

토끼 단일 심근세포에서 대사억제시 Inward Rectifier(I_{K1})의 변화

정 유 정 · 호 원 경 · 엄 용 의

서울대학교 의과대학 생리학교실

Effect of Metabolic Inhibition on Inward Rectifier K Current in Single Rabbit Ventricular Myocytes. Yu Jeong Chung, Won-Kyung Ho, and Yung E Earm Department of Physiology, Seoul National University College of Medicine, 28 Yonkeun-Dong, Chongno-Ku, Seoul 110-799, Korea

In the present study, we have investigated the effect of metabolic inhibition on the inward rectifier K current (I_{K1}). Using whole cell patch clamp technique we applied voltage ramp from +80 mV to -140 mV at a holding potential of -30 mV and recorded the whole cell current in single ventricular myocytes isolated from the rabbit heart. The current-voltage relationship showed N-shape (a large inward current and little outward current with a negative slope) which is a characteristic of I_{K1} . Application of 0.2 mM dinitrophenol (DNP, an uncoupler of oxidative phosphorylation as a tool for chemical hypoxia) to the bathing solution with the pipette solution containing 5 mM ATP, produced a gradual increase of outward current followed by a gradual decrease of inward current with little change in the reversal potential (-80 mV). The increase of outward current was reversed by glibenclamide (10 μ M), suggesting that it is caused by the activation of K_{ATP} . When DNP and glibenclamide were applied at the same time or glibenclamide was pretreated, DNP produced same degree of reduction in the magnitude of the inward current. These results show that metabolic inhibition induces not only the increase of K_{ATP} channel but also the decrease of I_{K1} . Perfusing the cell with ATP-free pipette solution induced the changes very similar to those observed using DNP. Long exposure of DNP (30 min) or ATP-free pipette solution produced a marked decrease of both inward and outward current with a significant change in the reversal potential.

Above results suggest that the decrease of I_{K1} may contribute to the depolarisation of membrane potential during metabolic inhibition.

Key Words: DNP, Metabolic inhibition, Whole cell patch clamp, Inward rectifier K current, ATP

서 론

심근허혈 및 심근경색은 성인 심장병중에서 가장 중요하고 흔한 질환중의 하나이다. 심근허혈시에는 심장의 에너지원이 고갈되고 대사산물이 축적되어 세포내 에너지 대사의 장애가 일어난다. 결과적으로 세포 손상이 초래되는데, 세포 손상이 일어나기 전의 초기 단계에 안정막 전압의 저분극, 활동전압 기간의 단축, 부정맥 발생 등의 전기적 변화가 선행된다(Carmeliet, 1984; Ten Eick

et al, 1992). 심근 허혈시에 나타나는 장애를 기전에 따라 크게 세가지로 나누어 보면 첫째, 심근세포에 대한 산소 공급의 감소내지는 중단에 의한 세포내 ATP의 고갈로 인하여 심근의 수축력이 감소된다. 둘째, 경색 조직과 정상 조직사이의 전기적 불균등에 기인하는 부정맥이 나타나 급사를 일으키기도 한다. 셋째, 경색 후에 발생하는 재관류 손상이다(Shattock et al, 1990). 재관류 손상은 정도에 따라 여러 가지 병변을 일으키는데 부정맥이 그 중 대표적인 것이다. 세포가 저산소상태가 되었을 때, 가장 큰 특징으로 K^+ 이온의 유출이 급속히 증가해서 막전압의 저분극이 유발되고 대사산물인 lactate의 유출이 증가하고 세포내 산성화가 일어난다. 이러한 K^+ 이온의 급속

한 유출에 의해서 세포는 활동전압의 기간 단축과 느린 전도가 나타나게 되며 결국에 심근허혈동안에 malignant arrhythmias를 유발한다는 것이다(Kleber, 1983; Nakaya et al, 1985). 또 저산소증은 세포내 고에너지 화합물의 생산을 저하시켜 ATP 나 creatine phosphate 같은 물질의 고갈이 오게되고(McDonald & Maclead, 1973) Ca 전류의 감소와 세포내 pH 저하가 나타난다(Carmeliet, 1978; Hasin & Barry, 1984; Allen, 1987). 에너지 대사억제모형을 통한 심근허혈과 저산소증에 관한 연구는 세포내 고에너지 인산화 과정중 낮은 ATP 농도에 의해서 활성화되는 ATP-sensitive(K_{ATP}) K^+ 통로의 발견을 통해서(Noma, 1983) K^+ 이온 유출의 기전을 설명할 수 있었다. 그러나, 이러한 대사 억제시에 다른 K channel의 관련 가능성은 연구되지 않았다.

한편, 심근에 존재하는 K통로 중 inward rectifier K-전류는(I_{K1}) 정상심근의 안정상태에서 가장 큰 전도도를 갖는 전류일 뿐만아니라 심근의 활동전압 중 최종적인 재분극 시기에도 관여한다. 이 전류의 가장 큰 특징은 전류-전압관계에서 막전압이 과분극된 경우에 내향방향으로의 전류를 잘 일으키는 rectification 현상을 보이며, 이 K^+ 전류는 그 결과로서 negative slope conductances를 갖는다는 점이다(Trautwein & McDonald, 1978; Harvey & Ten Eick, 1989). 또한 I_{K1} 의 선택성 기전(Carmeliet, 1982; Kurachi, 1985)과 세포내 Mg^{2+} 이온에 의해서 I_{K1} 이 block 되는 기전도 잘 알려져 있다(Matsuda et al, 1987; Vandenberg, 1987). 그러나 심근허혈, 저산소증과 같은 조건에서 I_{K1} 이 어떻게 변화하며, 이러한 변화가 심근허혈시 나타나는 전기생리학적변화와 어떻게 연관되어 있는지에 관한 연구는 별로 되어있지 않다. 따라서 본 연구에서는 대사억제제에 의한 I_{K1} 의 변화와 ATP가 없는 용액으로 세포내를 관류시켰을 때의 I_{K1} 의 변화를 비교 관찰하여, 세포내 대사상태에 따른 I_{K1} 의 조절을 연구하였다.

연구재료 및 방법

토끼 단일 심근세포의 분리

실험동물은 암수 구별없이 1 kg 내외의 건강한 토끼를 사용하였으며 엄 등(1990)의 방법을 이용하여 Langendorff apparatus로 단일 심근세포를 분리하였다. 세포의 소화는 collagenase(7 mg/50 ml, Sigma)를 이용하였고 소화된 심장의 심실근과 심방근 절편을 각각 따로 떼어 내어 Kraft Brüche(KB)저장 용액에서 흔들어서 단일 심근세포로 분리하고, 분리된 세포들은 4°C의 KB 저장용액에 보관하여 실험에 사용하였다.

실험용액

정상 Tyrode 용액의 조성은(mM): NaCl, 143; KCl, 5.4; $CaCl_2$, 1.8; $MgCl_2$, 1; glucose, 11; HEPES, 5(pH는 NaOH로 적정하여 7.4로 맞추), 그리고 Ca-free Tyrode 용액의 조성은(mM): NaCl, 143; KCl, 5.4; $MgCl_2$, 3.5; glucose 11; taurine, 20; HEPES, 5(pH는 NaOH로 적정하여 7.4로 맞추)이며 KB 저장용액은(mM): KOH, 70; L-glutamate, 50; KCl, 40; taurine, 20; KH_2PO_4 , 20; $MgCl_2$, 3; glucose, 10; HEPES, 10; EGTA, 0.5(pH는 KOH로 적정하여 7.4로 맞추)의 조성으로 만들어 사용하였다. 단일 심근세포 분리와 정리의 모든 용액은 100% O_2 로 포화시켜 사용하였다.

patch pipette은 그 조성이 정상 ATP 농도인 경우(mM)에는: KCl, 140; aspartic acid 90; $MgCl_2$, 1; HEPES, 10; Mg-ATP, 5; EGTA 5(pH는 KOH로 적정하여 7.4로 맞추)인 용액을 썼으며 ATP free 용액인 경우 ATP를 제외한 나머지 조성은 정상 ATP 농도인 경우와 동일하였다.

2, 4-dinitrophenol(DNP)(Sigma, ST. Louis, MO), glibenclamide은 bath 용액에 녹이고 pH를 재적정하여 사용하였다.

전기 생리학적 기록(Electrophysiological recording)

단일 심근세포를 도립현미경(inverted microscope, Olympus IMT-2)에 설치한 chamber에 옮긴 후 patch clamp 방법(Hamil et al, 1981)으로 막전류를 기록하였으며 모든 실험은 상온에서 시행되었다. 모든 실험은 whole-cell voltage clamp technique을 사용하였다. Holding potential을 -30 mV로 유지하다가 자극 기간이 300 ms이고 전압이 -120 mV로부터 +40 mV까지의 step pulse와 자극기간이 440 ms이고 전압이 +80 mV로부터 -140 mV로 가는 연속적인 자극을 주어 이때 발생하는 막전류의 변화를 기록하였다. pClamp software(ver 5.7.1, Axon Instruments, U. S. A)를 이용하여 Digidata 1200과 컴퓨터를 이용하여 data를 기록 처리 분석하였다. Patch pipette은 내경 1.0 mm의 borosilicate 유리관을 미세전극 제작기(Microelectrode puller PP-83, Narishige, Japan)로 만들었으며 tip 저항이 2~3 M Ω 인 것을 사용하였다. 전류의 기록시 borosilicate glass electrode를 사용하여 세포와 tight seal(gigasal)을 형성한 후, 음압(suction)을 좀더 강하게 하여 whole cell mode로 만들어 RK 300 amplifier를 사용하여 전류를 기록하였다. 기록 장치는 생리기록기(Gould pen recorder, U.S.A)와 Oscilloscope(4094C Nicolet, U.S.A)를 사용하였다.

연구 결과

I_{K1} 의 정상상태에서의 특성

토끼심장에서 분리한 심실근세포에 유지전압을 -30 mV에 고정하고 -120 mV에서부터 $+40$ mV까지 10 mV 간격으로 300 ms기간 동안의 자극을 주고서 기록한 결과이다 (Fig. 1). Fig. 1A 에서 보여주는 것과 같이 과분극 자극을 주었을 경우 외향전류에 비해 내향전류의 크기가 현저히 큰 전도도를 갖는 inward rectifier K전류(I_{K1})가 기록되었다. 한편, 대사억제제인 DNP를 세포 밖에 투여하고 step pulse를 주고서 기록한 결과 정상용액에서의 전류에 비해서 내향전류는 줄어들고 외향전류가 활성화된 양

상을 보였고 활성화된 전류는 저산소상태에 K^+ 이온의 유출과 관련된 것으로 알려진 이온통로로서 에너지고갈시에 활성화되는 K_{ATP} 통로임을 확인할 수 있었다. Fig. 1B 에서는 A의 전류-전압 관계를 보여주는데, 역전전압(reversal potential)이 -70 mV이고 -40 mV에서 0 mV사이에서 negative slope을 이루었고 외향전류의 크기는 막전압이 positive로 갈수록 직선적으로 증가되는 양상을 나타내었다.

심근 K 전도도에 대한 DNP의 효과

대사억제제인 DNP를 토끼 심실근세포에 준 후 나타나는 현상을 시간에 따른 변화로 쉽게 보기위해 유지전압

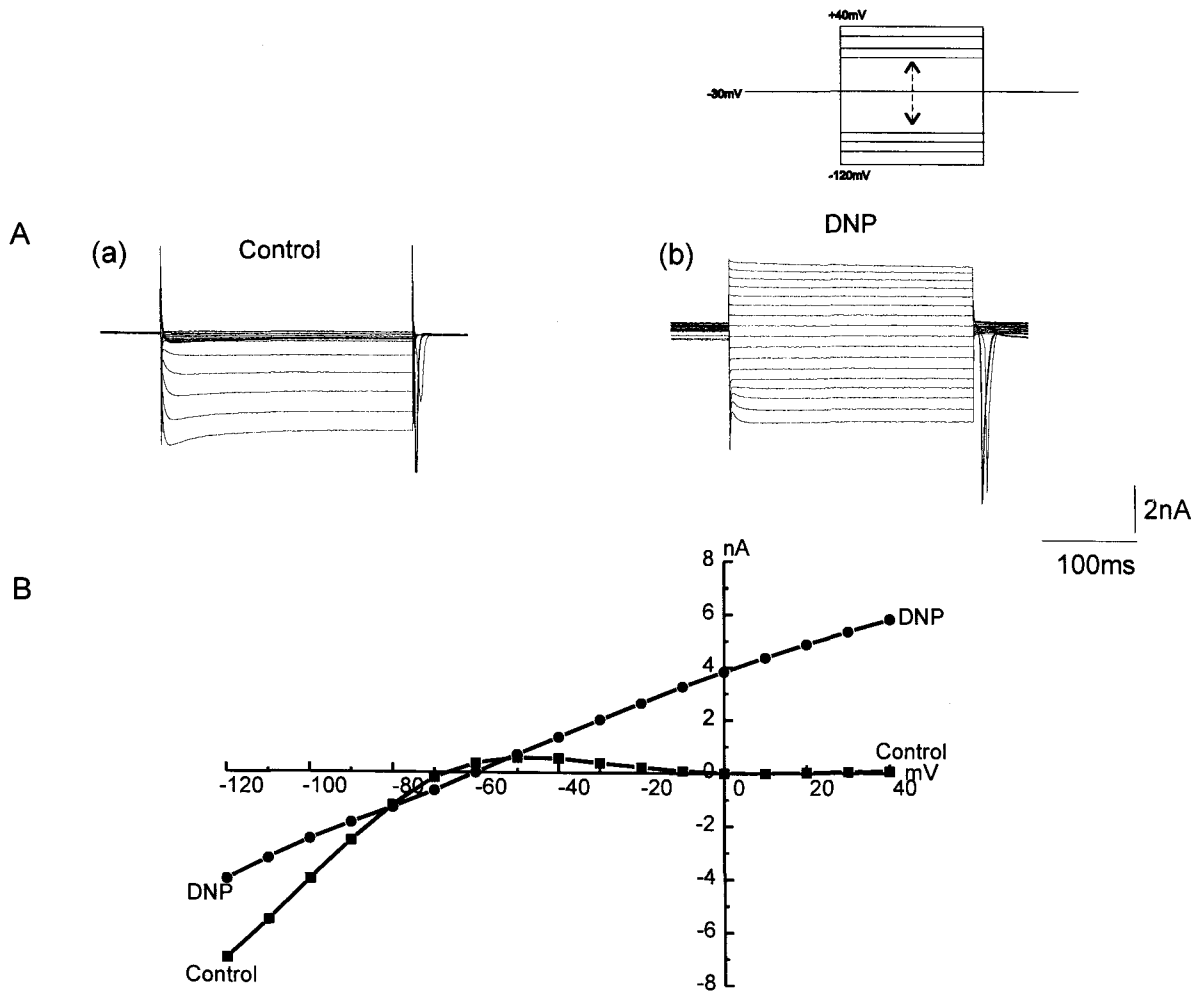


Fig. 1. Effect of 2, 4-dinitrophenol(DNP) on membrane currents and current-voltage relationships in rabbit ventricular myocytes. Inset shows a voltage pulse protocol. Square pulses range from -120 mV to $+40$ mV in 10 mV steps from a holding potential of -30 mV with a duration of 300 ms. A. Superimposed current traces before(a) and 5 min after(b) application of 0.2 mM DNP. B. Plot of the steady-state current measured at the end of the pulse against the pulse potential before(filled squares) and after DNP application(filled circles).

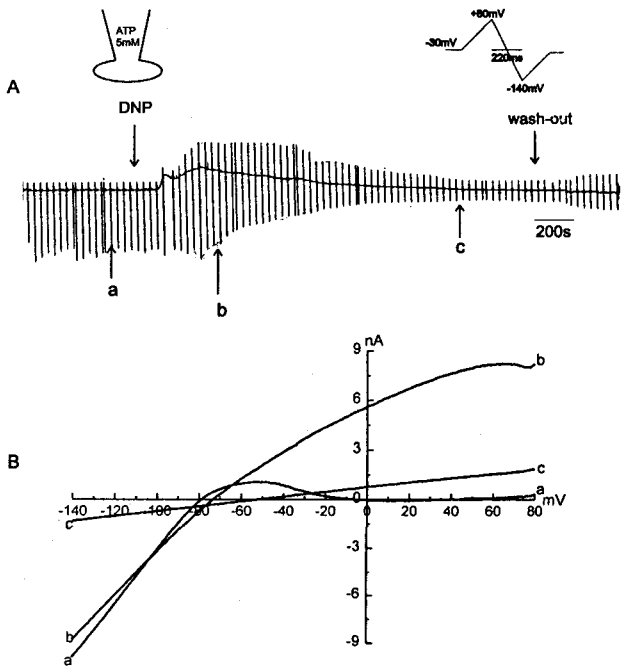


Fig. 2. Change of membrane currents during a long exposure of DNP. A. Inset in right upper corner shows a voltage ramp protocol. Current deflections recorded in the chart recorder represents the peak to peak current in response to ramp pulses. First arrow above the current trace indicates the time of applying DNP. B. Current-voltage relationships were obtained from the current recording during a decreasing slope of ramp pulses, since sodium current was often activated during a increasing slope of ramp pulses. The curves indicated by control(a) 10 min after DNP(b), and 35 min after DNP(c) were obtained from the traces indicated in A.

을 -30 mV로 유지하다가 자극기간이 440 ms 이고 전압이 +80 mV로부터 -140 mV로 가는 ramp pulse(Fig. 2)를 주고 전류를 기록해 보았다. 정상상태(normal Tyrode)에서는 step pulse를 주었을 때와 동일한 negative slope을 보이는 전류-전압관계를 보였으며(Fig. 2.a), 대사억제제인 DNP를 주고 기록해 본 결과 첫 번째 단계에서는 유지전압 -30 mV에서의 전류값이 외향 방향으로 이동하였고, ramp pulse에 의해 유발된 전류도 외향전류의 증가가 두드러지게 나타났다(Fig. 2, b). 그러나 이러한 외향전류의 증가는 지속적이지 못하였고 15분 경과 후에는 내향전류가 먼저 감소를 보인 후에 K_{ATP} 의 비활성화가 이루어져 외향전류도 감소함을 볼 수 있었다. 20분 후에는 inward rectification을 보이는 성분은 완전히 소실되었으며, 역전 전압이 -50 mV 근처이고 직선적인 전도도를 보이는 새로운 양상으로 변화함을 볼 수 있었고, 이후에 wash out

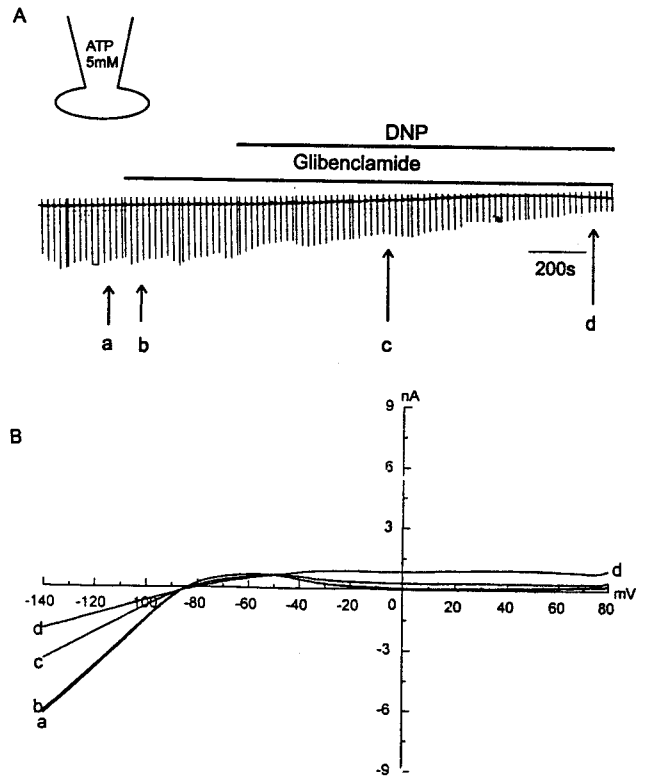


Fig. 3. The effect of DNP in the presence of glibenclimide. A. Current traces obtained in response to the same voltage ramps shown in Fig. 2. Glibenclamide was applied before DNP application to prevent the activation of K_{ATP} . B. Current-voltage relationships in control(a), glibenclimide(b) and DNP(c, d) were obtained from the traces indicated in A.

하여도 정상적인 전류-전압관계로 회복되지 못하였다(Fig. 2, c). 이러한 전도도는 기준에 있던 이온 통로의 특성이 변화한 것인지, 아니면 기존의 이온통로는 완전히 비활성화되고 새로운 특성의 통로가 나타난 것인지는 본 실험으로는 확인할 수 없었다.

K_{ATP} 억제제인 glibenclamide를 전처리한 후의 DNP의 효과

앞에서 관찰된 DNP에 의한 외향전류의 증가는 K_{ATP} 가 활성화 된 것이라 가정하고 K_{ATP} 억제제인 Glibenclamide(10 μ M)를 전처리하여 K_{ATP} 를 억제하고 inward rectifier K전류(I_{K1})의 변화만을 중점적으로 관찰해 보았다. Fig. 3은 glibenclamide를 전 처리하고서 3분 정도 기록해 본 결과 외향방향으로의 전류의 활성화는 관찰할 수 없었고 정상 용액(normal Tyrode)상태의 것과 비교해서 변함 없이 정상상태의 전류-전압곡선을 관찰하였고(Fig. 3. a), 후에

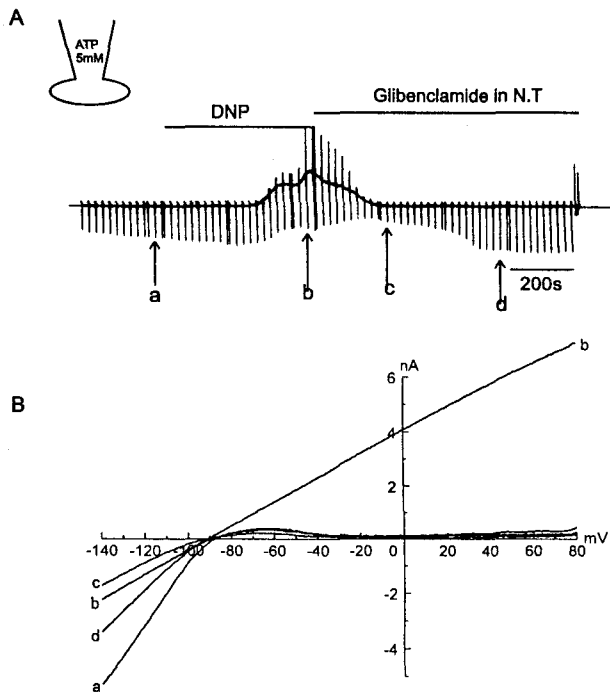


Fig. 4. Reversibility after a short exposure in the effect of DNP on inward rectifier K currents. A. Current traces obtained in response to the same voltage ramps shown in Fig. 2. B. Current-voltage relationships in control(a), DNP(b) and wash-out DNP with glibenclamide containing normal Tyrode solutions(c, d) were obtained from the traces indicated in A.

DNP를 처리하고서 기록한 결과는 시간에 따라 inward rectifier K 전류(I_{K1})는 점차 감소하여(Fig. 3. b,c) 20분 경과후에는 현저한 감소를 보였다(Fig. 3. d).

I_{K1} 에 대한 DNP의 효과

Fig. 4에서는 inward rectifier K 전류에 대한 DNP의 효과가 가역적인지 알기 위하여 DNP에 의해서 외향전류의 증가가 peak에 달한 시점에서 glibenclamide를 포함한 정상 용액으로 바꾸고 관찰해 보았다. 10분 경과후에 DNP에 의해서 K_{ATP} 전류는 활성화 되었으며(Fig. 4, b) 활성화되었던 외향전류는 glibenclamide에 의해 바로 억제 되었다(Fig. 4, c). 반면, 내향전류가 서서히 회복되어 정상적인 전류-전압 관계로 회복되었다(Fig. 4, d). 따라서 DNP에 의한 I_{K1} 의 억제는 DNP처리를 짧은 기간한 경우에는 가역적일 수 있음을 알 수 있었다.

세포내 ATP free 상태에서 I_{K1} 의 변화

앞선 실험에서는 pipette 용액내에 ATP가 5 mM 존재하

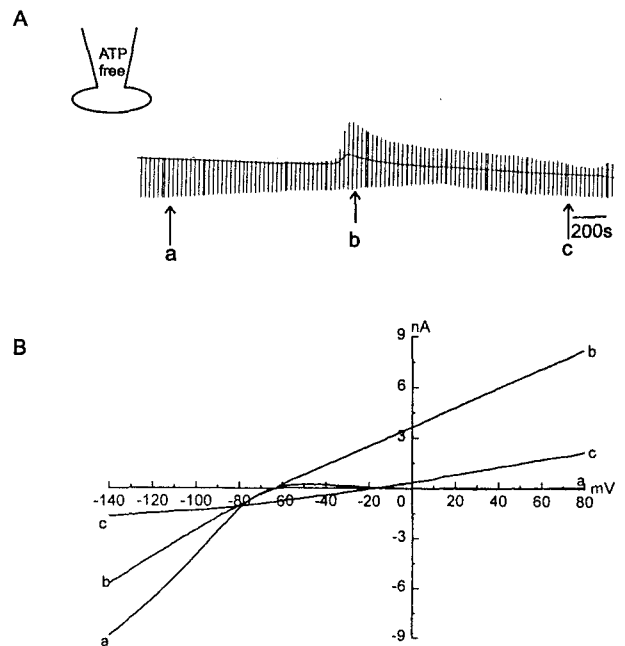


Fig. 5. Change of membrane currents during the perfusion of a cell with ATP free pipette solution. A. Current traces obtained in response to the same voltage ramps shown in Fig. 2. B. Current-voltage relationships obtained just after rupture(a), 15 min after rupture(b) and 35 min after rupture of the cell membrane as indicated in A.

는 상태에서 대사억제제(DNP)를 투여하였었다. K_{ATP} 전류가 활성화되었던 것으로 보아 이러한 조건에서도 세포내의 유효 ATP level의 감소가 일어나는 것이 아닌가 생각되었으나, ATP 고갈과는 무관하게 DNP가 직접적으로 작용할 수 있는 가능성을 배제할 수는 없다(Alekseev et al, 1997). 이러한 가능성을 확인 하고자 세포내 pipette용액의 ATP를 제거하여 세포내 에너지 고갈상태를 유도하고 I_{K1} 의 변화를 기록해 보았다. Fig. 5A 에서는 Fig. 4A 에서 처럼 15분이 지나면 K_{ATP} 활성화를 보였고, 내향전류는 감소되었다. 35분 동안 긴 시간을 두고서 계속 기록해 본 결과, 외향, 내향 양방향 모두 전도도가 감소하여 최종적으로 직선적인 전도도만 남게 되었다(Fig. 5, c).

Fig. 6에서는 세포내 ATP free 상태에서 glibenclamide를 전처리하여 K_{ATP} 활성화를 억제하고서 I_{K1} 의 변화를 관찰하였다. Fig. 6A에서는 glibenclamide에 의해서 시간이 경과해도 K_{ATP} 의 활성화는 나타나지 않아 외향전류의 증가는 없고, 20분 경과후에 시간에 따라 inward rectifier K 전류가 감소함이 관찰되었다. Fig. 6B에서는 시간에 따라

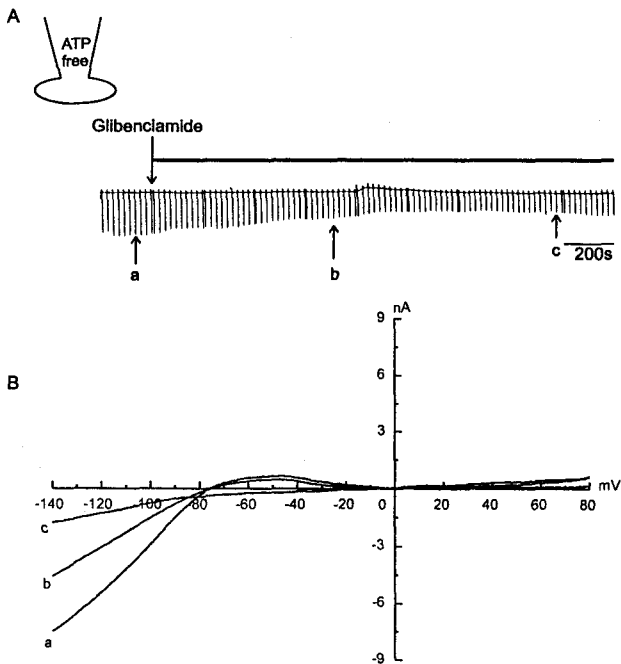


Fig. 6. Change of membrane currents during the perfusion of a cell with ATP free pipette solution in the presence of glibenclamide. A. Current traces obtained in response to the same voltage ramps shown in Fig. 2. The arrow above the current traces indicates the treatment of glibenclamide. B. Current-voltage relationships obtained just after rupture (a), 13 min after rupture (b) and 30 min after rupture (c) after rupture of the membrane in the presence of glibenclamide.

점차 전도도가 감소하여, 역전전압(reversal potential)이 -20 mV로 이동해 있음을 확인할 수 있었다. 위의 결과들은 세포내 ATP가 존재하면서 대사억제제(DNP) 투여시에 나타났던 결과와 동일한 양상이었으므로, DNP에 의한 I_{K1} 의 감소는 DNP의 직접적인 작용이라기 보다는 ATP 고갈로 인한 결과로 생각되었다.

고 찰

대사 억제제 투여나 세포내 ATP free상태에서 K_{ATP} 가 활성화됨이 밝혀진 이후, K_{ATP} 통로의 활성화는 저산소증이나 심근허혈시에 관찰되는 활동 전압기간의 단축과 세포외로의 K 유출의 기전으로 알려져 왔다(Noma, 1983; Venkatesh et al, 1991). 본 실험에서도 세포내 ATP 정상

농도 하에서 0.2 mM DNP를 투여하고서 실험한 결과 K_{ATP} 의 활성화를 볼 수 있었다. 실제 정상 심근세포의 $[ATP]_i$ 는 $5\sim 10$ mM이고 초기 심근허혈이나 저산소증시의 $[ATP]_i$ 역시 $25\sim 50\%$ 의 감소만 있을 뿐 여전히 millimolar 수준의 농도로 존재하고 세포내 ATP농도 ($[ATP]_i$)가 임계수준 이하로 감소되었을 때 K_{ATP} 통로가 활성화되는 것을 확인 한 바 있다(Rovetto et al, 1973; Weiss et al, 1989). 따라서 대사억제 초기의 K 이온 유출의 증가 및 활동전압의 단축을 K_{ATP} 통로의 활성화에 의한 기전으로 설명하기 위한 여러 가지 전제조건들이 제시되어 왔다. 첫째, 세포막에 존재하는 K_{ATP} 통로의 수가 매우 많아서 세포내 ATP농도의 감소시 전체 통로의 극히 일부분만 활성화 되어도 활동압의 단축이나 K이온 유출의 증가를 일으킬 수 있으리라는 것이다(Cook et al, 1988; Carmeliet et al, 1990; Findley & Faivre, 1991; Nichols et al, 1991). 둘째, 대사억제시 intact한 세포에서는 세포내외에 K_{ATP} 통로의 활성화를 조절하는 인자들이 증가하여 K_{ATP} 통로의 ATP-민감도를 저하시킴으로써 높은 수준의 ATP농도에서도 K_{ATP} 통로가 활성화 될 수 있으리라는 것이다(Han J et al, 1993; Kim et al, 1997). 셋째, 세포내 ATP가 구획화(compartmentalization)되어있을 가능성이 있다(McDonald & MacLeod, 1973; Bricknell & Opie, 1978; Higgins et al, 1982; Hasin & Barry, 1984). 본 연구의 결과만으로는 DNP에 의하여 K_{ATP} 통로의 활성화 및 I_{K1} 감소가 초래된 직접적인 원인이 무엇인지, 다시 말하여, 대사억제의 결과 유효 ATP 농도가 감소한 것이 원인인지 아니면 ATP 고갈 이외의 다른 인자들이 관여했는지 여부를 규명하기에는 부족하다. 그러나 대사억제에 의한 효과와 pipette용액의 ATP를 제거하여 세포내 ATP고갈 상태를 유도하였을 때의 효과가 거의 일치함을 보인 실험 결과는, 간접적으로나마 DNP 효과가 세포내 유효 ATP level의 감소에 기인했을 가능성을 뒷받침하고 있다. 이러한 해석의 문제점은 과연 pipette 용액내 ATP 농도를 5 mM을 사용했음에도 불구하고 DNP에 의해 유효 ATP level의 감소가 일어날 수 있겠는가 하는 점이다. 이러한 결과는 channel의 기능을 조절하는 ATP level이 전체 cytosol의 ATP level과 다른 조건에서만 가능하리라고 생각되는데, 해당과정을 통한 ATP형성이 주요 K_{ATP} 활성화와 관련되어 있음을 보임으로써 세포내에서 ATP의 분포가 구획화되어 있음을 시사한 실험(Weiss & Hiltbrand, 1985)들은 이러한 가능성을 뒷받침한다고 보여진다.

DNP를 주었을 시에 이러한 I_{K1} 의 감소에 영향을 주었을 또 다른 인자로 세포내 pH환경의 변화와 연관시켜 생각할 수 있다. 세포내 pH의 변화에 따른 inward rectifying K^+ 통로의 변화는 이미 잘 알려진 바 있으며

(Hagiwara et al, 1978; Blatz, 1984), 그 중 세포 내 산성화 조건 즉 pH가 낮아지는 상태에서는 I_{K1}의 전도도가 낮아진다는 보고가 있다(Harvey & Ten eick, 1989). 세포내 pH는 Na⁺ 혹은 Ca²⁺ 농도변화에 의해서도 영향을 받을 수 있는데(Vaughan-Jones et al, 1983; Kim et al, 1987), 본 실험에서는 Na⁺ 환경은 normal Tyrode의 조성을 그대로 유지하였으며, Ca²⁺ 통로의 활성화는 nicardipine을 써서 억제하고서 관찰하였다. 한편 bath 용액으로 bicarbonate free인, HEPES-완충용액을 씌우므로써, 본 실험에서 Na-H 교환 기전이 의한 세포내 산성화 유발을 배제하고자 하였고(Lazdunski et al, 1985), pipette 용액내에는 10 mM의 HEPES를 첨가하여 pH 변화를 최소화 하고자 하였다.

질화 있는 사람의 심장 조직에서 안정막전압이 저분극 되는 이유를 조사한 결과 세포 내 H⁺이온 농도에 의한 I_{K1}의 전도도 감소에 의한 것임이 알려졌다(Ten Eick & Singer, 1979). 이와 유사한 결과로서 세포내 환경이 산성화 상태로 되면 lysophosphocholine(LPC)과 같은 amphiphiles이 존재하게 되며 이에 의해서 I_{K1}이 감소한다는 보고가 있다(Snyder et al, 1981). Lysophosphoglycerides 중의 하나로 phospholipase A1과 A2에 의해서 형성되고 reacylation되어있는 상태로 존재하는 LPC는 심근허혈시에는 reacylation이 억제되어 LPC가 축적된다. 축적된 LPC는 세포막의 저분극을 일으킬 수 있는데 이는 inwardly rectifying K current의 전도도의 감소에 의한 것이라는 보고가 있고(Clarkson & Ten Eick, 1983), 심근허혈에 의해 유발되는 부정맥 현상 또한 LPC의 축적에 의해 세포막의 저분극에 따른 현상임이 보고되어 있다(Corr et al, 1981). 본 실험에서도 DNP를 투여하여 심근 허혈상태를 유발한 후 실험한 결과 I_{K1}의 감소와 이때 나타난 저분극 현상에 LPC의 축적이 기여할 가능성 및 20~30분 경과 후 최종적으로 남게된 직선적인 전도도는 K_{ATP} 통로 억제 후 남게된 외향 전류부분과 I_{K1}의 감소로 인한 내향 전류 성분인지는 앞으로 연구되어야 할 것으로 생각한다.

감사의 글

본 연구는 한국 과학재단(94-0403-12-01-3) 및 보건복지부(HMP-97-M-2-0025)의 연구비 지원으로 이루어졌음.

참 고 문 헌

Alekseev AE, Gomez LA, Aleksandrova PA, Brady PA, Terzic A. Opening of cardiac sarcolemmal K_{ATP} channels

- by dinitrophenol separate from metabolic inhibition. *J Membr Biol* 157: 203-214, 1997
- Allen DG, Orchard CH. Myocardial contractile function during ischemia and hypoxia. *Circ Res* 60(2): 153-167, 1987.
- Blatz AL. Asymmetric proton block of inward-rectifier K channels in skeletal muscle. *Pflügers Arch* 401: 402-407, 1984
- Bricknell OL, Opie LH. Effect of substrate on tissue metabolic changes in the isolated rat heart during underperfusion and on release of lactate dehydrogenase and arrhythmias during reperfusion. *Circ Res* 43: 102-115, 1978
- Carmeliet E. Cardiac Transmembrane potentials and metabolism. *Circ Res* 42: 577-587, 1978
- Carmeliet E. Induction and removal of inward-going rectification in sheep cardiac Purkinje fibers. *J Physiol* 327: 285-308, 1982
- Carmeliet E. Myocardial ischemia : reversal and irreversible changes. *Circulat* 70: 149-151, 1984
- Carmeliet E, Storms L, Vereecke J. The ATP-dependent K-channel and metabolic inhibition. In: Cardiac Electrophysiology from Cell to Bedside, Zipes DP, Jalife Jed, WB Saunders Co., Philadelphia, p103-108, 1990
- Clarkson CW, Ten Eick RE. On the mechanism of lysophosphatidylcholine-induced depolarization of cat ventricular myocardium. *Circ Res* 52: 543-556, 1983
- Cook DL, Satin LS, Ashford MJ, Hales CN. ATP-sensitive K⁺ channel in pancreatic β -cells. *Diabetes* 37: 495-498, 1988
- Corr PB, Saffitz JE, Lee BI, Gross RW, Keim C, Sobel BE. Pathophysiological concentrations of lysophosphatides responsible for electrophysiological alterations. *Circulat* 64: 221, 1981
- Findlay I, Faivre JF. ATP-sensitive K⁺ channels in heart muscle: spare channels. *FEBS Lett* 279: 95-97, 1991
- Hagiwara S, Miyazaki S, Moody W, Patlak J. Blocking effects of barium and hydrogen ions on the potassium current during anomalous rectification in the starfish egg. *J Physiol* 279: 167-185, 1978
- Hamill OP, Marty A, Neher E, Sakmann B, Sigworth FJ. Improved patch-clamp techniques for high-resolution current recording from cells and cell-free membrane patches. *Pflügers Arch* 391: 85-100, 1981
- Han J, Kim E, So I, Earm YE. ATP-sensitive potassium channels are modulated by intracellular lactate in rabbit ventricular myocytes. *Pflügers Arch* 425: 546-548, 1993
- Harvey RD, Ten Eick RE. Voltage-dependent block of cardiac inward-rectifying potassium current by monovalent cations. *J Gen Physiol* 94: 349-361, 1989

- Hasin Y, Barry WH. Myocardial metabolic inhibition and membrane potential, contraction, and potassium uptake. *Am J Physiol* 247: H322–329, 1984
- Higgins TJC, Bailey PJ, Allsopp D. Interrelationship between cellular metabolic status and susceptibility of heart cells to attack by phosphate. *J Mol Cell Cardiol* 14: 645–654, 1982
- Kim D, Cragoe EJ, Smith TW. Relations among sodium pump inhibition, Na-Ca and Na-H exchange activities, and Ca-H interaction in cultured chick heart cells. *Circ Res* 60: 185–193, 1987
- Kim, E, Han J, Ho wk, Earm EY. Modulation of ATP-sensitive K⁺ channels in rabbit ventricular myocytes by adenosine A1 receptor activation. *Am J Physiol* 272: H325–H333, 1997
- Kleber AG. Resting membrane potential, extracellular potassium Activity, and intracellular sodium activity during acute global ischemia in isolated perfused guinea pig hearts. *Circ Res* 52: 442–450, 1983
- Kurachi Y. Voltage-dependent activation of the inward-rectifier potassium channel in the ventricular cell membrane of guinea pig heart. *J Physiol* 366: 365–385, 1985
- Lazdunski M, Frelin C, Vigne P. The sodium/hydrogen exchange system in cardiac cells: its biochemical and pharmacological properties and its role in regulating internal concentrations of sodium and internal pH. *J Mol Cell Cardiol* 17: 1029–1042, 1985
- Matsuda H, Saigusa A, Irisawa, H. Ohmic conductance through the inwardly rectifying K channel and blocking by internal Mg²⁺. *Nature* 156–159, 1987
- McDonald, MacLeod DP. Metabolism and the electrical activity of anoxic ventricular muscle. *J Physiol* 229: 559–582, 1973
- Nakaya H, Kimura S, Kanno M. Intracellular K⁺ and Na⁺ activities under hypoxia, acidosis, and no glucose in dog hearts. *Am J Physiol* Dec: 249(6pt2): H1078–85, 1985
- Nichols CG, Ripoll C, Lederer WJ. ATP-sensitive potassium channel modulation of the guinea pig ventricular action potential and contraction. *Circ Res* 68: 280–287, 1991
- Noma A. ATP-regulated K⁺ channels in cardiac muscle. *Nature* 305: 147–148, 1983
- Rovetto MJ, Whitmer JT, Neely JR. Comparison of the effects of anoxia and whole heart ischemia on carbohydrate utilization in isolated working rat hearts. *Circ Res* 32: 699–711, 1973
- Shattock MJ, Hearse DJ, Matsuura H. Ionic currents in oxidant stress-induced arrhythmias. In: Ionic currents and Ischemia Vereecke J, Van Bogaert PP, Verdonck Fed, Leuven, Leuven university press p165–189, 1990
- Snyder DW, Crafford WA, Jr, Glashow JL, Rankin DR, Sobel BE, Corr.PB. Lysophosphoglycerides in ischemic myocardium effluents and potentiation of their arrhythmogenic effects. *Am J Physiol* 241: H700–707, 1981
- Ten Eick RE, Whalley D, Rasmussen H. Connections: heart disease, cellular electrophysiology, and ion channels. *FASEB* 6: 2568–2580, 1992
- Ten Eick RE, Singer DH. Electrophysiological properties of diseased human atrium. *Circ Res* 44: 545–557, 1979
- Trautwein W, Mcdolald TF. Current-voltage relations in ventricular muscle preparations from different species. *Pflügers Arch* 374: 79–89, 1978
- Vandenberg CA. Inward rectification of a potassium channel in cardiac ventricular cells depends on internal magnesium ions. *PNAS* 84: 2560–2564, 1987
- Vaughan-Jones RD, Lederer W.J, Eisner DA. Ca²⁺ ions can affect intracellular PH in mammalian cardiac muscle. *Nature* 301: 522–524, 1983
- Venkatesh N, Lamp ST, Weiss JN. Sulfonylureas, ATP-sensitive K⁺ channels, and cellular K⁺ loss during hypoxia, ischemia, and metabolic inhibition in mammalian ventricle. *Circ Res* 69: 623–637, 1991
- Weiss J, Hiltbrand B. Functional compartment of glycolytic versus oxidative metabolism in isolated rabbit heart. *J Clin Invest* 75: 436–447, 1985
- Weiss JN, Lamp ST. Cardiac ATP-sensitive K⁺ channels. evidence for preferential regulation by glycolysis. *J Gen Physiol* 94: 911–935, 1989