大韓胸部外科學會誌 第 16 卷 第 2 號
Vol. 16, No. 2, June, 1983

토끼 동방결절 박동수에 대한 아데노신의 작용

채 헌*·서 경 필*·김 기 환**

-Abstract-

Inhibitory action of adenosine on sinus rate in isolated rabbit SA node

Hurn Chae, M.D.,* Kyung Phlil Suh, M.D. * and Ki Whan Kim, M.D.,**

The inhibitory influences of adenine compounds on the heart have been described repeatedly by many investigators, since the first report by Drury and Szent-Györgyi (1929). These studies have shown that adenosine and adenine nucleotides have an over-all effect similar to that of acetylcdholine (ACh) by slowing and weakening the heartbeat. The basic cellular and membrane events underlying the inhibitory action of adenosine on sinus rate, however, are not well understood. Furthermore, the physiological role of adenosine in regulation of the heartbeat remains still to be elucidated. Therefore, this study was undertaken in order to examine the response of rabbit SA node to adenosine and to compare the response to that of ACh.

Isolated SA node preparation, whole atrial pair, or left atrial strip was used in each experiment. Action potentials of SA node were recorded through the intracellular glass microelectrodes, which were filled with 3M KCl and had resistance of 30-50 MΩ. All experiments were performed in a bicarbonate-buffered Tyrode solution which was aerated with 3% CO_2-97% O_2 gas mixture and kept at 35°C.

Spontaneous firing rate of SA node at 35°C (Mean ± SEM, n=16) was 154 ± 3.3 beats/min. The parameters of action potentials were: maximum astolic potential (MDP), −73 ± 1.7mV: overshoot (OS), 9 ± 1.4mV; slope of pacemaker potential (SPP), 94 ± 3.0mV/sec.

Adenosine suppressed the firing rate of SA node in a dosedependent manner. This inhibitory effect appeared at the concentration of 10^{-6} M and was potentiated in parallel with the increase in adenosine concentration. Changes in action potential by adenosine were dose-dependent increase of MDP and decrease of SPP until 10^{-4} M. Above this concentration, however, the amplitude of action potential decreased markedly due to the simultaneous decrease of both MDP and OS. All these effects of adenosine were not affected by pretreatment of atropine (2mg/1) and propranolol (5×10^{-6} M).

ACh (10^{-6} M) responses on action potential were similar to those of adenosine by increasing MDP and decreasing SPP. These effects of ACh disappeared by pretreatment of atropine (2mg/1).

Inhibitory effects of adenosine and ACh on sinus rate were enhanced synergistically with the simultaneous administration of adenosine and ACh. Marked decrease of overshoot potential was the most prominent feature on action potential.

* 서울대학교 의과대학 흉부외과학 교실
* *Department of Thoracic Surgery, College of Medicine, Seoul National University*
** 서울대학교 의과대학 생리학교실
** *Department of Physiology Collage of Medicine, Seoul National University*

Dipyridamole (DPM), which is known to block the adenosine transport across cell membrane, definately potentiated the action of adenosine.

Adenosine suppressed the sinus rate and atrial contractility in the same dosage range, even in the reserpinized preparation.

Above results suggest that adenosine suppresses pacemaker activity, like ACh, by acting directly on the membrane of SA node, increasing MDP and decreasing SPP.

Ⅰ. 서 론

아데노신은 체내에서 생성되는 내원성의 강력한 관상동맥 확장제로서 심장관류 혈류량 조절에 있어 중요한 대사성 조절인자로 인정되고 있고(Berne, 1963 ;Rubio and Berne, 1969 ; Kim, 1980 : Berne, 1980),또한 이 물질은 심장에 대하여는 아세칠콜린(acetylcholine, ACh)과 유사하게 억제적으로 심장 박동수를 감소시키고 심근수축력도 약화시키는 작용을 가지고 있다는 사실도 잘 알려져 있다(Drury and Szent-Gyorgyi, 1929 : Wedd, 1931 ; De Gubareff and Sleator, 1965 ; Chiba, 1976 ; Drummond and Severson, 1979 ; Burnstock, 1980). 아데노신은 심장 이외에도 콩팥, 지방조직, 정관, 뇌, 골격근, 혈관조직 및 장관 등 여러가지 조직에서 다양하게 작용하고 있음이 입증되어 있다(Hedqvist et al., 1976 ; Erno and Saidman, 1977 ; Verhaege et al., 1977 ; Gustafsson et al., 1978 ; Hedqvist et al., 1978 ;Hedqvist and Fredholm, 1979).

지금까지 제시된 아데노신의 작용기전은 대별하여 두가지로 요약될 수 있다. 즉 신경을 통하지 않고 심근이나 혈관 평활근 등 효과기의 세포막에 직접 작용하여 효과를 나타낸다는 설(Schrader et al., 1975 : Chiba and Himori, 1975 ; Schrader et al., 1977 ; Harder et al., 1979 ; Hartzell, 1979 ; Fredholm, 1982)과 조직에 분포하는 신경말단에 작용하여 신경흥분 전달물질의 유리과정을 억제함으로써 간접적으로 그 효과가 나타난다는 설이 있다(Ginsborg and Hirst, 1972 ; Hedqvist et al., 1976 ; Erno and Saidman, 1977; Verhaege et al., 1977 Leighton and Parmeter, 1977; Gustafsson et al., 1978 ; Gustafsson, 1981).

심장박동의 조절은 일반적으로 자율신경계의 흥분전달물질인 ACh 과 노에피네프린(norepinephrine)의 길항작용에 의하여 이루어지는 바 ACh 은 활동전압의 완만내향전류(slow inward current, Na^+/ Ca^{++})를 감소시키고, 향도잡이 활동에 중요한 외향칼륨전류 (outward potassium current)를 증가시켜 심장박동수와 수축력을 감소시키고, 노에피네프린은 거의 ACh 과 반대작용을 나타내어 박동수와 수축력을 촉진시키고 있다(Giles and Noble, 1976 ; Ten Eick et al., 1976 ; Noble, 1979). 자율신경계 흥분전달물질 이외에도 심장박동수에 영향을 미치는 많은 물질이 있지만 그 중에서도 아데노신 등아데닌 화합물등의 억제적 영향에 관하여는 많은 연구가 계속되고 있으며 이들의 작용양식이 박동수의 감소와 심근 수축력의 약화를 일으킨다는 등 매우 ACh의 작용과 유사한 점을 지니고 있다. 그러나 자세한 작용기전에 관하여는 아직도 모르는 바가 많고 더군다나 박동수조절에 관한 아데노신의 생리적 역할에 대하여는 모르고 있는 상태이다.

본 논문은 아데노신의 심장박동수 억제기전과 그 생리적 역할을 좀더 밝혀보고자 전기생리학적 방법을 이용하여 향도잡이 역할을 하는 동방결절에 대하여 여러 조건하에서 아데노신의 투여효과를 관찰하였고, 이것을 ACh의 반응과 비교 관찰한 것이다.

Ⅱ. 실 험 방 법

체중 1.0 kg 전후의 토끼를 암수 구별없이 실험동물로 사용하였다. 혈중 카테콜아민(catecholamine)농도의 증가를 최대한도로 막기 위하여 후두부를 강타한 후 즉시 총경동맥을 절단하여 실혈시켰다. 개흉하여 심장을 적출한 뒤 실온에서 100% O_2로 포화되어 있는 Tris-완충 Tyrode 용액(NaCl 158, KCl 4.0, $CaCl_2$ 2.0, $MgCl_2$ 1.0, glucose 5.5, tris 10 mM, pH 7.30 ~ 7.35)이 들어있는 준비용기 내에서 적출심장을 조작하였다. 교감신경 말단에서 노에피네프린을 고갈시키기 위한 실험에서는 실험시작 24 시간 전에 복강으로 reserpine 5 mg/kg 체중(De Gubareff and Sleator, 1965)을 주사한 뒤 실험동물로 사용하였다.

(1) 동방결절 조직절편(isolated SA node)

준비용기 내에서 우선 좌우심방만을 붙은 채로 분리

적출한 뒤 심방중격과 평행으로 상하 대정맥 쪽으로 각각 절개한 뒤 동방결절이 포함된 조직절편(2×4mm)을 만들어 실온에서 충분한 O_2를 공급하면서 1시간 정도 회복시켰다. 실제 관류실험은 35℃에서 3% CO_2-97% O_2의 혼합기체로 평형을 이루고 pH 7.35로 맞춰진 HCO_3^--완충 Tyrode 용액(NaCl 148, KCl 4.0, $CaCl_2$ 2.0, $MgCl_2$ 1.0, $NaHCO_3$ 12.0, NaH_2PO_4 0.42, dextrose 5.5mM)을 사용하였다. 실온에서 충분히 회복시킨 조직절편을 수평형의 관류실험기(용량 6ml)에 장치된 고무판에 핀으로 고정시킨 뒤 35℃ Tyrode 용액을 10ml/min 속도로 관류시키면서 다시 2시간 이상 회복시킨 뒤에 실험을 시작하였다.

동방결절의 활동전압은 유리 미세전극에 3M KCl을 채워서 tip resistance 30 MΩ 이상되는 것만을 사용하여 세포내에 꽂아서 생리기록기(Physiograph, Devices)와 오실로스코프(Oscilloscope)에 동시에 기록하였고 심장박동수는 Lectromed ratemeter로 기록하였고 최대탈분극속도($\dot{V}max$)는 교실에서 직접 제작한 미분기를 사용하여 기록하였다.

(2) 적출 심방(atrial pair)

좌우심방을 붙은 채로 동시에 분리 적출하여 실온의 Tyrode 용액내에서 1시간 이상 회복시켰다. 근육고정기에 좌우 심방 끝을 매어 이완된 상태로 고정한뒤, 35℃ HCO_3^--완충 Tyrode 용액이 들어있는 수직형 실험용기(용량 50ml)에 옮겨 근육고정기와 근수축 변환기(Grass FT-O_3)를 연결시키고 생리기록기에 연결하여 자발적 수축을 등장성(isometric)으로 기록하였고, 심장박동수도 동시에 기록하였다. 실험용기 내에서 실험이 시작되기 전에 1시간 이상 충분히 이완된 상태에서 회복시켰으며 매 20분마다 새로운 용액으로 갈아 주면서 회복을 촉진시켰다. 최적길이에서 수출장력을 기록하기 위하여 300~500mg의 피동장력(Resting passive tension)을 걸었다.

(3) 좌심방 심근절편(left atrial strip)

우선 좌우심방을 동시에 분리한 뒤 좌심방에서 심근절편을 만들어 사용하였다. 전장자극(Field stimulation ; DC, Square wave, 2Hz, 19V/cm, 2ms)으로 수축을 일으켜 등장성 수축을 기록하였고 동시에 미분기를 사용하여 최대장력발생율 $(dp/dt)_{max}$을 기록하였다.

실험에 사용된 약물은 다음과 같다.

Adenosine (Sigma)
Acetylcholine Chloride (Sigma)
Atropine (Sigma)
DL-Propranolol-HCl (Sigma)
Reserpine (Sigma)
Dipyridamole (Persantin, Boehringer- Ingelheim)

Ⅲ. 실 험 성 적

그림 1에 같은 토끼에서 동방결절과 그 주위 세포의 활동전압의 특징을 보였다. (A)는 동방결절의 활동전압과 최대탈분극속도($\dot{V}max$)를 나타내고 있고, (B)는 결절주위 세포의 것들을 보이고 있다.

동방결절의 활동전압을 보면 지나치기전압(Overshoot, OS)이 4mV, 최대확장기전압(Maximum diastolic potential, MDP)은 -72mV로서 활동전압크기(Action potential amplitude, APA)는 76mV이었다. 향도잡이 전압의 경사도(Slope of pacemaker potential, SPP)는 91 mV/sec이고 90% 활동전압기간(90% action potential, duration, APD_{90})은 270ms이며, $\dot{V}max$는 7.5V

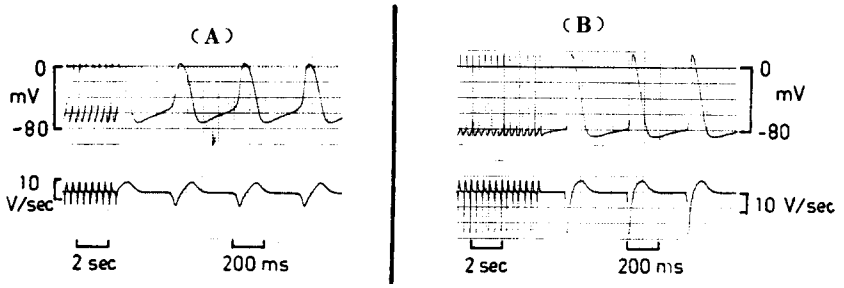


Fig. 1. Comparison of action potentials recorded from SA node (A) and perinodal cell (B) in the same rabbit. Prominent changes in action potentials from pacemaker SA nodal cells to perinodal cells were: the resting potential (maximum disatolic potential) increses, upstroke is faster, overshoot is taller, and the duration of the action potential is shorter.

/sec이었다. 이에 대하여 결절주위 세포의 활동전압을 보면 OS 14mV, MDP-89mV, APA 103mV, SPP 43 mV/sec, APD_{90} 120ms, $\dot{V}max$ 22.5 V/sec이었다.

그림 1에서 MDP, Vmax, OS 및 APD_{90}을 비교하여 보면 동방결절과 그 주위 세포의 활동전압 간에 차이점을 알 수 있다. 즉 동방결절에서 그 주위로 옮겨감에 따라 안정막전압이 증가하고, 탈분극 속도는 빨라지며 지나치기 전압은 점점 커지고, 활동전압기간은 짧아짐을 알 수 있다.

16마리의 토끼에서 얻은 동방결절 활동전압의 평균치 (mean ± SEM)를 보면 35℃ HCO_3^--완충 Tyrode 용액에서 심장박동수는 154 ± 3.3 beats/min, OS 9 ± 1.4mV, MDP -73 ± 1.7mV로서 APA 32 ± 1.6mV, threshold potential (ThP) -54 ± 1.9mV, SPP 94±3.0 mV/sec, APD_{50} 108 ± 4.3ms, APD_{90} 268 ± 7.4ms, $\dot{V}max$ 8 ± 0.6 V/sec이었다.

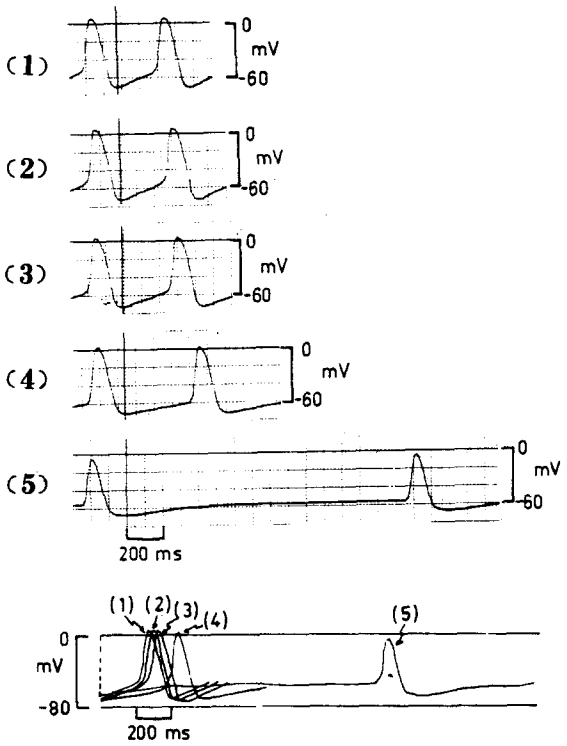


Fig. 2. Effect of adenosine on action potential of a spontaneously firing SA node in rabbit.
(1) traces: control response
(2), (3), (4), and (5) traces: responses produced by the application of 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, or 10^{-3} M adenosine, respectively.
Note that adenosine inhibited the firing rate of SA node in a dose-dependent manner.

(1) 아데노신이 동방결절 활동전압에 미치는 영향

아데노신 농도증가에 따라 동방결절활동전압에 나타나는 변화를 그림 2와 3에 나타내었다. 그림 2의 (1)은 대조군이며 (2) (3) (4) (5)는 각각 아데노신 농도가 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4} 및 10^{-3} M일 때이다.

박동수 억제효과는 10^{-6} M부터 나타나기 시작하여 농도증가에 따라 점차 심하게 억제되었다. 활동전압은 10^{-4} M까지는 MDP가 증가하였고, SPP는 농도증가에 따라 감소하였다. 그러나 10^{-3}에서는 MDP가 감소하고, OS도 심하게 감소하여 활동전압의 크기가 작아졌다. 즉 아데노신의 효과는 MDP증가, SPP 감소로 요약될 수 있으며 매우 심한 농도에서는 MDP와 OS가 동시에 감소하여 활동전압 크기가 작아졌다.

(2) 아데노신과 ACh의 작용비교

아데노신 10^{-4} M과 ACh 10^{-6} M의 심장박동수와 동방결절 활동전압에 미치는 대표적인 실험 예를 그림 4 및 그림 5에 나타내었다. 그림 4를 보면 아데노신 10^{-4} M용액을 관류시키자 곧 심장박동수가 분당 155에서120으로 떨어졌고 정상 Tyrode용액으로 갈아주자 곧 정상으로 회복하였다. 이때 나타나는 활동전압의 변화로는

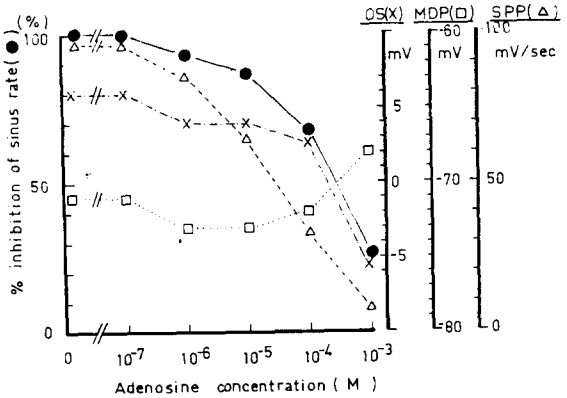
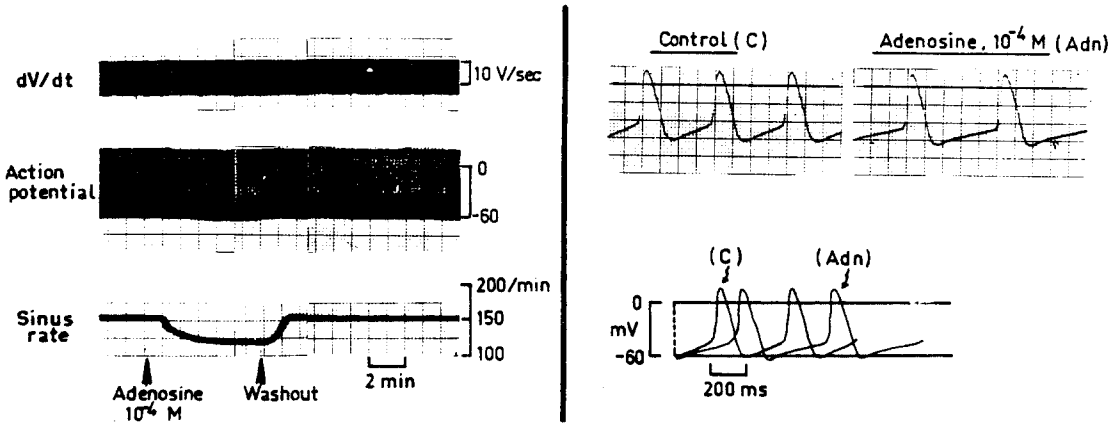


Fig. 3. Characteristic changes in firing sinus rate and parameters of action potentials by bath-application of adenosine in rabbit SA node.
Adenosine induced dose-dependent decreases of overshoot (OS) and slope of pacemaker potential (SPP), and increase of maximum diastolic potential (MDP) in parall with the inhibition of sinus rate until 10^{-4} M adenosine. Above 10^{-4} M, however, MDP and OS were rather decreased by adenosine.



Fgi. 4. Representative case of adenosine effect on action potentials of SA node.
Note that adenosine (10^{-4}M) produced characteristic changes in action potentials: increase of MDP, and decrease of SPP.

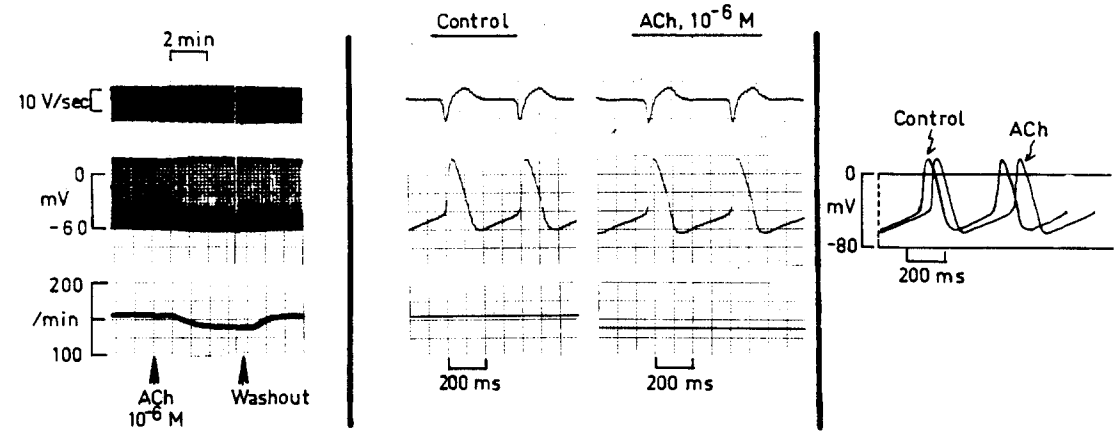


Fig. 5. Effect of acetylcholine (ACh) on action potential in rabbit SA node.
Note that reponses to ACh (10^{-6}M) were similar to those of adenosine, increase of MDP and decrease of SPP.

MDP가 -62mV에서 -65mV로 과분극되었고 SPP 가 86에서 53mV/sec로 감소되었다.

ACh 10^{-6}M에 대한 효과는 그림 5에 나타내었는데 심장박동수는 155에서 137로 감소하였고 정상 용액으로 갈아주자 곧 대조수준으로 회복되었다. 이때 나타나는 활동전압의 변화를 보면 MDP가 -60에서 -64mV로 과분극되었고, SPP는 80에서 75mV/sec로 감소되었다. 이러한 실험사실은 농도의 차로 인하여 정도의 차이는 있으나 아데노신이나 아세칠콜린의 활동전압에 미치는 효과는 MDP증가 및 SPP감소 등 매우 유사함을 보여주었다.

(3) 아데노신과 아세칠콜린의 작용기전

그림 6에 아세칠콜린의 심장박동수 억제효과가 아트로핀(atropine) 전처치에 의하여 완전히 억제됨을 보이고 있다. 즉 상단에는 ACh 10^{-6}M 투여에 의하여 심장박동수가 분당 190에서 175로 감소하였으나, 하단을 보면 아트로핀 2mg/ℓ를 전처치하더라도 박동수에는 변화가 없고 다시 ACh 10^{-6}M과 아트로핀 2mg/ℓ이 포함된 용액으로 관류시키자 약간의 감소가 있으나 활동전압을 보면 MDP나 SPP에 변화가 없었다.

이에 비하여 아데노신의 심장박동수 억제효과는 아트로핀과 프로프라놀롤(Propranolol) 전처치로 ACh나 노에피네프린의 영향을 차단시키더라도 영향을 받지 않음을 그림 7에 보이고 있다. 즉 아트로핀 2mg/L과 프로프라놀롤 5×10^{-6}M로 전처치를 한 뒤 10분 후에 아

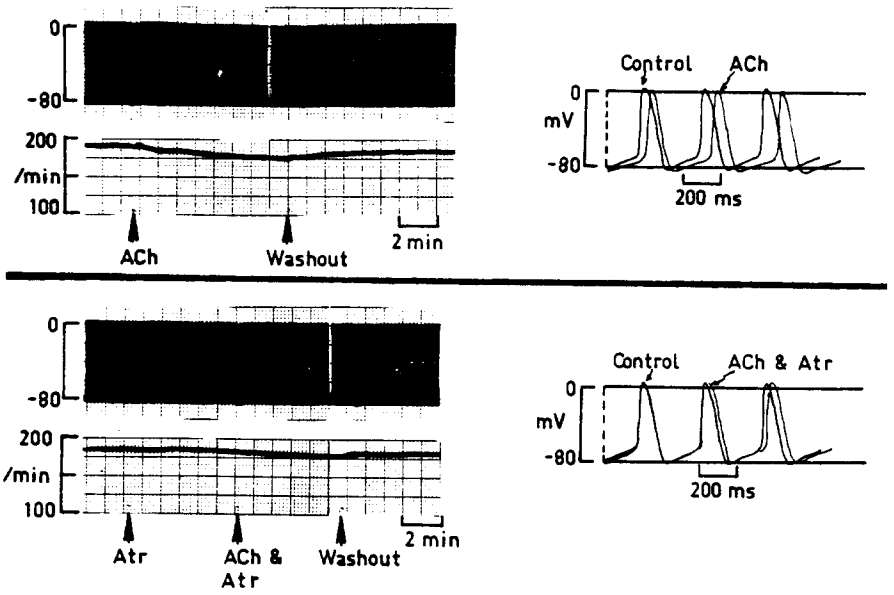


Fig. 6. Effect of muscarinic antagonist, atropine (2mg/1), on ACh response in rabbit SA node.
Response to ACh (10^{-6}M) was completely blocked after atropine was added to the bathing solution.

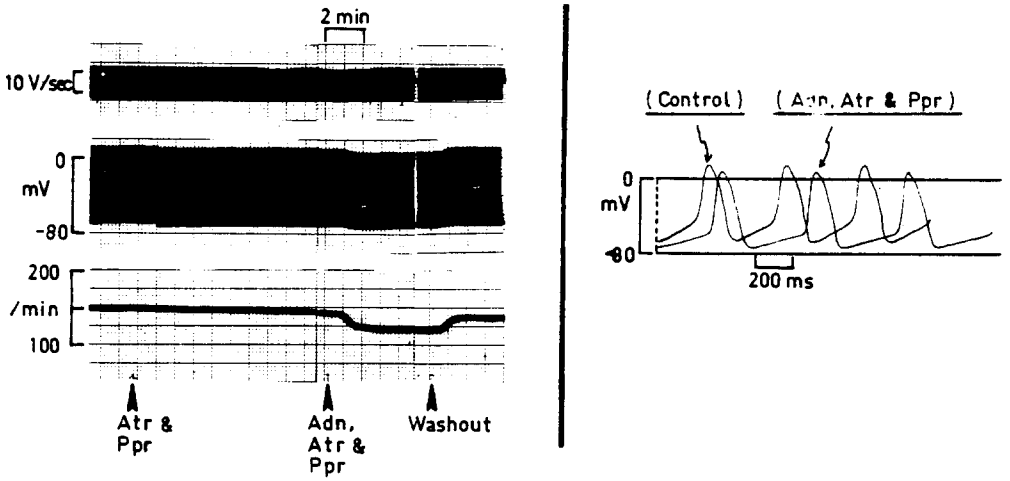


Fig. 7. Effect of muscarinic antagonist and β-blocker on the adenosine response of SA node in rabbit.
Adenosine responses (10^{-4}M) were unaffected by addition of atropine (2mg/1), and propranolol ($5x10^{-6}$M) to bathing solution.

데노신 10^{-4}M과 동량의 아트로핀과 프로프라놀롤이 다 포함된 용액으로 관류시키면 심장박동수가 분당 150에서 120으로 감소되었고 활동전압은 MDP가 124에서 50 mV/sec로 감소되었다. 이러한 사실은 아데노신이 자율신경계 신경말단에서 흥분전달물질의 유리에 영향을 미쳐 간접적으로 박동수 억제효과가 나타난다기 보다는 효과기(Effector)인 동방결절 세포에 직접 작용할 것이라는 암시를 하고 있다.

(4) 아데노신과 아세칠콜린간의 상승작용

그림 8의 (A)는 ACh 10^{-6}M과 아데노신 10^{-4}M를 각기 투여하였을 때 박동수의 변화를 보면 분당 175에서 135로 그리고 다시 150으로 변화였다가 정상 용액으로 갈아주자 즉시 정상 박동수로 회복됨을 보이고 있다. 그러나 (B)와 (C)에서 처럼 먼저 ACh 10^{-6}M이나 아데노신 10^{-4}M을 전처치하여 심장박동수가 감소된 상태에서 ACh과 아데노신이 모두 포함된 용액으로 관류하자 심장박동수 감소현상은 매우 급격하고 심하게 나타났다. (B)에서 보면 ACh 10^{-6}M를 전처치하자 박동수가 분당 175에서 135로 감소되고 ACh 10^{-6}과 아데노신 10^{-4}M이 포함된 용액으로 관류하자 곧 135에서 70으로 급격히 감소되었으나 정상 용액으로 갈아주자 즉시 정상으로 회복되었다.

(C)에서도 먼저 아데노신 10^{-4}M를 전처치하자 박동수는 175에서 150으로 감소되었고 여기에 ACh과 아데노신이 포함된 용액으로 관류하자 즉시 70으로 감소되었고 정상 용액으로 갈자 곧 정상 수준으로 회복되었다.

ACh 10^{-6}M과 아데노신 10^{-5}M을 동시에 포함한 Tyrode 용액으로 관류시킬 경우 심한 박동수 감소현상과 함께 활동전압에 나타나는 변화를 그림 9에 보이고 있다. 활동전압에 나타난 가장 특징적인 변화로는 지나치기 전압이 현저하게 감소된 것을 알 수 있다. 즉 ACh과 아데노신은 심장박동수 억제작용에 상승적으로 작용하고 있으며 활동전압 상에는 지나치기 전압의 심한 감소가 특징적인 변화로 나타났다.

(6) 아데노신의 작용부위

아데노신 분자는 세포막을 어렵지 않게 통과할 수 있음이 잘 알려져 있으므로(Paterson et al., 1975) 아데노신의 작용 부위가 세포막 표면인지 혹은 세포내인지를 규명하기 위하여 아데노신의 세포막 통과를 차단하는 작용이 있음이 알려진(Paterson et al., 1975) 디피리다몰(Dipyridamole, DPM)을 이용하였다. 즉 DPM과 아데노신을 동시 투여할 경우 아데노신 작용이 억제된다면 세포내에 작용할 것이나 오히려 강화된다면 세포막 표면에 작용하는 것으로 가정하여 실험한 결과가 그림 10과 그림 11에 보이고 있다.

그림 10을 보면 아데노신 10^{-5}M을 투여하자 $\dot{V}max$는 별 변화가 없었고 지나치기 전압은 거의 일정하나 MDP가 약간 증가하고 있으며 박동수는 분당 155에서

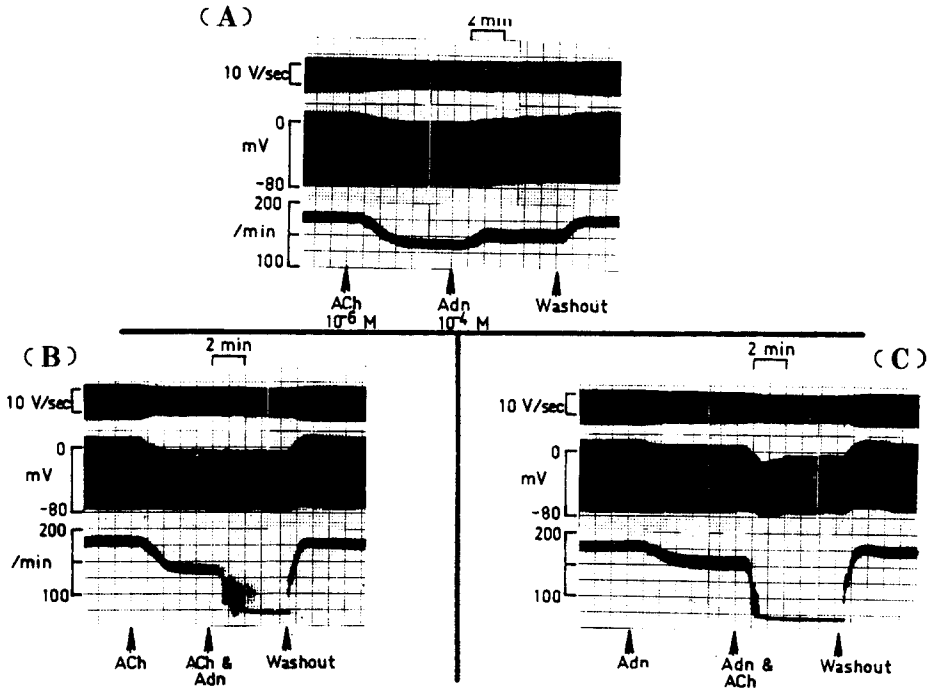


Fig. 8. Interaction of ACh and adenosine on action potential and sinus rate of rabbit SA node. Compare the responses of ACh (10^{-6}M) plus adenosine (10^{-4}M) (B,C) to of ACh or adenosine(A). Note that sinus rate was synergistically inhibited in the presence of both ACh and adenosine.

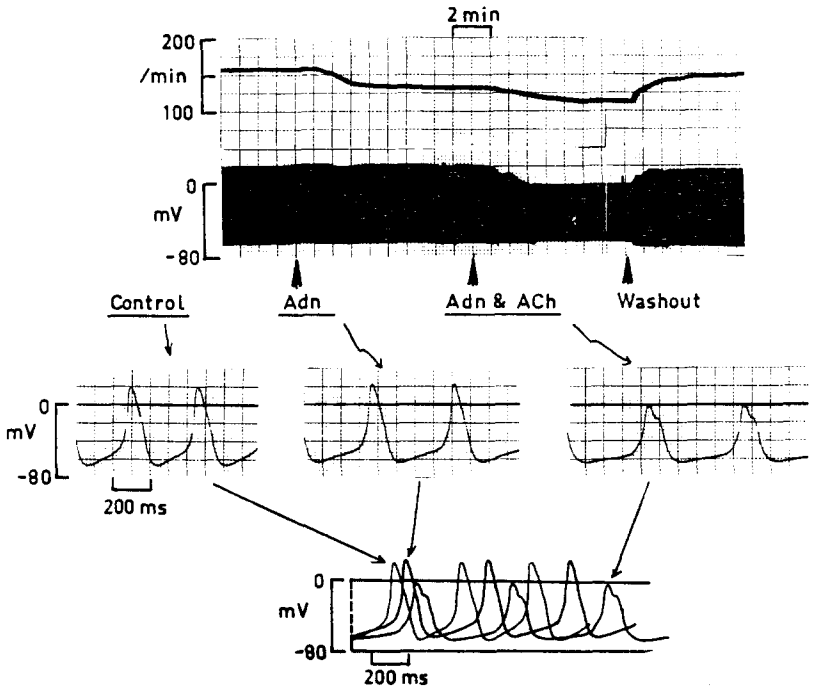


Fig. 9. Change in action potential of SA node after the addition of both ACh and adenosine. Note that the most prominent feature was a marked decrease of overshoot in the simultaneous presence of ACH (10^{-6}M) and adenosine (10-5M).

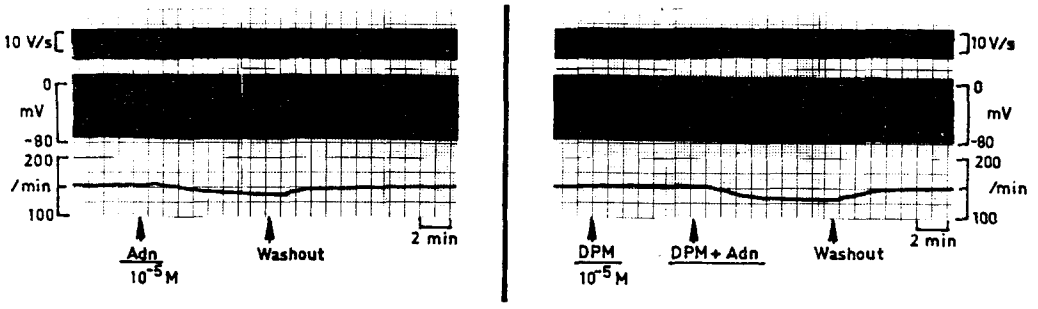


Fig. 10. Potentiation of response to adenosine with dipyridamole (DPM). The inhibitory effect of adenosine (10^{-5}M) on sinus rate was potentiated with DPM (10^{-5}M), which is known to be potent blocker of adenosine transport across cell membrane.

137로 감소하였으나 정상 용액으로 갈아주자 곧 회복되었다. 그러나 그림 10의 우측 그림에서 보인 것처럼 DPM 10^{-6}M을 투여하면 $\dot{V}$max나 활동전압에는 별 변화가 없었고 박동수는 매우 미약하나 약간 증가하는 경향을 보이고 있다. 약 7분후 다시 DPM 10^{-6}M과 아데노신 10^{-5}M이 모두 포함된 Tyqode용액으로 관류하자 박동수는 분당 157에서 130으로 감소되어 아데노신만이 존재할 때보다 박동수 억제효과가 더욱 강화되어 나타남을 알 수 있으며 이때의 특징적인 활동전압의 변화는 그림 11에 나타내었다.

즉 대조군, 아데노신 10^{-5}M, 그리고 DPM 10^{-5}M과 아데노신 10^{-5}M의 동시 투여군을 비교하면 MDP가 -74, -76, -78mV로 과분극의 정도가 증가하였으며 S-PP는 100, 80, 75mV/sec로 감소하였다. 이러한 실험사실은 아데노신의 작용부위가 동방결절 세포내가 아니라 세포막 표면임을 시사하는 것으로 사료되었다.

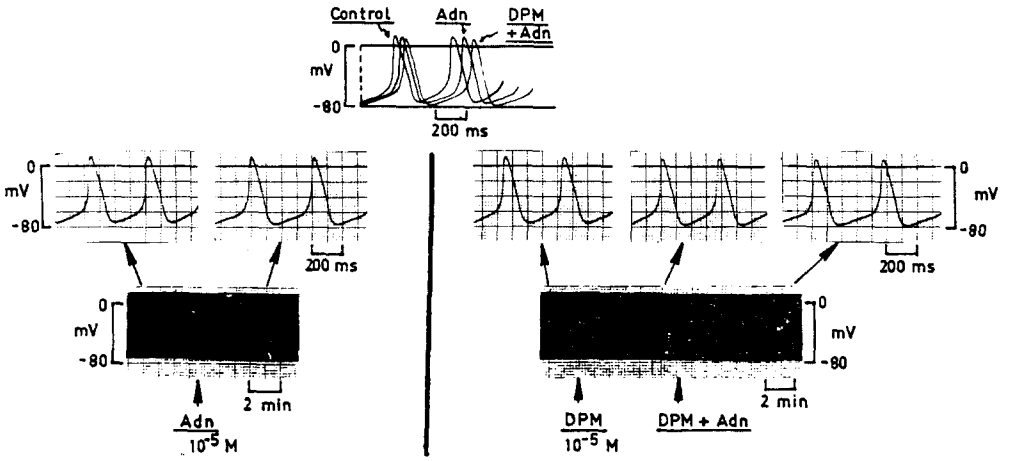


Fig. 11. Effect of adenosine on action potential of SA node in the presence of dipyridamole (DPM).
Characteristic changes in action potentials by adenosine (10^{-5}) were enhance with the administration of DPM (10^{-5}M).

(6) 심장박동수와 심근수축성에 대한 아데노신의 효과

아데노신의 심장박동수와 수축력에 미치는 영향을 분리하여 관찰하기 위하여 자발적으로 뛰는 좌우심방과 그 심장의 좌심방절편을 이용하여 관찰하였다. 정상 Tyrode 용액(Ca^{++}, 2mM)에서 전장자극에 의한 좌심방절편의 장력발생이 너무 작아 Ca^{++}을 6mM로 만들어 최대장력발생을 (dp/dt)을 기록하였다.

자발적으로 규칙적 수축을 하고 있는 좌우심방(atrial pair)에서는 아데노신 10^{-5}M에서 박동수 감소효과가 나타나기 시작하여 아데노신 농도증가에 따라 박동수도 즉시 감소하였다. 이와 마찬가지로 동일 심장의 좌심방절편의 실험에서도 아데노신 10^{-5}M 정도에서 수축력 억제효과가 나타나기 시작하였으며, 아데노신의 농도 증가에 따라 수축력도 급히 단계적으로 감소하였는데 Ca^{++}추가 투여로 완전 회복되었다. 이와 같은 결과를 그림 12와 그림 13에 나타내고 있는 바 아데노신의 심장박동수와 심근수축력 억제효과가 같은 농도 범위에서 일어나고 있음을 보여준다. 즉 다같이 10^{-5}M 정도에서 효과가 나타나기 시작하고 있다. 이러한 결과는 아데노신의 심장박동수와 수축력에 대한 억제작용이 같은 농도 범위에서 시작하므로 생체 내에서도 동방결절과 심방근에 동시에 작용하여 효과가 나타날 것으로 생각된다.

(8) Reserpine 전처치 심장에 대한 아데노신 효과

아데노신의 심장박동수와 심근수축력 억제효과가 동방결절이나 심근세포에 대한 직접작용에 의한 것인지 혹은 교감신경을 통한 간접작용에 연유한 것인지를 알아보기 위하여 실험시간 24시간 전에 Reserpine을 5mg /kg 체중을 복강내 주사하여 교감신경에서 노에피네프

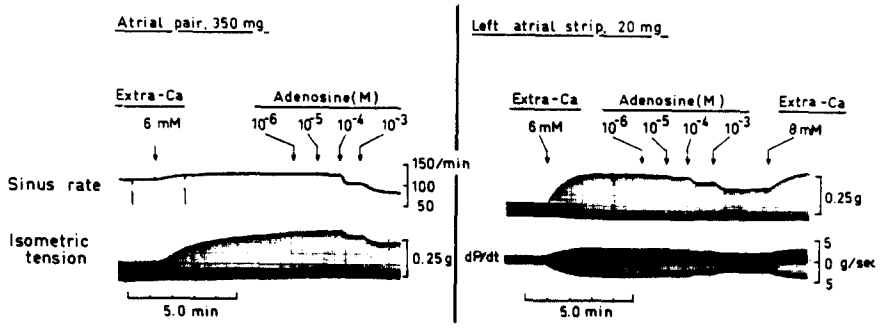


Fig. 12. Suppression of both pacemaker activity and atrial contractility by adenosine in the same dosage range.

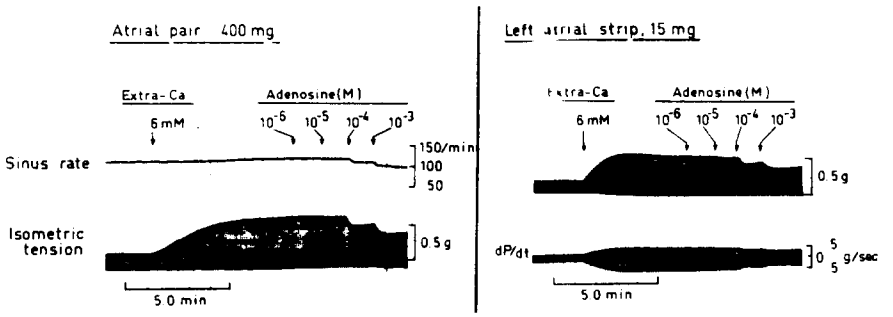


Fig. 13. No. different depressions of both pacemaker activity and atrial contractility between normal and Reserpinized heart by adenosine.

린을 고갈시킨 후 마찬가지 실험을 하였다. Reserpine을 처리하지 않은 대조실험에서와 같이 여전히 10^{-8}M에서 억제 현상이 나타났고, 박동수와 수축력에 대한 억제효과가 역시 같은 농도 범위에서 일어나고 있는 것으로 보아 아데노신의 효과는 동방결절과 심근세포에 대한 직접작용에 의한 것으로 사료되었다.

Ⅳ. 고 찰

내원성 물질인 아데노신이 심방근의 수축력과 심장박동수를 감소시킨다는 사실을 1929년 Drury 등이 보고한 이래 이에 대한 연구보고는 계속되고 있다. 이 물질은 심장박동에 영향을 미치고 있을 뿐만이 아니라 강력한 혈관확장의 기능도 보유하고 있어 심장을 관류하고 관상동맥의 혈류량 조절에 중요한 역할을 하고 있다. (Berne, 1963 : Gerlach et al., 1963). 아데노신은 심장의 경우 심근세포에서 ATP로부터 생성되어 세포밖으로 유출되지만, 특히 저산소증이나 산소요구도가 증가되는 상태에서는 더욱 생산량이 증가되어 많이 간질액으로 흘러나와 특히 심근에 매몰되어 있는 작은 관상동맥에 작용하여 혈관확장을 일으킴으로써 산소공급을 증가시켜 저산소증 등을 해소시키고 있다(Berne, 1963 ; Rubio and Berne, 1969 ; Rubio et al., 1972 ; Berne , 1980). 심장 이외의 조직(신장, 지방조직, 정관, 혈관 및 장관 등)에서는 이들 조직 내의 교감신경 말단에서 흥분전달 물질인 노에피네프린 유리를 억제한다는 보고와(Hedqvist and Fredholm, 1976 ; Erno and Saidman, 1977 ; Verhaege et al., 1977), 장관 등에서는 부교감신경 말단에서 아세칠콜린의 유리를 억제시킨다고 보고도 있다(Gustafsson et al., 1978).

아데노신의 심장에 대한 작용, 특히 관상동맥 확장, 심방근 수축력 억제 및 심장박동수 감소효과에 대하여 실험보고된 작용기전을 살펴보면 guinea-ping나 쥐의 심방근에서 완만활동전압(slow action potential : 대부분 Ca^{++} -내향전류로 되어있음)이 아데노신의 농도증가에 따라 그 크기가 단계적으로 작아지는 것으로 보아, Ca^{++} -유입을 억제하고 있음을 시사하였다(Schrader et al., 1975 ; Belardinelli et al., 1979). 토끼 좌심방절편을 이용한 본 실험에서도 아데노신 투여로 수축력이 저하된 상태에서 세포외 Ca^{++} 농도를 높여, Ca^{++} -유입을 촉진시킨(그림 12) 경우, 곧 수축력이 회복되는 것으로 보아 아데노신이 어떤 기전으로 Ca^{++} -유입을 억제하고 있음을 간접적으로 증명할 수 있었다.

아데노신은 관상동맥 중에서도 주로 심근에 매몰되어 있는 작은 관상동맥(intramural coronary artery)에 작용한다(Cohen and Kirk, 1973 ; Schnaar and Sparks, 1972 ;Kim, 1980). 여러가지 실험조건에서 관상동맥 절편의 기계적 수축반응에 대한 아데노신의 작용을 분석한 보고와, tetraethylammonium(TEA)으로 유발시킨 활동전압에서 아데노신이 Ca^{++} -내향전류(inward Ca^{++} - current)를 차단하고 있는 실험보고 등을 종합하여 보면 아데노신으로 인한 관상동맥 확장은 심방근에서와 같이 Ca^{++} -유입의 억제를 그 작용기전으로 해석할 수 있다.

심장의 박동수를 결정하여 주는 향도잡이(pace maker) 기능을 소유한 동방결절의 활동전압 중 가장 특징적인 것은, 재분극 진행 중에 서서히 발생하는 탈분극 현상 즉 향도잡이 전압(pacemaker potential)이다. 심장근에 대한 막전압고정법(Voltage-Clamp technique)이 도입된 이래(Deck, Kern and Trautwein, 1964) 심근 활동전압에 관여하는 각종 이온전류(ionic current)에 관하여 알려지게 되었다.

자동능을 보이는 양의 풀키네섬유(Purkinje fiber of sheep)에서는 향도잡이 전류로 생각되는 K-전류, i_{k_2} Noble and Tsien, 1968)가 밝혀 졌으나 정상적인 향도잡이 구실을 하고 있는 정맥동(sinus venosus)이나 동방결절에서는 Na, K-전류인 i_f(Brown, Di Francesco and Noble, 1979 a)와 Ca-전류, i_{ca}(Noma, Kotake and Irisawa, 1980)인 것으로 해석되고 있다.

이와 같이 풀키네섬유와 동방결절의 향도잡이 전류에 참여하는 이온전류 간의 차이로 인하여 자발적 흥분을 하는 풀키네섬유에 세포외 Na^+ 농도를 낮추거나, K^+ 농도를 높여주면 향도잡이 전압의 경사도가 완만해지면서 흥분발사율(박동수)이 감소하지만, 동방결절에서는 이러한 반응양상이 불명확하다. 또한 Ca^{++} -내향전류가 동방결절의 향도잡이 전압 발생에 중요하다는 여러 가지 실험적 사실이 있다. 즉 자발적 흥분을 하고 있는 토끼의 동방결절에서 세포의 Ca^{++} 농도를 높이면 이에 따라 향도잡이 전압 경사도가 급하여 지면서 흥분발생 빈도(활동전압발생 빈도) 가 증가함을 관찰하였고(Seifen et al., 1964), Ca^{++} 길항제인 Verapamil을 투여하면 향도잡이 전압의 경사도는 물론, 농도증가에 따라 활동전압의 크기도 작아지고 있다(Wit and Cranefield, 1974).

미주신경 자극이나 아세칠콜린(ACh) 투여에 의한 심장박동수와 심방수축력 억제효과는 개구리 정맥동이나 심방근을 이용한 실험결과에 의하면 K^+ 투과성(permeability) 증가와 Ca^{++} 전류가 중요한 성분인 완만내향전류의 감소로 ACh 효과가 나타남이 알려져 있다(Kutter and Trautwein, 1956 ; Giles and Noble, 1976 ; Brown etaal., 1979 ; Brown; 1982). 즉 개구리 정맥동이나 심방근에 ACh을 투여하면 K^+ 투과성 증가로 막전압의 과분극(hyperpolarization)과 향도잡이 전압 경사도의 감소현상이 일어나고 완만내향전류의 감소로 활동전압의 기간이 단축되고 심하면 크기로 작아지게 되어 정맥동의 흥분발사 수가 감소되고 Ca^{++} -유입의 감소로 심방수축력이 감소된다. 본 실험(그림 5, 6)에서도 ACh 10^{-6}M 투여로 과분극 현상이 일어나 MDP 증가, 향도잡이 전압 경사도 감소현상이 보였다.

아데노신의 투여로 나타난 동방결절 활동전압 상의 두드러진 특징은 10^{-4}M까지는 과분극 정도가 점차로 증가(즉 MDP증가), 지나치기 전압의 감소 및 향도잡이 전압 경사도 감소이었다(그림 2, 3, 4). 이러한 사실들은 아데노신이 ACh와 유사하게 어느 정도 K^+ permeability를 증가시키고, 완만내향전류인 Ca^{++} 전류를 억제시키는 작용을 가지고 있음을 나타낸다고 해석되고 아데노신 농도가 매우 높은 10^{-3}M에서는 오히려 MDP가 감소되고 OS가 줄어들어 활동전압 크기와 향도잡이 전압 경사도의 심한 감소현상이 나타났는데 이것은 완만내향전류의 심한 억제현상의 결과로 생각된다.

아데노신은 자율신경계 말단이 포함된 조직절편에 투여하여 이때 기록된 동방결절 활동전압에 나타난 변화가 ACh 효과와 매우 유사하여, 아데노신의 심장박동수 억제기전이 신경말단에 작용하여 흥분전달물질 유리에 영향을 주어(즉 노에피네프린 유리 억제 혹은 아세칠콜린 유리촉진) 간접적으로 나타나는 것인지를 확인한 실험이 그림 6, 7 및 13이다. ACh효과는 아트로핀 투여로 억제되지만(그림 6) 아데노신효과는 아트로핀과 프로프라놀롤 처리에 의하여 영향을 받지 않았고(그림7), 교감신경 말단에서 노에피네프린을 고갈시킨 경우에도 아데노신의 효과는 그대로 나타난(그림 13) 실험사실들은 아데노신의 작용부위가 주로 효과기인 동방결절에 직접 작용하는 것으로 사료된다.

아데노신의 작용부위가 같은 장기 내에서도 다르다는 사실은 작용부위가 같은 장기 내에서도 다르다는 사실은 작용부위에 아데노신 수용체(adenosine receptor)의 존재를 생각케 해준다. 즉 아데노신이 주로 작은 관상동맥에 작용하고, 심근에서도 심방근의 수축력은 약화시키나 심실근에는 거의 효과가 없다(Schrader et al., 1975 ; Schneider and Sperelakis, 1975 ; Shigenobu et al., 1974 ; Chiba and Himori, 1975). 심방근, 관상동맥 평활근 및 정맥동 세포막에 아데노신 수용체가 있음을 증명한 실험사실도 있다(Bunger et al., 1975 ; Schrader et al., 1975 ; Olsson et al., 1976 ; Chiba, 1976 ; Hartzell, 1979). 본 실험에서도(그림 10, 11) 아데노신의 작용부위가 세포 내인지 혹은 세포막 표면인지를 확인하기 위하여 아데노신의 세포막 통과를 차단하는 것으로 알려진 디피리다몰(DPM)을 투여하여 그 효과를 관찰한 결과 아데노신의 효과가 DPM으로 인하여 강화되는 것을 보아 아데노신이 동방결절 세포막 표면에 작용하는 것으로 해석되었다.

아데노신의 생리적 역활로서 가장 잘 알려져 있기로는 심장관류 혈류량 조절에 이 물질이 정상적인 산소공급 하에서는 심근세포에서 낮은 속도로 유출되지만 저산소증이나 일과성 관상동맥 폐쇄시나, 산소요구도나 증가된 상태에서는 평상시보다 유출속도가 4~5배가 증가되어 관상동맥을 확장시킴으로써 산소공급을 증가시키는 조절기능을 가지고 있다(Berne, 1963). 마찬가지

로 심근에서 유출되는 아데노신은 관상동맥 평활근 뿐만 아니라 동방결절과 심방근에 작용하여 심방박동을 느리고 약하게 함으로써 산소 소모율을 감소시키는 유리한 조절기능도 가지고 있다고 사료되는데 이것은 적출 관상동맥 절편, 동방결절조직 및 심방근 절편 등에 효과를 나타내는 아데노신의 농도 범위가 비슷하기 때문이다(Hartzell, 1979 ;Kim, 1980).

V. 결 론

체내에서 생성되는 내원성 물질 중의 하나인 아데노신(adenosine)은 강력한 관상동맥 확장제로서, 심장관류 조절에 중요 인자로 인정되고 있으며 또한 심장박동수와 심근수축력도 억제시킨다는 사실이 잘 알려져 있다. 그러나 아데노신의 작용노신의 작용기전 특히 심장박동수 억제기전에 관하여는 아직데 모르는 바가 많으므로 이를 좀더 밝혀 볼 목적으로 미세전극을 이용하여 이를 동방결절 세포내에 꽂고 활동전압을 기록하면서 여러 조건에서 아데노신 투여효과를 관찰하는 전기 생리학적 방법을 사용하여 아데노신의 작용기전을 규명코자 시도하였다.

체중 1 kg 전후되는 토끼를 실험동물로 사용하였고 우심방에서 동방결절이 포함된 작은 조직절편과, 적출 좌우심방 및 좌심방 절편을 35℃, 3% CO_2 -97 % O_2 혼합기체로 평형을 이루고 pH 7.35에 맞춘 HCO_3^- -완충 Tyrode 용액 내에서 아데노신의 작용을 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 35℃ Tyrode 용액에서 자발적 심장박동수(mean ± SEM, n = 16)는 154±3.3 beats /min 이었고, 활동전압 크기(amplitude)는 82 ± 1.6 mV, 최대확장기전압 (maximum diastolic potential, MDP)은 -73±1.7mV, 지나치기전압(overshoot potential, OS)은 9±1.4mV, 역치전압(threshold postential, ThP)은 -54±1.9mV, 향도잡이전압 경사도(slope of pacemaker potential , SPP)는 94 ± 3.0mV / sec 이었다.

2. 아데노신의 박동수 억제효과는 10^{-6}M부터 나타나기 시작하였고, 활동전압의 변화로는 10^{-4}M까지 농도 증가에 따라 MDP가 점점 증가하였으며, SPP는 감소하였다. 그러나 10^{-3}M에서는 MDP와 OS가 모두 감소 하여 활동전압의 크기가 작아졌다. 이와 같은 변화는 atropine 2mg / ℓ과 propran lol 5×10^{-6}M 전처치에 의하여 전혀 영향을 받지 않았다.

3. 아세칠콜린(acetylcholine, ACh) 10^{-6}에서 박동수 감소 현상과 이때 나타나는 활동전압의 변화는 아데노신의 경우와 매우 유사하였다. 즉 MDP증가와 SPP 감소로 요약될 수 있다. 그러나 이러한 변화는 atropine 2mg / ℓ 전처치 시에는 나타나지 않았다.

4. 아데노신과 ACh를 동시에 투여할 경우, 박동수 감소현상은 상승적인 효과를 나타내었고, 활동전압 상에는 OS가 심하게 감소되었다.

5. 아데노신의 박동수 억제효과는 이 물질의 세포막 통과를 억제하는 것으로 잘 알려진 디피리다몰(Dipyridamole) 투여에 의하여 더욱 강화되어 나타났다.

6. 심방근과 동방결절에 대한 아데노신의 효과는 같은 농도 범위에서 나타나기 시작하였고, 이와 같은 작용은 reserpine 전처치로 교감신경 말단에서 노에피네프린을 고갈시킨 경우에도 마찬가지로 관찰되었다.

이와 같은 실험결과로 보아 아데노신의 심장박동수 억제효과는 신경말단에서 흥분전달물질의 유리과정에 영향을 미쳐 나타나는 것이 아니라 직접 동방결절 세포막 표면에 아데노신이 작용한 결과로 나타난 것으로 보이며, 아세칠콜린과는 박동수 억제작용에 상승적인 효과를 나타내는 것으로 사료되었다.

REFERENCES

1. Berne, R.M. : *Cardiac nucleotides in hypoxia: Possible role in regulation of coronary flow. Am. J. Physiol. 204:317-322 1963.*
2. Bunger, R., F.J. Haddy, and E. Gerlach : *Coronary reponses to dilating substances and competitive inhibition by theophylline in the isolated perfused guinea pig heart. Pflugers Arch. 358:213-224, 1975.*
3. Brown, H.F., W.R. Giles, and S.J. Noble : *Membrane currents underlying activity in frog sinus venosus. J. Physiol. 271-783-816, 1977.*
4. Brown, H.F., D. Difranceseo, and S.J. Noble : *How does adrenaline accelerate the heart? Nature 280:235-236, 1979a.*
5. Belardinelli, L., R. Rubio, and R.M. Berne : *Blockade of Ca^{2+} dependent rat atrial slow action potentials by adenosine and lanthanum. Pflugers Arch. 380:19-27, 1979.*
6. Berne, R.M. : *The role of adenosine in the regulation of coronary blood flow. Circ. Res. 47(6): 807-813, 1980.*
7. Burnstock, G. : *Purinergic receptors in the heart. Circ. Res. (Suppl. 1) 46:175-182, 1980.*

8. Brown, H.F. : *Electrophysiology of the sinoatrial node. Physiol. Rev. 62(2):505-530, 1982.*
9. Cohen, M.V., and E.S. Kirk : *Differential response of large and small coronary arteries to nitroglycerin and angiotensin. Circulat. Res. 33:445-453, 1973.*
10 Chiba, S., and N. Himori : *Different inotropic responses to adenosine on the atrial and ventricular muscle of the dog heart. Jap. J. Pharmacol. 25: 489-491, 1975.*
11. Chiba, S. : *Differences in chronotropic and inotropic responses of canine atrial muscle and SA node pacemaker activity to adenosine and ACh. Jap. Heart J. 17(1):73-79, 1976.*
12. Drury, A.N., and A. Szent-Gyŏrgyi : *The physiological activity of adenine compounds with especial reference to their action upon the mammalian heart. J. Physiol. (Lond) 68:213-237, 1929.*
13. Deck, K.A., R. Kern, and W. Trautwein : *Voltage clamp technique in mammalian cardiac fibres. Pflugers Arch. 280:50-62, 1964.*
14. De Gubareff, T., and W. Sleator, Jr. : *Effects of caffeine on mammalian atrial muscle, and its interaction with adenosine and calcium. J. Pharmacol. Exp. Ther. 148:202-214, 1965.*
15. Drummond, G.I., and D.L. Severson : *Cyclic nucleotides and cardiac function. Circ. Res. 44:145-153, 1979.*
16. Erno, M.A., and B.Q. Saidman : *Possible feed-back inhibition of noradrenaline release by purine compounds. Naunyn-Schmiedberg's Arch. Pharmacol. 297:39-46, 1977.*
17. Gerlach, E., Deuticke, B., and Dreisbach, R.H. : *Der Nucleotid-Abbau im Herzmuskel bei Sauerstoffmangel and seine mogliche Bedeutung fur die Coronardurchblutung. Naturwissenschaften 50:228-229, 1963.*
18. Ginsborg, B.L., and G.D.S. Hirst : *The effect of adenosine on the release of the transmitter from the phrenic nerve of the rat. J. Physiol (Lond.) 224, 629-645, 1972.*
19. Giles, W.R., and S.J. Noble : *Changes in membrane currents in bullforg atrium produced by acetylcholine. J. Physiol. 261:1930123, 1976.*
20. Gustafsson, L. : *Influence of adenosine on responses to vagal nerve stimulation in the anesthetized rabbit. Acta. Physiol. Scand. 111:263-268, 1981.*
21. Fredholm, B.B. : *Adenosine actions and adenosine receptors after 1 week treatment with caffeine. Acta. Physiol. Scand. 115:283-286, 1982.*
22. Hutter, O.F., and W. Trautwein : *Vagal and sympathetic effects on the pacemaker fibers in the sinus venosus of the heart. J. Gen. Physiol 39:715-733, 1956.*
23. Hedqvist, P., Fredholm B.B., and S. Olundh : *Adenosine as modulator of adrenergic neurotransmission in the rabbit kidney. Acta. Physiol. Scand. Suppl. 440:163, 1976.*
24. Hedqvist, P., B.B., Fredholm, and S. Olundh : *Antagonistic effects of theophylline and adenosine on adrenergic neuroeffector transmission in the rabbit kidney. Circ. Res. 43(4): 592-597, 1978.*
25. Hedqvist, P., and Bertil B. Fredholm : *Inhibitory effect of adenosine on adrenergic neuroeffector transmission in the rabbit heart. Acta Physiol. Scand. 105:120-122, 1979.*
26. Hartzell, H.C. : *Adenosine receptors in frog sinus venosus: Slow inhibitory poetntials produced by adenine compounds and acetylcholine. J. Physiol. 293:23-49, 1979.*
27. Harder, D.R., L. Belardinelli, N. Sperelakis, R, Rubio, and R.M. Berne: *Differential effects of adenosine and nitroglycerine on the action potentials of large and small coronary arteries. Circ. Res. 44:176-182, 1979.*
28. Kim, K.W.: *Basic mechanism of adenosine-induced responses in isolated vascular smooth muscle. Seoul J. Med. 21(3): 291-299, 1980.*
29. Leighton, H.J., and L.L. Parmeter: *Presynaptic inhibition of acetylcholine release by adenosine and adenosine analogs. Fed. Proc. 36:976, 1977.*
30. Noble, D. and R.W. Tsien: *The kinetics and rectifier properties of the slow potassium current in cardiac Purkinje fibres. J. Physiol. 195:185-214, 1968.*
31. Noble, D.: *The initiation of the heartbeat. Clarendon Press-Oxford, 1979.*
32. Noma, A., H. Kotake, and H. Irisawa: *Slow inward current and its role mediating the chronotropic effect of epinephrine in the rabbit sinoatrial node. Pflugers Arch. 388:1-9, 1980.*
33. Olsson, R.A., Davis, C.J., Kjouri, E.M., and R.E. Patterson: *Evidence for an adenosine receptor on the surface of dog coronary myocytes. Circulat.*

Res. 39:93-98, 1976.

34. Patterson, A.R.P., S.C. Kim, O. Bernard, and C.E. Cass: *Transport of nucleosides. Ann. N.Y. Acad. Sci. 255:402-411, 1975.*
35. Rubio, R., and R.M. Berne: *Release of adenosine by the normal myocardium in dogs and its relationship to the regulation of coronary resistance. Circ. Res. 25:407-415, 1969.*
36. Seifen E., H. Schaer, and J.M. Marshall: *Effect of calcium on the membrane potentials of single pacemaker fibres and atrial fibres in isolated rabbit atria. Nature 202(4938):1223-1224, 1964.*
37. Schanaar, R.C., and H.V. Sparks: *Response of large and small coronary arteries to nitroglycerin, $NaNO_2$, and adenosine. Am. J. Physiol. 223:223-228, 1972.*
38. Shigenobu, K., J.A. Schneider, and N. Sperelakis: *Blockade of slow Na and Ca^{+}+ current in myocardial cells by verapamil. J. Pharmacol. Exp. Ther. 190:280-288, 1974.*
39. Schneider, J.A., and N. Sperelakis: *Slow Ca^{++} and Na^{+} responses induced by isoproterenol and methylxanthines in isolated perfused guinea pig hearts exposed to elevated K^{+}. J. Mol. Cell. Cardiol. 7:249-273, 1975.*
40. Schrader, J.R., Rubio, and R.M. Berne: *Inhibition of slow action potentials of guinea pig atrial muscle by adenosine: a possible effect on Ca^{2+}-influx. J. Mol. Cell. Cardiol. 7:427-433, 1975.*
41. Schrader, J., S. Nees, and E. Gerlach: *Evidence for a cell surface adenosine receptor on coronary myocytes and atrial muscle cells. Pflugers Arch. 369:251-257, 1977.*
42. Ten Eick, R., H. Nawrath, T.F. McDonald, and W. Trautwein: *On the mechanism of the negative inotropic effect of acetylcholine. Pflugers Arch. 361:207-213, 1976.*
43. Verhaege, R.H., P.M. Vanhoutte, and J.T. Shepherd: *Inhibition of sympaathetic neurotransmission in canine blood vessels by adenosine and adenine nucleotides. Cire. Res. 40:208-215, 1977.*
44. Wedd, A.M.: *The action of adenosine and certain related compounds on the coronary flow of the perfused heart of the rabbit. J. Pharmacol. Exp. Ther 41:355-366, 1931.*