

토끼 동방결절에서 완만내향전류의 Slow Component에 관한 연구

서울대학교 의과대학 생리학교실

엄 용 의 · 김 기 환 · 황 상 익

= Abstract =

The Slow Component of the Second Inward Current in the Rabbit Sino-Atrial Node

Yung E Earm, Ki Whan Kim and Sang Ik Hwang

Department of Physiology, College of Medicine, Seoul National University

The second inward current (i_{si}) was studied by the two microelectrode voltage clamp technique in the sino-atrial node of the rabbit. The slow component ($i_{si,2}$) of the second inward current was sometimes identified and i_{si} behaved as if it were a mixture of two currents. We analysed the $i_{si,2}$ in relation to membrane potential and frequency of voltage clamp pulses.

- 1) Membrane was held at $-40mV$ which was usually found to be zero current level. When depolarizing pulses were applied, the slow inward current (i_{si}) was activated.
- 2) It was shown that there are three categories of the i_{si} activation by the low level of depolarizing clamp pulses. Moderately fast inward current with single component was developed in most cases in the presence of tetrodotoxin(TTX). But sometimes there was two separate components of i_{si} activation in the peak level and the time course. Thirdly the only slow component of i_{si} was found in rare cases.
- 3) The activation of $i_{si,2}$ was dependent upon membrane potential. The i_{si} shows two separate peaks during clamp depolarizations and higher clamp pulses lead to fusion of the peaks.
- 4) The $i_{si,2}$ activation showed that it decreased with repetitive clamp pulses and it was more evident in higher frequencies(2Hz)(negative staircase).

서 론

동방결절에서 자동능에 관여하는 주된 내향전류는 완만내향전류(slow inward current, i_{si})이고 이 전류는 급속 Na^+ 전류 억제제인 Tetrodotoxin(TTX)에 영향을 받지 않으며 Mn^{2+} 이나 D-600같은 물질에 의하여 억제된다는 사실은 널리 알려져 왔다(Brown, 1982). 이러한 완만내향전류는 비단 심장근에만 국한해서 존재하는 것이 아니고 여러가지 흥분성 세포에서도 존재함이 발견되었다(Hagiwara, 1975). i_{si} 가 세포밖 Ca^{2+} 농도에 따라 변화한다는 일련의 실험결과에서 i_{si} 통로

(channel)를 통과하는 주된 이온은 Ca^{2+} 이며 따라서 이 통로를 Ca^{2+} 통로라 부르게 되었다(Reuter, 1973, 1979; Coraboeuf, 1980). 그러나 이 통로는 Ca^{2+} 에만 국한되어 통과시키는 것이 아니고 Na^+ , 및 K^+ 에 대해서도 투과성을 보이고(Reuter & Scholz, 1977), 동방결절에서도 i_{si} 는 Ca^{2+} 및 Na^+ 에 따라 조절됨이 알려졌다(Irisawa & Yanagihara, 1980). 이러한 특성을 가진 i_{si} 통로의 개폐는 시간과 막전압에 의하여 변화하는 Hodgkin-Huxley 타입의 gating variable에 의하여 조절되는 것으로 여겨 왔다(Reuter, 1979; Coraboeuf, 1980). 그러나 이와같이 Hodgkin-Huxley 타입의 gate 설로서 설명되지 못하는 몇가지 사실들이 알려져왔다. 첫째는 i_{si} 의 비활성화시간(inactivation time)이 i_{si} 의 reavailability time 보다 훨씬 짧다는 사실이

* 이 연구는 서울의대동창회 연구비(1982년도) 및 1983년도 문교부 학술연구조성비에 의하여 이루어졌음.

다(Kohlhardt et al., 1975). 만약 Hodgkin-Huxley 타입의 kinetics에 맞다면 비활성화되는 시간과 reavailability time은 동일해야 할 것이다. 두번째로는 Paramecium 등에서 기록되는 i_{si} 의 inactivation은 activation 중에 들어가는 Ca^{2+} 량에 비례해서 달라진다는 사실이다(Brehm & Eckert, 1978). 이와같은 현상은 다른 조직에서도 보고된 바 있다(Tillotson, 1979; Ashcroft & Stanfield, 1981). 세번째로는 근래에 성공된 단일심근섬유에서 막전압을 고정할 후에 기록된 i_{si} 는 activation 및 inactivation 시간경과가 종래의 많은 수의 세포로 이루어진 조직절편에서 기록했던 i_{si} 보다 훨씬 빨랐다는 사실이다(Reuter, 1984).

최근 Noble 등에 의하여 i_{si} 에 두가지 성분이 있다는 보고(Brown et al., 1983; Lee et al, 1983)와 Cd^{2+} 같은 i_{si} 차단제에 의해서도 남아있는 매우 느린 Ca 전류($i_{si,1}$)의 보고(Lee et al, 1984 a, b)에서처럼 i_{si} 가 단일 성분의 이온전류가 아니라서 실험결과들이 보고되고 있다. 이에 저자는 토끼 동방결절에서 두개의 미세전극법에 의하여 막전압을 고정하여 i_{si} 를 기록하고 그중 i_{si} 의 느린 성분($i_{si,1}$)을 기록하는데 성공하였다. i_{si} 의 느린 성분을 저자도 $i_{si,2}$ 로 부르고 $i_{si,2}$ 의 막전압에 따른 변화 및 voltage clamp pulse 빈도수에 따른 계단현상(staircase phenomenon)을 기록 분석하였다.

실험 방법

1) 동방결절의 절편

1~1.5 kg의 토끼를 머리를 강타한 후에 심장을 꺼내서 100% O_2 로 포화된 Tyrode 용액에 넣은 후 심실을 절개하여 혈액을 씻어내고 우심방을 나머지 부분으로부터 분리하고 상대정맥부분과 하대정맥을 절개하여 동방결절 부분을 노출시켰다. 1시간 이상 회복시킨 후 면도날로 crista terminalis에 수직방향으로 폭 0.3 mm, 길이 5~8 mm 되는 절편 2~3개를 잘라내고 stainless steel 핀으로 양끝을 고정하였다. 이 절편에서 crista terminalis 부분은 두께 0.3 mm 이하가 되도록 잘라냈다. 이런 조작 후 10mM Ca 이 포함된 30°C 내외의 Tyrode 용액에 1~2분 둔 후 다시 정상 Tyrode 용액에 1시간~1시간 30분동안 방치 회복시켰다. 대개의 절편은 자동능을 그대로 가지고 있거나 멈추었던 절편에서도 5분 이내에 회복이 되었다. 회복된 절편을 무명실을 풀어 그 한가닥으로 0.3mm의 폭이 되도록 중간부분을 묶었다. 다시 10mM Ca 이 든 Tyrode 용액에 1~2분 방치 후 정상 Tyrode 용액으로 되돌려 1시

간가량을 회복시켰다. 모든 경우 용액은 100% O_2 로 포화시켰고 절편을 만드는데는 입체현미경 시야에서 하였다(엄, 1983).

2) 실험용액 및 장치

정상 Tyrode 용액의 조성은 NaCl 140 mM, KCl 3 mM, $CaCl_2$ 2 mM, $MgCl_2$ 1mM, Glucose 5 mM 이었고 Tris-HCl 5 mM을 가하여 35°C에서 pH가 7.4가 되게 하였으며 100% O_2 로 포화시켰다. 모든 경우에 급속내향 Na 전류(fast inward sodium current, i_{Na})를 차단하기 위하여 tetrodotoxin(TTX, Sigma), $1\sim 5 \times 10^{-7}$ g/ml을 사용하였다. 실험용기는 0.2 ml의 용량을 가진 것을 사용하였고 관류속도는 LKB peristaltic pump를 사용하여 1 ml/min를 유지하였다. 막전압의 기록과 전류를 흘리는 목적으로 15 MΩ 정도의 저항을 가진 유리미세전극 두개를 세포속에 삽입하였고 막전압고정은 feedback amp를 이용하여 하였다. 실험결과는 Grass polygraph에 기록하면서 동시에 Apple II microcomputer를 이용하여 1~5 ms의 sampling rate로 diskette에 수록 저장하였다.

실험 성적

1) 완만내향전류(slow inward current, i_{si})의 활성화

동방결절의 작은 절편에서 두개의 미세전극 방법에 의하여 막전압고정을 하였다. 유지전압(holding potential, HP)은 전류가 0인 막전압에서 하였으며 거의 모든 경우에 -40mV 근처였다. 이 유지전압보다 저분극 방향의 막전압 pulse를 주면 완만내향전류(i_{si})가 활성화된다. Fig. 1은 정상조건하에서 기록되는 동방결절의 활동전압과 -40mV에서 유지하던 막전압에서 i_{si} 를 활성화시키기 위한 저분극방향의 막전압고정 pulse 몇 개를 중첩시켜 본 그림이다. 동방결절의 활동전압의 upstroke는 매우 느린데 이것에 관여하는 i_{si} 의 활성화를 보기 위한 voltage protocol이다. 이와같은 voltage pulse에 의하여 i_{si} 가 활성화되는데 동방결절의 부위에 따른 차이가 고려될 수 있긴 하나 대개 다음에 열거하는 3가지로 활성화가 일어났다. 첫째의 경우는 Fig. 2에서 보이는 것처럼 i_{si} 의 막전압에 따른 활성화의 양상이 최고값에 도달하는 시간에는 큰 차이없이 나타나는 경우로서 대개의 동방결절 절편에서는 이런 모양을 나타내었다. i_{si} 의 활성화되는 시간경과가 단일성분으로 보이고 막전압에 따라 점차 증가하다가 -10mV 이상에서 점차 감소하는 특성을 나타낸다. 두 번째의

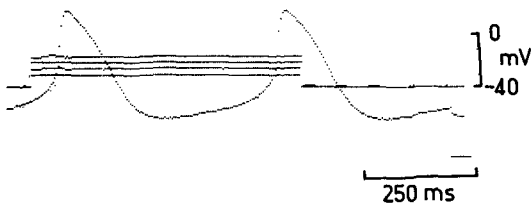


Fig. 1. Typical records of the action potentials and superimposed voltage clamp protocols of depolarizing pulses. Spontaneous action potentials recorded just before turning on the clamp were superimposed on the voltage clamp pulses of $-30, -25, -20, -15\text{mV}$.

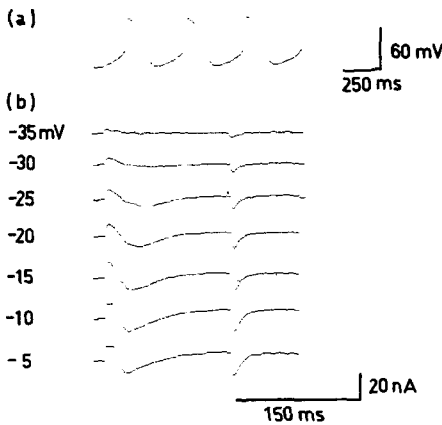


Fig. 2. Activation of slow inward current (i_{si}) in response to the magnitude of the clamp pulse. (a) spontaneous action potentials (b) current records at different membrane potentials. TTX $2 \times 10^{-7}\text{g/ml}$ present. Membrane was held at -40mV and sampling rate of action potential signal was 200Hz and that of current records was 1KHz respectively.

경우는 Fig. 3에 보이는 것과 같이 i_{si} 의 활성화되는 모습이 -30mV 전후에서 분명한 두가지 성분으로 구성되어 있다. 처음 빠르게 나타나는 것 즉 보통의 i_{si} 활성화(첫번째 경우와 동일한) 성분에 매우 느리게 나타나는 두번째 i_{si} 가 각각 분리되어 두가지 성분으로 나타났다. 느린 i_{si} 즉, $i_{si,2}$ 는 막전압 pulse를 높여 주면 시간경과가 빨라지고 -25mV 정도에서는 두성분이 합쳐져 보통 보는 i_{si} 의 모양으로 기록되었다. 이러한 경우는 첫번째 경우처럼 자주 볼 수 있는 현상은 아니었다. 세번째 경우는 낮은 막전압 pulse에서 보통의

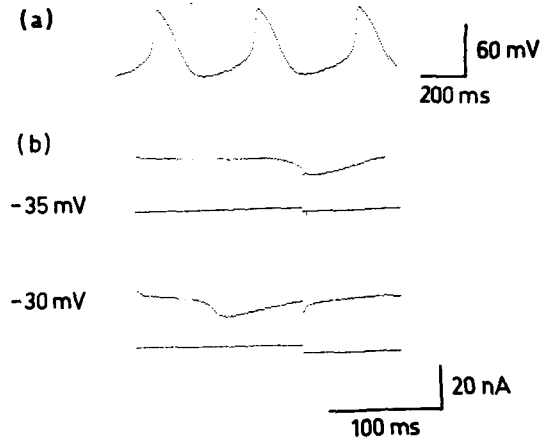


Fig. 3. Spontaneous action potentials (a) and the activation of slow inward currents (b) by depolarizing clamp pulses. Two component of i_{si} activation was clearly seen at -30 and -28mV , then they fused to a single i_{si} at -25mV . Membrane was held at -40mV and TTX $2 \times 10^{-7}\text{g/ml}$ present. Sampling rates are same as in Fig. 3.

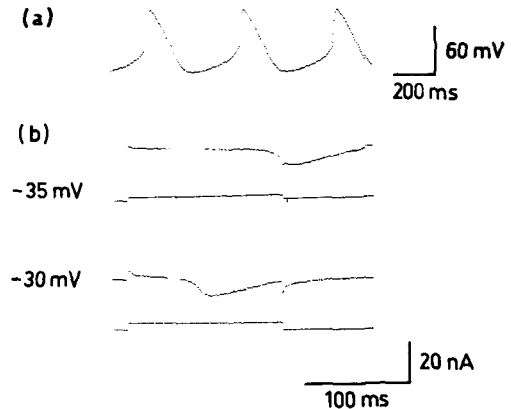


Fig. 4. Spontaneous action potential (a) and the activation of the slow component ($i_{si,2}$) of i_{si} (b) in the sinoatrial node. At these potentials, only slow component of i_{si} could be seen (even after the termination of pulse at -35mV). Membrane was held at -40mV and TTX $2 \times 10^{-7}\text{g/ml}$ present.

빠른 i_{si} 성분은 볼 수 없었고 느린 $i_{si,2}$ 성분만을 볼 수 있는 경우였다. 이 경우도 pulse의 크기를 크게 하면 보통의 i_{si} 가 나타나서 $i_{si,2}$ 와 합쳐졌다.

이와같은 세가지 경우들은 동방결절의 부위나 혹은 막전압고정전의 활동전압(Fig. 2, 3, 4에서의 (a))에서

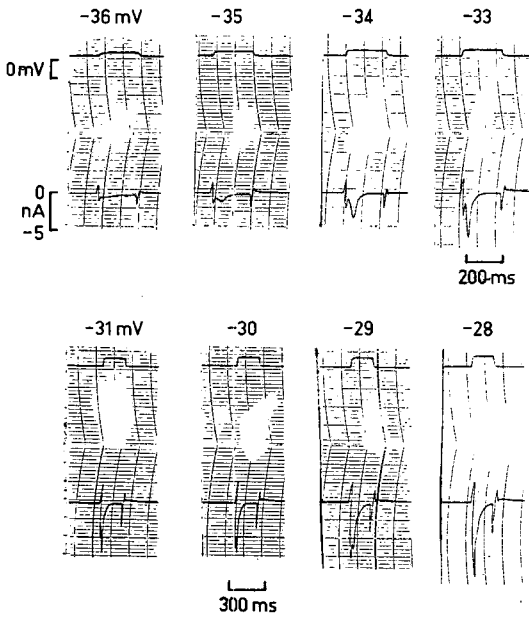


Fig. 5. The activation of two component (i_{si} and $i_{si,2}$) of the slow inward current (lower row) in response to the clamp pulses(upper row). It clearly shows that separated components of i_{si} from -35mV then fused to a single component at -28mV . Membrane was held at -40mV . and 10^{-7}g/ml TTX present.

분명한 차이를 볼 수가 없었다. 또 두번째와 세번째 경우는 항상 볼 수 있는 현상이 아니고 드물게 나타나는 현상으로 어떤 실험조건의 차이나 절편의 부위별 차이 등 알 수 있는 조건의 차이는 찾을 수 없었다.

2) i_{si} 두성분의 막전압에 따른 변화

보통 빠른 i_{si} 와 $i_{si,2}$ 가 분명히 구분되어 나타나는 절편에서 두성분의 막전압에 따른 변화를 본 것이 Fig. 5이다. -40mV 에서 유지하던 막전압(HP)에서 저분극 방향의 낮은 pulse를 차례로 주었을 때 i_{si} 와 $i_{si,2}$ 는 각각 독립적으로 증가하다가 -28mV pulse에서 합쳐졌다. -35mV 에서부터 $i_{si,2}$ 가 분명히 i_{si} 와 구분되어 활성화되었으며 -34mV 부터 -31mV 까지는 $i_{si,2}$ 의 크기가 i_{si} 에 비하여 오히려 더 컸다. -30mV 부터 i_{si} 의 크기가 증가하여 -28mV 에서는 거의 단일 성분으로 합쳐서 나타났다. i_{si} 와 $i_{si,2}$ 의 막전압에 따른 활성화 모양을 Fig. 6의 전류-전압곡선(IV diagram)에 표시하였다. -28mV 전까지 두성분으로 보이던 것이 그 이상의 전압에서는 하나의 i_{si} 로서 나타났으며 IV 곡선이 종(bell) 모양을 나타냈다.

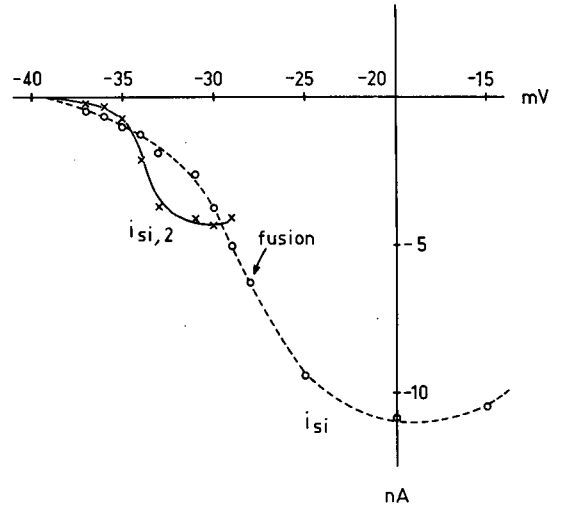


Fig. 6. Plot of the current-voltage relationship of i_{si} and $i_{si,2}$ as shown in Fig. 5. Critical fusion occurred at -28mV and general contour of the i_{si} activation shows typical bell shape of relations. Abscissa: membrane potential (mV); Ordinate: membrane current (nA).

3) i_{si} 및 $i_{si,2}$ 의 빈도수(frequency)에 따른 계단현상(staircase phenomenon)

i_{si} 및 $i_{si,2}$ 의 활성화되는 양상은 막전압에 의해서만 변화하지 않고 pulse의 빈도수 및 계단현상이라고 말할 수 있는 즉 휴식 후에 pulse를 주기 시작할 때 맨 처음 pulse에 의한 전류의 활성화 정도가 두번째 세번째 등 계속되는 pulse의 차례에 따라서 크게 변화하는 모습을 보였다. 이런 양상은 $i_{si,2}$ 에서 현저하게 나타났다. Fig. 7은 $+6\text{mV}$ 의 pulse 즉 -34mV 의 pulse를 HP -40mV 에 1Hz 의 빈도로 계속 주었을 때 pulse의 차례에 따라서 전류의 활성화가 달라지는 것을 나타냈다. i_{si} 는 pulse의 차례에 따른 큰 변화는 볼 수 없었으나 $i_{si,2}$ 는 맨처음 pulse에서 가장 컸고(i_{si} 보다도) 두번째부터 점차 감소하여 15~30번째 pulse에서 거의 항정상태에 도달하였다. Fig. 8은 $+7\text{mV}$ 즉 -33mV 의 pulse를 1Hz 의 빈도로 계속 주었을 때 i_{si} 및 $i_{si,2}$ 의 활성화되는 양상을 기록한 것이다. 이 경우에도 맨처음 pulse 때 $i_{si,2}$ 가 가장 컸으며 점차 감소해나감에 따라 15번째 pulse부터 i_{si} (차례에 따른 활성화 정도의 차이가 거의 없는)보다 작은 크기를 보였다. 이와같은 경향은 $+8\text{mV}$ 즉 -32mV 의 pulse를 주었을때도 비슷하게 나타났다. $i_{si,2}$ 는 pulse 차례에 따

+6 mV pulse, 1 Hz

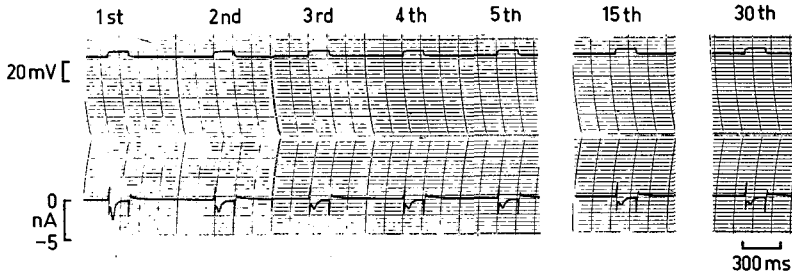


Fig. 7. Current (lower row) during repetitive (1Hz) voltage-clamp pulses (150ms) (upper row) from -40 mV to -34 mV (+6 mV pulse). The slow component ($i_{si,2}$) decreased gradually but i_{si} was almost identical in respective pulses. TTX 2×10^{-7} g/ml present.

+7 mV pulse, 1 Hz

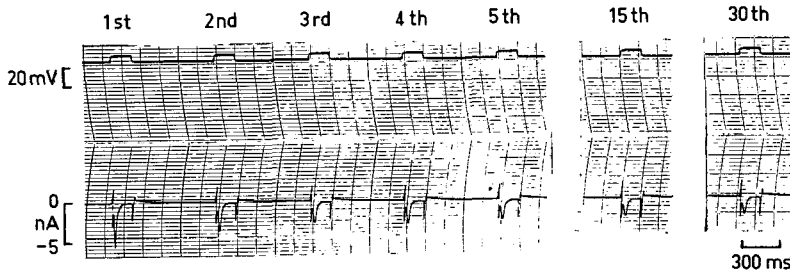


Fig. 8. Current activation (lower row) during repetitive (1Hz) voltage-clamp pulses (upper row) to -33 mV (+7 mV pulse). The slow component ($i_{si,2}$) decreased by consecutive pulses as same as Fig. 7. Membrane was held at -40 mV.

+8 mV pulse, 1 Hz

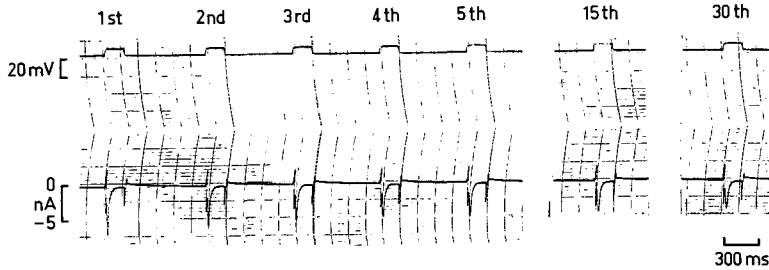


Fig. 9. Current (lower row) recording during repetitive clamp pulses (upper row) to -32 mV (+8 mV pulse). The result shows same tendency with Fig. 7 and Fig. 8.

라 점차 감소하였으나 30번째 pulse에서도 $i_{si,2}$ 의 크기는 i_{si} 의 크기보다 컸다. 이와같이 3가지 pulse를 주었을 때 $i_{si,2}$ 및 i_{si} 의 pulse 차례에 따른 변화를 그려 본 것이 Fig. 10이다. 1Hz 빈도에서 $i_{si,2}$ 는 차례에 따라 급격히 크기가 감소하다가(5번째 pulse 때 까지) 서서히 항정상태에 도달하는 것을 보이고 i_{si} 의 경우에는 거의 pulse 차례에 대한 차이가 없음을 보이고 있다.

다음에는 이런 $i_{si,2}$ 의 활성화 양상이 빈도수에 따라

어떻게 달라지는가를 보기 위하여 2 Hz의 빈도수에서 +7 mV (-33 mV), +8 mV (-32 mV)의 두가지 pulse를 주어 관찰하였다. Fig. 11은 +7 mV, 2 Hz의 pulse를 준 경우이다. 첫번째 pulse에서만 $i_{si,2}$ 가 크게 나타났으나 두번째부터는 아주 감소하였다. Fig. 12에 동일한 빈도수의 +8 mV pulse를 준 경우를 나타내었다. 이 경우에도 첫번째 pulse에서만 대단히 큰 $i_{si,2}$ 를 나타냈고 두번째 pulse부터는 현저한 감소를 보였다. i_{si}

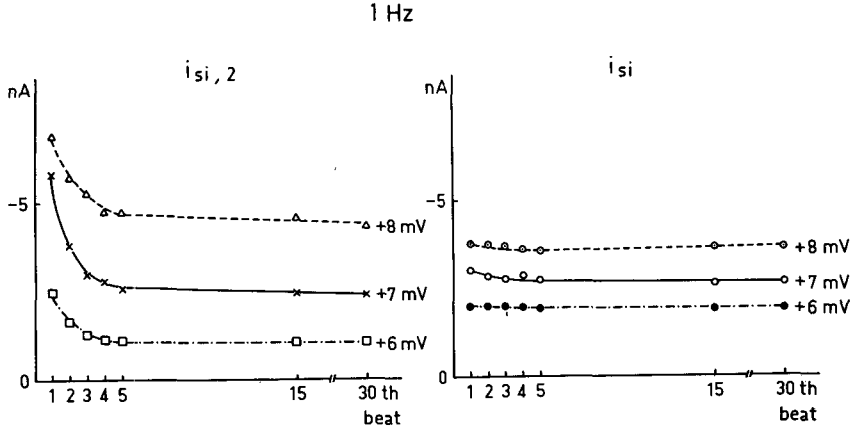


Fig. 10. Plot of the relationship between current activation of $i_{si,2}$ and i_{si} and repetitive voltage-clamp pulses as shown in fig 7, 8, and 9. The slow component ($i_{si,2}$) decreased by the repetitive pulses, but almost no change was noticed in i_{si} . Abscissa: Sequence of pulses; Ordinate: Membrane current (nA).

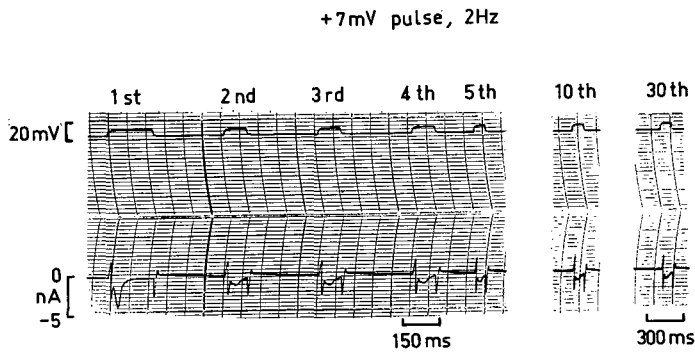


Fig. 11. Current activation (lower row) in response to repetitive voltage clamp pulses (upper row) from -40 to -32 mV (2 Hz). The slow component ($i_{si,2}$) abruptly decreased and reached almost steady state value from 2nd pulse.

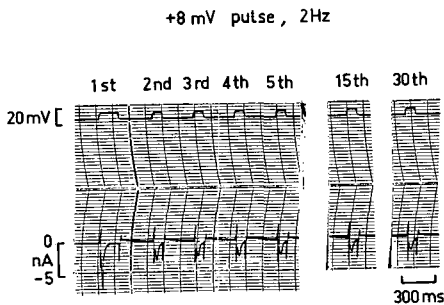


Fig. 12. Current activation (lower row) in response to repetitive voltage clamp pulses (upper row) from -40 to -32 mV (2 Hz). Almost same changes were noticed as Fig. 11.

는 두 경우에서 모두 pulse 순서에 따른 큰 차이는 볼 수 없었다. Fig. 13에 $i_{si,2}$ 와 i_{si} 의 2 Hz, +7 mV 및 +8 mV 조건하에 활성화되는 것을 pulse 차례대로 plot 하였다. i_{si} 는 거의 동일하였고 $i_{si,2}$ 는 첫번째에만 크다가 두번째부터는 현저히 감소하여 거의 일정상태 값과 동일하였다.

고 찰

일반적으로 심장근에서 막전압 방법에 의하여 기록되는 완만내향전류(i_{si})는 조직절편에서와 단일세포에서 기록된 것 사이에는 차이가 있다. 즉 i_{si} 를 일으키는 통로(channel)수는 조직절편에서 월등히 많은 것은

2 Hz

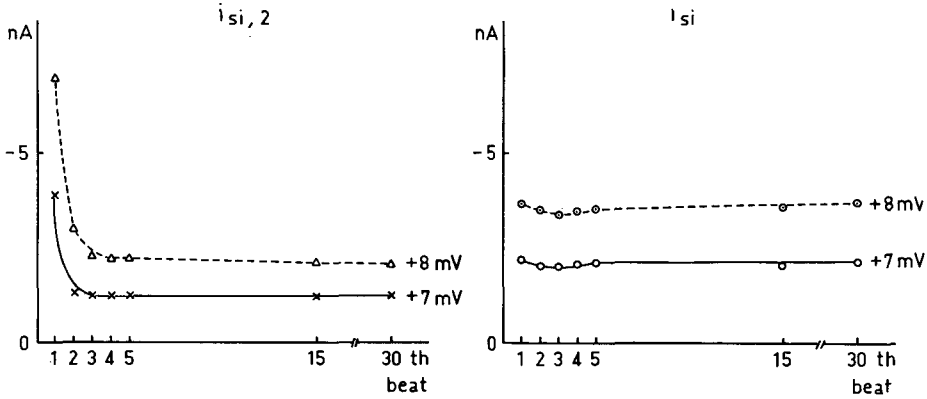


Fig. 13. Plot of the relationship between current activation of $i_{si,2}$ and i_{si} and repetitive voltage-clamp pulses as shown in Fig. 11. and 12. The slow component abruptly decreased by repetitive pulses but i_{si} didn't show clear dependency on repetitive voltage-clamp pulses.

로 예상되는데도 불구하고 단일세포에서 기록되는 i_{si} 가 상당히 크고 그 kinetics로 보아도 activation 및 inactivation이 훨씬 빠르다(Hume & Giles, 1983; Isenberg & Klöckner, 1982; Reuter & Scholz, 1977). 이러한 i_{si} 가 다른 성분으로 구성이 되어 있다는 실험적 증거는 그리 많지 않고 더욱 문제가 되는 것은 이러한 slow component가 모든 조직절편에서 발견되지 않고 간혹 기록이 되는 데에 있다.

1) slow component의 nature

$i_{si,2}$ 가 자주 기록되지 않고 또 현재까지 보고된 것을 보아도 동방결절에서 기록된 것이 고작이다(Brown et al., 1983; Lee et al, 1983). 대개의 경우 이 $i_{si,2}$ 는 i_{si} 보다 시간경과가 느리게 나타나고 clamp pulse를 반복해서 주면 i_{si} 와 합쳐지는 현상을 보인다(Brown et al, 1983; 1984). 이와같이 느린 시간경과를 보이는 것은 본 실험에서 보이는 것처럼 낮은 clamp pulse에서만 나타나고 또 느린 빈도수에서 잘 나타나는 것으로 보아 유지전압인 -40 mV 전후에서 그활성도가 높은 것처럼 보인다. 이 $i_{si,2}$ 에 대한 가능성있는 통로(channel)로서 Mullins(1979)에 의하여 제창되었던 Na-Ca 교환기전을 생각할 수 있다. Na-Ca 교환기전은 대개 electrogenic 하며 심장근의 이완 다시 말해서 i_{si} 를 통하여 들어간 Ca^{2+} 을 다시 밖으로 내보내는데 중요한 역할을 하리라는 생각이다. 이와같은 관점은 Brown 등(1983)에 의해서 $i_{si,2}$ 가 $i_{Na,Ca}$ 일 것이라는 가설을 제기하게 된다. 그러나 이와같은 Na-Ca 교환기전에 의한 전류는 3개 내지 4개의 Na^+ 이동에 대해

서 하나의 Ca^{2+} 이 이동하게 되는 것이어서 만약 세포내 Ca^{2+} 의 증가로 인하여 $i_{Na,Ca}$ 가 촉진된다고 하면 이 전류의 방향(net current)은 외향전류로 기록되어야 할 것이다. 문제는 $i_{Na,Ca}$ 를 선택적으로 억제할 수 있는 (i_{si} 에 무관하게) 물질이 발견되기 전에는 결론을 내리기 어려울 것 같다. 두번째로 가능성이 있는 가설은 Karagueuzian & Katzung(1982), Kass 등(1978) 및 Reuter(1984) 등이 주장하는 비선택적인 양이온 통로(cation channel)를 생각할 수 있다. 원래 이 양이온 통로는 digitalis 중독에서 나타나는 transient inward current(i_{ti} (TI))를 설명하기 위한 것이었다. 최근 개발된 patch clamp의 결과(Colquhoun et al., 1981)에 의하면 세포내 Ca^{2+} 농도가 $0.5 \mu M$ 이상이면 이 통로가 활성화되고 이 통로를 통해서 Na^+ 과 K^+ 이 왕래하는 것이 증명되었다. 이 통로가 $i_{si,2}$ 의 통로와 동일한 것인지의 여부는 알 수가 없다.

2) $i_{si,2}$ 의 계단현상(staircase phenomenon)

계단현상은 i_{si} 에서만 적용되는 것은 아니고 원래는 수축에 적용되었던 현상이었다. 그러나 동방결절에서는 수축을 기록하지 않았기 때문에 수축의 계단현상에 대해서는 알 수가 없다. 일반적으로 심장근에서 i_{si} 는 수축과 매우 긴밀한 연관을 갖지만 항상 비례하지는 않고 수축력은 세포내 Ca^{2+} 농도와는 직접적으로 비례한다(Fozzard, 1977; Fabiato & Fabiato, 1979). 막전압조정실험에서 i_{si} staircase는 빈도수와 pulse의 크기(voltage)에 따라서 변화한다.(Noble & Shimoni, 1981 a, b). 그러나 i_{si} 의 감소에도 수축의 크기는 증가

할 수 있다. 만약 저분극 pulse 를 반복적으로 주었을 때 나타나는 i_{si} 가 단순히 세포 안팎의 Ca^{2+} 농도경사에 비례한다고 하면 세포내 Ca^{2+} 농도 조절기전의 활성화 정도가 크고 pulse 의 interval 이 길면 세포내 Ca^{2+} 농도가 낮아져서 다음에 오는 i_{si} 의 크기를 크게 할 수 있다. 그러나 이와같은 가설은 일반적인 i_{si} 의 staircase 가 positive 인 점을 설명할 수 없고 본 실험에서는 i_{si} 의 staircase 현상을 볼 수 없었다. 그러나 i_{si} 의 계단현상과는 달리 $i_{si,2}$ 의 계단현상은 negative 방향이었다. 일정시간 휴식 후에 나타나는 $i_{si,2}$ 는 매우 크나 계속되는 pulse 에 의해 감소하여 항상상태에 이르고 이와같은 계단현상은 빈도수가 빠르면 빨리 감소하여 항상상태에 도달하였다. 이와같은 현상은 $i_{si,2}$ 의 nature 가 무엇이든지 간에 이 통로의 kinetics 가 매우 느리다는 것을 암시하며 아마도 i_{si} 의 느린 reavailability (Gettes & Reuter, 1974; Kohlhardt, 1975) 가 $i_{si,2}$ 의 회복과 관계있는 듯한 인상을 받는다. 그러나 $i_{si,2}$ 에 대한 것은 좀 더 많은 실험결과를 가지고 체계적 분석이 가능해져야만 어느정도 밝혀질 수 있을 것 같다.

결 론

토끼 동방결절의 작은 절편을 두개의 미세전극에 의하여 막전압교정을 시행하고 완만내향전류 중 느린 성분($i_{si,2}$)의 존재를 확인하고 $i_{si,2}$ 의 막전압 및 계단현상에 따른 차이를 분석하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) 동방결절의 절편은 -40 mV 에서 막전류가 항상상태 0을 유지하였고 이 전압을 유지전압(HP)으로 하였다. 유지전압에서 저분극 방향으로 막전압 pulse 를 주었을 때 완만내향전류(i_{si})가 활성화되었다.

2) 낮은 범위의 막전압 pulse 에 의하여 활성화되는 i_{si} 의 양상은 세 가지로 분류할 수 있었다. 대부분의 경우는 단일성분의 비교적 빠른 시간경과를 보이는 i_{si} 가 나타났으나 드물게 i_{si} 와 명확히 구분되며 시간적으로 느리게 나타나는 $i_{si,2}$ 를 기록할 수 있었고 셋째의 경우에는 i_{si} 없이 $i_{si,2}$ 만 나타났다.

3) $i_{si,2}$ 는 막전압 pulse 의 크기에 따라 활성화되는 정도가 달랐으며 점차 pulse 를 크게 하면 i_{si} 와 합쳐져서 단일성분의 완만내향전류를 이루었다.

4) $i_{si,2}$ 는 자극빈도에 따른 계단현상이 뚜렷하였다 휴식후 첫번째 pulse 에 의하여 가장 큰 $i_{si,2}$ 를 보이다가 점차 감소하였으며 이런 감소현상은 빈도수가 빠르면 더욱 심하였다.

REFERENCES

- 엄용의 : 토끼 동방결절에서 Pacemaker 전류의 동력학적 특성에 관한 연구. 대한생리학회지, 17, 1-11, 1983.
- Ashcroft, F.M. and Stanfield, P.R.: Calcium dependence of the inactivation of calcium currents in skeletal muscle fibres of an insect. *Science*, 213, 224-226, 1981.
- Brehm, P. and Eckert, R.: Calcium entry leads to inactivation of calcium channel in Paramecium. *Science*, 202, 1203-1206, 1978.
- Brown, H.F.: Electrophysiology of the sinoatrial node. *Physiol. Rev.*, 62, 505-530, 1982.
- Brown, H.F., Kimura, J., Noble, D., Noble, S.J. and Taupignon, A.I.: Two components of the second inward current in the rabbit SA node. *J. Physiol.*, 334, 56P-57P, 1983.
- Brown, H.F., Kimura, J., Noble, D., Noble, S.J. and Taupignon, A.I.: Mechanisms underlying the slow inward current, i_{si} in the rabbit sino-atrial node investigated by voltage-clamp and computer simulation. *Proc. Roy. Soc. B. (in press)*, 1984.
- Colquhoun, D., Neher, E., Reuter, H. and Stevens, C.F.: Inward current channels activated by intracellular Ca in cultured cardiac cells. *Nature*, 294, 752-754, 1981.
- Coraboeuf, E.: Voltage clamp studies of the slow inward current. In: *The slow inward current and cardiac arrhythmias*. ed. Zipes DP, Bailey JC and Elharrara V. pp. 25-95. The Hague: Martinus Nijhoff., 1980.
- Fabiato, A. and Fabiato, F.: Calcium and cardiac excitation-contraction coupling. *Ann. Rev. Physiol.*, 41, 473-484, 1979.
- Fozzard, H.A.: Excitation-contraction coupling. *Ann. Rev. Physiol.*, 39, 201-220, 1977.
- Gettes, L.S. and Reuter, H.: Slow recovery from inactivation of inward currents in mammalian myocardial fibres. *J. Physiol.*, 240, 703-724, 1974.
- Hagiwara, S.: Ca-dependent action potential. In: *Membranes*, Vol. 3. ed. Eisenman G. pp. 359-

381. New York and Basel: Marcel Dekker, Inc. 1975.
- Hume, J.R. and Giles, W.: *Ionic currents in single isolated bullfrog atrial cells.* *J. Gen. Physiol.*, 81, 153-174, 1983.
- Irisawa, H. and Yanagihara, K.: *The slow inward current of the rabbit sino-atrial nodal cells.* In: *The slow inward current and cardiac arrhythmias.* ed. Zipes DP, Bailey JC and Elharrara V. The Hague: Martinus Nijhoff., 1980.
- Isenberg, G. and Klöckner, V.: *Calcium currents of isolated ventricular myocytes are fast and of large amplitude.* *Pflügers Arch.*, 395, 30-41, 1982.
- Karagueuzian, H. and Katzung, B.G.: *Voltage-clamp studies of transient inward current and mechanical oscillations induced by ouabain in ferret papillary muscle.* *J. Physiol.*, 327, 255-271, 1982.
- Kass, R.S., Tsien, R.W. and Weingart, R.: *Ionic basis of transient inward current induced by strophanthidin in cardiac Purkinje fibres.* *J. Physiol.*, 281, 209-226, 1978.
- Kohlhardt, M., Krause, H., Kubler, M. and Herdey, A.: *Kinetics of inactivation and recovery of the slow inward current in the mammalian ventricular myocardium.* *Pflügers. Arch.*, 355, 1-17, 1975.
- Lee, E., Lee, K.S., Noble, D. and Spindler, A.J.: *A very slow inward current in single ventricular cells.* *J. Physiol.*, 345, 6P, 1983.
- Lee, E., Lee, K.S., Noble, D. and Spindler, A.J.: *A new, very slow inward Ca current in single ventricular cells of adult guinea-pig.* *J. Physiol.*, 346, 75P, 1984.
- Mullins, L.J.: *The generation of electric currents in cardiac fibers by Na-Ca exchange.* *Am. J. Physiol.*, 236, C103-C110, 1979.
- Noble, S.J. and Shimoni, Y.: *The calcium and frequency dependence of the slow inward current staircase in frog atrium.* *J. Physiol.*, 310, 57-75, 1981a.
- Noble, S.J. and Shimoni, Y.: *Voltage-dependent potentiation of the slow inward current in frog atrium.* *J. Physiol.*, 310, 77-95, 1981b.
- Reuter, H.: *Divalent cations as charge carriers in excitable membranes.* *Prog. Biophys. Mole. Biol.*, 26, 1-43, 1973.
- Reuter, H.: *Properties of two inward membrane currents in the heart.* *Ann. Rev. Physiol.*, 41, 413-424, 1979.
- Reuter, H.: *Ion channels in cardiac cell membranes.* *Ann. Rev. Physiol.*, 46, 473-484, 1984.
- Reuter, H. and Scholz, H.: *A study of the ion selectivity and the kinetic properties of the calcium-dependent slow inward current in mammalian cardiac muscle.* *J. Physiol.*, 264, 17-47, 1977.
- Tillotson, D.: *Inactivation of Ca conductance dependent on entry of Ca ions in Molluscan neurones.* *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 76, 1497-1500, 1979.