

## Catecholamines 에 關하여

### 第三編 心臟 Catecholamines 에 關한 實驗的 研究

延世大學校 醫科大學 藥理學教室

李 宇 柱

=Abstract=

#### Experimental Studies on Cardiac Catecholamine Content

Woo Choo Lee, M.D., Ph.D.

*Department of Pharmacology, Yonsei University College of Medicine  
Seoul, Korea*

During the last decade extensive studies on catecholamines have evolved new knowledge in the physiology and biochemistry of adrenergic mechanism. Cardiac muscle, receiving adrenergic fibres from the stellate, cervical and thoracic ganglia, has been repeatedly shown to have a specific capacity to uptake and to store catecholamines. The catecholamine stores in cardiac muscle have also been shown to be important sites for the action of numerous drugs. Under normal condition, a certain level of catecholamines is maintained in the stores and serves as the basis for studying the changes in the catecholamine content of the heart. Because myocardial catecholamines play such important role in the patho-physiology of the heart, it would be interesting to compare the normal level of myocardial catecholamines among various species of animals. An occasional study has dealt with myocardial catecholamines of several species and ages of animals but these have been insufficiently comprehensive to afford a basis for an understanding of the importance of these amines as related to species and ages. The present investigation was undertaken to determine whether or not there is any significance of myocardial catecholamines in the course of the evolution and development of animals. Seasonal changes, sex difference and regional and subcellular distribution of myocardial catecholamines were also examined. The concentration of cardiac catecholamines was determined by the spectrophotofluorometric procedure described by Shore and Olin.

The results obtained were summarized as follows:

1. As animals phylogenetically progressed larger amounts of catecholamines were present in their hearts. A negligibly small amount of catecholamine was present in the hearts of the clam, a non-vertebrate. Among the vertebrates, cold-blooded animals (snake, turtle, frog, eel and fish) had less myocardial catecholamines than warm-blooded animals, of which aves (fowl and duck) had less than mammalia (cat, dog, rabbit, rat, cow and pig). The ratio of norepinephrine to epinephrine also was greater as the animals progress phylogenetically.

2. Examination of the regional distribution of cardiac catecholamines in warm-blooded animals showed that the content of the auricle was generally higher than that of the septum and considerably than that of the ventricle, but the differences of contents among these regions were not so marked.

3. In the embryonic chick, cardiac catecholamines were firstly detected on the 4th day of incubation, the time before the cardiac innervation of sympathetic nerves.

The concentrations of these catecholamines increased but not markedly on the 6th day of incubation, soon after the innervation of sympathetic nerves to the heart. The level of the cardiac catecholamines fluctuated throughout the remainder of embryonic development.

4. In newborn rat hearts, a considerable amount of catecholamines was present. With the develop-

pmment of the rats, the concentrations of myocardial catecholamines increased. The ratio of epinephrine and norepinephrine fluctuated within the range of 40 to 60 percent. However, as development progressed, the percentage of norepinephrine continued to rise, attaining the adult value of 80~90% after 45~60 days. In contrast, the total amount of epinephrine remained fairly constant throughout the animal's development.

5. No significant sexual differences were observed in the concentration of myocardial catecholamines in the developing rat.

6. The catecholamines in the rabbit hearts increased during the summer season (from May to August) and maintained a fairly constant level in the other seasons of the year.

7. The subcellular distribution of cardiac catecholamines was examined by differential centrifugation of homogenates of cardiac muscles in rabbits, cats and rats. The catecholamines were found to be present approximately 20% in particles of mitochondrial fraction, 45% in particles of microsomal fraction and 35% in soluble supernatant fraction. The particle containing catecholamines in cardiac muscle appears to be two different sizes.

### 目 次

#### I. 緒 論

#### II. 實驗材料 및 方法

1. 心臟 catecholamines 測定方法
2. 鷄胎心臟 catecholamines 測定方法
3. 心臟 homogenates 遠心分劃法

#### III. 實驗成績

1. 各種 動物의 心臟 catecholamines 量의 比較
2. 心臟部位別 catecholamines 分布
3. 年齡에 依한 心臟 catecholamines 量의 變動
  - a. 胎生期 心臟 catecholamines 量
  - b. 成長期 心臟 catecholamines 量
4. 性別에 依한 心臟 catecholamines 量의 變動
5. 心臟 catecholamines 量의 季節的 變動
6. 心臟 catecholamines 의 貯藏部位에 關한 實驗

#### IV. 總括 및 考察

#### V. 結 論

#### 參考文獻

### I. 緒 論

일찌기 Loewi(1921)는 心筋內에 心運動促進物質이 있음을 報告하고, 나아가 이 物質이 epinephrine임을 證明하였다(Loewi, 1936). Shaw(1938)는 哺乳動物의 心臟抽出物이 arsenomolybdate 色反應을 일으킴을 觀察하고 이는 epinephrine에 의한 것이라고 하였으며, Raab(1943)도 Shaw의 實驗을 確證하는 同時에 흰쥐와 사람의 心臟에도 epinephrine에 依한 色反應이 나타난다고 報告하였다. Cannon 및 Lissak(1939), Bacq 및 Fischer(1947)도 고양이와 사람의 心筋에서 catecholamine을 분리하고 이것이 epinephrine이라고 報告하였다.

그러나 Euler(1946 a, b)는 哺乳動物의 心臟抽出物中에 들어있는 心運動促進物質은 epinephrine의 性질과는 다르며 오히려 norepinephrine의 特性을 지니고

있음을 證明하는 同時에 개구리의 심장抽出物中에는 epinephrine의 性質을 가지고 있는 catecholamine이 있다고 報告하였다. Goodall(1950)은 소의 心臟에 epinephrine과 norepinephrine이 含有되어 있으며 心房筋보다 心室筋에 더욱 많다고 하였다. Holtz et al.(1951), Raab 및 Gige(1953)는 모든 哺乳動物의 心筋에 들어 있는 catecholamines의 大部分은 norepinephrine이며, 특히 Holtz et al.(1951)은 7名의 사람 심장을 檢索한 結果 3名만 epinephrine이 norepinephrine보다 많았다고 報告하였다. Raab 및 Gige(1955 a, b)는 개의 심장에는 norepinephrine 5에 對하여 epinephrine이 1의 比率로 들어있다고 하고, 85名의 사람에서 epinephrine과 norepinephrine을 各各 分離하여 測定한 結果, 大部分 norepinephrine이 많이 들어있고 epinephrine은 少量밖에 없으나 鬱血性心臟不全, 心筋硬塞 등의 환자에서는 epinephrine 양이 현저히 증가되어 있다고 報告하였다. 그 당시 여러 학자들이 生物學的方法 또는 比色法을 利用하여 測定한 心筋內 catecholamine 量은 第 1 表에서와 같다.

心臟은 cervical ganglia에서 또한 一部는 上位 thoracic ganglia에서 交感神經纖維를 받아 心房, 心室全殿에 分布되어 있음은 주지의 事實이며 (Gray, 1966), 交感神經末端에서는 epinephrine 類似物質이 遊離되어 신경충동을 心筋에 전달시킨다는 것은 이미 Loewi(1921)의 剔出개구리 심장실험 이래 널리 알려져 있는 事實이므로 心筋에 catecholamine이 正常成分으로 存在하고 있음은 明白한 事實이다. 最近 研究에 依하여 catecholamines의 生體內 生成過程이 밝혀졌고 交感神經에는 catecholamines 生成에 關與하는 모든 효소가 含有되어 있음이 밝혀져 交感神經으로 分布된 心筋에 catecholamines이 含有되어 있음은 더욱 의심할 여지가 없게 되

Table 1. Cardiac catecholamines reported by various investigators

Investigator	Animals	Method	Catecholamines ( $\mu\text{g}/\text{gm}$ ) in heart muscle
Löwi	Frog	Frog heart	1.0 ~2.0
Shaw	Frog	Colorimetry	0.3 ~1.2
Shaw	Rabbit	Colorimetry	0.015~0.04
Cannon & Liessak	Cat	Cat B.P.	0.5 ~0.8
Raab	Rat	Color	0.3 ~1.9
Raab & Humphreys	Cat	Color	0.9 ~1.8
Raab	Man	Color	0.3 ~1.1
	Cow	Color	1.2 ~2.0
Eacq & Fischer	Man	Nichtating Membrane	0.3
von Euler	Cow, Horse, Cat	Cat B.P.	5.0

었다. 즉 tyrosine 을 DOPA 로 전환시키는 tyrosine hydroxylase 가 交感神經의 axoplasm 에 存在하고 있고 (Nagatsu et al. 1964), 이 효소가 norepinephrine 生成過程에서 rate limiting 의 역할을 한다고 한다. DOPA 의 C OOH 기를 除去하여 dopamine 으로 전환시키는 과정을 촉매하는 aromatic L-amino acid decarboxylase 가 교감신경의 cytoplasm 에 存在하고 있고 (Weiner, 1970), dopamine- $\beta$ -hydroxylase 가 교감신경 세포內의 顆粒內에 存在하고 있어서 (Vivercs et al., 1969) norepinephrine 저장부위에서 最終적으로 norepinephrine 이 生成된다고 볼 수 있다. Norepinephrine 을 epinephrine 으로 전환시키는 phenyl-ethanolamine-N-methyltransferase 는 주로 副腎髓質에만 국한되어 있기 때문에 교감신경에서 epinephrine 이 형성된다고는 믿기 어렵다. 따라서 교감신경에서 生成되는 最終 catecholamine 은 norepinephrine 이므로 交感神經으로 分布된 心筋에는 주로 norepinephrine 이 含有되어 있을 것을 쉽게 생각할 수 있다. 最近 微量의 epinephrine 과 norepinephrine 을 分離하여 正確히 測定할 수 있는 spectrophotofluorometer 가 考案되어 (Bowman et al., 1955) 心筋에 含有된 catecholamines 의 大部分이 norepinephrine 임은 여러 학자들에 의하여 규명된 바이며, 또한 實驗적으로 心臟에 分布된 交感神經을 切斷하여 이를 逆行變性시킴으로써 心筋內에서 norepinephrine 生成이 안 되고 catecholamines 특히 norepinephrine 量이 거의 消失됨도 證明된 바이다 (Lee 및 Shideman, 1959 b).

한편 心筋은 catecholamine 을 吸着하는 特有한 性質을 가지고 있음을 Raab 및 Gigg (1955 a) 가 報告한 이래 Axelrod et al (1959) 는  $\text{H}^3$ -epinephrine 및 그 代謝物質에 關한 실험에서 epinephrine 이 신속히 선택적으로 心筋에 吸着된다는 事實을 發見하여 血液中の catechol-

amine 이 心筋에 吸着되어 相當시간 저장된다고 一般적으로 믿고 있다 (Lee et al., 1961; Strömlad 및 Nickerson, 1961). 또한 Friedman et al. (1968), Jacobowitz (1968), Jonson 및 Sachs (1969) 등은 心筋에 chromaffin 細胞 혹은 強한 螢光性細胞가 있어서 이 곳에서 catecholamine 이 分泌될 可能性도 提示하였고, Palade (1961), Sosa-Lucero (1969) 는 心房筋에 特別한 分泌顆粒이 있어서 catecholamine 을 分泌한다고 報告하였다. 이와같은 事實을 綜合하면 心筋은 그에 分布된 交感神經 또는 心筋自體에 依하여 catecholamine 이 生成 저장되어 一定量의 catecholamine 이 恒常 心筋內에 含有되고 있음은 明白한 事實이다. 그러나 그 生成速度는 神經의 活動度와 各種要因에 依하여 많은 영향을 받을 뿐 아니라 (Weiner et al., 1971) 저장된 catecholamines 가 정상상태에서도 少量씩 지속적으로 遊離되고 (Lee 및 Shideman, 1959 a), 神經衝動, 低血糖, 肉體의 運動, stress 등 生理的 刺戟을 受하여 各種藥物 및 要因으로 catecholamines 이 遊離되고 遊離된 catecholamines 는 monoamine oxidase 나 catechol-O-methyltransferase 같은 효소에 依하여 파괴되기도 하나 다시 心筋조직에 섭취되기도 한다.

그러나 正常狀態에서는 위에서 열거한 心筋內의 catecholamine 의 生成, 遊離, 파괴, 섭취 등이 平衡상태를 이루어서 一定量의 catecholamine 量이 存在하고 있을 것이 쉽게 짐작이 가는 事實이며 이 正常値는 心筋 catecholamines 의 研究에 標準이 되고 기초가 될 것이다. 그러므로 心筋 catecholamines 의 변동 또는 그 意義를 탐구함에 있어서는 먼저 그 正常値를 正確히 알아야 할 것은 물론이다. 여러 학자들이 報告한 各種動物의 心筋 catecholamines 의 정상치를 보면 動物의 種類, catecholamines 의 測定方法의 差異등으로 그 結果

가 區區하다.

이에 著者は 心筋 catecholamines 量의 正常值를 系統의 檢索함은 興味있는 것으로 思料되어 各種動物間의 정상심장 catecholamines 量을 比較觀察하고 心筋 部位別 差異 및 年齡과 性別에 따르는 差異等을 檢索 하며 나아가 季節의 變動도 觀察하고 또한 catecholamine 저장과립도 아울러 檢索함으로써 심장生理에 새로운 知見을 얻고져 하였다.

## II. 實驗材料 및 方法

### 1. 心臟 catecholamines 測定方法

Catecholamines 의 定量的測定方法으로 生物學的測定法, 物理化學的測定法, 組織學的檢出方法이 있다. 其中 生物學的測定法은 일찍부터 널리 使用된 方法이나 測定方法의 복잡성과 測定結果의 많은 變動과 微量測定에 正確성이 적다는 短點이 많아 現在 特殊한 경우를 除外하고는 別로 使用되지 않고 주로 物理化學的測定法에 依하여 代置되고 있다. 組織學的檢出方法은 定量的으로 測定하는데는 適合치 않아 結局 物理化學的測定法이 現在 널리 使用되게 되었다.

物理化學的測定法中에서는 Hueber(1950)이 epinephrine 을 alkali 로 처리할 때 螢光이 나타남을 觀察한 것 에 土台로 하여 發展한 螢光比色法이 比較的 簡便하고 正確한 方法으로 널리 使用되고 있다. 特히 Bowman 등이 螢光比色計를 개조발전시켰으므로 더욱 脚光을 받게 되었다.

本實驗에서 使用한 螢光比色法은 Shore 및 Olin(1958) 法에 準하였다. 즉 心筋組織中에 含有된 catecholamines 을 酸性液中에서 butanol 로 抽出하고 butanol 中에 溶解된 catecholamines 에 heptane 을 加함으로써 butanol 에 對한 溶解度를 低下시킨다. 다시 酸性水溶液中에 catecholamines 를 移行시킨後 이것을 酸化시켜 螢光성이 강한 trihydroxyindoles 로 轉換시켜 Aminco-Bowman 의 spectrophotofluorometer 로 標準 catecholamines 과 比較하면서 그 螢光性을 測定하는 方法이다. Catecholamines 을 낮은 pH 에서 酸化시킬 때는 norepinephrine 에서 發射되는 螢光度는 감소되고 epinephrine 에서 發射되는 螢光度는 變化되지 않는 事實에 立脚하여 組織에서 抽出한 catecholamines 을 酸化시킬 때의 pH 를 다르게 함으로써 epinephrine 과 norepinephrine 을 各各 分離測定 할 수 있다.

以上の 原理에 立脚하여 norepinephrine 및 epinephrine 測定操作을 詳述하면 다음과 같다.

心筋 2.0 gm 을 切取하여 4.0 ml 의 0.01 N HCl 溶液이 들어있는 Potter-Elvehjem 硝子製 圓錐型 homogenizer 에 넣고 homogenate 한다. 그 homogenate 2.0 ml 를 35 ml 가 드는 glass stopper reaction vessel 에 넣고, 2 gm 의 NaCl 과 20 ml 의 butanol 을 加한後 振盪裝置를 利用하여 1時間동안 振盪하고, 約 5分間 遠心沈澱을 行한다. 遠心沈澱으로 생긴 butanol 上清液에서 13 ml 를 取하여 크기가 같은 다른 glass stopper reaction vessel 에 옮기고 15 ml 의 heptane 과 2 ml 의 0.01 N-HCl 을 加한다. 이것을 다시 5分間 振盪裝置로 振盪시킨 후 約 5分間 遠心沈澱을 行하면 butanol-heptane 층과 HCl 液층이 分離된다. Vessel 下部에 分離된 HCl 液층에서 1.5 ml 를 正確히 取하여 10 ml 가 드는 조그만 硝子管에 옮기고 pH 5 或은 pH 3의 acetate buffer solution 0.5 ml 와 1.25% iodine 0.05 ml 를 加한後 充分히 混合시키고 正確히 6分後에 0.05 N-sodium thiosulfate 0.1 ml 를 加하여 과잉 iodine 을 파괴시킨다음에 alkali ascorbate solution 0.5 ml 를 첨가 混合시켜 室溫에 放置하여 둔다. Alkaline ascorbate solution 은 5.0 N-NaOH 10 ml 에 1.0%-ascorbic acid 水溶液 5.0 ml 를 加한 것으로써 實驗直前に 만든 新鮮한 溶液을 使用한다. Alkaline ascorbate solution 을 첨가하고 45분이 경과한 후 Aminco-Bowman spectrophotofluorometer 를 利用하여 activating wave length 400 m $\mu$ , fluorescence wave length 520 m $\mu$  에서 被檢液中の fluorescence 를 測定한다.

每 實驗마다 心筋 homogenate 2.0 ml 代身에 0.01 N-HCl 2 ml 를 取하여 同一條件下에 同一操作을 行한 blank 實驗과 0.01 N-HCl 에 溶解시킨 一定 농도의 標準 norepinephrine 및 epinephrine 液 2 ml 를 取하여 同一操作을 加하여 施行한 對照實驗을 同時에 併行하여 測定한 fluorescence 를 比較함으로써 心臟 catecholamine 총량, epinephrine 量 및 norepinephrine 量을 各各 計算하여 算出한다. 本法에 依한 心筋 catecholamine 量의 檢出率은 90%이다.

### 2. 鷄胎心臟 catecholamines 測定方法

鷄胎심장은 너무 적어서 上述한 方法으로는 適合치 않아 그 變法을 使用하였다(Lee et al., 1960 b).

부란 제 4 일의 鷄胎심장의 경우 100 乃至 300개의 심장을 適出하여 겨우 一回測定の sample 이 되었다. 즉 여러 개의 鷄胎심장을 適出하여 最少 100 mg 以上이 될 만큼 合쳐서, 特別히 만든 적은 硝子 homogenizer 에 넣고, 이를 遠心沈澱하여 水分을 除去한다.

沈澱된 組織의 約 2배의 0.01 N-HCl을 이에 加하여 homogenate를 作成한다. 모든 homogenate(0.3~0.6 ml)를 測定한 後 이것을 적은 硝子遠心 沈澱管에 옮겨 homogenate 1.0 ml 당 1.0 g의 식염과 약 10배의 butanol을 加한 後 約 1시간 振盪하고, butanol층을 可及의 모두 다른 원심침전관에 옮겨 이에 0.2 ml의 0.01 N-HCl과 1.2배의 heptane을 加하여 10분간 다시 振盪한다. 모든 butanolheptane을 除去하고 水溶液層에 pH. 5.0의 acetate buffer 0.07 ml를 加한 後 沃度を 酸化시킨다. 6分後에 남아있는 沃度を sodium thiosulfate로 除去하고 45分 後에 水溶液層의 螢光度를 Aminco-Bowman spectrophotofluorometer로 測定한다. 每 實驗마다 同一條件下에 同一操作을 行한 blank 實驗과 기준 농도의 標準 epinephrine 및 norepinephrine 液을 取하여 施行한 對照實驗을 併行하여 測定한 螢光度를 比較한다.

鷄胎심장의 重量을 正確히 測定키 困難하여 catecholamine 含量을 心筋組織 gm 當으로 計算하기 困難하므로 sample의 질소(N)量을 測定하여 100 mg 組織질소 量當  $\mu\text{g}$ 으로 catecholamine 量을 計算한다. 즉 심장조직의 butanol 抽出後 모든 sample을 copper selenite 25 ml/l가 들어있는 5N-황산 1.0 ml로 消化시켜 증류수를 加하여 100 ml로 만든다. 約 150  $\mu\text{g}$ 의 질소가 들어 있을 만큼의 部分을 取하여 1.0 ml의 消化液이 들어 있는 Nessler 管에 옮기고 15 ml의 Nessler 氏 試藥(Hawket al, 1947)을 加한 後 증류수로 희석하여 50 ml로 만든다. 150  $\mu\text{g}$ 의 窒素를 含有한 標準黃酸 ammonium로 同一한 操作을 加한 實驗과 모든 試藥만이 들어 있는 blank 實驗을 同時에 施行하여 490 m $\mu$ 의 filter를 使用한 Evelyn Colorimeter로 optical density를 測定함으로써 sample 중의 질소량을 측정하여, 이를 標準하여 catecholamine 량을 계산한다.

### 3. 心臟 homogenates 遠心分劃法

Ether 麻醉下에 動物을 屠殺한 後 심장을 剔出하고 心室을 心房으로부터 分離切斷하여 周圍組織에 附着한 血管 結締組織 및 脂肪等을 完全히 除去하여 증류수로 洗滌한 後 重量을 달고 小片으로 切斷하여 5배의 冷却한 0.38 M의 sucrose를 加한 後 冷却시킨 blander (Waring)에서 約 40秒間 homogenate 한다. 이와 같이 作成한 心筋 homogenate를 二重 gauze 層에 여과시켜 섬유조직 및 파괴되지 않은 組織을 除去하고 冷凍遠心 沈澱器를 利用하여 3~4°C에서 遠心沈澱을 行한다.

于先 600×g에 10分間 遠心沈澱함으로써 低速度遠沈

의 上層液을 얻어 一定 sample을 取하고, 다시 그 上 清液을 15,000×g에 30分間 遠心沈澱하여 高速度遠沈 上清液層과 顆粒沈澱層으로 分離시킨 다음 각각 一定 量을 取하여 그에 含有된 catecholamine 量을 上述한 方法으로 測定한다. 이와같이 얻은 高速度遠沈顆粒層은 mitochondria 및 그와 類似한 顆粒이 包含된 層이다.

高速度遠沈上清液을 다시 100,000×g로 20分間 超遠 心沈澱을 行하여 다시 顆粒層(microsome 顆粒層)과 純粹上清液層으로 分離하고 各層의 catecholamine 量을 測定한다.

## III. 實驗成績

### 1. 各種 動物의 心臟 catecholamines 量의 比較

各種動物의 心臟 catecholamine 含量을 比較함으로써 어떤 生物學的 意義가 있지 않음과 생각되어, 心筋內의 catecholamine 總量과 epinephrine 및 norepinephrine을 各各 分離測定하였다.

被檢動物은 藥理學 및 生理學에서 흔히 使用되고 있는 것을 中心으로하여 比較的 廣範圍하게 선택하였다.

脊椎動物로서 魚類에서는 가물치(Channa, 500g 內外), 뱀장어(Anguilla japonica, 300g 內外), 兩棲類에서는 개구리(Rana nigromaculata, 50g 內外), 爬蟲類에서는 거북(Geoclemys reevesii, 400g 內外), 뱀(Elaphe dione, 300g 內外), 鳥類에서는 오리(Anas platyrhyncha var. domestica), 닭(Gallus gallus domesticus, 2kg 內外), 哺乳動物에서는 肉食動物에 屬하는 고양이(Felis ocreata var. domestica 3kg 內外)와 개(Canis familiaris, 15kg 內外), 偶蹄動物에 屬하는 소(Bos taurus var. domesticus)와 돼지(Sus scrofa var domesticus), 齧齒動物에 속하는 흰쥐(Mus wagneri var albula, 200g 內外)와 토끼(Oryctolagus cuniculus domesticus)을 各各 선택하였으며 無脊椎動物로서는 가장 심장이 발달되어 生物學實驗에 응용되고 있는 軟體動物인 大蛤조개(Meretrix meratrix)를 선택하였다. 以上動物의 系統發生學的 關係는 第1圖 및 第2表에서와 같다.

소, 돼지 및 大蛤조개를 제외하고는 一定期間 實驗室 環境에 動物을 적응시킨후 屠殺하여 心臟全體를 剔出 하였으며 소와 돼지가 많은 市營 屠殺場에서 屠殺直後의 심장을 求하여 實驗에 使用하였으며, 大蛤조개는 조가비를 벌려 心臟을 剔出하였다. 심장전체의 重量을 달고 2배의 0.01 N-HCl에 homogenize하여 其中에서 2.0 ml를 取하여 前述한 Shore 및 Olin 法에 의거한 spectrophotofluorometer로 catecholamines을 測定하였다. 심

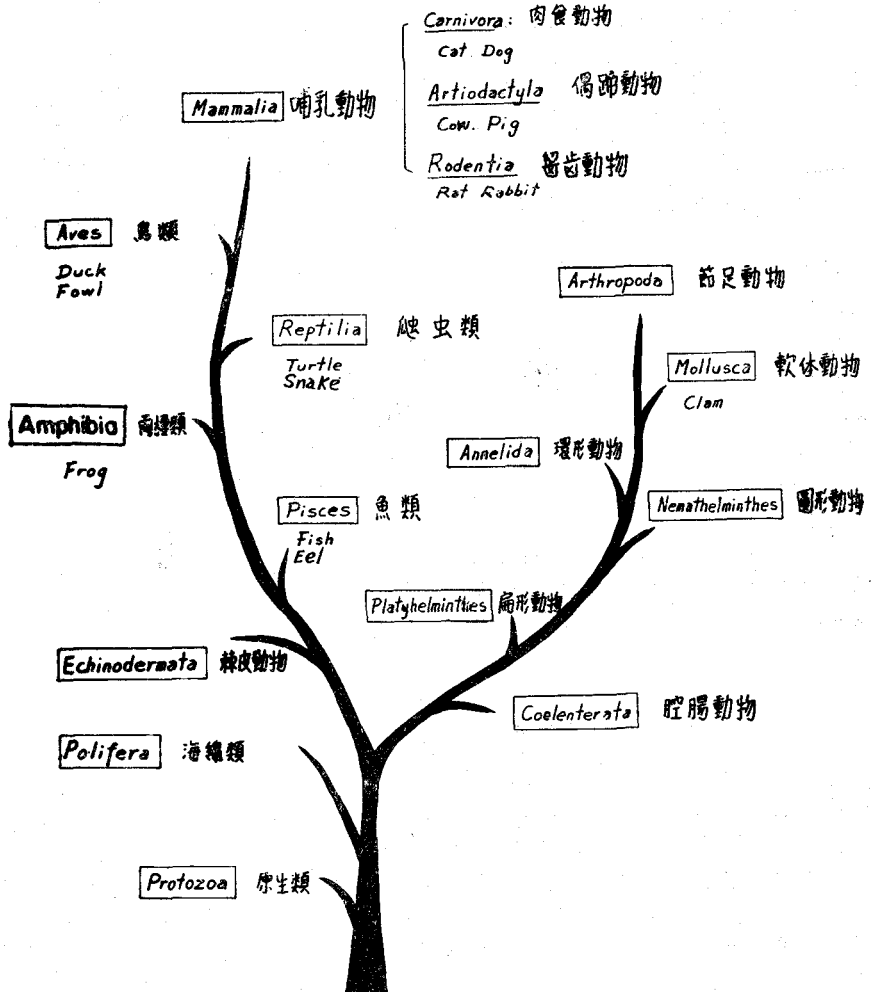


Fig. 1. Phylogenetic tree of animals (from General Zoology edited by Guthrie and Anderson, 1957).

Table 2. Phylogenetic relationships of the animals studied

Vertebrata:		estica)
Mammalia:		Fowl( <i>Gallus gallus domesticus</i> )
Carnivora:	Cat( <i>Felis ocreata</i> var. <i>domestica</i> )	Reptilia:
	Dog( <i>Canis familiaris</i> )	Turtle( <i>Geoclemys reevesii</i> )
Rodentia:	Rat( <i>Mus wagneri</i> var. <i>albula</i> )	Sanke( <i>Elaphe dione</i> )
	Rabbit( <i>Oryctolagus cuniculus</i> dom- esticus)	Amphibia:
Artiodactyla:	Cow( <i>Bos taurus</i> var. <i>domesticus</i> )	Frog( <i>Rana nigromaculata</i> )
	Pig( <i>Sus scrofa</i> var. <i>domesticus</i> )	Pisces:
Aves:	Duck( <i>Anas platyrhyncha</i> var. dom- esticus)	Fish( <i>Channa</i> )
		Fel( <i>Anguilla japonica</i> )
		Mollusca:
		Lamellibranchiata: Clam( <i>Meretrix meratrix</i> )

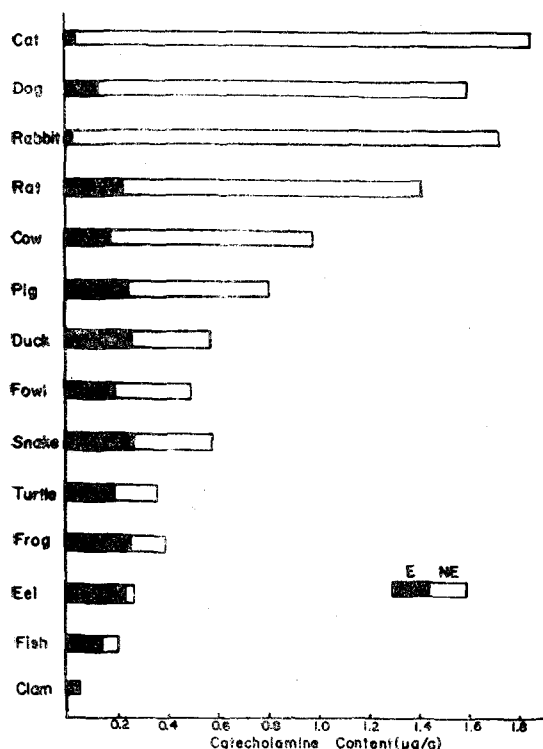


Fig. 2. Mean concentrations of myocardial catecholamines in various animals. Black bars represent the concentrations of epinephrine (E) and white bars represent the concentrations of norepinephrine (NE).

장전체의 重量이 1g 以下の 경우에는 數個의 심장을 습하여 homogenate 를 만들었다. 第2圖 및 第3表에서와 같이 哺乳動物에서 고양이, 개, 흰쥐 및 토끼의 심장 catecholamine 含量은 1.3~1.9µg/g 이며 그 90% 이상이 norepinephrine 이고 epinephrine 은 10% 未滿이다. 그러나 돼지, 소 등의 偶蹄動物에서는 心筋 catecholamine 全體가 1.0µg/g 밖에 되지 않고 epinephrine 이 그 20~30%를 차지하고 있다. 鳥類에서는 心筋總 catecholamine 量이 上記 哺乳動物의 1/2~1/3에 불과하며 그中約 60%가 norepinephrine 이고 나머지 약 40%가 epinephrine 으로서 哺乳動物에 比較하여 比較的 多量의 epinephrine 이 含有되어 있다. 뱀, 자라, 개구리, 뱀장어, 가물치 등의 冷血動物의 心筋 catecholamine 은 上記 溫血動物에 比較하여 현저히 적으며 또한 epinephrine 이 norepinephrine 보다 많이 含有되어 있다. 무척추동물에 屬하는 조개심장에는 거의 catecholamines 이 없다.

## 2. 心臟部位別 catecholamines 分布

Goodall(1951)은 소의 심장 catecholamine 研究에서 心臟抽出物中에는 epinephrine 이 8~20%, norepinephrine 이 92~74%가 含有되어 있으며 心房보다 心室에 epinephrine 및 norepinephrine 이 많이 들어있다고 報告하였다. 그러나 Muschall(1959)은 고양이, 토끼 및 흰쥐에서 心室보다 心房에 catecholamine 이 많이 들어있고 一般的으로 左側보다 右側心房에 더욱 많다고 報告하였다. Kauda(1963)는 개 심장에서 catecholamine 이 右心房에 가장 많고 左心房, 右心室, 心室中隔, 左

Table 3. Cardiac catecholamine concentration in various species of animals

Species of Animals		No. of Animals	Cardiac Catecholamines (µg/g)		
			Norepinephrine	Epinephrine	Total
Mammalia	Cat	10	1.818±0.091	0.043±0.002	1.861±0.089
	Dog	5	1.470±0.065	0.134±0.027	1.604±0.086
	Rabbit	20	1.700±0.106	0.034±0.007	1.734±0.118
	Rat	20	1.220±0.114	0.133±0.020	1.353±0.072
	Cow	5	0.820±0.128	0.177±0.006	0.979±0.131
Aves	Pig	6	0.558±0.098	0.245±0.016	0.804±0.107
	Duck	5	0.321±0.096	0.257±0.023	0.578±0.099
	Fowl	5	0.302±0.029	0.211±0.025	0.513±0.030
Reptilia	Snake	3	0.320	0.271	0.591
	Turtle	12	0.160±0.096	0.203±0.062	0.363±0.022
Amphibia	Frog	60	0.136±0.068	0.260±0.086	0.396±0.073
Pisces	Eel	3	0.030	0.236	0.266
Lamellibranchiata	Fish	12	0.094±0.017	0.135±0.076	0.229±0.093
	Clam	60	0.003±0.002	0.047±0.038	0.050±0.038

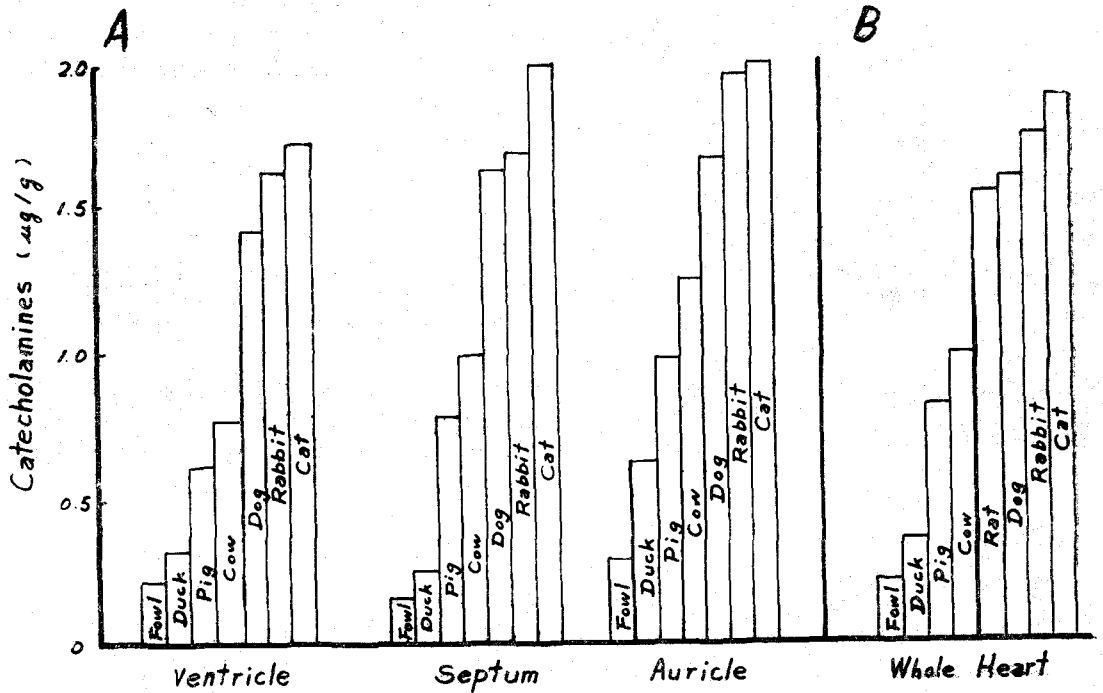


Fig. 3. Regional distribution of catecholamines in the hearts of warm-blooded animals.

心室의 順序로 많음을 觀察하였고, Angelakos(1965)도 개 심장에서 右心房에 가장 많고 左心房, 右心室의 順序로 많으며 左心室과 心室中隔에 가장 적음을 報告하였다.

本 實驗에서는 고양이 및 개(肉食動物), 토끼 및 흰 쥐(설치동물), 소 및 돼지(偶蹄動物) 등의 哺乳動物과 닭과 오리 등의 鳥類에서 심장 各部位別 catecholamine 含有量を 檢索하여 比較한 바 第3圖에서와 같다.

즉 위의 모든 動物에서 心房이 心室보다 많은 catecholamine 을 含有하고 있고 心室中隔에는 大體로 心房보다는 적으나 心室보다는 많은 catecholamine 이 들어 있으나 鳥類에서는 心室과 거의 같거나 혹은 오히려 적은 감이 있다.

### 3. 年齡에 依한 心臟 catecholamines 量의 變動

심장에 catecholamine 이 언제부터 나타나기 始作하며 이것이 年齡에 따라 어떻게 變動되는가를 檢索함은 興味있는 것으로 思料되어 本 實驗에 着手하였다. 特히 心臟 catecholamine 의 出現과 交感神經分布와의 關係를 觀察하였으며, 나아가 심장기능과 catecholamine 과의 關係를 追究함으로써 心臟의 生理 및 藥理를 理

解함에 있어서 어떤 기초적인 新知見을 얻을 수 있으리라고 믿어 于先 胎生期와 成長期로 區分하여 實驗하였다.

#### a. 胎生期 心臟 catecholamines 量

胎生期 심장 catecholamines 量 研究에는 鷄胎심장을 선택하였다. 그 理由는 胎生期の 기초적 解剖, 生理 및 生化學的 特性이 鷄胎에서 많이 研究되어있기 때문이며, 또한 新鮮한 受精卵을 부란기에 넣고 正確히 胎生時期를 時間적으로 알 수 있기 때문이다. 즉 여러 學者들의 研究에 依하여 胎生期中 各 장기의 發生時日 및 交感神經分布時期 등이 이미 淸명된 바이다 (Hamilton, 1952; Romanoff, 1960).

新鮮한 受精鷄卵을 特別한 배려下에 양계장에서 求得하여 正確한 時間에 온도 및 습도를 적당히 조절한 부란기에 넣어 一定時間에 鷄胎심장을 적출하여 前述한 實驗方法으로 심장 catecholamine 을 測定하였다. Hamilton(1952), Romanoff(1960)등은 鷄胎부란 第3일까지는 심장이 管狀을 이루던 것이 부란 第4일에 左右 2室로 區分되고 第6일에 2房 2室로 分化됨을 증명하였고, 심장에 交感神經이 分布되는 것은 부란 第5日以後에야 이루어진다고 報告하였다. 交感神經에서 cate-



holamines 이 생성된 은 이미 明白한 事實인 故로 交感神經分布以前의 심장에는 果然 catecholamines 이 含有되어 있지 않는가를 알고져 부란 第4日의 鷄胎心臟 catecholamine 을 測定하였다. 推測되는 바와 같이 부란 第4일 鷄胎심장은 극히 적어서 100~300個의 심장을 合쳐서 겨우 Shore 및 Olin 法의 變法으로 測定할 수 있는 sample 이 되었다.

第4表에서와 같이 7回의 實驗을 行하였으며 이에 所要된 鷄胎심장은 약 1,100個였다. 심장 catecholamine 量은 平均 1.227  $\mu\text{g}/100\text{mgN}$  로서 大端히 적으나 本實驗方法으로 測定할 수 있는 意義있는 值이다. 이 值를 reserpine 처리심장의 catecholamine 含量 (0.63  $\mu\text{g}/100\text{mgN}$ )에 比하면 統計學的으로 意義있는 含量으로써, 分明히 catecholamine 이 存在하고 있음은 事實이다. 또한 흥미있는 것은 이 catecholamine 이 거의 모두 epinephrine 이라는 點이다. Sample 이 적어서 每 sample

**Table 4.** Catecholamine concentration of hearts from 4-day-old chick embryos

Number of Experiment	Number of Embryos	Myocardial Catecholamines ( $\mu\text{g}/100\text{mg}$ of Nitrogen)
1	100	1.29
2	100	1.03
3	100	1.03
4	100	1.52
5	100	1.40
6	300	1.30
7	300	1.02
Mean $\pm$ S.E.		1.227 $\pm$ 0.077

**Table 5.** Catecholamine content of nor-innervated and innervated chicken hearts and hearts from normal, reserpine-treated and bilaterally sympathectomized cats

Animal	Number of Experiments	Myocardial Catecholamines ( $\mu\text{g}/100\text{mg}$ Nitrogen) Mean $\pm$ S.E.
4-day-old chick embryo	7	1.23 $\pm$ 0.08
8-day-old chick embryo	7	1.20 $\pm$ 0.01
18-day-old chick embryo	7	1.98 $\pm$ 0.18
Adult chicken	4	1.85 $\pm$ 0.03
Normal cat	10	6.70 $\pm$ 0.25
Reserpine-treated cat*	10	0.63 $\pm$ 0.13
Bilaterally sympathectomized cat**	9	1.17 $\pm$ 0.08

\* Measured 18 to 20 hours after intravenous injection of 0.5 to 5.0 mg/kg of reserpine.

\*\* Measured 15 to 26 days after bilateral sympathectomy.

**Table 6.** Catecholamine content of hearts from various ages of chick embryos

Ages (Incubation days)	Number of Experiments	Catecholamines ( $\mu\text{g}/100\text{mg}$ Nitrogen) Mean $\pm$ S.E.
4	7	1.23 $\pm$ 0.08
6	7	1.50 $\pm$ 0.05
8	7	1.20 $\pm$ 0.10
10	5	2.05 $\pm$ 0.15
15	5	1.55 $\pm$ 0.06
18	7	1.85 $\pm$ 0.03
1 after hatching	4	1.98 $\pm$ 0.15

마다 epinephrine 과 norepinephrine 을 各各 分離測定하기는 困難하였으나 몇 개의 sample 에서 norepinephrine 은 거의 없음을 觀察하였다.

다음으로는 交感神經이 심장에 分布된 後에는 어떠한가를 보고져 부란 第6일 鷄胎심장을 檢索하였다. 第6表에서 보는 바와 같이 7回測定の 平均值가 1.50  $\pm$  0.05  $\mu\text{g}/100\text{mgN}$  으로서 부란 第4日의 심장 catecholamine 含量에 比하여 약간 증가되었다.

Kuntz(1910), Abel(1912), Szepsenwol 및 Bron(1935) 등 여러 학자들이 鷄胎심장에는 부란 第5日 以後에 交感神經纖維가 分布된다는 것을 證明한바 있으므로 本實驗에서 檢索한 부란 第6日 鷄胎심장에는 交感神經이 分明히 分布되었으리라고 믿어지며, 交感神經이 分布되었으면 이 곳에서 catecholamine 이 生成되어 心筋內 catecholamine 量이 현저히 增加될 것으로 추측하였다. 그러나 實驗結果는 交感神經分布前의 부란 第4日 鷄胎심장의 catecholamine 含量에 比하여 현저한 증가는 보지 못하였다. 그러므로 本實驗에 使

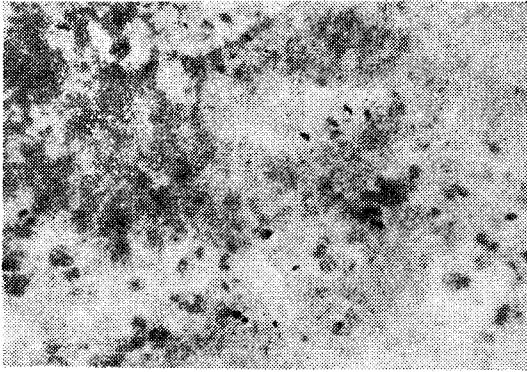


Fig. 4. Four-day-old embryonic chick heart, showing no nerve fibers. Stained with silver. ( $\times 100$ )

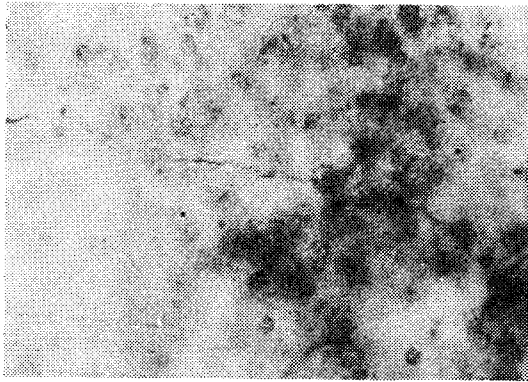


Fig. 5. Six-day-old embryonic chick heart, showing clear nerve fibers. Stained with silver. ( $\times 160$ )

用한 부란 4日과 6日의 鷄胎심장에 交感神經分布如否를 確認하기 爲하여 組織學的檢査를 하였다.

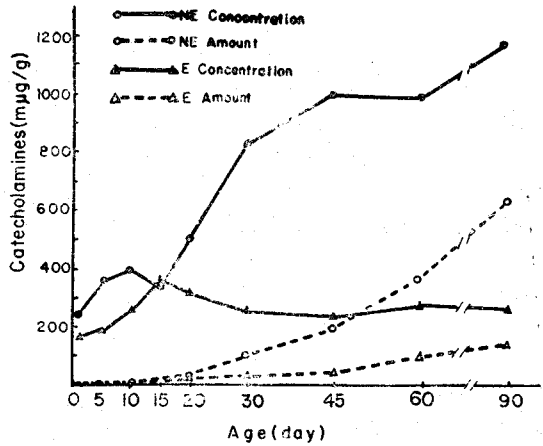


Fig. 6. Concentrations and total amount of norepinephrine (NE) and epinephrine (E) of the heart in developing rat.

부란 4日과 6日의 鷄胎심장을 剔出하여 10% formalin 液에 固定시켜 銀染色(Sung)을 하여 鏡檢하였던 바 4圖 및 5圖에서 보는 바와 같이 孵卵 4日의 鷄胎심장에는 神經섬유를 찾을 수 없었으며 孵卵 6日의 鷄胎심장에서는 뚜렷한 神經섬유를 觀察할 수 있었다. 부란 8日以後에는 心筋 catecholamine 量이 현저히 증가되나 6表에서와 같이 心筋 catecholamine 量은 多少의 屈曲을 보이며 반드시 부란時日에 正比例하여 增加되지 않는 感을 준다. 즉 부란 10日경에 心筋 catecholamine 量은 부란 15日의 鷄胎心筋 catecholamine 量보다 많으며 다시 孵化期에 이를수록 增加된다. 부화 직후의 병아리 心筋 catecholamine 量은 부란 18日의 鷄胎心筋 catecholamine 量보다는 增加되

Table 7. Myocardial catecholamine concentration in the developing rat

Age (day)	No. of Animals	Weight		Catecholamines ( $\mu\text{g/g}$ )		
		Body (g)	Heart (mg)	Norepinephrine	Epinephrine	Total
1	41	5.0 $\pm$ 0.41	22.0 $\pm$ 1.7	0.25 $\pm$ 0.012	0.17 $\pm$ 0.038	0.42 $\pm$ 0.030
5	27	7.1 $\pm$ 0.74	35.0 $\pm$ 4.1	0.37 $\pm$ 0.033	0.19 $\pm$ 0.031	0.56 $\pm$ 0.011
10	47	10.8 $\pm$ 1.04	41.0 $\pm$ 4.7	0.40 $\pm$ 0.042	0.26 $\pm$ 0.020	0.66 $\pm$ 0.036
15	14	18.8 $\pm$ 3.93	91.0 $\pm$ 4.2	0.34 $\pm$ 0.019	0.37 $\pm$ 0.021	0.71 $\pm$ 0.010
20	17	20.0 $\pm$ 4.35	88.0 $\pm$ 14.1	0.51 $\pm$ 0.094	0.32 $\pm$ 0.042	0.83 $\pm$ 0.017
30	14	32.5 $\pm$ 1.90	137.0 $\pm$ 10.8	0.83 $\pm$ 0.018	0.26 $\pm$ 0.016	1.09 $\pm$ 0.023
45	9	50.0 $\pm$ 12.52	199.0 $\pm$ 42.1	1.00 $\pm$ 0.033	0.24 $\pm$ 0.011	1.24 $\pm$ 0.029
60	11	100.8 $\pm$ 7.56	380.0 $\pm$ 22.8	0.98 $\pm$ 0.044	0.28 $\pm$ 0.019	1.26 $\pm$ 0.030
90	7	150.0 $\pm$ 9.92	543.0 $\pm$ 38.0	1.18 $\pm$ 0.038	0.26 $\pm$ 0.018	1.44 $\pm$ 0.034

었으나 그다지 현저치 않다.

b. 成長期 心臟 catecholamines 量

흰쥐를 선택하여 成長期 심장 catecholamine 의 變動을 觀察하였다. 흰쥐는 實驗室에서 쉽게 求得할 수 있고 또한 번식사육할 수 있기 때문이다.

生後 第1日부터 成熟期(生後 90日)에 이르기까지의 成長期의 흰쥐를 各 年齡別로 區分하여 心臟 catecholamine 을 epinephrine 과 norepinephrine 로 區分測定하여서 그 實驗結果를 第7表 第6圖에 表示하였다. 體重과 심장重量도 結合하여 表示하였다.

즉 生後 第1日의 흰쥐심장에도 상당량의 catecholamine 量이 含有되어 있으며 흥미있는 것은 其中 約 40%가 epinephrine 이고 나머지 60%만이 norepinephrine 이다. 이 後 흰쥐의 成長에 따라 心筋 catecholamine 量은 점차 增加하여 生後 20~30日에는 生後直後의 心筋 catecholamine 量의 2倍로 增加되고 生後 45~60日에는 約 3倍로 增加되어 成熟期심장 catecholamine 含量에 達한다. 其中 norepinephrine 量은 生後 15日에서 若干 減少되었으나 대체로 心筋內 總 catecholamine 量의 增加에 比例하여 점차 成長에 따라 增加되며 epinephrine 量은 生後 15日에 약간 增加되어 最高值에 達한 後 輕度로 감소되어 全成長期中 比較的 一定值를 유지하고 있다. 그러므로 epinephrine 과 norepinephrine 과의 比를 보면 生長初期 즉 生後 20日까지는 總 心筋 catecholamine 의 40~50%가 epinephrine 이고 나머지 60~50%가 norepinephrine 이나 이 後 부터는 점차 norepinephrine 의 양이 증가함으로써 生後 60일에는 epinephrine 이 불과 20% 밖에 되지 않고 나머지 80% 이상이 norepinephrine 이다.

心筋 catecholamine 含量과 심장重量과의 相關關係를 보면 第7圖에서와 같이 그 상관係數  $r=0.993$ 으로써 統計學的으로 意義있는 關係를 가지고 있어서 심장중량이 증가할수록 catecholamine 含量이 증가된다. 또한 心筋 內總 catecholamine 含量의 증가는 主로 norepinephrine 量의 增加에 依한 고로, norepinephrine 量과 심장重量과도 統計學的으로 意義있는 相關關係가 있다. (相關係數  $r=0.946$ )

4. 性別에 依한 心臟 catecholamines 量의 變動

性別에 따라 心臟 catecholamines 量에 差異가 있는가 를 觀察코져 같은 배에서 낳은 흰쥐 자웅으로 區分하여 各種 年齡에서 心筋 catecholamine 量을 比較하였다. 第8表에서와 같이 epinephrine, norepinephrine 및 總 catecholamine 量에서 자웅間에 差異를 인정하기 困難하

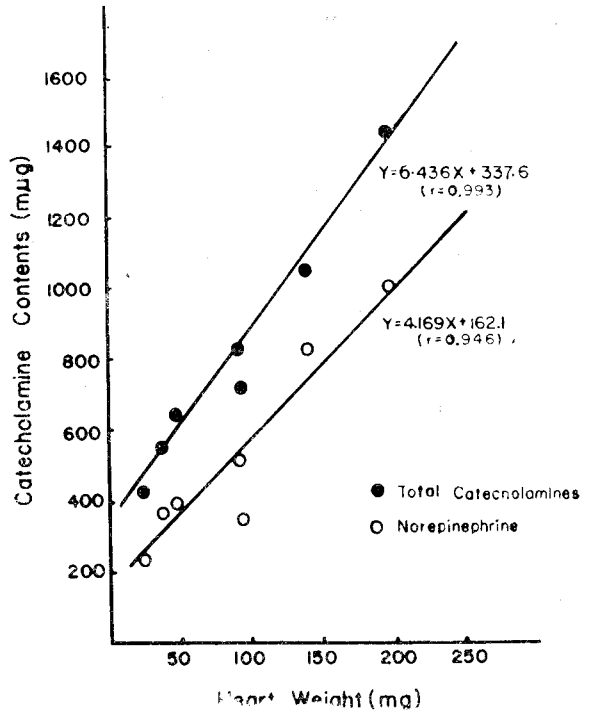


Fig. 7. Relationship between the catecholamine content and the wet weight of the heart in developing rat.

다.

5. 心臟 catecholamines 量의 季節的 變動

Moore et al.(1961)은 흰쥐를 攝氏 5度의 冷室에서 3~5週間 飼育하였던 바 副腎의 catecholamine 量이 현저히 증가되었다고 報告하였고, 이에 反하여 Herman et al.(1952)은 攝氏 2度의 冷室에 15分~2時間동안 흰쥐를 두었던 바 副腎의 epinephrine 양이 현저히 감소되었다고 報告하였다. 또한 Raab(1941), Montagu(1959)는 흰쥐의 各 組織中의 catecholamine 量은 冬期에 增加되었다고 報告하였다.

著者は 心筋 catecholamine 量이 季節的으로 變動이 있는가를 檢索코져 體重 2kg 內외의 白色家兎를 선택하여 正月부터 12月까지 每月 15日頃에 家兎를 屠殺하고 心장을 摘出하여 心筋 catecholamine 含量을 測定하였다

第6圖에서와 같이 正月에 心筋 catecholamine 量은 7例 平均  $1.60 \pm 0.107 \mu\text{g/g}$  로서 一年中 最低值를 보였으나 점차 增加경향을 보여 4月까지 약간 增加를 보이다가 5月부터는 현저히 增加되어 8月까지 계속되다가

Table 8. Sex difference in myocardial catecholamines ( $\mu\text{g/g}$ )

Age (day)	Male			Female		
	Epinephrine	Norepinephrine	Total	Epinephrine	Norepinephrine	Total
5	0.24	0.33	0.57	0.25	0.31	0.56
15	0.37	0.33	0.70	0.45	0.29	0.74
20	0.34	0.36	0.70	0.32	0.38	0.70
	0.24	0.74	0.98	0.38	0.36	0.74
30	0.40	0.36	0.76			
	0.25	0.75	1.00	0.23	0.86	1.09
	0.26	0.82	1.08	0.22	0.88	1.10
	0.25	0.86	1.11			
45	0.33	0.85	1.18			
	0.26	0.93	1.19	0.25	0.90	1.15
	0.26	1.04	1.30	0.24	1.05	1.29
60	0.20	1.05	1.25			
	0.35	1.05	1.40	0.30	0.98	1.28
	0.22	0.90	1.12	0.28	0.82	1.38
	0.23	1.04	1.27			
90	0.28	0.82	1.10			
	0.20	1.26	1.46	0.22	1.17	1.41
	0.26	1.08	1.34	0.28	1.29	1.57
	0.32	1.06	1.38	0.28	1.21	1.49

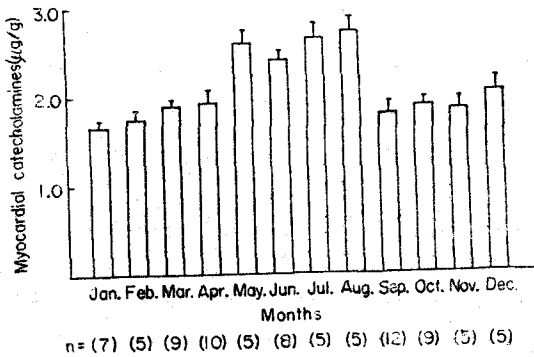


Fig. 8. Myocardial catecholamine content of normal rabbits. n indicates number of experiments.

9월에 다시 감소되어 3~4월의 心筋 catecholamine 量과 거의 같아져 12월까지 지속된다. 이와 같은 變動을 總括하여 보면 家兔 心筋 catecholamine 量은 夏節 즉 5월에서 8월까지에 增加된다고 結論할 수 있다.

#### 6. 心臟 catecholamines 의 貯藏部位에 關한 實驗

Epinephrine 및 norepinephrines 등의 catecholamine 이 副腎髓質 또는 交感神經의 細胞內 特殊顆粒에 貯藏되

어 있음은 여러 學者들의 研究로 證明된 바이다. 즉 Hillarp et al.(1953) Hillarp 및 Nilson(1954) 등은 differential centrifugation 을 利用하여 소의 副腎髓質에서 epinephrine 및 norepinephrine 이 細胞內 特殊顆粒에 貯藏되어 있으며, 이 顆粒은 純粹히 分離할 수 있고 이에 物理的 혹은 化學的 처치를 加함으로써 catecholamines 이 遊離됨을 報告하였다. Blaschko 및 Welch(1953)도 소의 副腎髓質 homogenate 中에서 catecholamine 이 어떤 小顆粒狀으로 存在하며, 이것의 沈降性은 mitochondria 와 類似하다고 主張함으로써 前記 Hillarp 등의 報告와 一致하며, Hagen(1954), Blaschko et al.(1955)도 副腎髓質細胞內顆粒에 epinephrine 및 norepinephrine 이 存在하고 있다고 報告하였다. 其後 Euler 및 Hillarp (1956), Euler(1955)는 소의 脾臟神經, 소 및 흰쥐의 脾臟의 homogenate 를 作成하여 遠心沈澱으로 얻은 어떤 顆粒에 catecholamine 이 存在함을 證明하고 또한 遠沈上層에도 catecholamine 이 遊離形으로 存在한다고 報告하여 소위 catecholamine 貯藏과립에 關한 研究分野를 開拓하였다.

이에 著者は 心筋 catecholamine 이 어떤 細胞內에 어떤 狀態로 存在하고 있으며 數種의 動物間에 差異가 있는가를 檢索코져 本 實驗에 着手하였다.

**Table 9.** Subcellular distribution of cardiac catecholamines in rabbits

No. of Exp.	Low-speed centrifugation*	High-speed centrifugation**			
	Supernatant ( $\mu\text{g/g}$ )	Sediment		Supernatant	
		$\mu\text{g/g}$	%	$\mu\text{g/g}$	%
1	0.48	0.36	77.5	0.11	23.0
2	0.42	0.30	71.4	0.11	26.2
3	0.54	0.43	79.6	0.09	16.7
4	0.72	0.66	91.6	0.10	14.2
5	0.48	0.36	75.5	0.13	27.1
6	0.30	0.24	80.0	0.07	23.3
7	0.42	0.30	71.4	0.11	26.2
8	0.60	0.54	90.0	0.10	16.7
Mean	0.50	0.40	79.4	0.10	21.7
$\pm$ S.E.	0.045	0.048	7.5	0.006	1.60

\* Low-speed centrifugation:  $600\times g$  for 10 min.

\*\* High-speed centrifugation:  $15,000\times g$  for 30 min.

**Table 10.** Comparison of subcellular distribution of cardiac catecholamines in rabbits, cats and mice

Animals	No. of Exp.	Low-speed centrifugation*	High-speed centrifugation**			
		Supernatant ( $\mu\text{g/g}$ )	Sediment		Supernatant	
			$\mu\text{g/g}$	%	$\mu\text{g/g}$	%
Rabbits	8	$0.50 \pm 0.045$	0.10	21.7	0.40	79.4
Cats	8	$0.57 \pm 0.073$	0.09	15.8	0.48	82.9
Mice	5	$0.049 \pm 0.058$	0.09	18.8	0.39	80.1

\* Low-speed centrifugation:  $600\times g$  for 10 min.

\*\* High-speed centrifugation:  $15,000\times g$  for 30 min.

實驗動物로는 健康한 토끼(2 kg 内外), 고양이(2.5~4 kg) 및 흰쥐(200~300 g)를 使用하였으며, 同一한 生活條件下에 一定期間 飼育한 後 ether 麻醉下에 各各 屠殺한 다음 即時 心장을 剔出하여 homogenate를 作成하고 이를 遠心分劃法으로 顆粒層과 그 上清液層으로 區分하였다.

正常토끼 心筋內 catecholamine의 分布를 보면 第9表에서와 같이 低速度遠沈上清液中的 catecholamine 量의 平均値는  $0.50 \mu\text{g/g}$ 로써 其中 約 79.4%에 해당되는  $0.4 \mu\text{g/g}$ 이 高速度遠沈上清液中에 存在하고 나머지 約 21.7%에 達하는  $0.10 \mu\text{g/g}$ 은 高速度遠沈沈澱層에 存在하였다. 이와 같은 上清液層과 沈澱層에 含有된 catecholamine 量의 比는 4 : 1이다. 同一한 方法으로 고양이와 흰쥐 心筋 catecholamine의 分布를 檢索하여 第10表에 表示하였다.

고양이 心筋 catecholamine에서도 低速度遠沈上清液中 catecholamine 量이 平均  $0.57 \mu\text{g/g}$ 로써 이것이 高速度遠沈沈澱層에는  $0.09 \mu\text{g/g}$ , 高速度遠沈上清液層에는  $0.48 \mu\text{g/g}$ 로 分離되어 上清液層과 沈澱層에 分布된 catecholamine의 比는 前記 토끼 心筋 catecholamine에서와 類似하게 5 : 1이 된다. 또한 흰쥐 心筋 catecholamine에서도 低速度遠沈上清液中的 catecholamine 量이 平均  $0.49 \mu\text{g/g}$ 로써 이것이 高速度遠沈沈澱層과 上清液層으로 區分된 量은 各各  $0.09 \mu\text{g/g}$ 와  $0.39 \mu\text{g/g}$ 로써 그 比는 約 1 : 4로서 家兎心筋 catecholamine에서와 비슷하다.

위의 實驗結果를 總括하면 心筋 catecholamine의 約 20%는 mitochondria 크기의 顆粒層에 存在하고 約 80%는 液狀으로 存在하는 것으로 믿어지며, 이것은 토끼, 고양이, 흰쥐 등의 動物에서 거의 같다고 생각할 수 있

으며, 이 實驗結果는 Euler(1961)가 비장신경의 總 catecholamine 량의 20~25%가 顆粒層에 농축되어 있다고 報告한 實驗結果와 一致한다.

本 實驗이 끝난 後 이에 關한 Potter 및 Axclrod(1963)의 報告에 接하였다. 즉 Potter 및 Axclrod 는 흰쥐의 心筋 homogenate 를 sucrose density gradient 法으로 遠沈하여 mitochondria, microsome 및 上清液으로 分劃하였던 바 norepinephrine 이 microsome 顆粒層에 많이 分布되어 catecholamine 저장과립을 mitochondria 와 分離할 수 있다고 報告하였다.

이에 著者는 本 實驗에서 얻은 高速度遠沈上清液을 100,000×g 로 20分間 超遠心沈澱을 行하여 microsome 顆粒層과 上清液層으로 分離하여 各層에 含有된 catecholamines 量을 測定하였던 바 約 55%는 顆粒層에 存在하고 나머지 約 45%가 上清液中에 있었다.

따라서 本 實驗에서 作成한 心筋 homogenate 의 低速度遠沈上清液中에 있는 catecholamine 量은 mitochondria 顆粒層에 約 20%, microsome 顆粒層에 約 45%, 液狀으로 約 35%가 存在하고 있는 셈이다. 그러므로 Potter 및 Axclrod(1963)의 報告와 같이 心筋 catecholamine 은 microsome 顆粒層에 特히 많이 分布되었음을 確認하였다. 그러나 norepinephrine 이 microsome 顆粒에 있는지 혹은 다른 顆粒중에 있는지는 本 實驗成績만으로는 判斷키 困難하다.

#### IV. 總括 및 考察

Epinephrine 및 norepinephrine 等の catecholamines 는 生理學的으로나 藥理學的으로 生體 各 組織장기에 強力한 作用을 일으키는 biogenic amine 이며, 이 物質이 心장에서 正常으로 生成 저장되고 여러 要因에 依하여 遊離되므로 正常심장기능에 catecholamine 이 重大한 役割을 할 것은 쉽게 推測되는 바이다 (Lee 및 Shideman, 1959).

그러므로 心筋 catecholamine 은 過去 20餘年間 여러 學者들의 研究對象이 되어왔으며 그 正常値는 各 研究의 기초자료로 되어 왔다.

문헌을 通覽하던 心筋 catecholamines 의 研究에 愛用되고 있는 실험동물은 哺乳動物에 屬하는 개, 고양이, 흰쥐, 토끼等を 열거할 수 있으며, 其中 몇 개의 文獻을 임의로 찾아서 心筋 catecholamine 量의 正常値를 살펴보면 개의 心筋 catecholamine 量의 正常値에 對하여 Paasonen 및 Kraye(1958)은 norepinephrine 이 1.20 μg/g(右心房), epinephrine 이 0.043 μg/g(右心房)이라

고 하고 Anton 및 Sayer(1962)는 norepinephrine 이 1.01 μg/g, epinephrine 이 0.11 μg/g, Stone et al.(1962)는 0.59 μg/g, Morrow et al.(1963)은 1.63 μg/g, Distefano 및 Klahn(1966)은 0.99 μg/g(心房), Goldberg 및 Shideman(1962)는 1.81 μg/g 이라고 하였으며, 흰쥐의 心筋 catecholamine 量에 對하여는 Paasonen 및 Kraye(1958)는 0.491 μg/g, Bhagat 및 Shideman(1964)는 1.06 μg/g, Moore 및 Brody(1961)는 1.33 μg/g, Crout et al.(1961)은 0.82 μg/g, Iverson(1962)은 0.95 μg/g, Anton 및 Sayer(1962)는 0.32 μg/g, Goldberg 및 Shideman(1962)는 1.18 μg/g, Hertting et al.(1962)는 0.59 μg/g 이라고 하였다. 토끼심장 catecholamine 量에 對하여서 Euler(1956)는 0.3~0.5 μg/g, Lee et al.(1965)은 1.59 μg/g 이라고 報告하였다.

以上 몇 개의 實驗報告만을 보더라도 同一 動物의 心筋 catecholamine 量의 正常値에 현격한 차이가 있다. 이것은 catecholamine 의 測定方法, 動物의 狀態 및 其他 여러 要因의 差異에 依한 것으로 思料되며, 또한 여러 研究者들이 各 動物을 散發적으로 檢索하였으며 여러 動物의 心筋 catecholamine 을 比較觀察한 報告는 稀소하다.

本 實驗에서는 同一한 方法으로 同一 實驗環境에서 各種動物의 心筋 catecholamine 의 正常値를 比較觀察하여 興味있는 結果를 얻었다. 本 實驗結果를 總括하여 보면 무척추동물에서는 心筋 catecholamine 量이 거의 없는데 反하여 척추동물에서는 相當量이 存在하고 있고, 또한 척추동물중에서도 冷血動物에 比하여 一般적으로 溫血動物에 大量이 含有되어 있으며 溫血動物中에서도 鳥類에 比하여 哺乳動物에 大量이 含有되어 있다. 즉 系統發生學的으로 動物이 進化될 수록 大量의 catecholamines 이 心장에 含有되어 있는 느낌을 준다. 哺乳動物에서도 肉食動物과 齧齒動物이 소, 돼지와 같은 偶蹄動物보다 心筋 catecholamine 含量이 많으며, 소, 돼지의 心筋에서 測定한 catecholamines 量은 Holtz et al.(1951), Goodall(1951)이 報告한 바와 一致된다.

興味있는 事實은 心筋에 含有된 norepinephrine 과 epinephrine 과의 比率로서 이것 역시 系統發生學的으로 動物의 進化가 高度일 수록 커지는 傾向이 있다는 것이다. 즉 哺乳動物에서 特히 고양이, 개 및 토끼等에서는 norepinephrine 이 總 心筋 catecholamine 量의 90% 이상을 차지하였고 닭, 오리와 같은 鳥類에서는 約 60%를 占하고 있다. 魚類, 兩棲類, 파충류 등의 冷血動物에서는 norepinephrine 보다 오히려 epinephrine 이 많이 含有되어 있으며, 特히 鬍鬚어, 가물치 등에서는 總 心筋

catecholamine 量의 約 80%가 epinephrine 이다.

또한 注目을 끄는 事實은 心筋에 含有된 epinephrine 및 norepinephrine 농도이다. Epinephrine 의 함유농도, 즉 心筋의 單位重量中에 含有된 epinephrine 量은 大蛤 조개를 除外하고는 모든 動物에서 현저한 差異가 있다 고 하기 困難하다. 따라서 各動物間의 心筋 catecholamine 含量의 差는 주로 norepinephrine 의 함유농도의 差異에 基因되는 것으로 思料된다. Norepinephrine 은 주로 交感神經에서 生成되고 있다는 事實에 立脚하여 考察하던 動物이 進化할수록 心筋에 分布되는 交感神經의 密度가 높아지는 것이 아닌가 推測되며, 따라서 交感神經은 動物의 進化와 密接한 關係가 있는 것으로 推定된다.

심장部位別 catecholamines 의 分布로 보면 本實驗에서 檢索한 모든 溫血動物(고양이, 개, 토끼, 흰쥐, 소, 돼지, 닭 및 오리)에서 心房조직에 心室조직보다 많은 catecholamine 이 들어있으며 心室중격은 대체로 그 中間이라고 볼 수 있다. 이 實驗結果는 Muscholl(1950), Klauda(1963), Angelakcs(1965)등의 報告와 一致되나 心房에 많은 catecholamines 이 含有되어 있는지의 生理學的 意義를 추측키 困難하다. Norepinephrine 이 주로 交感神經섬유에 저장되었다는 事實로 미루어볼때 心房에 分布된 交感神經纖維의 密度가 心室조직보다 많다고 밖에 推定되지 않는다. 그러나 心房, 心室, 心室中隔等에 分布된 catecholamine 量의 差異가 그다지 현저하지 않고 근소한 것으로 미루어 볼 때 catecholamines 은 심장全體에 平等히 영향을 준다고 생각된다.

胎生期의 鷄胎심장 catecholamines 含量을 보면 부란 第4日의 심장에도 이미 測定할 수 있는 充分한 量의 catecholamine 이 들어있으며 鷄胎의 成長에 따라 多少의 動搖를 보이며 심장 catecholamine 量은 增加하여 鷄胎부화時에는 相當量의 catecholamines 이 심장에 含有되어 있다. Kuntz(1910), Afel(1912) Szepsonwol 및 Bron(1935), Hamilton(1952)등이 이미 報告한바 있으나 本實驗에서도 組織學的으로 證明한바와 같이 부란 第4日의 鷄胎심장에는 교감신경이 아직 分布되지 않았는데도 不拘하고 一定量의 catecholamine 量이 存在하고 있다는 事實은 興味있는 일이다. 본실험이 끝난 後 McCarty(1960)는 부란 第3日 鷄胎심장에 少量의 catecholamine 을 測定할 수 있다고 報告하였고 Ignarro 및 Shideman(1968 a.b)도 부란 第3日 鷄胎심장에 적은 catecholamine 量을 證明하고 24時間內에 norepinephrine 은 15倍로, epinephrine 은 6倍로 各各

增加된다고 報告하였다. Enemar et al.(1965)는 부란 72時間에 鷄胎 전체조직에서 norepinephrine 을 證明하였으나 심장에서는 부란 第6日까지는 證明하지 못하였다고 한다. Ignarro 및 Shideman(1968)은 鷄胎 및 卵黃에서의 catecholamine 合成 효소를 檢査하고 부란 第3,4日의 鷄胎 심장內 catecholamine 은 심장조직에서 合成된 것이 아니고 卵黃에서 生成된 것이 心筋에 吸着된 것이라고 結論하였다. 本實驗에서 證明한 鷄胎 第4日의 심장 catecholamine 이 거의 모두가 epinephrine 이라는 點에서도 교감신경과는 관계없는 것으로 思料된다. 이처럼 胎生早期에 catecholamines 이 심장에 含有된 生理學的 意義는 不明하나 부란 第3,4日의 심장이 catecholamine 에 예민히 반응하는 事實(Lee et al., 1960 a)에 立脚하여 고려하면 심장기능조절에 關係하는 것이 아닌가 思料된다. 교감신경이 심장에 分布된 直後 즉 부란 第6,8일 的 鷄胎심장 catecholamine 含量이 神經分布前의 부란 第4日의 심장 catecholamine 量보다 그다지 增加되지 않은 것은 推測과는 符合되지 않으며 또한 鷄胎의 成長에 따라 心筋 catecholamine 이 增加는 되나 屈曲을 보이며 增加된 是 흥미있는 事實이다. 이에 關하여 Ignarro 및 Shideman(1968)은 부란 第5,6日頃에 心筋 catecholamine 이 增加되지 않은 것은 이 時期에 심장 및 간장에서 證明할 수 있는 catecholamine 분해효소인 COMT(catechol-O-methyltransferase)와 MAO(monamine oxidase)의 活性化에 依한 것이라고 하고 胎生期中 心筋 catecholamine 量의 屈曲은 catecholamine 合成에 rate-limiting(Nagatsu et al., 1964; Specter et al., 1963; Udenfriend, 1966)의 役割을 하는 tyrosine hydroxylase 가 그 最終產物인 epinephrine 및 norepinephrine 의 소위 feedback inhibition 에 依한 것이라고 報告하였다. 분탄 後의 成長期動物의 심장 catecholamine 量의 變動을 흰쥐에서 觀察한 結果를 綜合하여 보면 動物의 成長發育에 따라 심근 catecholamine 量은 점차 增加됨을 알 수 있다. 분탄직후의 심장에는 成熟動物의 심근 catecholamine 量의 約 1/4이 含有되어 있으며 其中 約 60%가 norepinephrine 이고, 40%가 epinephrine 이나 動物의 成長에 따라 norepinephrine 量은 점차 增加하는 反面에 epinephrine 量은 거의 變動이 없어 結果적으로 norepinephrine 이 全體 catecholamine 量의 大部分을 차지하게 되어 成熟期에 到達하면 심근 catecholamine 量의 約 90%가 norepinephrine 으로 된다.

最近의 研究에 따르면 大部分의 心筋 catecholamines 은 交感神經 neuron 에 存在하고 있고 心筋에 分布된 交感神經을 切斷하여 그 末端을 退行變性시키면 心筋

內의 catecholamine 量이 현저히 감소된다는 事實(Lee 및 Shideman, 1959)로 미루어보면 心筋 catecholamine 量은 心筋에 分布된 交感神經密度를 間接적으로 測定할 수 있는 尺度가 된다고 생각된다. 이 생각이 옳다고 하면 成長期動物의 심장 catecholamines 이 生後 점차 增加되는 結果는 즉 심장에 分布되는 交感神經이 成長期에 계속 成長하고 있음을 示唆하는 것이다. 또한 心筋 catecholamine 量의 增加와 심장重量增加와의 關係에서 보면 心筋에 分布되는 交感神經의 成長速度가 심장重量增加 速度보다 빠른 것을 示唆하여 준다.

成長期 원위를 자웅으로 區別하여 心筋 catecholamine 含量을 比較할 때 雌雄間에 何等의 差異가 없다. 心筋 catecholamine 量이 심장에 分布된 교감신경섬유의 密度를 測定하는 것이라고 생각하면 心筋에 分布되는 交感神經의 成長에는 性別에 差異가 없음을 示唆한다.

심장 catecholamines 의 季節的 變動을 토끼에서 觀察하건데 5월부터 8월까지의 夏節에 心筋 catecholamine 量이 增加됨을 觀察하였다. 夏節에 心筋 catecholamine 量이 增加되는 理由는 現在 說明키 困難하다. 그러나 動物의 新陳代謝의 季節的 變動, 즉 呼吸, 熱生成, (Benedict 및 Macleod, 1929) 胃酸生成 및 血液中 乳酸 (Swan, 1943) 등의 季節的 變動과 密接한 관련성이 있지 않은가 思料된다.

心筋內에 存在하고 있는 catecholamines 이 어떠한 狀態로 어떤 部位에 存在하고 있는지를 檢索코져 心筋 homogenate 를 作成하여 遠心分離沈澱法을 利用하여 15,000×g 의 速度로 30分間 遠心沈澱하여 mitochondria 顆粒層과 上清液層으로 區分하고 各層에 含有된 catecholamine 量을 測定하였던바 顆粒沈澱層에 約 20%, 上清液層에 約 80%가 있음을 觀察하였다. 이 結果는 Euler(1955)가 剔出脾臟神經에서 總 catecholamine 量의 20~25%가 顆粒層에 농축되어 있다는 報告와 一致된다. 또한 Blaschko et al.(1955), Hagen(1954)이 소의 副腎髓質內의 catecholamines 이 mitochondria 크기의 顆粒層에 저장되어 있다는 報告와도 一脈相通하나 부신수질에서는 總 catecholamine 量의 大部分인 約 70~75%가 顆粒層內에 存在하고 나머지 25~30%가 上清液中에 存在한다는 것이다. 本實驗에서는 다만 20%밖에 顆粒層에서 證明치 못하였다. 이와같은 差異는 勿論 動物의 差異, 組織의 差異에도 基因되겠지만 遠心沈澱中에 顆粒이 파괴되어 大部分의 catecholamine 이 上清液中에 移行된 可能性도 考慮된다. 그러나 Potter 및 Axelrod(1963)의 報告에 接하여 15,000×g 의 遠心沈澱으로 얻은 上清液을 다시 100,000×g 로 20分間 超遠心沈

澱을 施行하여 다시 microsome 顆粒層과 純粹한 上清液層으로 分割하고 各層의 catecholamine 量을 測定하였던바 約 55%가 microsome 顆粒層에 있고 나머지 45%가 上清液中에 있음을 觀察하였다. 이 實驗結果를 綜合하면 mitochondria 顆粒層과 microsome 顆粒層에 含有된 catecholamine 을 합치면 總 catecholamine 의 約 65%가 되고 純粹한 上清液中에 約 35%가 存在하는 셈이 된다. 또한 純粹한 上清液中에 있는 約 35%의 catecholamines 이 果然 液狀으로 있는 것인지 혹은 遠心沈澱中에 顆粒이 파괴되어 catecholamines 이 遊離된 것인지는 의문점이 있다. 反面에 顆粒層, 特히 mitochondria 顆粒層에 있는 catecholamines 이 果然 顆粒狀으로 있는 것인지 혹은 不充分한 homogenation 으로 液狀의 catecholamines 이 顆粒層에 있게 되었는지도 不明하다. 따라서 分割遠心沈澱法으로 얻은 顆粒狀 및 液狀의 catecholamines 이 반드시 生體內에서도 同一한 狀態로 存在한다고는 確言키 困難하나 本實驗에서 토끼, 고양이 및 원위의 心筋 homogenate 를 同一條件下에 反復實驗하여도 上述한 바와 같은 一定한 分布值를 나타내므로 이 實驗結果를 土台로하여 結論하면 心筋 catecholamines 의 大部分인 約 65%는 顆粒狀으로 存在하고 나머지 約 35%가 液狀으로 存在한다고 믿어지며 顆粒狀의 크기가 一定하지 않고 적어도 mitochondria 크기의 顆粒狀과 microsome 크기의 顆粒狀의 2種의 顆粒狀으로 存在한다고 믿어진다.

最近 catecholamine 저장과립에 關한 많은 研究報告가 發表되고 있으며(Smith, 1972) 各種動物의 심장 homogenate 中の catecholamine 저장과립에 對하여서도 本實驗이 끝난 後에 많이 報告되고있다(Campos 및 Shideman, 1962; Chang 및 Su 1967; Schumann et al., 1964; Roth et al., 1968; Taylor et al., 1966). Potter 및 Axelrod(1963)는 백서심장 homogenate 中에 있는 catecholamine 저장과립은 mitochondria 와 分離되어 microsome 顆粒層에 存在한다고 하고 여러학자들이 이에 동조하고 있다. 그러나 Glassman et al.(1965)은 Potter 및 Axelrod(1963)과 같은 方法으로 개의 심장 homogenate 를 檢索하였던바 54%의 catecholamine 은 0.25~0.4 M sucrose 層에 있고, 30%의 catecholamine 은 1.0~1.2 M sucrose 層에 있음을 증명하여 catecholamine 저장과립에 2種이 있음을 報告하였다. 또한 Taylor et al.(1966)도  $H^3$ -norepinephrine 을 원위에 주사하고 그 심장 homogenate 를 density gradient 法으로 검사하여 2層에서 radio activity 를 관찰함으로써 catecholamine 저장과립에 2種이 있음을 증명하였고 Roth et al(1968)도 同一한 方法



으로 흰쥐심장 catecholamine의 分布를 檢索하여 0.47 M sucrose 層과 1~2.0 M sucrose 層에서 radio density peak를 관찰하고 前者를 light particle, 後者를 heavy particle이라고 命名하였다. 아마도 이것은 전자현미경으로 관찰한 소위 small dense-cored vesicle과 large dense-cored vesicle과 符合되는 것으로 思料된다. 이와 같은 2種의 顆粒은 本實驗結果와 一脈相通되는 點이 있다.

## V. 結 論

1. 心臟에는 正常으로 相當量의 catecholamines이 含有되어 있으며 各種動物의 심장 catecholamines을 比較觀察하면

a. 哺乳動物에서 심장 catecholamine 量은 고양이 토끼, 개 및 흰쥐의 順으로 많았으며 대개 1.3 μg/g에서 1.9 μg/g의 範圍內에 있고 그 90% 이상이 norepinephrine이고 epinephrine은 10% 未滿이다. 그러나 소, 돼지 등의 偶蹄動物에서는 심장 catecholamine 量이 1.0 μg/g 밖에 되지 않고 epinephrine이 그 20~30%를 차지하고 있다.

b. 鳥類中 닭과 오리의 심장 catecholamines 量은 一般적으로 哺乳動物의 1/3~1/2에 불과하며 其中 約 60%가 norepinephrine이고 約 40%가 epinephrine이다.

c. 爬虫類(거북, 뱀) 및 兩棲類(개구리), 魚類(가물치, 뱀장어) 등 冷血動物의 심장 catecholamine 量은 上記 溫血動物에 比하여 현저히 적으며 또한 epinephrine이 norepinephrine보다 많다. 軟體動物인 조개심장에는 거의 catecholamine이 없다.

즉 系統生物學的으로 動物이 進化될수록 심장의 catecholamines 量은 增加되고 또한 norepinephrine과 epinephrine과의 比率로 動物의 進化에 따라 커지는 傾向이 있다.

2. 심장部位別 catecholamine 含量은 心房組織에 가장 많고 心室중격 心室의 順序로 많으나 그 差異는 그다지 현격하지 않다.

3. 心臟 catecholamines의 胎生期中 變動을 鷄胎심장에서 觀察한바 심장에 交感神變分布前에도 含有되어 있으며 胎生期中 多少의 屈曲을 보이며 점차 增加한다.

4. 심장 catecholamine 量의 成長期中 動搖를 흰쥐에서 관찰하였던바 분만직후의 심장에 相當量의 catecholamines 量이 含有되어 있으며 動物成長에 따라 catecholamines 量은 점차 增加하여 成熟期심장 catecholamine 量에 到達하며 norepinephrine과 epinephrine과의 比率

도 成長初期의 幼若動物에서는 6:4의 範圍內에서 동요되나 動物의 成長에 따라 norepinephrine은 점차 增加하는 反面에 epinephrine 量은 비교적 一定量을 維持함으로써 成長期에 가까워지는 norepinephrine 量이 全體의 約 90%를 차지하게 된다.

5. 심장 catecholamine 量의 性別차이를 흰쥐에서 관찰하였던바 자웅間에 하등의 差異가 없다.

6. 심장 catecholamine 量의 季節的 變動을 토끼에서 관찰하였던바 6월부터 9월 사이의 夏節에 若干 增加된다.

7. 심장 catecholamine의 細胞內 저장 分布를 分劃遠心沈澱法을 利用하여, 흰쥐 고양이 및 토끼 심장 homogenate에서 檢索하였던바 全體 catecholamine 量의 約 20%가 mitochondria 層의 顆粒에 存在하고 約 45%는 microsome 層의 顆粒에 含有되어 있으며 나머지 約 35%가 上清液中에 있다. 大部分의 catecholamine은 顆粒狀으로 存在하며 catecholamine含有顆粒은 적어도 2種이 있다고 思料된다.

## 參 考 文 獻

- Abel, W.: *Further observations on the development of the sympathetic nervous system in the chick.* *J. Anat. (Lond).* 47:35, 1912.
- Angelakos, E.T.: *Regional distribution of catecholamines in the dog heart.* *Circul. Res.*, 16:39, 1965.
- Anton, A.A. and Sayer, D.F.: *A study of factors affecting the aluminium oxide tri-hydroxy-indole procedure for the analysis of catecholamine.* *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 138:360, 1962.
- Axelrod, J., Weil-Malherbe, H. and Tomchick, R.: *The physiological disposition of H<sup>3</sup>-epinephrine and its metabolite metanephrine.* *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 127:251, 1959.
- Bacq, A.M. and Fischer, P.: *Nature de la substance sympathicomimétique extraite des nerfs ou des tissus des mammifères.* *Arch. internat. Physiol.*, 55:73, 1947.
- Benedict, F.G. and Macleod, G.: *Heat production of albino rat; influence of environmental temperature, age and sex; comparison with basal metabolism of man.* *J. Nute.*, 1:367, 1929.
- Bhagat, B. and Shideman, F.E.: *Repletion of cardiac*

- catecholamines in the rat: Importance of the adrenal medulla and synthesis from precursors. J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 143:77, 1964.
- Blaschko, H., Hagen, P. and Welch, A.D.: *Observations. J. Physiol.*, 129:27, 1955.
- Blaschko, H. and Welch, A.D.: *Localization of adrenaline in cytoplasmic particles of the bovine adrenal medulla. Arch. Exp. Path. Pharmacol.*, 219:17, 1953.
- Bowman, R.L., Caulfield, P.A. and Udenfriend, S.: *Spectrophotofluorometric assay throughout the ultraviolet and visible range. Science*, 122:32, 1955.
- Campos, H.A. and Shideman, F.E.: *Subcellular distribution of catecholamines in the dog heart. Effects of reserpine and norepinephrine administration. Int. J. Neuropharmacol.*, 1:13, 1962.
- Cannon, W.B. and Lissak, K.: *Evidence for adrenaline in adrenergic neurones. Amer. J. Physiol.*, 125:765, 1939.
- Chang, C.C. and Su, C.Y.: *Effect of cold stress on the subcellular distribution of noradrenaline in the rat heart. J. Pharm. Pharmacol.*, 19:73, 1967.
- Crout, J.R., Creveling, C.R. and Udenfriend, S.: *Norepinephrine metabolism in rat brain and heart. J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 132:269, 1961.
- Distefano, V. and Klahn, J.J.: *Depletion of cardiac norepinephrine in the mouse and cat by mercaptoethylguanidine. J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 151:236, 1966.
- Enemar, A., Falck, B. and Hakanson, R.: *Observations on the appearance of norepinephrine in the sympathetic nervous system of the chick embryo. Develop. Biol.*, 11:268, 1965.
- Euler, U.S. Von: *The presence of sympathomimetic substance in extracts of mammalian heart. J. Physiol.*, 105:38, 1946 a.
- Euler, U.S. von: *A specific sympathomimetic ergone in adrenergic nerve fibres (sympathin) and its relation to adrenaline and noradrenaline. Acta Physiol. scand.*, 12:73, 1946 b.
- Euler, U.S. von: *Noradrenaline release from isolated nerve granules. Acta Physiol. scand.*, 51:193, 1955.
- Euler, U.S. von: *Norepinephrine: Chemistry, Physiology, Pharmacology and Clinical Aspects. Charles C. Thomas, Springfield, 1956.*
- Euler, U.S. von and Hillarp, N.A.: *Evidence for presence of noradrenaline in submicroscopic structures of the adrenergic axons. Nature, (Lond)*. 177:44, 1956.
- Friedman, W.F., Pool, P.E., Jacobowitz, D., Seagren, S.C. and Braunwald, E.: *Sympathetic innervation of the developing rabbit heart. Circul. Res.*, 28:25, 1968.
- Glassman, P.M., Angelakos, E.T. and McNary, W.F.: *Catecholamine containing fractions of dog heart homogenates. Life Sci. (Oxford)*, 4:1727, 1965.
- Goldberg, N.D. and Shideman, F.E.: *Species differences in the cardiac effects of monoamine oxidase inhibitor. J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 136:142, 1962.
- Goodall, McC.: *The presence of noradrenaline, adrenaline and unknown sympatholytic in cattle heart. Acta Physiol. scand.*, 20:137, 1950.
- Goodall, McC.: *Studies of adrenaline and noradrenaline in mammalian heart and suprarenals. Acta Physiol. scand.*, 24:suppl. 85, 1951.
- Gray, H.: *Anatomy of the human body, 28th ed.*, Edited by Goss, C.M., Lea and Febiger, Philadelphia, 1966.
- Hagen, P.: *The distribution of adrenaline and noradrenaline in ox adrenal medulla. J. Physiol.*, 1954.
- Hamilton, H.L.: *Lillie's development of the chick, 3rd ed.*, Holt, Rinehart and Winston, New York, 1952.
- Hawk, P.B., Oser, B.L. and Summerson, W.H.: *Practical Physiological Chemistry, 12th ed.*, The Blakiston Company, Philadelphia, 1947.
- Hermann, H., Chatonnet, J. and Vial, J.: *Effets de fortes excitations sur les teneurs respectives de la glande surrénale en adrenaline et en noradrenaline. C. Rend. Soc. Biol.*, 146:1318,

- 1952.
- Hertting, G., Potter, L.T. and Axelrod, J.: *Effect of decentralization and ganglionic blocking agents on the spontaneous release of  $H^3$ -norepinephrine*. *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 136:289, 1962.
- Hillarp, N.A., Lagerstedt, S. and Nilson, B.: *The isolation of a granular fraction from the suprarenal medulla, containing the sympathomimetic catecholamines*. *Acta Physiol. scand.*, 28:251, 1953.
- Hillarp, N.A. and Nilson, B.: *The structure of the adrenaline and noradrenaline containing granules in the adrenal medullary cells with reference to the storage and release of the sympathomimetic amines*. *Acta Physiol. scand.*, 31:suppl. 113, 1954.
- Holtz, P., Credner, K. und Kroneberg, G.: *Ueber das sympathomimetische pressorische Prinzip des Harns ("Urosympathin")*. *Arch. Exp. Path. Pharmacol.*, 204:228, 1947.
- Holtz, P., Kroneberg, G. and Schumann, H.J.: *Ueber die sympathikomimetische Wirksamkeit von Herzmuskelextracten*. *Arch. Exper. Path. Pharmacol.*, 212:551, 1951.
- Hueber, E.F.V.: *Über eine einfache Methode der Adrenaline in strömenden Blut nachzuweisen*. *Klin. Wschr.*, 19:664, 1950.
- Ignarro, L.J. and Shideman, F.E.: *Appearance and concentrations of catecholamines and their biosynthesis in the embryonic and developing chick*. *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 159:38, 1968 a.
- Ignarro, L.J. and Shideman, F.E.: *Norepinephrine and epinephrine in the embryo and embryonic heart of the chick: Uptake and subcellular distribution*. *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 159:49, 1968 b.
- Iverson, L.L.: *The uptake of norepinephrine by the isolated perfused rat heart*. *Brit. J. Pharmacol.*, 21:523, 1962.
- Jacobowitz, D.: *Histochemical studies of the relationship of chromaffin cells and adrenergic fibres to the cardiac ganglia of several species*. *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 158:227, 1968.
- Jonson, G. and Sachs, C.: *Subcellular distribution of  $H^3$ -noradrenaline in adrenergic nerves of mouse atrium-effect of reserpine, monoamine oxidase and tyrosine hydroxylase inhibition*. *Acta Physiol. scand.*, 77:344, 1969.
- Kauda, M.A.: *Distribution of catecholamine in the dog heart*. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 112:728, 1963.
- Kuntz, A.: *The development of the sympathetic nervous system in birds*. *J. Comp. Neurol.*, 20:283, 1910.
- Lee, W.C., Lee, C.Y. and Yoo, C.S.: *Effects of treatment with thyroxin on the noradrenaline content of the rabbit heart*. *Brit. J. Pharmacol.*, 25:151, 1965.
- Lee, W.C., McCarty, L.P. and Shideman, F.E.: *Measurement of the inotropic effects of drugs on the innervated and non-innervated embryonic chick heart*. *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 129:315, 1960 a.
- Lee, W.C., McCarty, L.P., Zodraw, W.W. and Shideman, F.E.: *The cardiostimulant action on certain ganglionic stimulants on the embryonic chick heart*. *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 130:30, 1960 b.
- Lee, W.C. and Shideman, F.E.: *The role of myocardial catecholamines in cardiac contractility*. *Science*, 129:967, 1959 a.
- Lee, W.C., Shin, Y.H. and Shideman, F.E.: *Cardiac activities of several monoamine oxidase inhibitors*. *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 127:251, 1961.
- Lee, W.C. and Shideman, F.E.: *Mechanism of the positive inotropic response to certain ganglionic stimulants*. *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 126:239, 1959 b.
- Loewi, O.: *Ueber humorale Uebertragbarkeit der Herznervenwirkung*. *Arch. ges. Physiol.*, 189:239, 1921.
- Loewi, O.: *Quantitative and qualitative Untersuchungen über den Sympathicusstoff*. *Pflüger Arch. ges. Physiol.*, 237:504, 1936.
- McCarty, L.P.: *The effect of innervation on the response of the embryonic heart to drugs*. Ph.D. Thesis, University of Wisconsin, 1960.
- Montagu, K.A.: *Seasonal changes of the catechol*

- compounds present in rat tissues. *Biochem. J.*, 71:91, 1959.
- Moore, K.E. and Brody, T.M.: *The effect of triethyltin on tissue amines. J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 132:6, 1961.
- Moore, K.E., Calvert, D.N. and Brody, T.M.: *Tissue catecholamine contents of cold-acclimated rats. Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 106:816, 1961.
- Morrow, D.H., Gaffney, T.E. and Braunwald, E.: *Studies on digitalis, VIII. Effect of autonomic innervation and of myocardial catecholamine stores upon the cardiac action of ouabain. J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 140:236, 1963.
- Muscholl, E.: *Die Konzentration von Noradrenalin und Adrenalin den einzelnen Abschnitten des Herzens. Arch. Exp. Path. Pharmacol.*, 237:350, 1959.
- Nagatsu, T., Levitt, M. and Ubenfriend, S.: *Tyrosine hydroxylase: initial step in norepinephrine biosynthesis. J. Biol. Chem.*, 239:2910, 1964.
- Palade, G.E.: *Secretory granules in the atrial myocardium. Anat. Res.*, 139:262, 1961.
- Paasonen, M.K. and Krayer, O.: *The release of norepinephrine from the mammalian heart by reserpine. J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 123:153, 1958.
- Potter, L.T. and Axelrod, J.: *Intracellular localisation of catecholamines in tissues of the rat. Nature (London)*, 194:581, 1962.
- Potter, L.T. and Axelrod, J.: *Subcellular localisation of catecholamines in tissues of the rat. J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 142:291, 1963.
- Raab, W.: *Chemical determinations of adrenocortical hormones in heart muscle of rat. Endocrinol.*, 29:564, 1941.
- Raab, W.: *Adrenaline and related substances in blood and tissues. Biochem. J.*, 37:470, 1943.
- Raab, W. and Gige, W.: *Katecholamine des Herzens. Arch. Exp. Path. Pharmacol.*, 219:248, 1953.
- Raab, W. and Gige, W.: *Specific avidity of the heart muscle to absorb and store epinephrine and norepinephrine. Circul. Res.*, 3:553, 1955 a.
- Raab, W. and Gige, W.: *Norepinephrine and epinephrine content of normal and diseased human hearts. Circulation*, 11:593, 1955 b.
- Romanoff, A.L.: *The avian embryo, The Macmillan Company, New York, 1960.*
- Roth, R.H., Stjärne, L., Bloom, F.E. and Giarman, N.J.: *Light and heavy norepinephrine storage particles in the rat heart and in bovine splenic nerve. J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 162:203, 1968.
- Schümann, H.J., Schnell, K. and Philippu, A.: *Subcelluläre Verteilung von Noradrenalin und Adrenalin in Meerschweinchenherzen. Nauwyn-Schmiedebergs Arch. Exp. Path., Pharmacol.* 249:251, 1964.
- Shaw, F.H.: *The estimation of adrenaline. Biochem. J.*, 32:19, 1938.
- Shore, P.A. and Olin, J.S.: *Identification and chemical assay of norepinephrine in brain and other tissues. J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 122:295, 1958.
- Smith, A.D.: *Subcellular localization of noradrenaline in sympathetic neurons. Pharmacol. Rev.*, 24:435, 1972.
- Sosa-Lucero, J.C., De La Iglesia, F.A., Lumb, G., Berger, J.M. and Bencosme, S.: *Subcellular distribution of catecholamines and specific granules in rat heart. Lab. Invest.*, 21:19, 1969.
- Spectordsma, A., Zaltzman-Nierenberg, P., Levitt, M. and Udenfriend, S.: *Norepinephrine synthesis from tyrosine-C<sup>14</sup>. Science*, 139:1299, 1963.
- Stone, C.A., Rose, C.A., Wenger, H.C., Ludden, C.T., Blessign, J.A., Totaro, J.A. and Porter, C.C.: *Effect of alpha-methyl-3,4-dihydroxyphenylamine(methyl-dopa), reserpine and related agents on some vascular responses in the dog. J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 136:80, 1962.
- Strömblad, B.C.R. and Nickerson, M.: *Accumulation of epinephrine and norepinephrine by some rat tissue. J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 134:154, 1961.
- Sung, J.H.: *Personal communication: Department of Neuropathology, University of Minnesota, Minneapolis, Minnesota.*

- Swan, M.M.: *Effect of severe hemorrhage, seasonal temperature and diurnal variation on blood lactate in dog.* *Amer. J. Physiol.*, 140:125, 1943.
- Szepeswol, J. and Bron, A.: *Le premier contact du systéme nerveux vagosympathique avec l'appareil cardiovasculaire chez les embryons de canards (canard et poulet).* *C. Rend. Soc. Biol. (Paris)*, 118:946, 1935.
- Floray, P.W., Chidsey, C.A., Richardson, K.C., Cooper, T. and Michaelson, I.A.: *Subcellular distribution of norepinephrine in the normal and surgically denervated cat heart.* *Biochem. Pharmacol.*, 15:681, 1966.
- Ubenfriend, S.: *Enzymology: Tyrosine hydroxylase.* *Pharmacol. Rev.*, 18:43, 1966.
- Viveros, O.H., Arqueros, L., Connett, R.J. and Kirshner, N.: *Mechanism of secretion from the adrenal medulla. III. Studies of dopaminehydroxylase as a marker for catecholamine storage vesicle membranes in rabbit adrenal glands.* *Mol. Pharmacol.*, 5:60, 1969.
- Weiner, N.: *Regulation of norepinephrine biosynthesis.* *Ann. Rev. Pharmacol.*, 10:273, 1970.
- Weiner, N., Cloutier, G., Bjur, R. and Pfeiffer, R.I.: *Modification of norepinephrine synthesis in intact tissue by drugs and during short-term adrenergic nerve stimulation.* *Pharmacol. Rev.*, 24:203, 1972.