

## 결장뉴 전기활동도에 대한 Ouabain과 Vanadate의 작용

서울대학교 의과대학 생리학교실 및 인하대학교 의과대학 생리학교실\*

박 종 규 · 김 기 환 · 서 인 석\*

= Abstract =

### **Effects of Ouabain and Vanadate on the Spontaneous Contractions and Electrical Activity in Guinea-pig Taenia Coli**

Jong Kyou Park, Ki Whan Kim and Insuk So\*

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

The effects of ouabain on the contractile and electrical activities were investigated in the isolated preparations of guinea-pig taenia coli, and compared with those of vanadate.

Spontaneous contractions were recorded with force transducer, and electrical activities were measured by use of suction electrode, or single sucrose-gap technique. The contractions were induced by the electrical stimulation for 5 seconds every 1 minute with alternating current (60 Hz, 3.0 V/cm) through the platinum electrodes located in parallel with the long axis of the preparation. All experiments were performed in tris-buffered Tyrode solution which was aerated with 100% O<sub>2</sub> and kept at 35°C.

The results obtained were as follows:

1) Responses of spontaneous contractions to ouabain were concentration-dependent; 10<sup>-7</sup> M ouabain caused a rise of basal tone. Above the concentration of 10<sup>-6</sup> M ouabain, an initial increase followed by a decrease in tension was observed.

2) A continuous spike discharge was induced by the administration of 10<sup>-7</sup> M ouabain. Above 10<sup>-6</sup> M ouabain, a transient initial increase followed by a decrease in spike frequency and amplitude was produced, and finally membrane potential was sustained at a certain level without a spike discharge.

3) The characteristic response to 10<sup>-7</sup> M ouabain was not blocked by the pretreatment with 10<sup>-7</sup> M atropine.

4) The electrically induced contractions were completely suppressed at the concentration of 2 × 10<sup>-7</sup> M ouabain. These contractions were blocked more rapidly in parallel with the increase in ouabain concentration.

5) Effects of vanadate on the spontaneous activities were quite different from those of ouabain; 10<sup>-6</sup> M vanadate increased the amplitude of contractions and 10<sup>-5</sup> M vanadate increased slightly both amplitude and frequency of spontaneous contractions. 10<sup>-4</sup> M vanadate showed irregular phasic contractions superimposed on the increased basal tone.

6) 10<sup>-5</sup> M vanadate depolarized the membrane potential and shortened the interval between the bursts of spike discharge, whereas 10<sup>-4</sup> M vanadate induced continuous spike discharge with membrane depolarization.

7) Vanadate caused a characteristic inhibitory response to the contractions induced by electrical stimulation; An initial rapid inhibition of tension development and then gradual recovery to a

\*본 연구에 소요된 경비의 일부는 1985년도 서울대학교 병원 특진 연구비로 이루어진 것임.

certain level.

From the above results, the following conclusions could be made:

- 1) The rise of basal tone at  $10^{-7}$  M ouabain is due to continuous spike discharge without a silent period. The continuous spike discharge is likely to be associated with a slight membrane depolarization caused by the blockage of Na pump.
- 2) The biphasic response induced by above  $10^{-6}$  M ouabain seems to occur by the different mechanisms. The initial increase in tension is associated with depolarization along with an increase in spike frequency, whereas the subsequent relaxation occurs through a non-electrical mechanism.
- 3) The characteristic response to  $10^{-7}$  M ouabain is resulted not from the action on intrinsic nerve terminal, but from its direct action on the membrane of smooth muscle cells.
- 4) The phasic contractions superimposed on the increased basal tone at the concentration of  $10^{-4}$  M vanadate is resulted from the continuous spike discharge with membrane depolarization, of which mechanism remains unknown.
- 5) The inhibitory action of ouabain on the electrically induced contractions suggests that the increase in intracellular Na in some way inhibits the electrically induced  $Ca^{2+}$  influx. The mechanism of vanadate action on the induced contractions remains unknown.

**Key Words:** guinea-pig taenia coli, ouabain, vanadate contraction, spike discharge.

## 서 론

Guinea-pig의 결장뉴(結腸紐, taenia coli)는 단단 위성 평활근(單單位性 平滑筋, unitary smooth muscle)에 속하고 자발적 수축을 하는 자동능을 보유하고 있는 바, 이와같은 특성은 결장뉴의 자발적 전기 활동도(spontaneous electrical activity)에서 연유되는 것으로 이해되고 있다(Prosser & Mangel, 1982; Kim & Kim, 1985).

결장뉴의 자발적 전기 활동도는 빠른 성분인 가시전압(spikes)과, 느린 성분인 주기적인 세포막의 완만 탈분극(slow depolarization) 현상으로 구분될 수 있는데 완만 탈분극 현상을 일반적으로 서파(slow wave)라고 부르고 있다(Kuriyama, 1970).

결장뉴의 자발적 수축을 유발시키는 가시전압은 초기에 발생하는 내향전류(inward current)의 대부분이  $Ca^{2+}$  이라는 것이 잘 알려져 있다(Ca spike: Brading et al., 1969). 일반적으로 평활근의 가시전압(활동전압)은 TTX에 의하여 영향을 받지 않으나, 칼슘 길항제( $Ca^{2+}$ -antagonist)들에 의하여 심하게 억제됨이 알려져 있다(Brading et al., 1969; Golenhofen & Lammel, 1972; Osa, 1973; Reiner & Marshall, 1975).

결장뉴의 자발적 수축빈도를 결정해주는 서파의 주기는 1~3분으로서 이것이 또한 가시전압의 활동도를 조절하고 있다. 가시전압 빈도는 서파의 최대 탈분극기에 제일 높아 1 spike/sec 정도로 발생된다. 서파는 전압형성 Na 펌프(electrogenic Na pump) 활동도의 주기적 동요에 의하여 발생된다는 학설이 가장 주목을 받고 있다(Connor et al., 1974). 이 설을 뒷받침 해주는 실험사실로서 ouabain을 투여하거나, 세포의  $K^{+}$ 을 없애는 등의 Na-pump를 차단하는 조건하에서 서파가 없어지는 직접적 증거가 있다(Connor et al., 1974; Prosser, 1978).

Na-pump blocker로 잘 알려진 ouabain의 평활근에 대한 효과는 다양하다. 혈관 평활근에 대하여는 장력을 증가시키나(Brockaert & Godfraind, 1973; Toda, 1980), 결장뉴에서는 처음에는 장력이 증가되나 뒤이어 억제되는 경과를 취한다고 보고되었다(Griffin et al., 1972; Bose, 1975). Ouabain은 또한 신경말단에도 작용하여 신경흥분 전달물질(neurotransmitter)의 분비에도 영향을 미친다는 사실이 보고되고 있다(Patton et al., 1971; Bonaccorsi et al., 1977; Toda, 1980; Kim & Kim, 1982).

Vanadate ( $NH_4 VO_3$ )는 vanadium의 +5 산화물로서 그 생화학적 작용이 많이 연구되었다(Simons, 1979). Vanadate가 골격근에서 분리된 Na, K-

ATPase의 강력한 억제제임이 증명되었고, ouabain이 세포막 밖에서 Na-pump을 억제하는데 반하여 vanadate는 적혈구 Na, K-ATPase를 세포내에서 억제하는 것 같다고 보고되었다(Cantley et al., 1977; Cantley et al., 1978).

장관 평활근에 대한 ouabain과 vanadate의 효과는 위장관 부위와 농도에 따라 달리 보고되고 있어, 본 실험에서는 자발적 수축을 하고, 내원성 신경말단이 포함된 적출 결장뉴에 대한 ouabain과 vanadate의 작용효과를 비교분석하고, 그 기전을 전기생리학적 방법으로 규명코자 실험에 착수하였다.

### 실험 방법

체중 300 g 내외의 guinea-pig를 암수구별 없이 실험동물로 사용하였다. 후두부를 강타하여 실신시킨 뒤 경동맥을 절단하여 실험시켜 즉시 사시켰고 개복하여 결장뉴를 적출하였다. 실온에서 100% O<sub>2</sub>으로 평형을 이루고 있는 phosphate-완충 Tyrode 용액 (NaCl 147, KCl 4, MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 1.05, CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O 2, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O 0.42, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·12H<sub>2</sub>O 1.81, glucose 5.5 mM, pH 7.35)으로 채워진 준비용기내에서 1시간 정도 회복시켜 결장뉴가 충분히 이완된 것을 확인한 뒤, 현미경 밑에서 종주근(longitudinal muscle)인 결장뉴를 함께 붙여있는 운상근(circular muscle)으로부터 깨끗이 분리하여 길이 10 mm, 너

미 2 mm(wet weight 5 mg 내외) 정도로 만들어 30 분간 충분히 산소를 공급하면서 회복시켰다.

수축곡선의 기록은 근육고정기와 장력변환기(tension transducer, Grass FT-03)를 연결하여 등장성 수축(isometric contraction) 곡선을 기록하였다. 수직형 실험용기(vertical chamber, 용량 100 ml)에서 자발적 수축이 어느정도 일정한 빈도로 나타날 때, 근육의 길이를 단계적으로 늘려 길이-장력 곡선을 그려 최적길이(optimal length)를 정한 뒤, 이 길이에서 모든 실험을 진행시켰다. 자발적 수축이외에 전기자극으로 규칙적인 수축을 유발시키기 위하여 60 Hz 교류를 매 1분마다 5초씩 전장자극(field stimulation: AC 60 Hz, 3.0 V/cm)을 조직표본과 나란히 1 cm 떨어진 한쌍의 백금전극을 통하여 가하였다.

활동전압(action potential, spike)의 기록에 사용된 실험장치를 Fig. 1에 나타내었다. 용량 3 ml되는 수평형 실험용기(horizontal chamber) 내에 설치된 고무판에 결장뉴 한쪽 끝을 핀으로 고정하고, 다른 쪽은 실로 고리를 만들어 장력변환기(Device force transducer)와 연결하였다. 35°C에서 100% O<sub>2</sub>으로 평형을 이루고 있는 정상 tris-완충 Tyrode 용액을 6 ml/min 정도의 속도로 1시간 정도 관류시켜, 새로운 환경에서 이완된 상태로 완전히 회복시켰다. 수직형 실험용기 내에서와 같이 자발적 수축이 일정해지면, 길이-장력 곡선을 구하여 최적길이를 정한 뒤에 실험을 시작하였다. 활동전압은 흡입전극(suc-

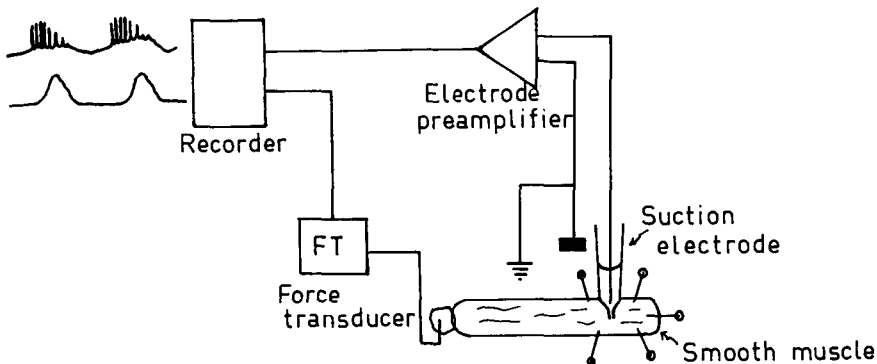


Fig. 1. A schematic representation of the isometric contraction and the electrical activity recording system. The isometric contractions were recorded through a tension transducer from the smooth muscle preparation. And the electrical activities were measured extracellularly by use of suction electrode.

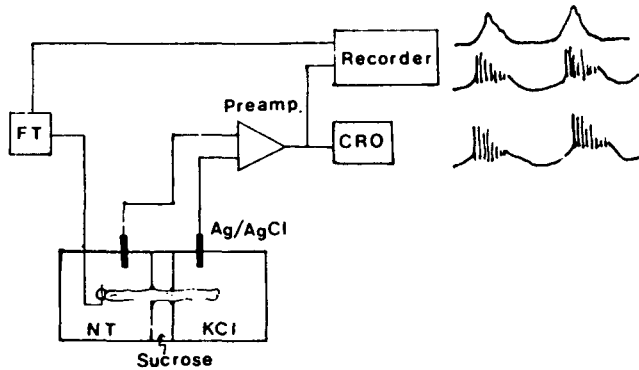


Fig. 2. Diagram of the single sucrose-gap apparatus. The muscle chamber is consisted of three compartment; NT for perfusion of normal Tyrode or test solution, sucrose compartment for perfusion of isosmotic sucrose solution, and KCl compartment for perfusion of isotonic KCl Tyrode solution. A muscle strip is mounted as shown, one end (KCl compartment) fixed and the other (NT compartment) connected to a force transducer. The width of sucrose-gap is 1 mm. Electrical activities are recorded through the two Ag/AgCl recording electrodes connected to preamplifier, CRO and recorder. Mechanical contractions are measured through the force transducer (FT) connected to recorder.

tion electrode)을 결장뉴의 serosal surface에 부착시켜 세포밖에서 기록하였으며, 직류와 교류 증폭기를 사용하여 비교할 수 있도록 연결하였다.

자발적 수축곡선과 막전압을 동시에 기록하는 실험에서는 단일 슈크로스-간극법(Single sucrose-gap technique)을 사용하였다(Fig. 2). 3구간(compartments), 즉 normal Tyrode compartment (NT 구간), sucrose compartment(슈크로스 구간) 및 isotonic KCl Tyrode compartment (KCl 구간)에는 각각 35°C의 NT, sucrose 및 KCl 용액을 계속하여 일정한 속도로 흘렸고, NT 구간쪽 조직끝에 실로 고리를 만들어 장력변환기와 연결시켜 등장성 수축곡선을 그렸다. 전기활동은 NT 구간과 KCl 구간에 설치된 Ag/AgCl 기록전극을 전증폭기(preamplifier)에 연결시켜 수축곡선과 동시에 기록하였다. 슈크로스 구간의 폭은 1 mm이었다. 실험에 사용된 약물은 다음과 같다.

Ouabain (G-strophanthin, Merck)

Vanadate (Sigma)

Verapamil (Isoptin, Knoll AG)

Atropine sulfate (Sigma)

Phentolamine (Regitin, CIBA)

DL-Propranolol · HCl (Sigma)

본 연구는 실험성적 분석이 집단간의 비교나 정량

적인 분석이기 보다는 동일 절편에서의 정성적인 분석이기 때문에 통계학적 처리방법은 채택하지 않았고, 각 실험마다 5~6회씩 반복하여 같은 결과가 나타남을 확인한 후 그중 대표적인 결과를 본 논문에 제시하였다.

## 실험 성적

### 1. 자발적 수축에 대한 ouabain 효과

Guinea-pig 결장뉴의 자발적 수축과 전기활동도에 대한 ouabain 작용 효과를 Fig. 3과 Fig. 4에 나타내었다.  $10^{-8}$  M ouabain에서는 별반 변화가 없었으나,  $10^{-7}$  M에서는 활동전압 무리의 규칙적인 율동적 발생(burst discharge of spikes)이 없어지고 계속적인 활동전압의 발생이 나타나면서 자발적 수축도 율동성이 사라지고 기초장력이 증가하면서 그 위에 작은 위상성 수축이 중첩되어 나타났다. Ouabain 농도를 더 높여  $10^{-5}$  M로 만들면 활동전압 발생은 완전히 멈춰지고 이때 모든 수축현상은 억제되어 위상성 수축은 사라지고 기초장력 대조수준으로 복귀되었다. 이와같은 현상을 빠른 속도로 기록한 결과를 Fig. 4에 표시하였다.  $10^{-7}$  M에서는 활동전압이 계속 발생되면서 기초장력이 증가되었고  $10^{-6}$  M에서도 활동전압의 크기와 빈도가 감소되기는 하였으

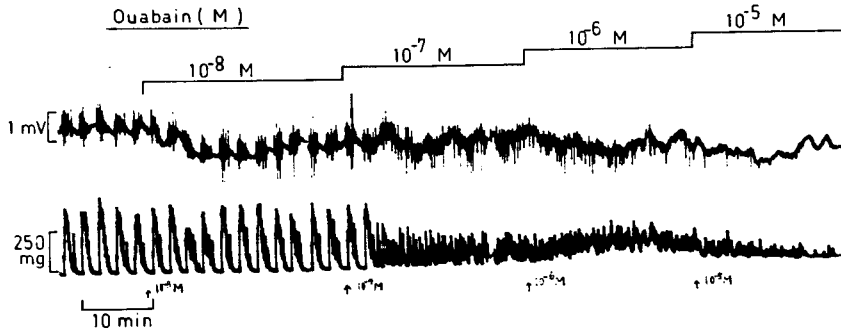


Fig. 3. Effects of ouabain on spontaneous contractile activity and electrical activity of guinea-pig taenia coli.  $10^{-8}$  M ouabain induced almost no effect, but  $10^{-5}$  M ouabain caused complete suppression of spikes firings. (slow tracing)

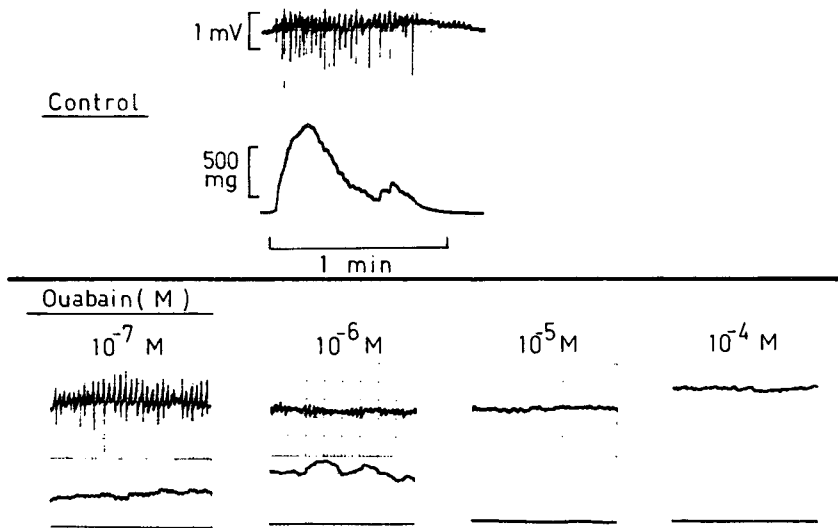


Fig. 4. Effects of ouabain on spontaneous contractile and electrical activity of guinea-pig taenia coli (rapid tracing). Normal spontaneous contraction was induced by a train of spikes discharge (control).  $10^{-7}$  M ouabain caused a continuous discharge without a silent period and developed a sustained tension. Above the concentrations of  $10^{-5}$  M ouabain, membrane potential revealed no fluctuation without spike discharge.

나 기초장력의 증가현상은 지속되었다.  $10^{-5}$  M 이상의 ouabain에서는 활동전압이 전혀 기록되지 않으면서 수축곡선은 대조시 기준선을 유지하고 있었다.

$10^{-7}$  M ouabain 투여시 시간 경과에 따라 나타나는 변화를 Fig. 5에 나타내었다. Ouabain에 노출후 3분경부터 가시전압이 쉬지않고 계속 발생되면서

기초장력이 서서히 증가되었다. 이와같은 특징적인 변화는 ouabain이 포함되지 않은 정상 Tyrode 용액으로 바꿔주면 5분후 부터 가시전압 무리사이의 간격이 나타나면서 10분후 부터는 정상적인 자발적 수축으로 회복되는 가역적 변화를 보여주었다(Fig. 6).

$10^{-7}$  M ouabain의 특징적인 효과가 조직내 신경 말단에서의 acetylcholine (ACh) 유리현상과 관련되

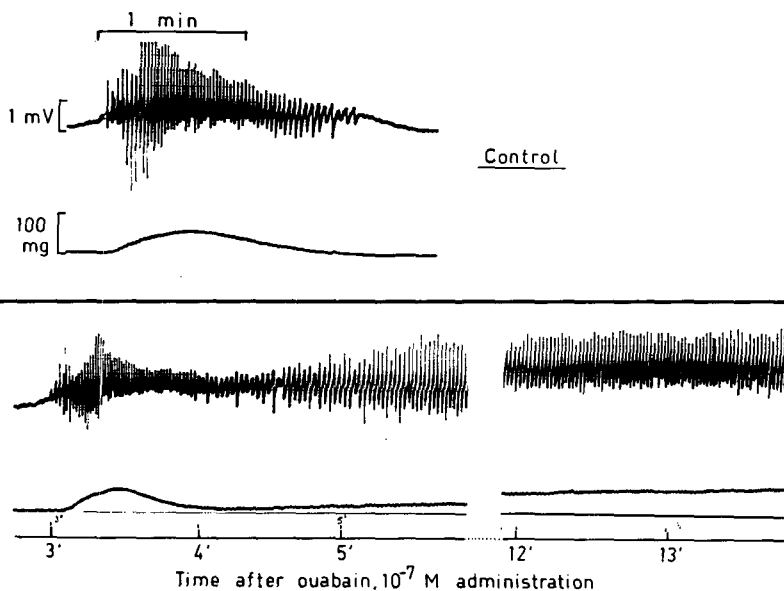


Fig. 5. Representative record of the effect of  $10^{-7}$  M ouabain on spontaneous contractile and electrical activity in guinea-pig taenia coli. A typical train of spikes discharge was shown on upper pannel (control). About 3 minutes after  $10^{-7}$  M ouabain administration, continuous discharge of spike without a silent period appeared and sustained. Spontaneous contractions was changed into a tonic tetanic contraction, in parallel with the appearance of continuous spike discharge.

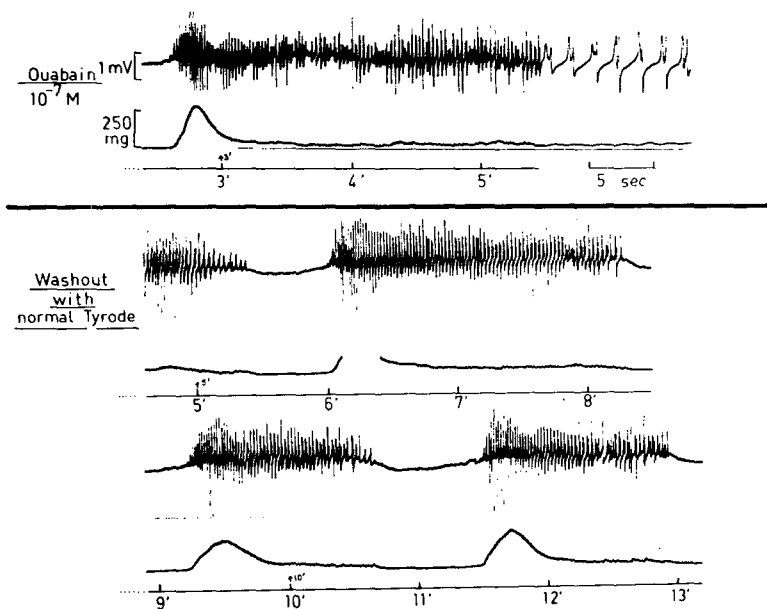


Fig. 6. Reversibility of the effect of  $10^{-7}$  M of ouabain on spontaneous contractile and electrical activity in guinea-pig taenia coli. The characteristic effects of  $10^{-7}$  M ouabain were disappeared reversibly by washout with normal Tyrode solution. About 5 minutes after washout with normal Tyrode, a relatively long train of spike discharge with a silent period appeared firstly and complete recovery was shown around 10 minutes after the washout.

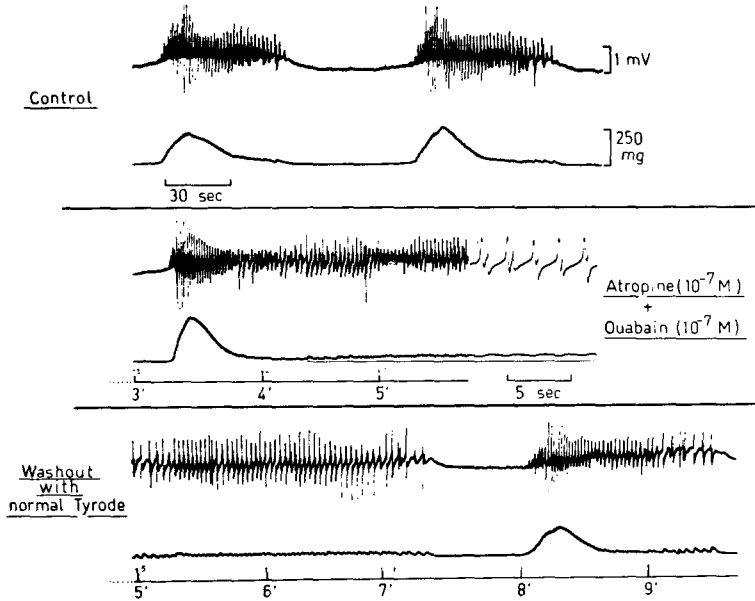


Fig. 7. No influence of atropine upon the effect of  $10^{-7}$  M ouabain in guinea-pig taenia coli. Even in the presence of  $10^{-7}$  M atropine, the typical responses of  $10^{-7}$  M ouabain were not blocked and the characteristic continuous discharge of spikes appeared.

guinea pig, taenia coli

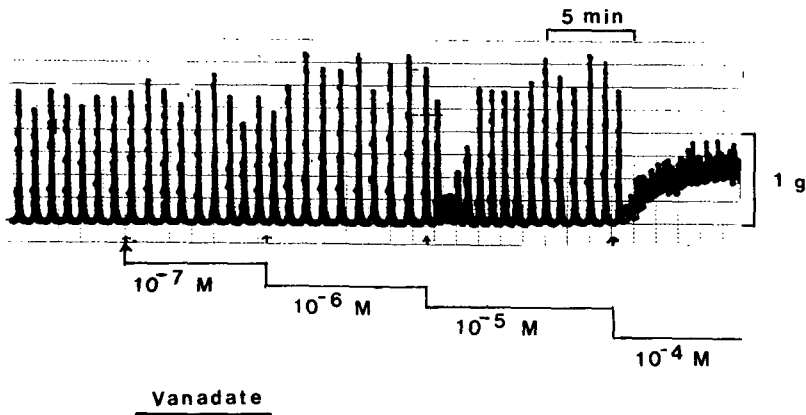


Fig. 8. Effects of vanadate on spontaneous contractions of guinea-pig taenia coli.  $10^{-7}$  M vanadate produced almost no effect, but the amplitude of spontaneous contractions increased at  $10^{-6}$  M and the frequency of the contractions began to increase above  $10^{-5}$  M vanadate.  $10^{-4}$  M vanadate induced a characteristic contractile responses; small rapid phasic contractions on sustained tonic contraction.

어 있는가를 알아본 실험결과가 Fig. 7에 표시되어 있다. 즉 정상적으로 자발적 수축을 하고있는 상태에  $10^{-7}$  M atropine을 15분전에 전치치한 뒤,  $10^{-7}$  M ouabain에 조직을 노출시키면 3분경 부터

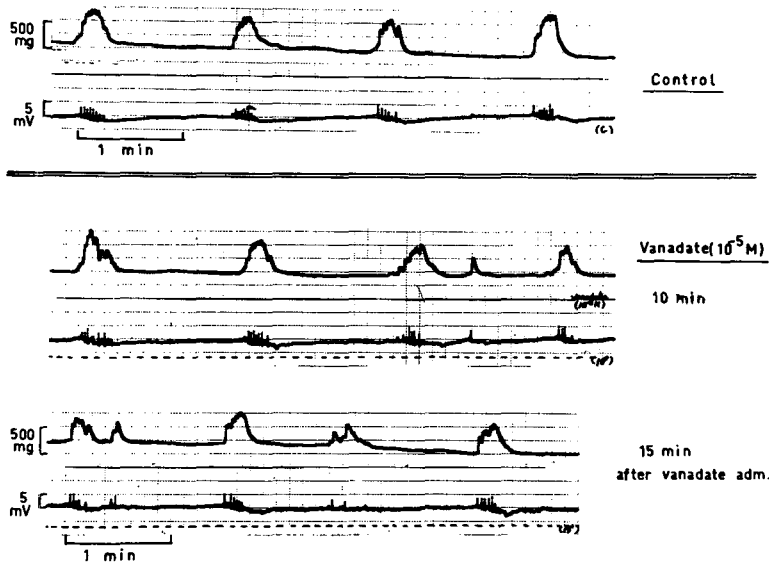


Fig. 9. Effects of  $10^{-5}$  M vanadate on the frequency of spontaneous activity and the membrane potential in guinea-pig taenia coli. Simultaneous recordings of spontaneous contractions and electrical activity were made by use of single sucrose-gap technique.

The interval between bursts of spike discharge (bursts frequency) shortened at  $10^{-5}$  M vanadate comparing with that in control status. Depolarization was developed at the concentration of  $10^{-5}$  M vanadate.

ouabain의 특징적인 효과가 나타났고, 정상 Tyrode 용액으로 다시 바꿔주면 정상적인 리듬의 자발적 수축으로 회복되었다. 이와같은 사실은  $10^{-7}$  M ouabain의 효과가 신경을 통한 간접적인 작용으로 나타나는 것이 아니고 평활근 세포에 대한 직접적인 작용에 의하여 나타난 현상임을 의미하는 것으로 판단된다.

## 2. 자발적 수축에 대한 vanadate 효과

자발적 수축에 대한 vanadate 투여 효과를 Fig. 8에 나타내었다.  $10^{-7}$  M vanadate에서는 별로 작용 효과를 볼 수 없었으나  $10^{-6}$  M에서 자발적 수축의 크기가 증가되었다.  $10^{-5}$  M에서는 처음에는 수축의 크기가 대조시보다 작았으나 점차 회복되어 대조시와 비슷하거나 약간 증가되었고 수축빈도는 빨라졌다.  $10^{-4}$  M vanadate에서는 기초장력이 증가되었고 그 위에 중첩되어 불규칙한 크기의 위상성 수축이 계속하여 나타났다.

$10^{-5}$  M vanadate가 막전압에 미치는 효과를 Fig. 9에 나타내었다.

단일 슈크로즈-간극법을 이용하여 측정된 결과  $10^{-5}$  M vanadate에 노출후 10분 및 15분 경과시의 결과를 대조시의 최대 막전압(점선으로 표시)과 비교하여 보면 막전압은 저분극(Hypopolarization) 되어 있고, 가시전압 무리간의 간격이 단축되면서 자발적 수축빈도는 증가되었다.

흡입전극을 이용하여 세포밖에서 가시전압을 기록하면서  $10^{-4}$  M vanadate 투여 효과를 기록한 결과를 Fig. 10에 표시하였다.

$10^{-4}$  M vanadate에 조직을 노출시키면 처음에는 가시전압 무리간의 간격이 단축되면서 자발적 수축빈도가 증가되고 수축크기가 감소되어 나타나다가, 5~10분후 부터는 가시전압이 쉬지않고 발생되면서 연속성 수축곡선이 계속 기록되었다.

$10^{-4}$  M vanadate가 막전압에 미치는 효과를 단일 슈크로즈-간극법을 이용하여 기록한 결과를 Fig. 11에 나타내었다.

대조시의 막전압의 최대치를 점선으로 표시하였는 바,  $10^{-4}$  M vanadate는 막전압을 지속적으로 탈분극시켰고 쉬지않고 가시전압이 계속 발생



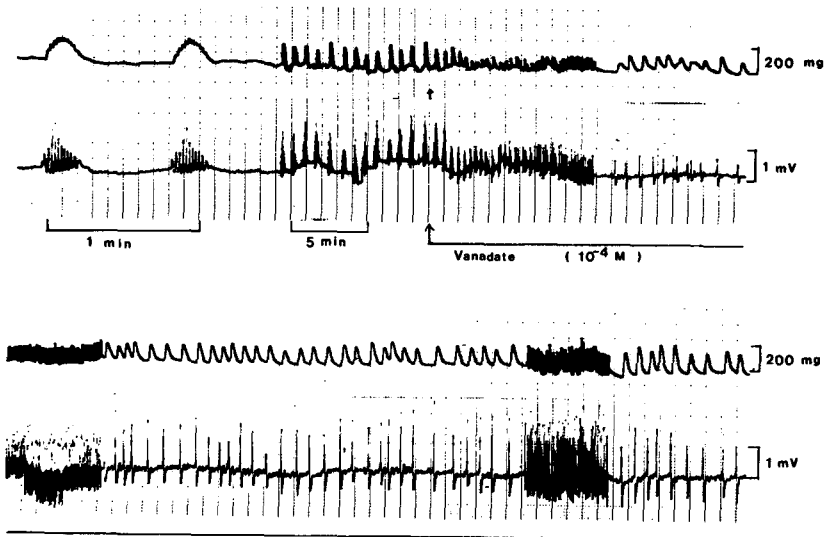


Fig. 10. Effects of vanadate ( $10^{-4}$  M) on spontaneous contractile and electrical activity of guinea-pig taenia coli. Normal spontaneous contractions were induced by a train of spike discharge.  $10^{-4}$  M vanadate caused a continuous spike discharge without a silent period and developed a characteristic contractile pattern; small rapid phasic contractions on a sustained tension.

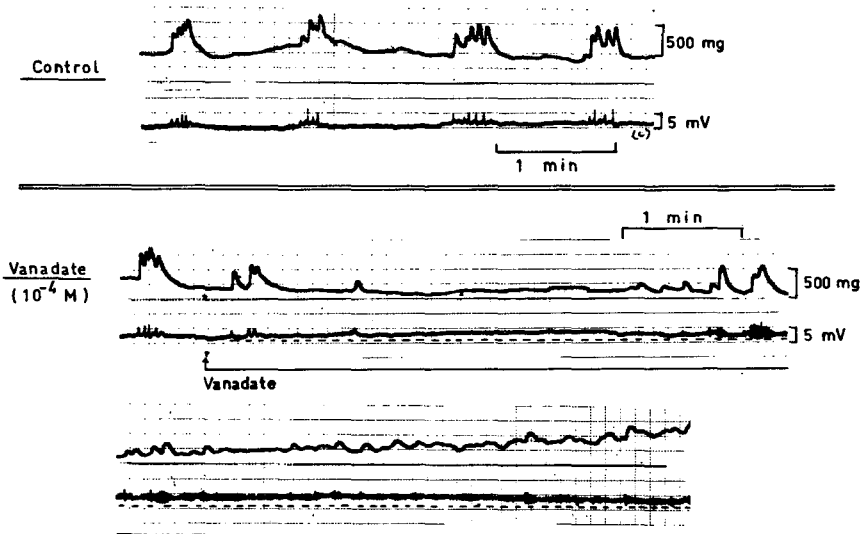


Fig. 11. Disappearance of normal rhythmic spontaneous activities after the administration of  $10^{-4}$  M vanadate in guinea-pig taenia coli. The spontaneous contractions, and electrical activities were recorded simultaneously by use of single sucrose-gap technique. The normal regular rhythmic bursts of spike discharges disappeared after the addition of  $10^{-4}$  M vanadate to bathing Tyrode solution. Membrane potential was depolarized and a typical continuous spike discharges without a silent period and developed a characteristic contractile pattern.

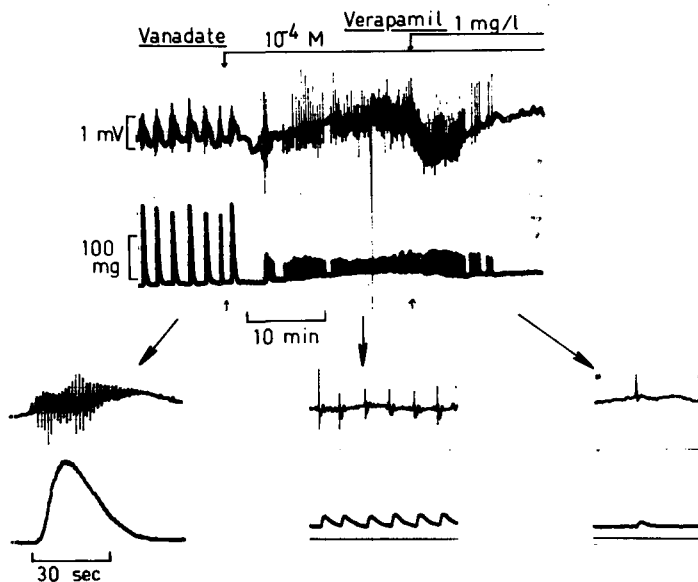


Fig. 12. Complete suppression of continuous spike discharge induced by  $10^{-4}$  M vanadate after the administration of  $\text{Ca}^{2+}$ -antagonist, verapamil. The continuous spike discharge induced by  $10^{-4}$  M vanadate was suppressed by 1 mg/l verapamil. In accordance with the suppression of spike discharge, the small rapid phasic contractions were not appeared but the sustained tension remained.

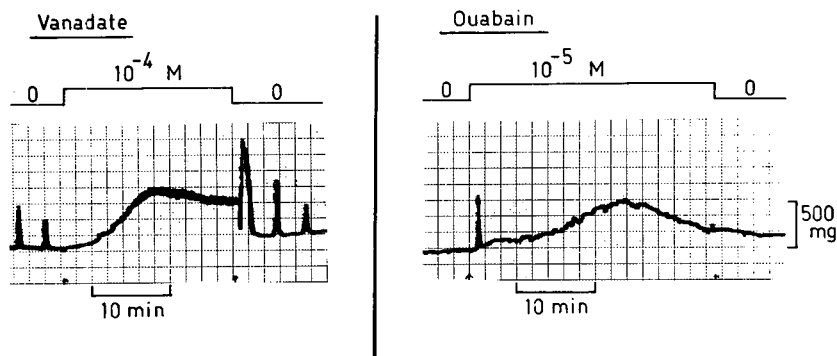


Fig. 13. Comparison of ouabain effect on spontaneous contractions with that of vanadate in guinea-pig taenia coli.  $10^{-5}$  M ouabain caused an initial increase followed by a decrease in tension, whereas  $10^{-4}$  M vanadate caused a gradual increase in tension initially and then maintained a relatively constant tension.

되면서 기초장력은 증가되고 불규칙적인 위상성 수축이 나타났다. Fig. 12에  $10^{-4}$  M vanadate로 유발되는 지속적인 가시전압 발생이  $\text{Ca}^{2+}$ -길항제인 verapamil에 의하여 정지되며 동시에 위상성 수축도 없어지나 기초장력은 여전히 남아 있음을 나타내었다.

### 3. 자발적 수축에 대한 ouabain 과 vanadate의 효과 비교

Fig. 13에 자발적 수축을 하는 guinea-pig 결장뉴에 대한 ouabain과 vanadate의 투여 효과를 비교표시하기 위하여 같이 나타내었다.  $10^{-4}$  M vanadate 투여시에는 기초장력이 최대치에 도달하였다가 약

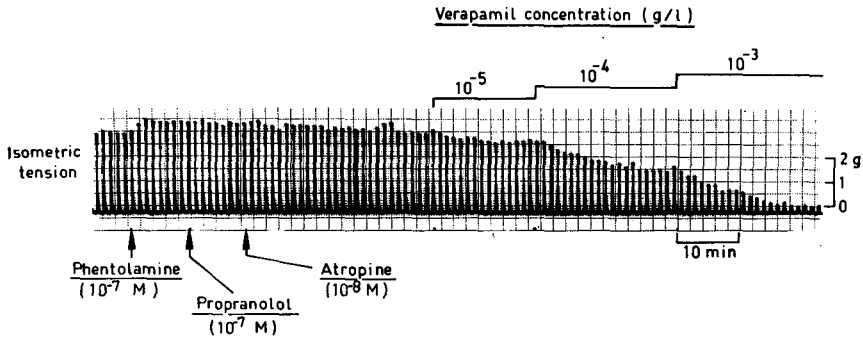


Fig. 14. Effects of verapamil on the contractions induced by electrical stimulation in guinea-pig taenia coli after administration of blockers.

The isolated strip of taenia coli was stimulated electrically for 5 seconds every 1 minute with alternating current (60 Hz, 3.0 V/cm) through plate electrodes located in parallel with the long axis of the preparation. The contractions increased by about 10% with administration of  $\alpha$ -blocker, phentolamine, and decreased again to normal level by the treatment of atropine. Even in the presence of blockers, the verapamil effects were not different from those in the absence of blockers.

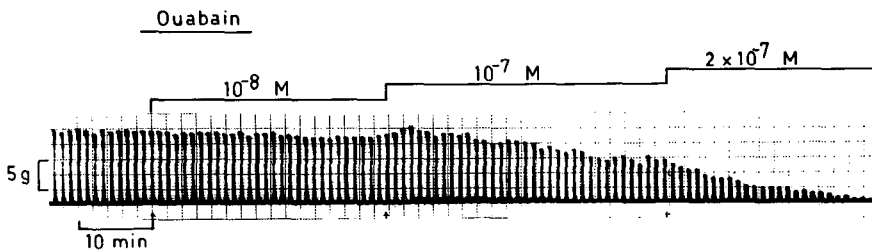


Fig. 15. Effects of ouabain on the contractions induced by electrical stimulation in guinea-pig taenia coli. The isolated strip of taenia coli was stimulated electrically for 5 seconds every 1 min with alternating current (60 Hz, 3.0 V/cm) through platinum plate electrodes located in parallel with the long axis of the preparation. The electrically stimulated contractions were inhibited from the concentration of  $10^{-7}$  M ouabain and completely suppressed at the concentration of  $2 \times 10^{-7}$  M ouabain. However,  $10^{-8}$  M ouabain developed almost no effect on the contractions.

간 감소되었으나 비교적 일정하게 장력이 유지되었고,  $10^{-5}$  M ouabain 노출시에는 장력이 서서히 최대치에 도달하였다가 유지되지 못하고 서서히 감소되었다.

#### 4. 전장자극 유발수축에 대한 ouabain 효과

전장자극(field electrical stimulation; AC 60 Hz, 3.0 V/cm, duration 5 Sec., interval/min)으로 유발시킨 등장성 수축의 특성을 나타낸 것이 Fig. 14이다.

전장자극으로 유발시킨 수축에서 신경의 영향을 배제하기 위하여  $\alpha$ -blocker인 phentolamine ( $10^{-7}$  M)을 투여하였을 때 수축의 크기는 정상 대조시에

비하여 10% 정도 증가되었고,  $\beta$ -blocker인 propranolol( $10^{-7}$  M) 추가 투여로는 별 변화가 없었다. 여기에 atropine ( $10^{-8}$  M)을 투여하면 정상시의 크기로 돌아왔다.

Verapamil은 농도-의존적으로 수축의 크기를 감소시켰다. 즉  $10^{-5}$  g/l 및  $10^{-4}$  g/l verapamil에서 수축의 크기는 정상시의 각각 85% 및 50% 정도이었고,  $10^{-3}$  g/l에서는 완전히 억제되었다. 이와 같은 실험결과로 전장자극 유발수축은 신경의 영향도 있겠지만 수축크기의 대부분이 조직전체의 막전압의 탈분극으로  $Ca^{2+}$  유입이 증가되어 발생하는 것으로 해석된다.

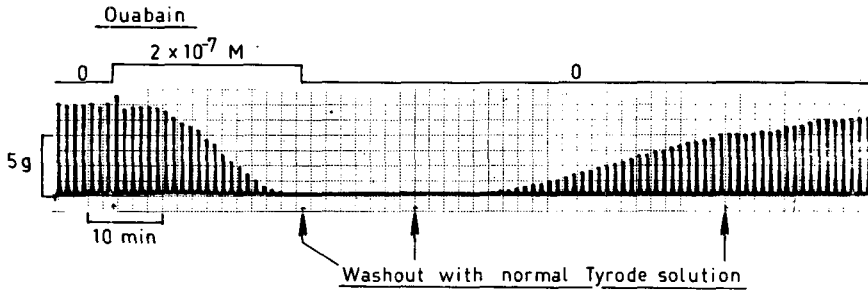


Fig. 16. The representative record showing the time course of contractions at exposure of  $2 \times 10^{-7}$  M ouabain and after washout in guinea-pig taenia coli. The electrically stimulated contractions were inhibited from about 5 min after the administration of ouabain gradually and completely blocked 25 min after the administration. The recovery from the suppressed status was very slow, but perfect.

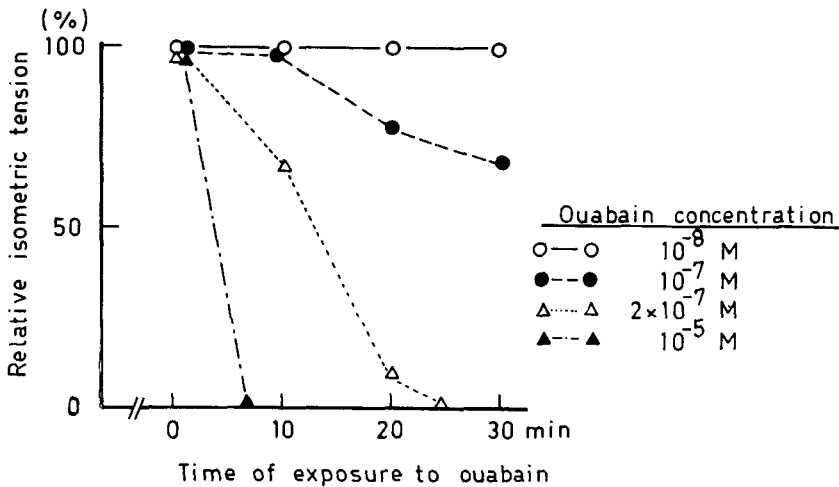


Fig. 17. The effect of various concentrations of ouabain on tension development of guinea-pig taenia coli in response to electrical field stimuli (60 Hz AC, 3.0 V/cm, 5 sec) at 1 min interval. Isometric tension at various concentrations of ouabain was expressed as a relative value of the isometric tension in the absence of ouabain. As the concentration of ouabain increased, the contractions are blocked more rapidly.

전장자극 유발수축에 대한 ouabain 투여효과를 Fig. 15에 나타내었다.  $10^{-8}$  M에서는 별로 영향이 없었고,  $10^{-7}$  M에서는 등장성 수축의 크기가 서서히 감소되어 30분정도 지난 후에는 대조치의 60% 수준까지 감소되어 유지되었으나  $2 \times 10^{-7}$  M에서는 완전히 억제되었다.

Fig. 16에 완전 억제농도인  $2 \times 10^{-7}$  M ouabain 투여시 시간경과에 따라 일어나는 수축크기의 변화를 표시하였다. 노출후 5분경까지는 변화가 없다가 그 후에 서서히 수축력이 감소되기 시작하여 10분후에는 대조치의 67%, 20분후에는 8%로 감소되었고 곧

완전히 억제되었다. 정상 Tyrode 용액으로 바뀌었을 경우 회복되는 경과도 매우 완만하게 나타났다.

전장자극 유발수축에 대한 ouabain의 억제작용이 ouabain 농도에 따라 변화하는 모양을 Fig. 17에 나타내었다.

$10^{-8}$  M ouabain에서는 효과가 없었고,  $10^{-7}$  M에서 억제효과가 나타났고,  $2 \times 10^{-7}$  M에서는 수축력이 완전 억제되었는 바,  $10^{-5}$  M ouabain과 비교하면 완전 억제시 까지의 기간이 농도증가에 따라 단축되었다.

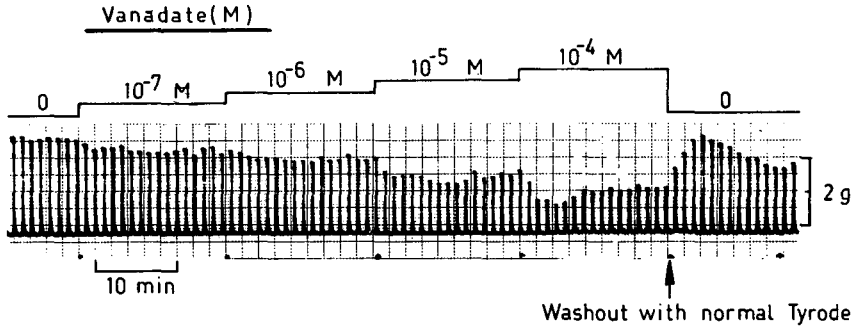


Fig. 18. Effects of vanadate on electrically stimulated contractions in guinea-pig taenia coli. The depressive actions of vanadate to contractions appeared from the concentration of  $10^{-7}$  M vanadate. With the increase in vanadate concentration, the characteristic suppressive pattern of contractibility was revealed; an initial rapid inhibition of tension development and then gradual recovery.

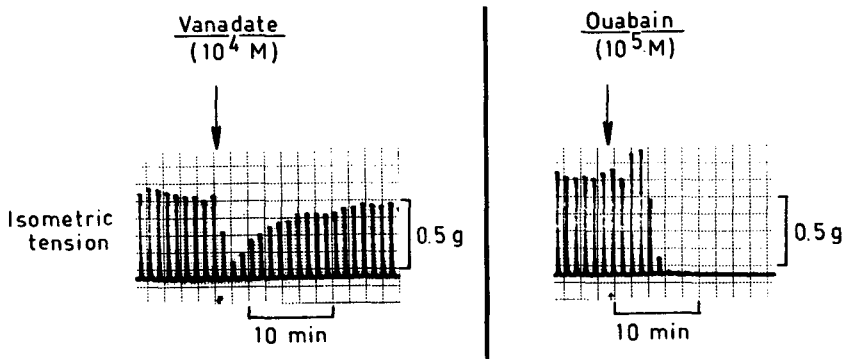


Fig. 19. Comparison of ouabain effect on electrically stimulated contractions with that of vanadate in guinea-pig taenia coli.  $10^{-5}$  M ouabain suppressed tension development and blocked completely about 5 min after ouabain administration, whereas  $10^{-4}$  M vanadate caused an initial rapid inhibition of tension development and then gradual recovery.

### 5. 전장자극 유발수축에 대한 vanadate 효과

Vanadate도 전장자극 유발수축을 농도-의존적으로 억제시키는 작용을 가지고 있으나 그 형태가 ouabain과는 다름을 Fig. 18과 Fig. 19에 나타내었다. Vanadate의 수축력 억제작용은  $10^{-7}$  M 부터 나타나기 시작하였고, 농도증가에 따라 억제정도가 강화되었고, 또한 특징적인 억제형태가 나타났다. 즉 투여 초기의 급격한 억제후 서서히 어느정도 수축크기가 회복되는 형태를 보였다.

전장자극 유발수축에 대한 ouabain과 vanadate의 투여효과를 비교하기 위하여 Fig. 19에 나타내었다.

두드러진 차이점으로서 vanadate는 투여즉시 수축크기가 급격히 감소되었다가 다시 얼마만큼 회복되었으나, ouabain의 경우에는 처음에는 약간 증가되다가 급격하게 수축력이 감소되면서 곧 완전히 소실되었다.

### 고 찰

자발적인 수축을 하고 있는 guinea-pig 결장뉴에  $10^{-6}$  g/ml ( $\approx 2 \times 10^{-6}$  M) ouabain을 투여하면 결장뉴의 장력발생은 감소되었는데 이때 나타난 전기 활동도의 변화를 보면 막전압이 탈분극되면서 처음에는 가시전압 발생빈도가 증가되다가 나중에는 탈분

극이 어느 수준에 (25~30 mV) 계속 유지되면서 가시전압은 사라졌으며, 정상 용액으로 바꿔주자 급격히 막전압이 증가되면서 대조치 (50~55 mV)보다 더욱 과분극 (60~65 mV)되면서 역시 가시전압이 없어졌다 (Casteels, 1966).

본 실험에서  $10^{-7}$  M ouabain에서는 가시전압이 계속 발생되면서 연속이 가중되어 지속적 수축이 유지된 것은 이와같은 농도에서는 막전압의 탈분극 정도가 결장뉴의 흥분성을 증가시킬 정도의 수준이어서 가시전압이 계속 발생된 것으로 해석된다.

Guinea-pig의 결장뉴에서는 1~3분을 주기로 막전압의 완만한 동요, 즉 일정한 주기의 서파 (slow wave)가 있는데, 이 서파가 가시전압의 발생을 조정하여 서파의 정점 (최대 탈분극시기)에서 가시전압 발생빈도가 최고가 되어 대개 1 spike/sec 정도된다. 결장뉴가 신전되면 늘어난 정도에 따라 가시전압 무리간의 간격 (interval between the bursts of spike discharge)이 감소되어 자발적 수축빈도는 증가한다 (Mashima & Yoshida, 1965; Mashima et al., 1966; Hukuhara & Fukuda, 1968; Golenhofen & Loh, 1970). 만일 결장뉴가 지나치게 신전되면 (overstretched), 가시전압이 쉬지않고 계속하여 발생되는데 이때 막전압은 탈분극되어 있다.

본 실험에 사용된 적출 결장뉴 조직내에는 각종 신경말단이 매몰되어 있으므로  $10^{-7}$  M ouabain의 효과가 신경말단에 작용하여 신경흥분 전달물질 (neurotransmitter)의 분비를 촉진시켜 일어났을 가능성을 규명한 실험결과를 Fig. 7에 나타내었다.

Ouabain은 신경말단에도 작용하여 신경흥분 전달물질 분비에도 영향을 미친다는 사실이 보고되고 있다 (Patton et al., 1971; Bonaccorsi et al., 1977; Toda, 1980; Kim & Kim, 1982). 또한 guinea-pig 결장뉴에는 평활근 세포막에 ACh receptor뿐만 아니라 adrenergic receptor인  $\alpha$ -receptor와  $\beta$ -receptor가 모두 존재하고 (Shibata et al., 1970),  $\alpha$ -receptor를 통한 반응이 더 강하다는 사실이 잘 알려져 있다. Acetylcholine이나 carbachol을 투여하면 막전압은 탈분극되고 가시전압 발생빈도는 증가되는데, 농도를 증가시키면 탈분극 정도가 심해지면서 가시전압은 소실된다 (Bülbring & Kuriyama, 1963; Magaribuchi et al., 1973). 본 실험에서  $10^{-7}$

M atropine으로 전처리하고  $10^{-7}$  M ouabain을 투여하여도 전혀 자발적 수축성이 차단되지 않고 그대로 나타나는 것으로 보아 확실히 ouabain 효과는 내원성 신경말단을 통한 간접적인 결과가 아니라, 평활근 세포막에 직접 작용하여 나타난 것으로 판단된다.

$10^{-5}$  M 이상의 ouabain에서는 가시전압 발생이 사라지면서 이완되었는데 이와같은 장력감소 현상은 막전압의 변화만으로는 해석이 불가능하다. 즉 장력이 감소되는 이완현상을 지속적인 탈분극현상으로 돌릴 수 없는 이유는 관류액내의  $K^+$  농도를 높여 K-경축을 일으킬 경우, 막전압은 계속 완전 탈분극 상태가 유지되어라도 장력은 특징적인 K-경축 현상을 보이기 때문이다 (Bose, 1975; Kim, 1980; Kishimoto & Urakawa, 1982).  $10 \mu\text{g/ml}$  ( $\approx 2 \times 10^{-5}$  M) ouabain을 guinea-pig 결장뉴에 노출시, 초기에 나타나는 장력증가현상은 세포외  $K^+$  농도를 높여 탈분극 시키면 없어지고, 뒤에 나타나는 억제 효과는 관류액내  $Na^+$ 이 없으면 소실되었다. 그러므로 ouabain의 억제효과는 세포내에 증가된  $Na^+$ 때문에 세포외로부터  $Ca^{2+}$  유입이 감소되어 일어난다고 보고하였다 (Bose, 1975; Kishimoto & Urakawa, 1982).

본 실험의 결과중 Fig. 13에 나타난  $10^{-5}$  M ouabain 효과에서도 처음에는 장력이 서서히 증가되다가 나중에는 감소되었는데 이러한 이중현상중 초기의 장력증가 시기는 탈분극으로 유발되는 지속적인 가시전압 발생이 원인이 되고, 뒤따르는 장력 감소현상은 Na-pump 차단작용으로 증가된 세포내  $Na^+$ 로 인하여  $Ca^{2+}$  유입량이 감소되면서 나타난 것으로 해석된다.

희귀원소 vanadium의 +5가 산화물인 vanadate ( $NH_4VO_3$  : VAN)가 강력한 Na, K-ATPase 억제제임이 골격근에서 분리된 표본에서 증명된 이래 (Josephson & Cantley, Jr., 1977), vanadium 원소의 효과로 생각된 생식, 적혈구 대사, 뼈조직 대사, 혈중 지방대사 등에 대한 영향도 새로운 각도에서 해석이 시도되고 있다 (Akeru et al., 1983).

ATP 시약중에 불순물로 미량 섞인 VAN이 강력한 Na, K-ATPase 억제효과를 나타내며, 생리적 조건하에서도  $K_1$  (최대 억제농도의 1/2 효과농도)이  $0.25 \mu\text{M}$  정도이어서 정상적으로 생체 Na-pump의

활동도 조절인자로서의 가능성도 의심되고 있다 (Cantley, Jr. et al., 1977). 그후 VAN은 근육은 물론 심장, 적혈구, 뇌, 전기뱀장어 등의 여러 종과 조직에서 분리해 낸 Na, K-ATPase의 억제제임이 알려졌다 (Josephson & Cantley, Jr., 1977; Cantley, Jr. et al., 1978).

근육이나 지방세포의 adenylate cyclase는 VAN에 의하여 오히려 촉진되며 (Schwabe et al., 1979; Krawietz et al., 1979), 신경에서는 Ca-ATPase를 억제함이 알려졌다 (Dipolo et al., 1979). 혈관 평활근 세포에서 인산화된 myosin과 actin과의 상호작용을 억제하고 (Peterson, 1980), 적혈구 Ca-ATPase, SR의 Ca-ATPase나 위점막의 다른 ATPase등을 모두 억제함이 알려졌다 (Rossi et al., 1981; O'Neil et al., 1979). 일반적으로 VAN의 억제효과는  $Mg^{2+}$ ,  $K^+$ 에 의하여 그 효과가 촉진되며  $Ca^{2+}$ , epinephrine에 의해 그 효과가 반전된다 (Josephson & Cantley, Jr., 1977).

VAN에 의한 Na, K-ATPase의 억제기전은 세포 안쪽에서만 가능할 것으로 보이며 (Cantley et al., 1978; Akera et al., 1979), 정상시에는 세포외에서 안으로의 침투가 불가능하여 +4가의 산화상태인 vanadyl ion 형태로나 세포내로 침투가능하나 이러한 ion 상태로는 Na, K-ATPase 억제효과가 없으며 세포내 단백질에 비특이적으로 결합될 것으로 생각되고 있다 (Phillips et al., 1983; Akera et al., 1983).

그러나 VAN이 세포밖에서도 작용효과를 나타낸다는 실험보고들이 있다. 즉 고양이나 guinea-pig 심실유두근에서는 VAN이 수축력 강화를 보이고, 심방근에서는 반대로 수축력이 억제되므로 (Borchard et al., 1979), Na, K-ATPase에 대한 억제효과외에 세포막 수준에서의 생리학적 분석이 요구된다.

Guinea-pig 결장뉴의 K-경축에 대한 VAN의 이중작용, 즉 초기에는 장력이 일과성으로 증가되다가 뒤이어 이완되는 현상을 보였는데, 뒤에 나타난 이완작용은 K-탈분극 상태하에서는 VAN이 세포내로 들어가 Na-pump가 억제되어 세포내  $Na^+$ 이 증가됨으로써  $Ca^{2+}$ 이 유입되어 나타나는 것으로 해석되었으나 초기의 수축현상은 Na-pump 억제작용과는 무관하나 그 발생기전은 아직 잘 모르고 있다 (Ueda et al., 1982).

또한 토끼 동방결절의 활동전압에 대한 VAN의 효과를 본 실험에서 VAN이 어떤 기전으로 세포막을 통한  $Ca^{2+}$  유입을 증가시키는 것으로 보고하고 있다 (Kim et al., 1985).

자발적 수축에 대한 VAN의 효과중  $10^{-5}$  M VAN에서는 수축빈도가 증가하였으며  $10^{-4}$  M VAN에서는 지속적으로 유지되는 장력이 발생되면서 여기에 중첩되어 빠른 위상성 수축이 나타났다 (Fig. 8). 이와같은 작용은 단일 슈크로즈-간극법을 이용한 막전압 측정에서 (Fig. 9., Fig. 11) 어떠한 기전인지는 모르나 막전압이 탈분극 되는 것으로 보아 설명이 가능할 것으로 보이며  $10^{-4}$  M VAN 효과는 탈분극 유발기전은 다를지 모르겠지만  $10^{-7}$  M ouabain 효과와 비슷한 결과로 보인다.

전장자극으로 유발시킨 수축은 전기자극으로 모든 평활근 세포의 세포막이 일시에 탈분극되면서  $Ca^{2+}$  투과성이 증가되어  $Ca^{2+}$ 이 일거에 유입되면서 강력한 수축이 일어난 것이다 (Bohr, 1973; Daniel & Janis, 1975). 이때 결장뉴 조직내의 신경말단들도 탈분극되면서 전달물질의 유리가 예상되므로 각종 차단제를 투여하였다 (Fig. 14).  $\alpha$ -blocker인  $10^{-7}$  M phentolamine을 투여했을 때, 등장성 수축의 크기가 10% 정도 증가하였으나  $\beta$ -blocker인 propranolol의 투여효과는 미미하였다. 이와같은 결과는  $\alpha$ -receptor를 통한 효과가 주가 됨을 의미한다. 전장자극 유발 수축에 신경의 영향은 10% 이내로 판단되며, 이것도 서로 길항적으로 작용하는 신경의 영향으로 그 효과가 상쇄됨으로써, 전기자극시에는 신경영향인자는 거의 고려하지 않아도 될 정도이었다.

전장자극 유발수축에 대한 ouabain의 수축력 억제작용은 발생기전의 끝 단계에서는  $Ca^{2+}$  유입이 억제됨을 의미하고, 이러한 억제작용은 농도-의존적이었다 (Fig. 15, Fig. 16, Fig. 17). Guinea-pig 결장뉴의 K-경축 ( $62.7$  mM  $K^+$ )에  $10^{-5}$  M ouabain을 투여하면 이완되었는데, 이때 세포내  $Na^+$  농도가 증가되었다. K-경축에 대한 ouabain의 수축 억제작용은 세포의  $Ca^{2+}$ 을 높이면 감소되었고, 억제시 세포내  $^{45}Ca^{2+}$  함량이 줄어드는 점으로 보아 ouabain이 Na-pump를 억제하여 세포내  $Na^+$  농도가 증가되면 어떠한 기전으로 K-경축시의  $Ca^{2+}$  유입을 억제

시켜 K-경축이 이완되는 것으로 해석되고 있다 (Kishimoto & Urakawa, 1982). Ouabain의 K-경축 억제작용이 Na-pump 억제로 세포내 Na<sup>+</sup>이 증가되면 평활근 세포막의 potential-dependent Ca<sup>2+</sup>-channel로 유입되던 Ca<sup>2+</sup>이 어떤 기전인지는 불확실하나 감소되면서 이완되는 것으로 이해된다. Guinea-pig에서 결장뉴와 대동맥 평활근의 Na-Ca exchange 기전이 수축반응의 기여 정도를 비교하면 aorta가 훨씬 크고 결장뉴에서는 훨씬 적은 것으로 보고되었다(Raeymaekers et al., 1974; Casteels & van Breemen, 1975; Brading, 1978). 그렇다면 전장 자극 유발수축에 대한 ouabain의 억제작용도 비슷한 기전으로 설명될 수 있겠다. VAN의 전장자극 유발수축에 대한 효과는 ouabain과는 달리 처음에는 급격히 수축력이 억제되었다가 다시 어느정도 회복되는 이중경과를 보였다(Fig. 19). 이와같은 현상에 대한 해석을 하는데 있어서, 전장자극으로 조직 전체가 탈분극 될 때 VAN이 K-경축시와 같이 세포내로 들어갈 수 있다면 Na-pump와 Ca-ATPase를 억제시킬 수 있으므로(Bond & Hudgins, 1978; Simons, 1979; Adams & Schwartz, 1980), 이러한 현상은 어느정도 설명이 가능하나 현재로서는 직접 증명할 수 없는 가정일 뿐이다.

## 결 론

자발적 수축을 하고, 내원성 신경말단을 포함하고 있는 guinea-pig의 적출 결장뉴에 대한 ouabain과 vanadate의 작용효과를 비교분석하고, 그 기전을 전기생리학적으로 규명하고자 시도하였다.

Guinea-pig의 결장뉴를 체외로 적출하여 35°C에서 100% O<sub>2</sub>으로 평형을 이루고 있는 정상 Tris-완충 Tyrode 용액에서 일정한 빈도와 크기로 자발적 수축을 하고 있는 상태에 흡입전극을 사용하여 수축 곡선과 동시에 가시전압을 기록하였고, 막전압의 변화 방향을 측정하는 데는 단일 슈크로즈-간극법을 이용하였다. 또한 전장자극(AC, 60 Hz, 3.0 V/cm)을 1분마다 5초씩 가하여 수축을 유발시켜, Na-pump 차단제들이나 작용부위가 다르다고 보고된 ouabain과 vanadate의 전장자극 유발수축에 대한 작용효과도 비교하여 다음과 같은 결과를 얻었

다.

1) 자발적 수축에 대한 ouabain 효과는 농도에 따라 달랐다. 10<sup>-8</sup> M에서는 효과가 없었고, 10<sup>-7</sup> M에서는 일정한 크기의 장력이 지속적으로 유지되었으나, 10<sup>-6</sup> M 이상의 고농도에서는 초기에는 장력이 서서히 증가되다가 나중에는 다시 감소되는 이상성 현상을 보였다.

2) 전기 활동도에 미치는 ouabain 효과로서, 10<sup>-7</sup> M에서는 가시전압이 계속 발생되었으나 10<sup>-6</sup> M 이상의 농도에서는 처음에 가시전압이 발생되다가 후에는 크기가 감소되면서 사라지고 일정한 탈분극 상태를 유지하였다.

3) 10<sup>-7</sup> M ouabain에 의하여 나타난 특징적인 효과는 10<sup>-7</sup> M atropine 전처치로 차단되지 않았다.

4) 전장자극 유발수축에 대하여 10<sup>-8</sup> M ouabain은 별 효과가 없었으나 10<sup>-7</sup> M에서는 수축크기가 감소되었다. 2×10<sup>-7</sup> M에서는 완전히 억제되었고 농도가 진할수록 단시간 내에 수축발생이 완전 억제되었다.

5) 자발적 수축에 대하여 vanadate는 10<sup>-7</sup> M에서 별로 효과를 나타내지 못하였고, 10<sup>-6</sup> M에서는 수축크기가 증가되었다. 10<sup>-5</sup> M에서는 처음에는 크기가 작았으나 점차 회복되어 대조시와 비슷하거나 약간 증가되었고 수축빈도는 빨라졌다. 10<sup>-4</sup> M vanadate에서는 기초장력이 증가되고 그 위에 불규칙한 크기의 위상성 수축이 계속 중첩되어 나타났

다.

6) 10<sup>-5</sup> M vanadate는 막전압을 탈분극 시키면서 가시전압 무리간격을 단축시켰으며 10<sup>-4</sup> M에서는 지속적인 탈분극 현상을 보였고 쉬지않고 가시전압이 계속 발생되었다.

7) 전장자극 유발수축에 대하여 vanadate도 농도-의존적으로 억제작용을 나타내었으나 특징적인 억제형태를 보였다. 즉 투여 초기의 급격한 억제후 서서히 어느정도 수축크기가 회복되는 형태를 나타내었다.

이상의 실험결과들을 토대로 다음과 같은 결론을 내릴 수 있었다.

1) ouabain 효과로서 10<sup>-7</sup> M에서 나타난 지속적 장력발생은 쉬지 않고 계속된 가시전압 발생으로 인한 것이고, 10<sup>-6</sup> M 이상에서 나타난 이상성 반응은



초기의 탈분극 경과중에 나타난 가시전압발생으로 수축력이 처음에는 증가되었으나, 뒤따른 수축력의 억제현상은 비전기적 기전으로 판단된다.

2)  $10^{-7}$  M ouabain의 특징적 효과는 내원성 신경 말단에 대한 작용효과라기 보다는, 평활근 세포에 대한 직접적인 작용에 의하여 유래된 것으로 판단된다.

3) 전장자극 유발수축에 대한 ouabain의 억제작용은 세포내에 증가된  $\text{Na}^+$ 이 어떤 기전으로  $\text{Ca}^{2+}$ -유입을 억제시켜 수축의 유발이 억제된 것으로 해석된다.

4)  $10^{-4}$  M vanadate에서 기초장력이 증가되고 여기에 빠른 위상성 수축이 중첩되어 나타난 것은 막전압이 탈분극 되면서 가시전압이 쉬지않고 계속 발생될 데 연유된다.

5) 전장자극 유발수축에 대한 vanadate의 특징적인 반응은 그 기전을 현재로서는 알 수 없으나 ouabain과는 작용기전이 다를 수 있다.

## REFERENCES

- Adams RJ & Schwartz A (1980). Purification and characterization of cardiac sarcolemma: Effect of vanadate on Na-K-ATPase and Ca-ATPase. *Fed Proc* 39, 979
- Akera T, Takeda K, Yamamoto S & Brody T (1979). Effects of vanadate on  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase and on the force of contraction in guinea-pig hearts. *Life Sciences* 25, 1803-1812
- Akera T, Temma K & Takeda K (1983). Cardiac actions of vanadium. *Fed Proc* 42(13), 2984-2988
- Bochard U, Fox AL, Greeff K & Schlipper P (1979). Negative and positive inotropic action of vanadate on atrial and ventricular myocardium. *Nature* 279, 339-341
- Bohr DF (1973). Vascular smooth muscle updated. *Circ Res* 32, 665-672
- Bonaccorsi A, Hermsmyer K, Aprigliano O, Smith CB & Bohr DF (1977). Mechanism of potassium relaxation of arterial muscle. *Blood Vessels* 14, 261-276
- Bond GH & Hudgins PM (1978). Kinetics of inhibition of red cell membrane Ca-ATPase by pentavalent vanadium. *Fed Proc* 37, 313
- Bose D (1975). Mechanism of mechanical inhibition of smooth muscle by ouabain. *Br J Pharmacol* 55, 111
- 116
- Brading A, Bülbring E & Tomita T (1969). The effect of sodium and calcium on the action potential of the smooth muscle of the guinea-pig taenia coli. *J Physiol* 200, 637-654
- Brading AF (1978). Calcium-induced increase in membrane permeability in the guinea pig taenia coli: Evidence for involvement of a sodium-calcium exchange mechanism. *J Physiol* 275, 65-84
- Broekaert A & Godfraind T (1973). The actions of ouabain on isolated arteries. *Archs int Pharmacodyn Ther* 203, 393-395
- Bülbring E & Kuriyama H (1963). The effect of adrenaline on the smooth muscle of guinea-pig taenia coli in relation to the degree of stretch. *J Physiol* 169, 198-212
- Cantley Jr. LC, Josephson L, Warner R, Yanagisawa M, Lechene C & Guidotti G (1977). Vanadate is a potent (Na, K)-ATPase inhibitor found in ATP derived from muscle. *J Biol Chem* 252, 7421
- Cantley Jr LC, Resh MDG & Guidotti G (1978). Vanadate inhibits the red cell ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ )-ATPase from the cytoplasmic side. *Nature* 272, 552-554
- Casteels R (1966). The action of ouabain on the smooth muscle cells of the guinea-pig's taenia coli. *J Physiol* 184, 131-142
- Casteels R & van Breemen C (1975). Active and passive  $\text{Ca}^{2+}$  fluxes across cell membranes of the guinea-pig taenia coli. *Pflügers Arch* 359, 197-207
- Connor JA, Prosser CL & Weems WA (1974). A study of pacemaker activity in intestinal smooth muscle. *J Physiol* 24, 671-701
- Daniel EE & Janis RA (1975). Calcium regulation in the uterus. *Pharmacol Therap* B 1, 695-729
- Dipolo R, Rojas HR & Beauge L (1979). Vanadate inhibits uncoupled Ca efflux but not Na-Ca exchange in squid axons. *Nature* 281, 228-229
- Golenhofen K & Loh DV (1970). Elektrophysiologische Untersuchungen zur normalen Spontanaktivität der isolierten Taenia coli des Meerschweinchens. *Pflügers Arch ges Physiol* 314, 312-328
- Golenhofen K & Lammel E (1972). Selective suppression of some components of spontaneous activity in various types of smooth muscle by Iproveratril (Verapamil). *Pflügers Arch* 331, 233-243
- Griffin JD, Szaro RP & Weltman JK (1972). Ouabain

- antagonism of smooth muscle contraction. *J Pharmacol Exp Ther* 182, 378-387
- Hukuhara T & Fukuta H (1968). The electrical activity of guinea-pig small intestine with special reference to the slow wave. *Jap J Physiol* 18, 71-86
- Josephson L & Cantley Jr LC (1977). Isolation of a potent (Na-K)-ATPase inhibitor from striated muscle. *Biochemistry* 16(21), 4572-4578
- Kim IK (1980). Effects of calcium ion and calcium-antagonists on the K-contracture in guinea-pig taenia coli. *Seoul J Med* 21(2), 113-121
- Kim KW & Kim J (1982). The role of Na-K pump in the modulation of vascular tone in the rabbit. *Kor J Physiol* 16(1), 1-11
- Kim KW & Kim WG (1985). Effects of  $Ca^{2+}$ -antagonists on the electrical activity of guinea-pig taenia coli. *Kor J Physiol* 19(1), 1-13
- Kim HS, Bang HW, Uhm DY & Rhee SD (1985). Effect of vanadate on the action potential by the locations in the rabbit S-A node. *Chung-Ang J Med* 10(1), 43-50
- Kishimoto T & Urakawa N (1982). Effects of ouabain on high-K induced contractions of various smooth muscle tissues in the guinea-pig. *Jap J Pharmacol* 32, 551-561
- Krawietz W, Werdan K & Erdmann E (1979). Stimulatory effect of vanadate on the adenylate cyclase of cardiac tissue. *Bioch Pharmacol* 28, 2517-2520
- Kuriyama H (1970). Effects of ions and drugs on the electrical activity of smooth muscle. In: Büllbring E p366-395
- Magaribuchi T, Ito Y & Kuriyama H (1973). Desensitization of smooth muscle cells in the guinea-pig taenia coli to prolonged application of carbachol. et al. (ed) Smooth muscle. *Edward Arnold, London Jap J Physiol* 23, 447-464
- Mashima H & Yoshida T (1965). Effect of length on the development of tension in guinea-pig's taenia coli. *Jap J Physiol* 15, 463-477
- Mashima H, Yoshida T & Handa M (1966). Contraction and relaxation of the guinea-pig's taenia coli in relation to spike discharge. *Jap J Physiol* 16, 304-315
- O'Neal SG, Rhoads DB & Racker E (1979). Vanadate inhibition of sarcoplasmic reticulum ATPase and other ATPases. *Bioch Biophys Res Comm* 89(3), 843-850
- Osa T (1973). The effects of sodium, calcium and manganese on the electrical and mechanical activities of the myometrial smooth muscle of pregnant mice. *Jap J Physiol* 23, 113-133
- Paton WDM, Vizi ES & Zar MA (1971). The mechanism of acetylcholine release from parasympathetic nerves. *J Physiol* 215, 819-848
- Peterson JW (1980). Vanadate ion inhibits actomyosin interaction in chemically skinned vascular smooth muscle. *Bioch Biophys Res Comm* 95(4), 1946-1953
- Phillips DT, Nechay BR & Heidelbaugh ND (1983). Vanadium: chemistry and the kidney. *Fed Proc* 42(13), 2969-2973
- Prosser CL (1978). Rhythmic potentials in intestinal muscle. *Fed Proc* 37, 2153-2157
- Prosser CL & Mangel AW (1982). Mechanisms of spike and slow wave pacemaker activity in smooth muscle cells. In: Carpenter DO (ed) Cellular pacemakers. Volume 1; Mechanisms of pacemaker generation. *John Wiley and Sons, New York*, p 273-301
- Raeymaekers L, Wuytack F & Casteels R (1974). Na-Ca exchange in taenia coli of the guinea-pig. *Pflügers Arch* 347, 329-340
- Reiner O & Marshall JM (1975). Action of D-600 on spontaneous electrically stimulated activity of the parturient rat uterus. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch exp Path Pharmacol* 290, 21-28
- Rossi JPFC, PJ Garrahan & AF Rega (1981). Vanadate inhibition of active  $Ca^{2+}$  transport across human red cell membranes. *Bioch Biophys Acta* 648, 145-150
- Schwabe U, C Puchstein, H Hannemann & E Söchtig (1979). Activation of adenylate cyclase by vanadate. *Nature* 277, 143-145
- Shibata, S, K Hattori & D Timmerman (1970). Effect of cold storage on the response of guinea-pig taenia coli to certain catecholamines and other agents. *Eur J Pharmacol* 11, 321-331
- Simons TJB (1979). Vanadate-a new tool for biologists. *Nature* 281, 337-338
- Toda N (1980). Mechanisms of ouabain-induced arterial muscle contraction. *Am J Physiol*, 239, H199-H205
- Ueda F, T Kishimoto, H Ozaki & N Urakawa (1980). Dual actions of vanadate on high K-induced contraction in guinea-pig taenia coli. *Jap J Pharmacol* 32, 149-157