

## 동방결절 전기적 특성에 대한 $Ca^{2+}$ 효과의 온도에 따른 변화

서울대학교 의과대학 생리학교실 및 충북대학교 의과대학 생리학교실\*

호 원 경\* · 김 기 환 · 황 상 익

(1987년 4월 15일 접수)

= Abstract =

### Temperature-dependency of $Ca^{2+}$ Effect on the Electrical Activity of Rabbit SA Node

Won Kyung Ho\*, Ki Whan Kim and Sang Ik Hwang

*Department of Physiology, College of Medicine, Seoul National University and Chungbuk National University\**

There is evidence that the effect of extracellular  $Ca^{2+}$  on heart rate is temperature-dependent: at 38°C excess  $Ca^{2+}$  induces positive chronotropic response, whereas at 30°C there is no significant chronotropic effect of  $Ca^{2+}$ . The cause of this temperature-dependency, however, remains still unclear. Therefore, this study was undertaken to investigate the chronotropic effect of external  $Ca^{2+}$  at different temperature in the isolated rabbit atria and in the small strips of SA node cut perpendicularly to crista terminalis.

In the isolated atria, the  $Ca^{2+}$  effect was temperature-dependent: at 35°C excess  $Ca^{2+}$  evoked positive chronotropic response, while at 30°C there was no significant changes in sinus rate. On the contrary, in the small SA strips external  $Ca^{2+}$  induced negative chronotropic effect. At 35°C changes in  $Ca^{2+}$  concentration from 2 to 4, 6, and 10 mM decreased the sinus rate by  $2.7 \pm 1.6\%$ ,  $11.2 \pm 3.7\%$  and  $23.2 \pm 8.1\%$  respectively. Lowering the temperature to 30°C, the negative chronotropic effect of  $Ca^{2+}$  became greater.

With intracellular microelectrodes transmembrane potential was recorded in the small SA strips at 30°C, 35°C and 38°C. As temperature increased from 30 to 38°C, sinus rate was accelerated by 13/min/°C,  $APD_{50}$ (action potential duration from peak to 50% repolarization) decreased by 5 msec/°C, and amplitude of action potential was slightly decreased.

With an increase in  $Ca^{2+}$  concentrations from 0.5 to 6 mM, overshoot increased and MDP decreased. These  $Ca^{2+}$  effects on the overshoot and MDP of action potentials were not altered by temperature. But the  $Ca^{2+}$  effects on the rates of diastolic depolarization, systolic depolarization and repolarization were modified by temperature.

Discrepancy of the chronotropic effects of  $Ca^{2+}$  between isolated atria and small SA strips was discussed.

---

**Key Words:** Rabbit SA node, Chronotropic effect, of,  $Ca^{2+}$ , Temperature-dependency, 50% action potential duration ( $APD_{50}$ ), Maximum diastolic depolarization (MDP)

## 서 론

심장의 전기적 특성을 결정짓는데 있어  $Ca^{2+}$ 의 역할은 Reuter(1967)가 Purkinje fiber에서  $Ca^{2+}$ 전류를 발견한 후 많은 연구의 대상이 되었다. 심장근 활동전압의 두드러진 특징인 고원기(plateau phase)를 유지하는데  $Ca^{2+}$  전류가 중요한 역할을 하며(Vassale, 1979) 동방결절의 활동전압에서는 급속탈분극기와 overshoot를 결정하는 주된 요소가  $Ca^{2+}$ 전류임이 알려졌다(Noma et al. 1976). 뿐만 아니라, 적출 심방에서 세포의  $Ca^{2+}$  농도를 높이면 동방결절 활동전압의 이완기 탈분기(diastolic depolarization)의 속도가 빨라지며 심박동수가 증가된다는 실험들로부터  $Ca^{2+}$ 이 pacemaker potential 에도 관여하리라 생각되었다(Kohlhardt et al. 1976; Lu and Brook, 1969; Seifen et al. 1964). 최근 Irisawa et al.(1982)은 adrenaline이 심박동수를 증가시키는 효과가  $Ca^{2+}$ 전류의 증가에 기인한다는 실험적 결과(Noma et al. 1980)를 종합하여  $Ca^{2+}$  전류가 diastolic depolarization의 전과정에서 중요한 역할을 한다고 주장했다.

그러나 심장의 자동능을 결정짓는 pacemaker potential에 대한  $Ca^{2+}$ 전류의 기여도에 대하여는 아직 논란의 여지가 많다(Brown et al. 1979; Brown et al. 1982). 또한  $Ca^{2+}$  농도와 심박동수의 관계에 대해서도  $Ca^{2+}$ 이 심박동수에 별 영향을 주지 않거나(Toda and West, 1967; Toda, 1969), 억제적으로 작용한다(Lenfant, 1972)는 실험결과도 있어서,  $Ca^{2+}$ 이 심박동수에 영향을 주는 기전이 매우 복잡함을 시사한다.

Op't Hof et al. (1980)은  $Ca^{2+}$ 의 chronotropic effect가 다양하게 나타나는 것이 실험자에 따라 실험온도나 basic cycle length가 달랐기 때문임을 발견하였다. 실험온도 35°C 이상에서는  $Ca^{2+}$ 농도 증가가 박동수를 빠르게 하는 효과를 보이나, 30°C 이하에서는 반대로 박동수를 느리게 한다는 것이다. 그 기전에 관하여 Mackaay et al.(1980)은 primary pacemaker cell의 위치를 이동시키는 조건들에 관한 여러 실험 결과 (Mackaay et al. 1978; Bouman et al.

1978)를 종합하여 설명하고자 하였다.

정상적인 심장에서의 primary pacemaker는 동방결절의 cranial part에 있는 세포(head fiber)에서 나타나나, 실험온도를 30°C로 낮추면 caudal part(tail fiber)로 pacemaker가 이동하는 pacemaker shift 현상을 볼 수 있었다. 이러한 pacemaker의 이동은 세포의  $Ca^{2+}$ 농도를 낮추었을 때에도 관찰되었으므로, 이들 세포에서의  $Ca^{2+}$ 에 대한 반응양상이 연구되었고, 그 결과 두 group의 세포는  $Ca^{2+}$  농도에 따른 반응 양상이 현저히 다를 것을 알게 되었다. 즉, cranial part의 세포일수록  $Ca^{2+}$ 농도 증가에 의해 diastolic depolarization의 속도가 빨라지는 변화를 보였고 caudal part의 세포는  $Ca^{2+}$ 의 영향을 거의 받지 않는다는 것이다. (functional inhomogeneity of SA node). Mackaay et al.은 이 두 사실을 종합하여 온도에 따라  $Ca^{2+}$ 에 대한 반응양상이 서로 다른 세포로 pacemaker가 shift되어서 온도에 따라  $Ca^{2+}$  효과가 달라진다고 결론지었다. 그러나 한편으로는 온도 변화로 인해 생긴 전기적 특성의 변화가 원인이 되어 동방결절 활동전압에 미치는  $Ca^{2+}$ 의 효과를 변화시키고, 그 결과로 원래  $Ca^{2+}$ 에 의한 영향을 별로 받지 않던 쪽으로 pacemaker shift가 일어나는 것일 가능성도 있다.

이에 저자는  $Ca^{2+}$ 효과의 온도에 따른 변화 양상을 적출 심방 및 동방결절의 작은 절편에서 관찰함으로써, 온도에 따라 pacemaker가 shift되며 생기는  $Ca^{2+}$ 효과의 변화와, 한정된 부위에서의  $Ca^{2+}$  효과에 온도가 미치는 영향을 비교하여 분석해 보고자 하였다.

## 실 험 방 법

체중 1 kg 정도되는 토끼의 심장을 실험재료로 하였다. 후두부를 순간적으로 강타한 후 경동맥을 잘라 실험시키고 심장을 적출하여, 100%  $O_2$ 로 포화시킨 Tyrode 용액(NaCl 158, KCl 4.0,  $CaCl_2$  2.0,  $MgCl_2$  1.0, Glucose 5.5, Tris 10 mM, pH 7.4)이 든 준비용기로 옮기고 방실경계를 따라 재빨리 심실을 제거하였다.

적출심방에 대한 실험을 위하여는 심방내부 특히 동방결절 부위가 용액쪽으로 잘 노출되도록 하고 양

쪽 심방의 auricle을 각각 근육고정기의 양끝에 실로 고정하였다. 30분 가량 실온에서 회복시킨 후 100 ml 용량의 이중병으로 된 항온 실험용기로 옮기고, 근육 고정기의 한 끝을 등장성 변환기 (Collins 제)에 연결하여 수축곡선을 생리기록기 (Devices)에 기록하였고 동시에 ratemeter를 연결하여 분당 박동수를 기록하였다.

동방결절을 사용한 경우엔 심실 제거후 상대정맥과 하대정맥을 절개하여 crista terminalis와 right atrial septum 사이의 동방결절 부위를 노출시킨 다음, crista terminalis를 남긴 우심방의 나머지 부분과 좌심방을 제거하였다. 동방결절 절편은 면도날로 crista terminalis에 수직방향으로 잘라서 폭 1~1.5 mm 길이 3~5 mm 되게 만들었고 양끝을 핀으로 고정하고 1시간 이상 실온에서 회복시킨 후 박동상태가 좋은 것을 골라 실험용기로 옮기었다.

실험용기는 용량 5 ml 가량으로서 실험 용액을 분당 5~10 ml로 속도를 조절하며 관류시키면 실험 용액이든 이중병의 온도 보다 1.5 °C 가량 낮은 정도에서 실험용기내의 온도를 일정하게 유지할 수 있었다.

실험 도중 내내 실험용기내에 설치한 thermistor로 온도를 확인하여 원하는 온도에서  $\pm 0.1^\circ C$  이상을 벗어나지 않도록 하였다.

동방결절 절편을 실험 용기내에서 30분이상 회복시킨 후, 끝이 1  $\mu$ 이하이고 3M KCl을 채워 저항이 30M $\Omega$  이상되는 유리미세전극을 세포내 삽입하여 동방결절의 활동전압을 전치증폭기를 거쳐 생리기록기 (Devices)에 기록하였고, rate meter를 이용하여 빈도수도 기록하였다.

동방결절 전체를 사용하여 실험한 경우에는 유리관 속에 굵은 은선을 넣어서 만든 세포의 전극으로 동방결절에서의 세포의 전압을 그 빈도수와 함께 기록하였고, 실험 중 동방결절을 두 조각 또는 세 조각으로 자를 때에는 그대로 실험용기 내에서 하였다.

실험용액은 모든 실험에서 100%  $O_2$ 로 포화시킨 Tyrode 용액을 사용하였다.  $Ca^{2+}$  농도를 변화시킬 경우 다른 성분은 그대로 둔채  $Ca^{2+}$  만을 더하거나 감하여서 0.5, 4, 6, 10 mM  $Ca^{2+}$  이 든 Tyrode 용액으로 만들었다.

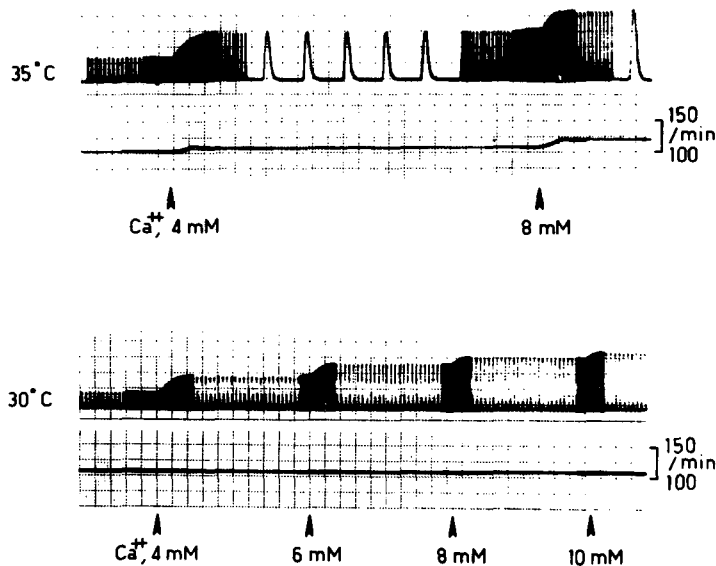


Fig. 1. Temperature-dependent chronotropic effects of external  $Ca^{2+}$  on spontaneously beating rabbit atria. Upper trace, isometric tension; lower trace, sinus rate (beats/min) in each record. At  $35^\circ C$  excess  $Ca^{2+}$  evoked positive chronotropic response, whereas at  $30^\circ C$  there was no significant changes in sinus rate.

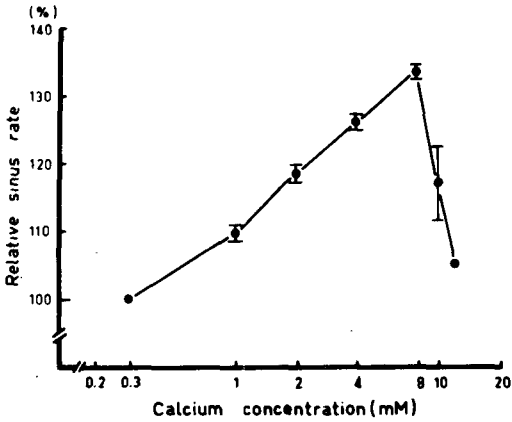


Fig. 2. Dose-dependency of the positive chronotropic effect of external  $\text{Ca}^{2+}$  in isolated rabbit atria (mean  $\pm$  S. E.) Abscissa,  $\text{Ca}^{2+}$  concentration in mM ; ordinate, relative sinus rate ; the sinus rate at 0.3mM  $\text{Ca}^{2+}$  was  $132 \pm 10.4/\text{min}$  at  $35^\circ\text{C}$  (100%). Each point represents the mean value, and vertical bar S. E. of the mean.

## 실험 성적

### 1. $\text{Ca}^{2+}$ 의 Chronotropic effect에 대한 온도의 영향

1) 적출심방의 경우 : 그림 1에서와 같이 적출심방에서 수축과 심박동수를 동시에 기록하면서  $\text{Ca}^{2+}$  농도를 변화시켜 보았다.  $35^\circ\text{C}$ 에서는  $\text{Ca}^{2+}$  농도를 따라 심박동수가 증가하는 positive chronotropic effect를 보였다. 그림 2에서는 각  $\text{Ca}^{2+}$  농도에서의 심장박동수를 0.3 mM  $\text{Ca}^{2+}$ 에서의 가장 느린 박동수를 기준(100%)으로 하여 상대적 비율로 나타내었다. 0.3 mM로부터 1, 2, 4, 8 mM로  $\text{Ca}^{2+}$  농도를 높임에 따라 박동수는 각각 10, 19, 24, 38% 증가하였고 그 이상의 농도에선 도리어 감소하였다.

이러한  $\text{Ca}^{2+}$ 의 효과의 온도에 따른 변화를 보기 위해 실험 온도를  $30^\circ\text{C}$ 로 낮추어 본 결과  $\text{Ca}^{2+}$ 농도,

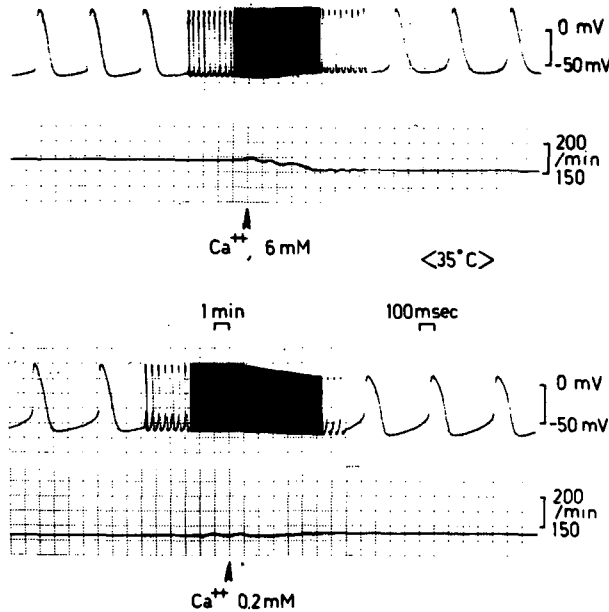


Fig. 3. Effects of  $\text{Ca}^{2+}$  on action potential and sinus rate in the small strip of SA node at  $35^\circ\text{C}$ . Upper trace, action potentials ; lower trace, sinus rate in each record. When the concentration of external  $\text{Ca}^{2+}$  was changed from 2mM to 6 or 0.2mM, sinus rate decreased at 6mM, but increased at 0.2mM. At the same time changes in maximal diastolic potential (MDP) and overshoot were remarkable ; increase in external  $\text{Ca}^{2+}$  decreased MDP more prominently than increase of overshoot, whereas decrease in external  $\text{Ca}^{2+}$  decreased overshoot more remarkably than increase of MDP.

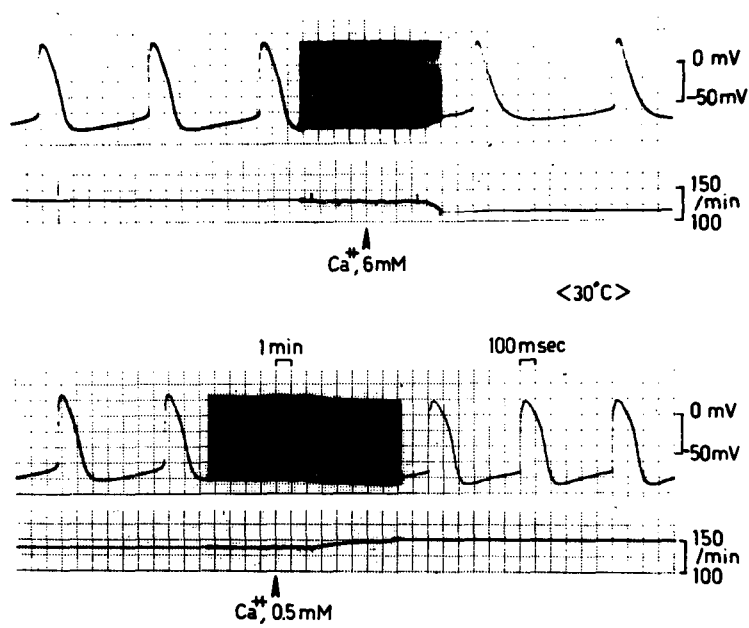


Fig. 4. Effects of  $Ca^{2+}$  on action potential and sinus rate in the small strip of SA node at  $30^{\circ}C$ . Upper trace, action potentials; lower trace, sinus rate in each record. The effects of  $Ca^{2+}$  on sinus rate and action potential at  $30^{\circ}C$  were similar to those at  $35^{\circ}C$ .

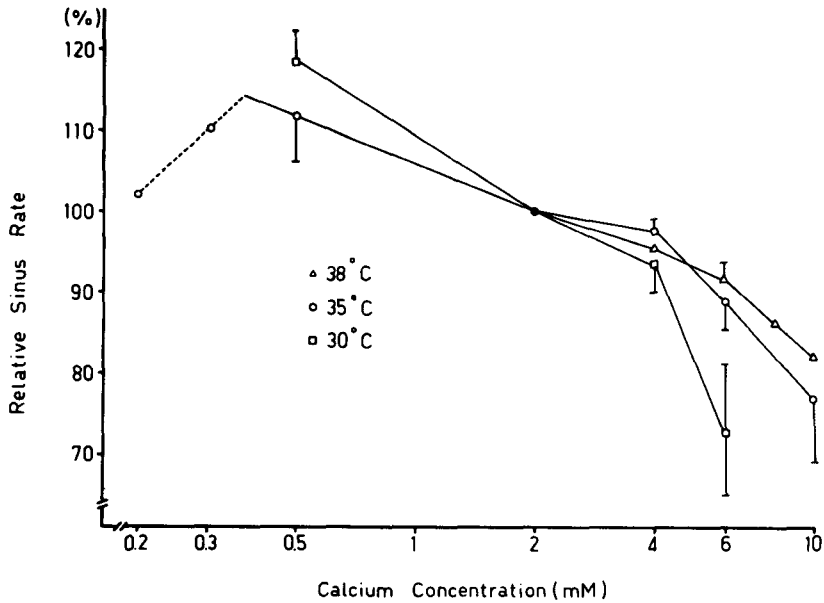


Fig. 5. Negative chronotropic response of the small strips of SA node on variation of external  $Ca^{2+}$  concentration. Sinus rates are represented relative to the rate at  $2mM Ca^{2+}$  (mean  $\pm$  S.D.).

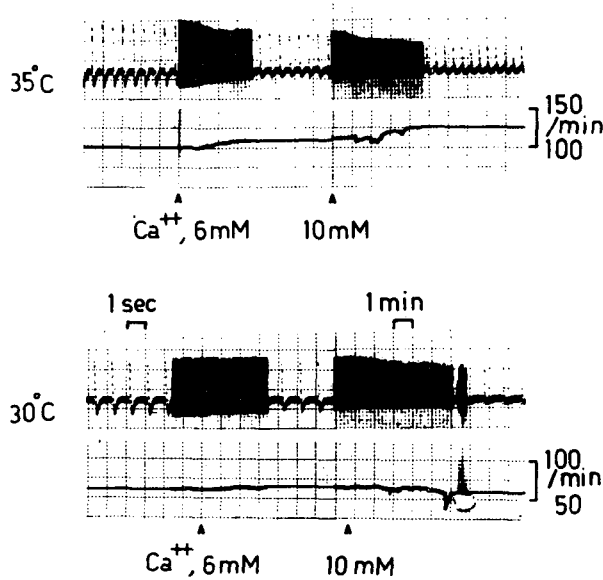


Fig. 6. Chronotropic effects of  $Ca^{2+}$  in the whole SA node preparation at different temperatures. Upper trace, extracellular recording (surface electrogram); lower trace, sinus rate (/min). Temperature-dependency of  $Ca^{2+}$  effects on sinus rate was similar to that observed in the isolated atria.

를 높이어도 심박동수에는 거의 변화가 없어서(그림 1) Mackaay et al. (1980)의 보고와 같이  $Ca^{2+}$ 의 positive chronotropic effect가 낮은 온도에서 소실됨을 볼 수 있었다.

2) 동방결절 절편의 경우 : 그림 3, 4에서와 같이 동방결절의 작은 절편에서 활동전압과 동시에 그 빈도를 기록하면서,  $Ca^{2+}$  농도를 변화시켰을 때의 효과를 30°C, 35°C, 38°C에서 각각 관찰하였다. 실험 결과 분석에 사용한 절편에서의 평균 박동수는 35°C에서  $171 \pm 21$ , 30°C에서  $83 \pm 20$ , 38°C에서  $178 \pm 18$  이었고,  $Ca^{2+}$  농도 변화에 따른 박동수의 변화는 2 mM  $Ca^{2+}$ 에서의 박동수를 기준으로 하였을 때의 비교치로 나타내었다.

각각의 온도에서,  $Ca^{2+}$  농도에 따른 박동수 변화를 그림 5에 비교하여 나타내었다. 35°C에서  $Ca^{2+}$  농도를 2 mM로부터 4, 6, 10 mM로 올림에 따라 박동수는  $2.7 \pm 1.6\%$ ,  $11.3 \pm 3.7\%$ ,  $23.2 \pm 8.1\%$  씩 감소하였고 0.5 mM로 낮춘 경우  $12.0 \pm 6.1\%$  증가하여, 0.5 mM에서 10 mM사이에서  $Ca^{2+}$ 은 negative chronotropic effect를 보였다. 이러한 효과는 30°C에

선 더욱 커져서  $Ca^{2+}$  4, 6 mM에서 각각  $6.5 \pm 3.6\%$ ,  $27.4 \pm 8.2\%$ 의 박동수 감소를, 0.5 mM에서는  $18.8 \pm 3.3\%$ 의 증가를 보였다. 반면에 38°C에서는  $Ca^{2+}$  4, 6, 10 mM에서 각각  $4.5 \pm 2.3\%$ ,  $8.5 \pm 2.0\%$ ,  $17.7\%$ 의 박동수 감소를 보여 그 변화가 35°C때 보다 더욱 완만하였다. 위의 결과를 종합하여 볼때, 동방결절 절편에 대한  $Ca^{2+}$ 의 negative chronotropic effect는 온도가 낮을수록 현저하게 나타남을 알 수 있었다.

3) 동방결절을 잘라가며 본 경우 : 적출심방에 대한  $Ca^{2+}$  효과와 동방결절 절편에서의  $Ca^{2+}$  효과의 차이가 동방결절 절편의 부위별 특성 때문이 아닌가를 확인하기 위하여, 전체 동방결절에서부터 단계적으로 잘라가며  $Ca^{2+}$  효과를 관찰하였다. 세포외활동전압과 그 빈도를 그림 6에서와 같이 기록하며 35°C와 30°C에서  $Ca^{2+}$  농도를 높여 본 결과 그 변화 양상이 적출심방(그림 1)에서와 동일 하였다. 그림 7-A는 그림 6에서와 같은 조직을 isthmus 1~2 mm 정도 상방에서 crista terminalis에 수직방향으로 잘라서 두 조각을 낸 후 35°C에서 관찰한 것이다. 두 조각을 낸 후 upper part는 90/min의 속도로, lower part는

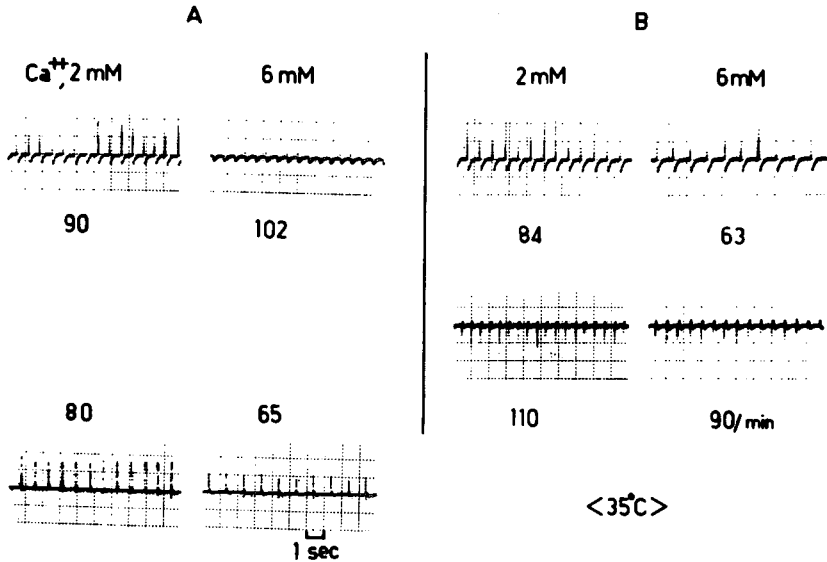


Fig. 7. Chronotropic response of SA node cut in two (A) or three (B) on increasing  $Ca^{2+}$  concentrations. Recordings are surface electrogram and the numbers represent sinus rates (/min). In A the sinus node was cut in two at above 2mm from the isthmus. Upper trace shows response of upper part and lower trace shows response of lower part. In B the upper part of A was cut again in two perpendicularly to crista terminalis.

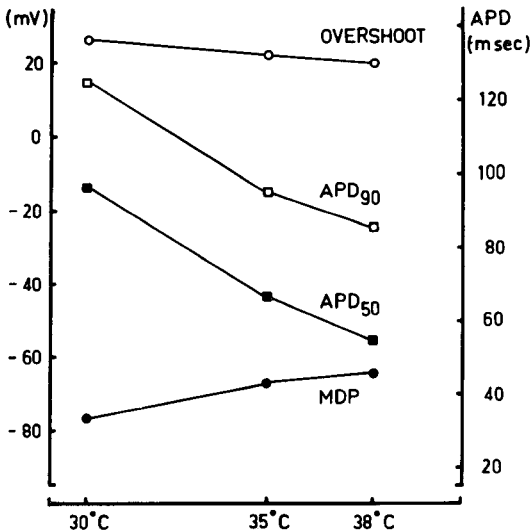


Fig. 8. Effect of temperature on the action potentials of SA node cell. Abscissa, bathing temperatures; ordinate, membrane potential in mV (left) and action potential duration in msec (right). APD<sub>50</sub> represents action potential duration from the peak to 50% repolarization.

80/min의 속도로 각각 박동하였고, 6 mM로  $Ca^{2+}$  농도를 올리자 upper part는 102/min로 10%의 증가를 보인 반면 lower part는 65/min로 19%의 감소를 나타내었다.  $Ca^{2+}$ 에 의해 박동수 증가를 보인 upper part를 다시 두 조각으로 잘랐을 때의 변화를 그림 7-B에서 보여주고 있다. 90/min로 박동하던 조각을 둘로 자르자 각각은 84/min, 110/min로 박동하였고,  $Ca^{2+}$  농도를 6 mM로 올리자 박동수는 각각 63/min, 90/min로 20%가량 감소하였다. 다른 한 예의 같은 실험에서도 거의 비슷한 양상의 변화를 보이었다.

## 2. 동방결절 활동전압에 대한 온도의 영향

동방결절에서의 세포내 활동전압은 주로 전극 삽입이 쉬운 주변세포에서 기록하였다. 35°C 정상 Tyrode 용액에서 실험한 9예에서의 평균수치는, overshoot  $23 \pm 6$  mV, 최대이완기전압(MDP)  $-67 \pm 8$  mV였다. 이들 값은 primary pacemaker에서의 값 (Lipsius et al. 1978)보다 훨씬 큰 것으로 주로 주변 세포에서의 기록이었음을 나타낸다. 활동전압 기간

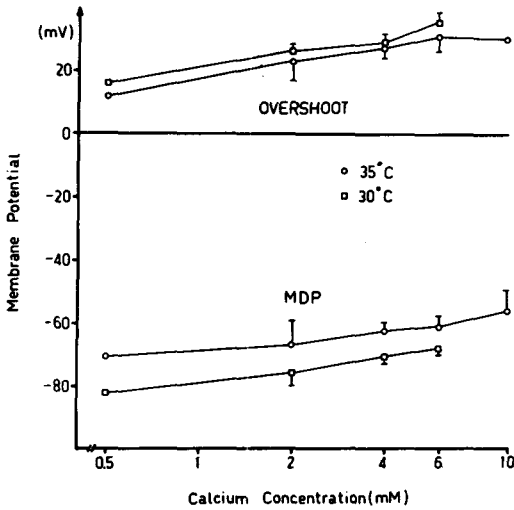


Fig. 9. Effect of external  $\text{Ca}^{2+}$  on the action potentials of SA node cell.

은 활동전압의 정점을 기준 시점으로 하여 10%, 50%, 90% 재분극까지 걸리는 시간을 각각  $\text{APD}_{10}$ ,  $\text{APD}_{50}$ ,  $\text{APD}_{90}$ 으로 나타내었을 때  $35^\circ\text{C}$ 에서 각각  $27 \pm 4$  msec,  $68 \pm 11$  msec,  $94 \pm 10$  msec 였다.

활동전압의 온도에 따른 변화를 3에에서 관찰하고 그 경향을 그림 8에 보였다. overshoot는 온도증가에 따라 다소 감소하는 경향을 보였고 MDP도 감소하여 Yamagishi et al.(1967)의 보고와는 다소의 차이가 있었다. 활동전압기간은 온도 증가에 따라 현저히 감소 하였는데  $\text{APD}_{50}$  경우  $1^\circ\text{C}$  증가에 5 msec

정도의 감소율을 보였다.

활동전압 빈도는 온도  $1^\circ\text{C}$  증가에 13/min 정도 증가하였다.

### 3. 서로 다른 온도에서의 동방결절 활동전압에 대한 $\text{Ca}^{2+}$ 효과

그림 3, 4에서도 볼 수 있듯이  $\text{Ca}^{2+}$ 농도에 따른 활동전압의 변화중 가장 두드러진 것은 overshoot와 MDP의 변화였다. 그림 9에서 이들 결과를 종합하였는데 overshoot는  $\text{Ca}^{2+}$  0.5 mM에서 6 mM까지 대수농도에 비례하여 거의 직선적으로 증가하다가 그 이상의 농도에서는 더 이상 증가하지 않았고, MDP는  $\text{Ca}^{2+}$  6 mM까지 거의 직선적으로 감소하며 10 mM에서는 더욱 감소하는 경향을 보였다. 이러한 변화 양상은 Noma et al.(1976)의 보고와 비슷한 것이었고, 실험 온도에 의해서는 별 영향을 받지 않았다.

pacemaker전압의 크기, diastolic depolarization의 속도, threshold potential, 최대탈분극 속도등에 미치는  $\text{Ca}^{2+}$ 의 효과에 대해선 종합적으로 분석하지 못했으나 그 효과에 대하여 온도가 주는 영향의 한계를 그림 10에 나타내었다. 한 세포에서 기록한 것인데,  $38^\circ\text{C}$ 에서는  $\text{Ca}^{2+}$ 을 6 mM로 높인데 따라 diastolic depolarization과 급속 탈분극 사이의 이행부가 완만해지며 급속 탈분극의 속도는 감소하여 primary pacemaker에서 보이는 활동전압과 유사하게 변하였으나, diastolic depolarization의 속도가 빨라지지는 않았다. 반면에  $30^\circ\text{C}$ 에서는 6 mM  $\text{Ca}^{2+}$ 에

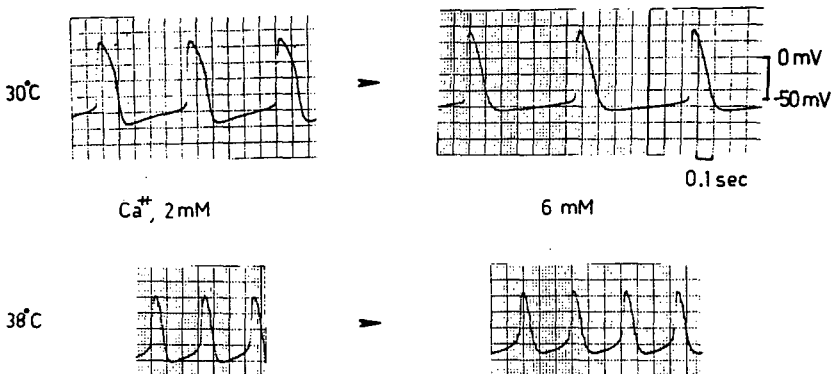


Fig. 10. Typical case of  $\text{Ca}^{2+}$  effect on action potentials in the small SA strip at different temperatures. At  $30^\circ\text{C}$  the change in the rate of diastolic depolarization was more remarkable.



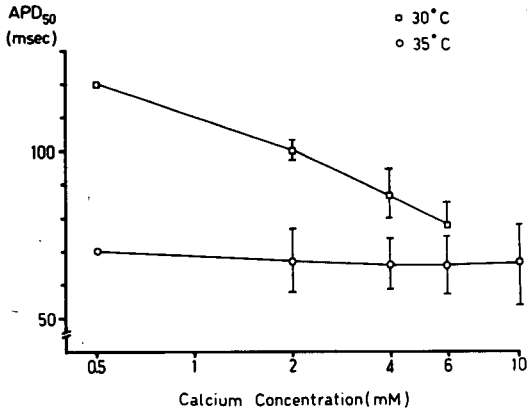


Fig. 11. Effect of external Ca<sup>2+</sup> on action potential durations in the small SA strips at different temperatures. APD<sub>50</sub> represents action potential duration from the peak to 50% repolarization.

서 diastolic depolarization의 속도가 현저히 감소되고, 급속 탈분극과의 이행부가 더욱 급격하여져서 도리어 심방근의 활동전압 모양에 가깝게 변화하였다.

활동전압 재분극의 모양도 Ca<sup>2+</sup>농도에 따라 변화하였고 동시에 온도의 영향을 받는 것 같았다. 재분극의 시간경과에 대한 지표로 APD<sub>10</sub>, APD<sub>50</sub>, APD<sub>90</sub>을 비교하였다. 35°C에서 APD<sub>10</sub>은 Ca<sup>2+</sup> 4 mM로 하였을 때 6±4 msec 감소하였고, 6 mM에선 3±4 msec로 감소폭이 다소 줄며 도리어 다소 길어지는 경우도 있었다. 반면에 30°C에서는 Ca<sup>2+</sup> 4, 6 mM에서 각각 7±3 msec, 16±3 msec씩 점차 감소하였다. Ca<sup>2+</sup>농도 증가에 따라 재분극이 빨라지는 현상은 30°C에서는 APD<sub>50</sub>까지 계속되었으나, 35°C에서는 경우에 따라 증가하기도 하고 감소하기도 하여 평균치에는 별 변화를 보이지 않았다(그림 11). APD<sub>90</sub>에서는 30°C의 경우 Ca<sup>2+</sup> 4 mM까지는 감소하다가, 6 mM에서는 0~30 msec 길어졌고, 35°C에서도 이와 비슷하다가 10 mM로 하였을 때 40~75 msec의 현저한 증가를 보였다. 이상을 종합하여 볼 때 Ca<sup>2+</sup>농도가 어느 이상으로 증가되었을 때 활동전압 재분극의 후반부가 지연되고 이런 경향은 높은 온도에서 더 두드러지게 나타남을 알 수 있었다.

## 고 찰

### 1. Ca<sup>2+</sup>의 positive chronotropic effect

적출심방에서 보이는 Ca<sup>2+</sup>의 positive chronotropic effect는 Ca<sup>2+</sup>의 pacemaker potential에 대한 작용으로 이해되어 왔고(Seifen et al. 1964) 한편으로 Noma et al.(1981)은 동방결절 활동전압의 computer model에서 Ca<sup>2+</sup> 전류를 diastolic depolarization의 전범위에서 작용하는 것으로 하여, Ca<sup>2+</sup> 전류가 diastolic depolarization의 후반부 1/3(Brown et al. 1982) 또는 1/2(Yanagihara and Irisawa, 1980)에서부터 작용하리라는 견해들 보다 diastolic depolarization을 이루는 데 있어서의 Ca<sup>2+</sup>전류의 역할을 중요시 했다. 그러나 Ca<sup>2+</sup>이 diastolic depolarization에 어떻게 관여하는 가는 diastolic depolarization의 범위에서 Ca<sup>2+</sup> 통로의 activation gate와 inactivation gate의 열린 정도(d와)에 따라 미묘하게 결정된다고 생각할 때 (Noma et al. 1981), 전기적 특성의 작은 변화 또는 차이도 Ca<sup>++</sup> 전류의 역할에 크게 영향을 줄 수 있으리라 추측할 수 있다. 이러한 추측은 동방결절에서 보이는 Ca<sup>2+</sup>에 대한 반응의 부위별 차이를 이해하는 데에도 도움을 준다. 더구나 세포의 Ca<sup>2+</sup> 농도를 변화시킨 경우에는 Ca<sup>2+</sup> 전류에 대한 영향 이외에 Ca<sup>2+</sup>이 다른 이온전류에 미치는 영향에 대해서도 고려해야 할 것이다.

### 2. 동방결절 절편에서 보인 Ca<sup>2+</sup>의 negative chronotropic effect

Mackaay et al.(1980)은 Ca<sup>2+</sup> 효과의 온도에 따른 변화를, 온도에 따른 pacemaker shift와 Ca<sup>2+</sup>에 대한 동방결절의 functional inhomogeneity라는 두 마디로 요약하였다. 이로써 온도에 따른 Ca<sup>2+</sup> 효과의 다양성은 일단 설명 가능한 것이 되었으나, 이 두가지 현상을 일으키는 근본 원인에 대하여는 아직 아는 바가 적다. 한편 동방결절 활동전압에 대한 Ca<sup>2+</sup> 효과의 복잡성을 생각할 때, 온도에 의해 생긴 전기적 특성의 변화가 Ca<sup>2+</sup> 효과에 직접 미치는 영향에 대해서도 따로 고려할 필요가 있다.

본 실험에서는 동방결절을 작은 절편으로 만들어  $Ca^{2+}$ 에 대한 효과가 서로 다르게 나타나는 부분으로 나누는 뒤, 각절편은 비교적 일정한 성질을 가진 homogenous group으로 가정하고 여기에 대한  $Ca^{2+}$  효과를 온도에 따라 관찰함으로써, pacemaker shift로 인해 생기는  $Ca^{2+}$  효과의 다양성을 떠나 온도가  $Ca^{2+}$  효과에 미치는 직접적 영향을 보고자 하였다. 그러나 작은 절편으로 만든 뒤에는 각 절편간에  $Ca^{2+}$  효과의 차이를 발견할 수 없었을 뿐만 아니라 35°C 이상에서도  $Ca^{2+}$ 은 negative chronotropic effect를 나타내었다. 이는 현재까지 알려진  $Ca^{2+}$ 의 chronotropic effect에 관한 지식으로는 매우 설명하기 힘든 결과이다.

35°C 이상에서  $Ca^{2+}$ 이 negative chronotropic effect를 보일 수 있는 경우로서, 원래의 심박동수에 의해 결정되는 basic cycle length에 의한 것과 동방결절의 부위별 특성에 의한 두가지 가능성을 생각할 수 있다. 그러나 본 실험에서 35°C에서의 basic cycle length는 300 msec~600 msec로서 Op't Hof et al. (1980)이  $Ca^{2+}$  효과가 역전될 수 있는 값으로 제시한 것보다 대체로 큰 값이었고, 35°C에서는 negative chronotropic effect 자체가 cycle length dependency를 별로 나타내지 않았다는 점에서 볼 때 그 가능성이 희박하다.

두번째 가능성은 실험에 사용한 절편이 공교롭게도 모두 Bouman et al. (1978)의 two fiber model에서의 tail fiber였을 경우이다. 그러나 실험에서는 조각낸 절편 중 가장 빨리 뛰는 것을 주로 사용했고 그 위치는 대개 동방결절의 중앙부위에 해당되었다. 또한 동방결절을 조각내어 가며  $Ca^{2+}$ 의 효과를 본 실험(그림 7)에서 두 조각으로 잘랐을 때 upper part에 대해서는 positive chronotropic effect를, lower part에 대해서는 negative chronotropic effect를 보여서 Mackaay et al. (1980)이 말한 것과 같은 부위별 특성을 나타내었으나, 세 조각으로 자른 후엔 모두에서 negative chronotropic effect를 보인 사실은 동방결절을 작은 절편으로 만든 후엔  $Ca^{2+}$  효과에 대한 부위별 특성이 없어지며 모두 negative chronotropic effect를 보일 수 있는 가능성을 뒷받침한다.

현재로서 동방결절의 작은 절편에서 보이는  $Ca^{2+}$ 의 negative chronotropic effect에 대한 적절한 설명

을 찾을 수는 없으나, cycle length의 영향이나 낮은 온도로 인한 pacemaker shift의 영향이 아니고도  $Ca^{2+}$ 의 chronotropic effect가 역전될 수 있다는 사실은  $Ca^{2+}$ 과 pacemaker activity와의 관계에 대해 몇가지의 추측을 가능케 한다. 첫째,  $Ca^{2+}$ 의 pacemaker potential에 대한 영향이 동방결절의 primary pacemaker에서와 같이 촉진적으로 나타나기 위해선 아주 한정된 전기적 특성이 요구되리라는 점이다. Mackaay et al. (1980)은 head fiber와 tail fiber에서 보이는  $Ca^{2+}$ 의 영향의 차이가 diastolic depolarization을 이루는 주된 current가 서로 다르기 때문이 아닐까 추측하면서, 이를 뒷받침할 수 있는 사실로 부위별 MDP의 차이 (Lipsius et al. 1978)와  $K^+$  농도를 높일 때 나타나는 박동수증가 정도의 차이 (Lu et al. 1970)를 들었다.  $Ca^{2+}$  전류의 활성화가 -60 mV ~ -50 mV 이상에서부터 일어남을 생각할 때 (Coraboeuf, 1980) pacemaker potential에 대한  $Ca^{2+}$ 의 기여도를 결정하는데 있어서 MDP의 차이는 매우 중요하리라고 생각된다. 그러나 동방결절을 작은 절편으로 만드는 과정에서 어떠한 전기적 특성의 변화가 실제로 일어났는지의 여부는 이 실험만으로는 알 수 없었다.

둘째는  $Ca^{2+}$ 이 심박동수에 영향을 미치는데 있어서 이온전류에 대한 영향이외의 기전으로 작용할 수 있는 가능성이다. DeHaan (1982)은 자동능을 가진 embryonic heart cell들이 서로 gap junction을 이루며 synchronization 되는 과정에 대한 연구 (DeHaan et al. 1972)를 통해, pacemaker activity란 가장 빠른 cell이 다른 cell들을 주도하여 이루어지는 것이라는 개념으로부터 cell 상호간의 interaction을 통해 synchronized rate를 형성해 가는 것으로 보아야 한다고 주장했다. 이는 pacemaker mechanism을 이해하는데 있어서 또하나의 중요한 측면으로 고려해야 할 것이나, 그 자세한 기전과 그에 영향을 줄 수 있는 요소들에 대해서는 밝혀진 바가 적으므로  $Ca^{2+}$ 이 이에 영향을 줄 수 있는 가능성에 대해서는 아직 판단할 수가 없다.

### 3. $Ca^{2+}$ 효과에 미치는 온도의 영향

그림에서 보는 바와 같이 동방결절 절편에서 보이는  $Ca^{2+}$ 의 negative chronotropic effect는 온도를 낮

춤에 따라 더욱 커졌다. 이는 그 부위내에서의 pacemaker shift의 결과로 해석할 수도 있겠으나 온도변화가  $Ca^{2+}$ 의 효과에 직접 영향을 줄 수 있는 가능성도 배제할 수 없다. 그림 9에서 온도를 낮춤에 따라 활동전압의 MDP가 커지는 변화가 이런 가능성을 뒷받침 한다. 또한 온도에 따라 활동전압에 대한  $Ca^{2+}$ 의 효과가 서로 다르게 나타난 경우(그림 10)를 생각할 때, 35°C에서의 negative chronotropic effect와 30°C에서의 그것은 양적으로 차이가 날 뿐 아니라  $Ca^{2+}$ 의 작용기전 자체에 차이가 있을 가능성도 고려해야 할 것이다.

## 결 론

$Ca^{2+}$ 이 동방결절의 전기적 특성에 미치는 효과의 온도에 따른 변화를 토끼의 적출심방 및 동방결절 절편에서 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 35°C, 적출심방에서  $Ca^{2+}$  농도를 0.3 mM에서부터 1, 2, 4, 8 mM로 올림에 따라 박동수는 각각 10, 19, 24, 38% 증가하였다. 30°C에서는  $Ca^{2+}$  농도변화에 따른 박동수의 변화가 거의 나타나지 않았다.

2) 35°C, 동방결절 절편에서  $Ca^{2+}$  농도를 2 mM에서부터 4, 6, 10 mM로 하였을 때 박동수는 각각  $2.7 \pm 1.6\%$ ,  $11.2 \pm 3.7\%$ ,  $23.2 \pm 8.1\%$  감소하였고, 0.5 mM로 낮추었을 때  $12.0 \pm 6.1\%$  증가하였다. 30°C, 38°C에서도 변화양상은 35°C때와 유사하였고, 변화량은 낮은 온도에서 더 컸다.

3) 동방결절 절편에서 기록한 세포내 활동전압은 35°C 정상 Tyrode 용액내에서 Overshoot  $23 \pm 6$  mV, MDP  $-67 \pm 8$  mV였고 활동전압 정점에서부터 10%, 50%, 90%분극까지 걸리는 시간( $APD_{10}$ ,  $APD_{50}$ ,  $APD_{90}$ )은 각각  $27 \pm 4$  msec,  $68 \pm 11$  msec,  $94 \pm 10$  msec였다. 30°C에서 38°C사이에서 온도 증가에 따른 활동전압의 변화를 보면, overshoot와 MDP는 다소 감소하는 경향을 보였고  $APD_{50}$ 은 1°C 증가에 5 msec 정도의 감소를 나타내었다. 활동전압 빈도는 1°C 증가에 따라 13/min 정도 증가하였다.

4) 35°C에서  $Ca^{2+}$  농도를 0.5에서 10 mM 사이에서 변화시켰을 때,  $Ca^{2+}$  농도 증가에 따라 MDP는 계속 감소하였고, overshoot는  $Ca^{2+}$  6 mM까지는 증가하다가 그 이상의 농도에서는 더 이상 증가하지 않

았다. 이러한 경향은 30°C, 38°C에서도 마찬가지였다. 그러나  $Ca^{2+}$  농도가 diastolic depolarization과 재분극에 미치는 영향은 온도에 따라 다소의 차이를 보였다.

이상의 결과를 종합하여 심박동수와 동방결절 활동전압에 대한  $Ca^{2+}$  효과에 온도가 영향을 미치는 것을 알 수 있었고, 적출심방과 동방결절 절편사이에서  $Ca^{2+}$  효과의 discrepancy가 관찰되었다.

## REFERENCES

- Bouman LN, Mackaay AJC, Bleeker WK & Becker AE (1978). Pacemaker shifts in the sinus node. Effects of vagal stimulation, temperature and reduction of extracellular calcium. In: Bonke FIM(ed) *The Sinus Node*. the Hague, the Netherlands, Nijhoff, p245-257
- Brown HF, DiFrancesco D & Noble SJ (1979). How does adrenaline accelerate the heart? *Nature* 280, 235-236
- Brown H, Kimura J & Noble S (1982). The relative contributions of various time-dependent membrane currents to pacemaker activity in the sinoatrial node. In: LN Bouman & HJ Jongasma(ed) *Cardiac Rate and Rhythm*. the Hague, the Netherlands, Nijhoff, p53-68
- Coraboeuf E (1979). Voltage clamp studies of the slow inward current. In: Zipes DP, Bailey JC & Elharrar V(ed) *The Slow Inward Current and Cardiac Arrhythmias*. the Hague, the Netherlands, Nijhoff, p25-96
- DeHaan RL (1982). In vitro models of entrainment of cardiac cells. In: LN Bouman & HJ Jongasma(ed) *Cardiac Rate and Rhythm*. the Hague, the Netherlands, Nijhoff, p323-362
- DeHaan RL & Hirakow R (1972). Synchronization of pulsation rates in isolated cardiac myocytes. *Exp Cell Res* 70, 214-220
- Irisawa H & Noma A (1982). Pacemaker mechanism of rabbit sinoatrial node cells. In: LN Bouman & HJ Jongasma(ed) *Cardiac Rate and Rhythm*. the Hague, the Netherlands, Nijhoff, p35-52
- Kohlhardt M, Figulla HR & Tripathi O (1976). The slow membrane channel as the predominant mediator of the excitation process of the sinoatrial pacemaker cell. *Basic Res Cardiol* 71, 17-26

- Lenfant J (1972). Analyse de proprietes de la membrane myocardique sinoauriculaire, genese de l'activite spontanee. Thesis, Poitiers
- Lipsius SL & Vassalle M (1978). Characterization of two-component upstroke in the sinus node subsidiary pacemakers. In: Bonke A J M (ed) *The Sinus Node*. the Hague, the Netherlands, Nijhoff, p127-148
- Lu HH (1970). Shifts in pacemaker dominance within the sinoatrial region of cat & rabbit hearts resulting from increase of extracellular potassium. *Circ Res* 26, 339-345
- Lu HH & McC Brooks C (1969). Role of calcium in cardiac pacemaker cell action. *Bulletin of the New York Academy of Medicine* 451, 100
- Mackaay AJC, Bleeker WK & Bouman LN (1978). Chronotropic effects of calcium and magnesium ions at different temperatures. Recent advances in studies on cardiac structure and metabolism, 2, *Heart function and metabolism*, 51-55
- Mackaay AJC, Bleeker WK, Op't Hof T & Bouman LN (1980). Temperature dependence of the chronotropic actions of calcium. functional inhomogeneity of the rabbit sinus node. *J Mol Cell Cardio* 12(5), 433-443
- Noma A & Irisawa H (1976). Effect of calcium ion on the rising phase of the action potential in rabbit sinoatrial node cells. *Jpn J Physiol* 26, 93-99
- Noma A, Kotake H & Irisawa H (1980). Slow inward current and its role mediating the chronotropic effect of epinephrine in the rabbit sinoatrial node. *Pflügers Arch* 388, 1-9
- Noma A, Kotake H, Kokubun S & Irisawa H (1981). Kinetics and rectification of the slow inward current in the rabbit sinoatrial node cell. *Jpn J Physiol* 31, 491-500
- Op't Hof T, Mackaay AJC, Bleeker WK, Houthkooper JM, Abels R & Bouman LN (1980). Dependence of the chronotropic effects of calcium, magnesium and sodium on temperature and cycle length in isolated rabbit atria. *J Pharmacol Exp Therap* 212, No 2, 183-189
- Reuter H (1967). The dependence of slow inward current in Purkinje fibers on the extracellular calcium concentration. *J Physiol* 192, 479-492
- Seifen E, Schaer H & Marshall JM (1964). Effect of calcium on the membrane potentials of single pacemaker fibers and atrial fibers in isolated rabbit atria. *Nature* 202, 1223-1224
- Toda N (1969). Electrophysiological effects of potassium and calcium ions in the sino-atrial node in response to sympathetic nerve stimulation. *Pflügers Arch*. 310, 45-63
- Toda N & West TC (1967). Interaction between Na, Ca, Mg and vagal stimulation in the SA node of the rabbit. *Am J Physiol* 212, 424-430
- Vassalle M (1979). The role of the slow inward current in impulse formation. In: Zipes DP, Bailey JC & Elharrar V (ed) *The Slow Inward Current and Cardiac Arrhythmias*. the Hague, the Netherlands, Nijhoff, p127-148
- Yamagishi S & Sano T (1967). Effect of temperature on pacemaker activity of rabbit sinus node. *Am J Physiol* 212, 829-834
- Yanagihara K, Noma A & Irisawa H (1980). Reconstruction of sinoatrial node pacemaker potential based on the voltage clamp experiments. *Jpn J Physiol* 30, 841-857