 의 교환에 의한 세포내 Na^+ 활성도(a_{Na^+})에 대해서는 정확한 설명을 하지 못하고 있다. 단지 Terzic et al⁹은 Na^+K^+ ATPase 억제제인 ouabain을 처치한 심방에서 α_1 -AR 자극으로 더 많은 수축력의 증가 및 a_{Na^+} 의 증가를 보고한 바 있으나 이는 정상 상태의 심근에서 효과가 아니고 ouabain 처치전의 실험조직에서 α_1 -AR 자극에 의한 Na^+ 변동을 보여주지 않아 Na^+H^+ 교환기 자극에 의한 증가 기전을 설명하지 못했다. 심근에서 α_1 -AR 자극시 Na^+H^+ 교환기가 활성화되면 세포내 pH(pH_i) 증가 및 a_{Na^+} 의 증가가 관찰되어야 하는데 이전 연구자들은 alkalization만을 관찰하였고, 오히려 α_1 -AR 자극시 a_{Na^+} 가 감소¹²되기 때문에 Na^+H^+ 교환기를 활성화시킨다는 직접적인 증거를 제시하지 못했다. 최근 저자는 기니픽 유두근에서 막전위, a_{Na^+} 및 수축력을 동시에 측정하면서 α_1 -AR 자극 효과를 관찰한 결과 정상동물의 심근에서는 a_{Na^+} 가 감소되어 Na^+H^+ 교환기의 활성을 의심하였으나 과갑상선 호르몬증 기니픽 및 몇몇 정상 기니픽 심근에서 a_{Na^+} 의 증가를 관찰하였고 역시 두군에서 pH_i의 증가를 관찰하여 α_1 -AR 자극에 의한 수축력 증가 기전은 a_{Na^+} 증가와 세포내 alkalization을 일으키는 Na^+H^+ 교환기의 활성화에 의한 결과임을 보고하는 바이다.

재료 및 방법

실험동물

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

과갑상선 호르몬증 guinea pig : 체중 250g 내외의 guinea pig에 9-12일간 L-thyroxine(Sigma)을 0.3mg/kg 매일 2회씩 복강내 투여하였다.

수축력, 세포내 Na^+ 활성도(a_{Na^+}), 세포내 pH(pH_i) 및 막전위 측정 : 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.

Stereozoom하에서 우심실로부터 직경이 약 0.5-

1mm, 길이가 약 2-3mm의 유두근을 적출하여 tissue chamber에 넣어 고정하고 유두근의 원위부는 tension transducer에 연결하여 수축력을 측정하였다. 전기 자극은 1Hz로 실시하면서 chamber 통로를 통해 산소가 포화된 영양액(36-37°C, 137 mM, NaCl, 5.4mM 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^+ 및 H^+ 이온에 선택적으로 작용하는 neutral carrier로 만들어진 Na^+ 및 H^+ 이온 선택적 미세전극을 일반 전극 가까이 삽입하여 세포내 Na^+ 활성도와 세포내 pH를 측정하였다. Na^+ 와 세포내 pH 선택적 미세 전극의 calibration은 실험 전 후 표준 용액으로 실시하였다. 세포내 H^+ 농도 측정에서는 H^+ 미세 전극의 안정화를 위하여 영양액은 Tyrode용액 성분 중 NaH₂PO₄와 NaHCO₃를 제거하고 HEPES buffer로 대체하여 pH를 7.4로 교정한 후 100% 산소만으로 포화시켜 사용하였다.

이용기기 및 사용약물 : 이용 기기는 전기 자극기 (Model 305-R, WPI), 전기 자극 조절기(1835-B, WPI), electrometer(FD 223, WPI), microprobe system(KS-700, WPI), recording system(M-3000, Gould), oscilloscope (5113, Tektronix), tension transducer(M-405, Cambridge), stereozoom microscope(Olympus), illuminator (Dsenner Inc) micromanipulator(Prior) 및 vibration isolator table(Harvard) 등이었다. 사용약물은 thyroxine, phenylephrine, atenolol, prazosin 및 phorbol dibutyrate (이상 Sigma), amilorde(RBI), EIPA(donation) 등이었다.

결 과

정상 기니픽 심근에서 phenylephrine에 의한 막전위 과분극, pH_i 및 수축력 증가 효과에 미치는 prazosin의 영향 : Phenylephrine에 의한 수축력 및 pH_i와 막전위 변동이 α_1 -AR를 경유한 효과인지를 확인하기 위해서 정상 기니픽 심근에서 3×10^{-7} M prazosin 존재하에서 phenylephrine의 효과를 관찰하였다(Fig 1). 10^{-5} M phenylephrine은 세포내 pH를 7.15에서 7.21로 0.06 증가시켰고 1mV의 과분극과 수축력을 증가시켰다. 이러한 효과들이 α_1 -AR 차단제인 prazosin으로 차단되어 α_1 -AR를 경유한 효과임을 확인하였다.

정상 기니픽 심근에서 phenylephrine에 의한 막전위 과분극, pH_i 및 수축력 증가 효과에 미치는 amil-

orde의 영향 : α_1 -AR 자극에 의한 $\text{Na}^+\text{-H}^+$ 교환기 활성화로 pH_i 가 증가하는가를 관찰하기 위하여 $\text{Na}^+\text{-H}^+$ 교환기 억제제인 amiloride 존재하에서 phenylephrine의 영향을 관찰하였다(Fig 2). 0.1mM amiloride는 막전위의 탈분극과 함께 pH_i 를 약 0.27 감소시켜 산성화를 일으켰고 수축력을 현저히 억제하였다. 대조 실험에서 phenylephrine은 pH_i 를 0.06정도 증가시켰고 이 증가 효과가 amiloride에 차단되었고 과분극과 수축력도 억제되었다. 이로써 정상 기니픽 심근에서 α_1 -AR 자극에 의한 pH_i 증가는 $\text{Na}^+\text{-H}^+$ 교환기 활성화에 의한 효과임을 추측할 수 있었다.

정상 기니픽 심근에서 막전위, a_{Na^+} 및 수축력에 미치는

phenylephrine의 영향 : Fig 1에서 보는 바와 같이 α_1 -AR 자극은 pH_i 를 증가시켰고 이 효과가 $\text{Na}^+\text{-H}^+$ 교환기 억제제인 amiloride에 의해 차단되었다. 결국 $\text{Na}^+\text{-H}^+$ 교환기 자극에 의한 결과임을 암시하고 있으나 정상 기니픽 심근에서 α_1 -AR 자극은 대부분의 실험 유두근(55개 sample 중 50개 sample, 91%, Fig 3의 panel left)에서 감소를 일으키므로 $\text{Na}^+\text{-H}^+$ 교환기의 활성을 의심케 하지만 몇몇 유두근(55개 sample 중 5개 sample, 9%, Fig 3의 panel right)에서는 a_{Na^+} 의 증가를 보여 $\text{Na}^+\text{-H}^+$ 교환기 활성을 입증하고 있다. 그러나 왜 정상 기니픽 심근에서 a_{Na^+} 의 감소와 소수 조직에서 증가를 나타내는지에 대한 설명은 할 수 없다.

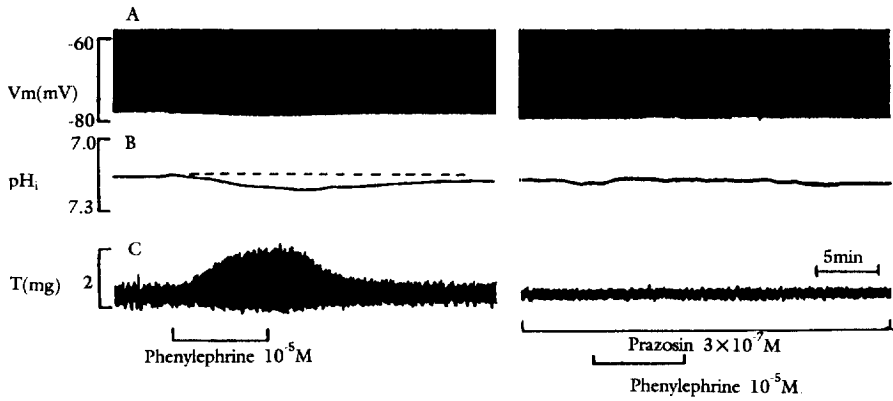


Fig 1. Effects of phenylephrine on membrane potential(V_m), intracellular pH (pH_i), and twitch force(T) in absence (panel left) or presence(panel right) of prazosin in euthyroid ventricular papillary muscle.

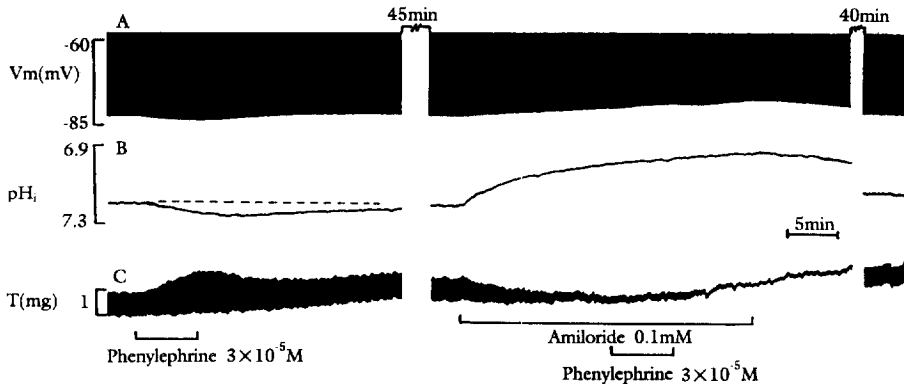


Fig 2. Influence of amiloride, $\text{Na}^+\text{-H}^+$ exchange inhibitor on phenylephrine-induced membrane potential(V_m), intracellular pH (pH_i), and twitch force(T) in euthyroid ventricular papillary muscle.

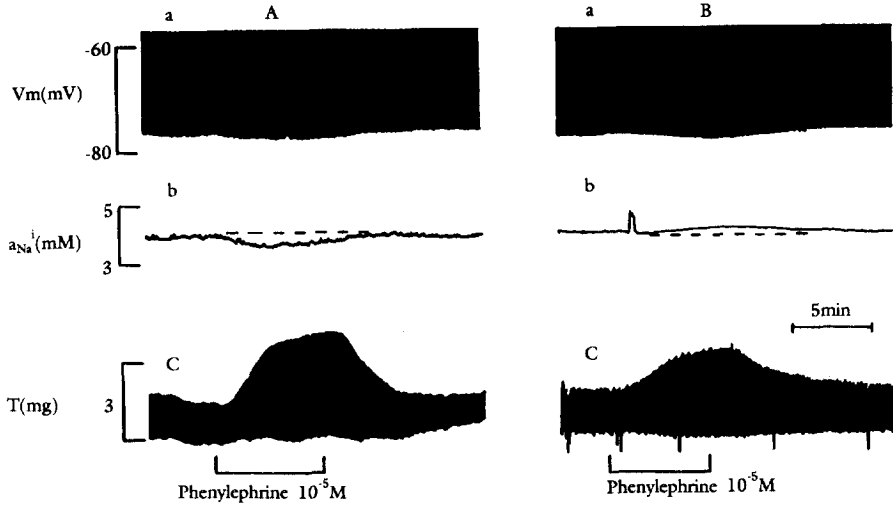


Fig 3. Effects of phenylephrine on membrane potential(V_m), intracellular sodium activity(a_{Na^i}), and twitch force(T) in euthyroid ventricular papillary muscles. Panel A(left) and B(right) shows that comparison between decrease and increase in a_{Na^i} .

정상 기니픽 심근에서 phenylephrine에 의한 막전위 과분극, a_{Na^i} 의 감소 및 수축력 증가 효과에 미치는 phorbol dibutylate(PDBu)의 영향 : 정상 기니픽 심근에서 α_1 -AR 자극은 protein kinase C(PKC)를 활성화시켜 세포의 이온 전달 기전으로 작용하며 a_{Na^i} 감소 및 초기 수축력 감소 효과가 PKC를 경유한다고 알려져 있다. 본 실험에서 PKC 활성화제인 PDBu에 의해 a_{Na^i} 를 감소시킨 후 phenylephrine은 a_{Na^i} 을 4.3mM에서 4.6mM로 약 3.0mM 감소시켰고 수축력 증가 및 과분극을 일으켰다. 그러나 PDBu 존재하에서 phenylephrine은 0.3mM의 a_{Na^i} 을 증가시켰고 수축력은 PDBu에 의해 약간 억제된 경향을 보였다. 이로써 정상 기니픽 심근에는 α_1 -AR 자극은 a_{Na^i} 을 증가시키는 기전(Na^+ - H^+ 교환기 경우)과 감소기전(PDBu-sensitive)이 공유하고 있음을 알 수 있어 정상 기니픽 심근에서 a_{Na^i} 감소 기전이 증가 기전보다 더 활성화 되기 때문에 Fig 3에서 보는 바와 같이 대부분 실험 sample에서 감소현상이 나타남을 추측할 수 있다.

과갑상선 호르몬증 기니픽 심근에서 a_{Na^i} 와 pH_i 에 미치는 phenylephrine의 영향 : α_1 -AR 자극에 의한 pH_i , a_{Na^i} 의 증가가 Na^+ - H^+ 교환기의 활성화 효과인가를 더욱 명확히 하기 위하여 과갑상선 호르몬증 기니픽 심근에서 phenylephrine의 영향을 관찰하였다(Fig 5). 대부분

의 정상 기니픽 심근에서는 α_1 -AR 자극으로 a_{Na^i} 을 감소시켰으나(Fig 3), 과갑상선 호르몬증 기니픽 심근에서는 대부분 0.3 ± 0.1 mM의 a_{Na^i} 을 증가시켰다. 아울러 과갑상선 호르몬증 기니픽 심근에서 pH_i 를 0.07 ± 0.01 정도 증가시켜 α_1 -AR 자극은 Na^+ - H^+ 교환기를 활성화 시킴을 알 수 있었다.

과갑상선 호르몬증 기니픽 심근에서 phenylephrine에 의한 막전위 과분극 및 pH_i 증가 효과에 미치는 ethylisopropylamiloride(EIPA)의 영향 : α_1 -AR 자극으로 a_{Na^i} 이 증가되는 과갑상선 호르몬증 기니픽 심근에서도 pH_i 증가 효과가 Na^+ - H^+ 교환기의 활성화에 의한가를 관찰하기 위해 Na^+ - H^+ 교환기를 선택적으로 억제하는 것으로 최근 알려진 EIPA 존재하에서 10^{-5} M phenylephrine의 영향을 관찰하였다(Fig 6). 3×10^{-5} M phenylephrine은 경미한 과분극 및 pH_i 의 감소(0.04)를 일으켰고 EIPA 5μ M 존재하에서 phenylephrine에 의한 pH_i 증가 효과 및 과분극이 억제되었다. 그러나 HEPES 영양액 영향으로 인한 수축력의 변동은 측정할 수 없었다. 결과적으로 과갑상선 호르몬증 기니픽 심근에서 α_1 -AR 자극은 Na^+ - H^+ 교환기 활성화로 pH_i 을 증가시킬 수 있음을 관찰하였다.

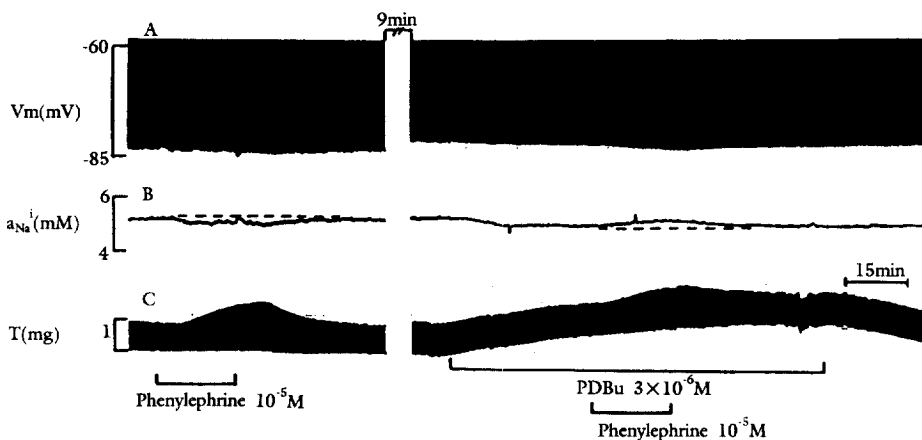


Fig 4. Influence of PDBu, PKC activator on phenylephrine-induced membrane potential(V_m), intracellular sodium activity(a_{Na^i}), and twitch force(T) in euthyroid ventricular papillary muscle.

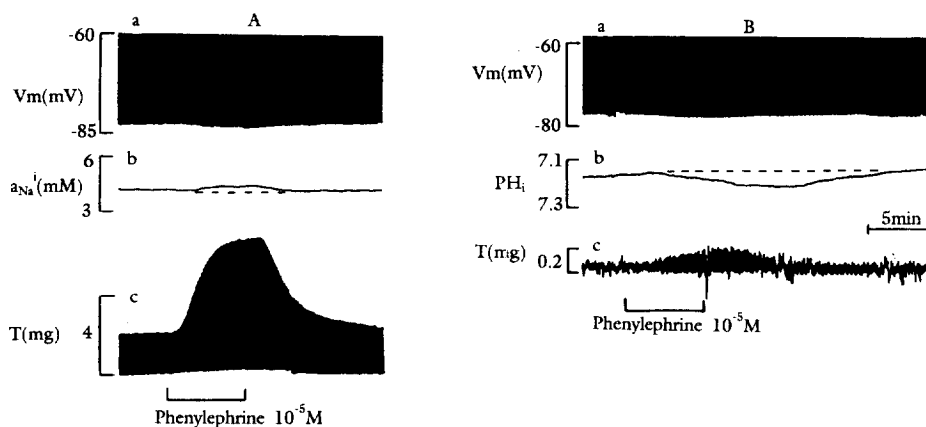


Fig 5. Effects of phenylephrine on membrane potential(V_m), intracellular sodium activity(a_{Na^i} , panel A), intracellular hydrogen activity(pH_i , panel B), and twitch force(T) in hyperthyroid ventricular papillary muscle.

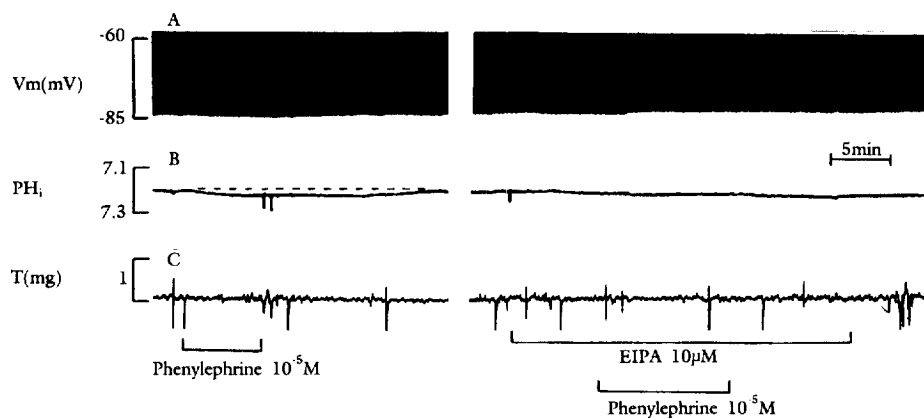


Fig 6. Influence of ethylisopropylamiloride(EIPA), Na^+-H^+ exchange inhibitor on phenylephrine-induced membrane potential(V_m), intracellular pH_i , and twitch force(T) in hyperthyroid ventricular papillary muscle.

고 찰

심근 수축력은 세포내 pH(pH_i)에 매우 민감하여 세포내 acidosis는 Ca²⁺에 대한 myofilament의 반응성이 감소하여 현저한 수축력 감소가 일어나는 반면, 세포내 alkalosis는 반응성이 증가하여 수축력 증가를 나타내기 때문에^{11,13} 심근 수축력 조절이 있어서 심근 pH는 필연적 요소로 알려져 있다¹⁴. 이 pH_i를 조절하는 이온 전달체가 Na⁺-H⁺ 교환기이다. 즉 심근 세포내에서는 대사에 의한 H⁺ 생성으로 acidosis로 진행되는데 정상적으로 Na⁺-H⁺ 교환기 자극에 의해 H⁺가 제거되고 Na⁺이 유입되어 세포내 Na⁺ 활성도(a_{Na⁺})가 증가되면서 pH_i가 조절되며¹³, Na⁺ 유입은 결국 a_{Na⁺}를 증가시켜 Na⁺-Ca²⁺ 교환기를 통한 세포내 Ca²⁺이 증가될 수 있다^{15,16}. 이와 같이 심근 pH_i를 조절하는 주요 기구가 Na⁺-H⁺ 교환기인데 α₁-AR 자극에 의해서 이 교환기가 자극될 수 있다고 하였다^{2,8,9,10}. α₁-AR 자극은 phosphatidylinositol 4, 5-bisphosphate가 가수분해되어 inositol triphosphate (IP₃)와 diacylglycerol(DAG)이 생성되는데^{17,18} DAG가 protein kinase C(PKC)를 활성화 시킴으로써 Na⁺-H⁺ 교환기가 자극되어^{19,20} alkalization을 일으키고 Na⁺의 증가를 추정하여 Na⁺-Ca²⁺ 교환기에 의한 Ca²⁺ 유입으로 수축력 증가를 일으킨다고 하였다^{2,8}. 그러나 Iwakura et al⁸은 심장 세포에서 α₁-AR 자극에 의한 pH_i 증가 현상이 단지 Na⁺-H⁺ 교환기 억제제인 amiloride로 차단됨을 보였고 Otani et al⁹은 수축력 증가 효과가 amiloride에 의해 차단됨을 관찰하여 Na⁺-H⁺ 교환기를 활성화 시킨다고 하였을 뿐 a_{Na⁺}를 직접 측정하지 못함으로써 α₁-AR 자극에 의한 Na⁺-H⁺ 교환기의 활성화에 대한 직접적인 증거를 제시하지 못하고 오히려 α₁-Ar 자극은 a_{Na⁺}의 감소를 보여^{12,21} 충분한 설명이 되지 못했다. 본 실험에서도 대부분의 정상 기니피크 심근에서 a_{Na⁺}의 감소가 나타나 Na⁺-H⁺ 교환기 활성화에 대해서 의심을 갖게 되었으나 a_{Na⁺}와 pH_i를 측정하여 비교 분석한 결과 몇몇 정상 기니피크 심근과 과감상선 호르몬증 기니피크 심근에서 a_{Na⁺}의 증가를 관찰하여 Na⁺-H⁺ 교환기의 활성화에 의한 a_{Na⁺} 증가 및 pH_i 증가 원인이 될 수 있다고 결론지을 수 있고, 더욱더 이 pH_i 증가가 정상 심근에서 뿐만 아니라 과감상선 호르몬증 심근에서도 관찰되었고 이 alkalization이 Na⁺-H⁺ 교환기 억제제인 amiloride 및 EIPA로 차단되어 이를 증명하고 있다. 그러면 왜 "대부분의 정상 심근에서는 Na⁺ 증가되지 않고 감소하였는가?"라는 의문이 제기된다. 즉, α₁-AR 자극으로 인한 세포내 alkalization의 정도는 정상과 과감상선 호르몬증 심근에서 비슷하였는데 대조적으로 대

부분의 정상심근에서는 a_{Na⁺}의 감소를 나타냈는가? 이러한 의문은 다음과 같이 설명될 수 있다. 정상 심근 뿐만 아니라 과감상선 호르몬증 심근에서도 PKC를 경유한 Na⁺-H⁺ 교환기에 의해서 Na⁺ 및 H⁺이 조절되고 있는데 양군에서는 비슷한 alkalization을 일으키기 때문에 비슷한 정도의 Na⁺-H⁺ 교환기에 의해 Na⁺와 H⁺ 조절될 수 있으나 정상 심근에서는 이 Na⁺-H⁺ 교환기보다 더 우세한 Na⁺ 감소기전이 있어서 a_{Na⁺}의 감소 효과가 나타나고 과감상선 기능 항진증으로 인해 증가 기전이 강화되거나 감소기전이 약화됨으로써 a_{Na⁺}의 증가 효과만 나타난 것으로 추측된다. 즉 PKC 활성화는 a_{Na⁺}의 증가를 일으키는데 정상과 과감상선 호르몬증 심근에서 a_{Na⁺}의 효과가 다른 이온 전달체계를 조절하는 PKC subtypes의 변동에 의해서 일어날 수 있을 것으로 추측되며, 이와 같은 추측을 뒷받침하는 결과로 rat 심근에서 PKC 활성화제인 PDBu는 phenylephrine의 수축력 감소 효과를 차단하고²² PKC 억제제 역시 일시적인 수축력 감소 효과와 지속적인 수축력 증가 효과를 억제한다고 하였다². 본 실험의 Fig 4에서 보는 바와 같이 α₁-AR 자극으로 a_{Na⁺}가 감소하였으나 PKC 활성화제인 PDBu 존재하에서는 a_{Na⁺}가 증가함으로 미뤄 보아 a_{Na⁺}의 감소 기전은 PKC에 의해 일어나고 증가 기전만 phenylephrine에 의해 작동된 것으로 추론할 수 있다. 이상을 종합하면 정상 심근과 과감상선 호르몬증 및 PKC 활성화제를 전 처치한 심근에서 a_{Na⁺}의 증가를 관찰하였다. 이와 같은 결과는 α₁-AR 자극으로 Na⁺-H⁺ 교환기를 활성화되면 a_{Na⁺} 및 pH_i가 증가되어 심근의 수축력을 변동시킬 수 있음을 의미한다.

결 론

α₁-adrenoceptor(α₁-AR) 자극에 의한 세포내 pH(pH_i), 세포내 Na⁺ 활성도(a_{Na⁺}) 및 수축력 변동 기전을 연구하기 위하여 정상과 과감상선 호르몬증 기니피크 심근에서 pH_i, a_{Na⁺}, 수축력 및 막전위를 측정하였다. α₁-AR agonist인 phenylephrine으로 α₁-AR을 자극할 때 정상 및 과감상선 및 호르몬증 기니피크 심근에서 모두 pH_i를 증가시켰고 이 효과가 α₁-AR antagonist인 prazosin과 Na⁺-H⁺ 교환기 억제제인 amiloride 또는 EIPA로 억제되었다. a_{Na⁺}는 정상 기니피크 심근에서는 감소(91%)와 증가(9%) 현상이 관찰되었으나 PKC 활성화제인 PDBu를 전처치한 조직에서는 a_{Na⁺}의 증가를 나타냈고 과감상선 호르몬증 기니피크 심근에서는 모두 증가되었다. 과감상선 호르몬증 기니피크 심근에서 현저한 수축

력 증가를 일으켰고, 양군에서 과분극 및 수축력이 Na^+ - H^+ 교환기 억제제인 amiloride와 EIPA로 차단되었다.

이상의 결과로 α_1 -AR 자극은 Na^+ - H^+ 교환기를 활성화시켜 pH_i 및 a_{Na^+} 를 증가시키며, 결국 세포내 alkalization은 수축력을 증가시킬 수 있을 뿐만 아니라 증가된 a_{Na^+} 는 Na^+ - Ca^{2+} 교환기를 통해 Ca^{2+} 의 유입을 초래하여 수축력을 증가시킬 수 있을 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Hayes JS, Bowling N. Role of the α agonist activity of dobutamine in mediating cardiac output: effect of prolonged isoproterenol infusion. *J Pharmacol Exp Ther* 1987; 241: 861-869.
2. Otani H, Otani H, Uriu T, et al. Effects of inhibitors of protein kinase C and Na^+ / H^+ exchange on α_1 -adrenoceptor-mediated inotropic responses in the rat left ventricular papillary muscle. *Br J Pharmacol* 1990; 100: 207-210.
3. Thorburn J, Thorburn A. The tyrosin kinase inhibitor, genistein, prevents α_1 -adrenergic induced cardiac muscle hypertrophy by inhibiting activation of Ras-Map kinase signaling pathway. *Biochem Biophys Res Com* 1994; 201: 1586-1591.
4. Simpson P. Norepinephrine-stimulated hypertrophy of cultured rat myocardial cells is an α_1 -adrenergic response. *J Clin Invest* 1983; 72: 732-738.
5. Sheridan DJ, Penkoske PA, Sovel BE, et al. Alpha adrenergic contributions to arrhythmia during myocardial ischemia and reperfusion in cats. *J Clin Invest* 1980; 65: 161-171.
6. Eckel J, Gerlach-Eskuchen E, Reinauer H. α_1 -Adrenoceptor mediated increase in cytosolic free calcium in isolated cardiac myocytes. *J Mol Cell Cardiol* 1991; 23: 617-625.
7. Endoh M. Signal transduction of myocardial α_1 -adrenoceptors: regulation of ion channels, intracellular calcium, and force of contraction (a review). *J Appl Cardiol* 1991; 6: 379-399.
8. Iwakura K, Hori M, Watanabe Y, et al. α_1 -Adrenoceptor stimulation increase intracellular pH and Ca^{2+} in cardiomyocytes through Na^+ / H^+ and Na^+ / Ca^{2+} exchange. *Eur J Pharmacol* 1990; 186: 29-40.
9. Terzic A, Vogel SM. On the mechanism of the positive inotropic action of the α -adrenoceptor agonist, phenylephrine, in isolated rat left atria. *J Pharmacol Exp Ther* 1991; 257: 529-529.
10. Cambassi G, Spurgeon HA, Lakatta EG, et al. pH and myofilament responsiveness to Ca^{2+} in cardiac myocytes. *Circ Res* 1992; 71: 870-882.
11. Faviato A, Pabiato F. Effects of pH on the myofilaments and the sarcoplasmic reticulum of skinned cells from cardiac and skeletal muscle. *J Physiol* 1978; 276-233-255.
12. Wang DY, Gong QY, Chae SW, et al. The negative inotropic response to α_1 -adrenergic stimulation is associated with a decrease in intracellular sodium activity. *Fed Am Exp Biol* 1990; 74th Annual Meeting(abstract).
13. Vaughan-Jones RD, Wu ML, Bountra C. Sodium-hydrogen exchange and its role in contractility during acidosis in cardiac muscle. *Mol Cell Biochem* 1989; 89: 157-162.
14. Vaughan-Jones RD, Eisner DA, Ladera WJ. The effects of intracellular Na on contraction and intracellular pH in mammalian cardiac muscle. *Adv Myocardiol* 1985; 5: 313-330.
15. Frelin C, Vigne P, Lazduki M. The role of the Na^+ - H^+ exchange system in cardiac cells in relation to control of the internal Na^+ concentration. *J Biol Chem* 1984; 259: 8880-8885.
16. Ikeda U, Arisaka H, Takayasu T, et al. Protein kinase C activation aggravates hypoxic myocardial injury stimulating Na^+ - H^+ exchange. *J Mol Cell Cardiol* 1988; 20: 493-500.
17. Otani H, Otani H, Das DH. α_1 -Adrenoceptor-mediated phosphoinositide breakdown and inotropic response in rat left ventricular papillary muscle. *Circ Res* 1988; 62: 8-17.
18. Scholz J, Schaefer B, Schmitz W, et al. α_1 -Adrenoceptor-mediated positive inotropic effect and inositol triphosphate increase in mammalian heart. *J Pharmacol Exp Ther* 1988; 245: 327-335.
19. Berridge MJ. Inositol triphosphate and di-

- acylglycerol as second messengers. *Biochem* 1984; 220: 345-360.
20. Williamson JR, Cooper RH, Joseph SK, et al. Inositol triphosphate and diacylglycerol as intracellular second messenger in liver. *Am J Physiol* 1985; 248: C203-216.
21. Zaza A, Kline RP, Rosen MR. Effects of α_1 -adrenergic stimulation on intracellular sodium activity and automaticity in canine Purkinje fibers. *Circ Res* 1990; 66: 416-426.
22. Endou M, Hattori Y, Tohse N, et al. Protein kinase C is not involved in α_1 -adrenoceptor mediated positive inotropic effect. *Am J Physiol* 1991; 260: H27-36.
-