

마취유도제인 Thiopental이 쥐 심실근 세포의 Transient Outward Current (I_{to}) 및 Inwardly Rectifying K^+ Current (I_{ki})에 미치는 영향

연세대학교 의과대학 ¹마취통증의학교실 및 ²마취통증의학연구소, *건국대학교 의과대학 마취통증의학교실

김명희¹ · 윤경봉^{1,2} · 이경민* · 이원재¹ · 박운곤^{1,2}

Effect of Thiopental on Transient Outward Current (I_{to}) and Inwardly Rectifying K^+ Current (I_{ki}) in Rat Ventricular Myocytes

Myung Hee Kim, B.S.¹, Kyung Bong Yoon, M.D.^{1,2}, Kyung Min Lee, M.D.*¹, Won Jae Lee, M.D.¹, Wyun Kon Park, M.D.^{1,2}

¹Department of Anesthesiology and Pain Medicine and ²Anesthesia and Pain Research Institute, Yonsei University College of Medicine, Seoul; *Konkuk University College of Medicine, Chungju, Korea

Background: Patients with the long QT syndrome, either congenital or acquired, have an increased development of serious ventricular arrhythmia, Torsade de Pointes. Thiopental (5 mg/kg) has been reported to prolong the QTc interval in patients undergoing surgery with normal repolarization. Recent studies have indicated that the clinical concentration of thiopental prolonged the action potential duration (APD), which was attributed to inhibition of the delayed rectifier (I_k) and/or the inward rectifier (I_{ki}) at various animal myocardial preparations. The rat ventricular cells were used to study the contribution of transient outward current (I_{to}) and I_{ki} because they possess a variety of K^+ channel subtypes including I_{to} and I_{ki} with little or no I_k , similar to those of human ventricular myocytes. The effect on Ca^{2+} current ($I_{Ca,L}$), which can alter the K^+ conductance, was also observed.

Methods: With approval of the animal research committee in Yonsei University Medical College, isolated ventricular cells were obtained from enzymatically treated rat hearts. The $I_{Ca,L}$ was elicited from a holding potential of -40 mV to +60 mV under the modified Tyrode solution. I_{ki} was obtained from a holding potential of -40 mV before their membrane potential was changed from -130 to +50 mV. I_{to} was recorded during depolarizing steps from -80 mV followed by inactivation of Na^+ current by short pulses to -40 mV and then depolarized with 10 mV increments to test potentials up to +60 mV. $I_{Ca,L}$ was blocked by adding 0.5 mM $CdCl_2$ during measurement of I_{to} . Normal action potential was measured using conventional microelectrode technique.

Results: At membrane potential of +60 mV, 50 μ M thiopental caused modest depression of I_{to} to $82 \pm 1\%$ of control. From the dose-response curve from 1 to 1000 μ M, the IC_{50} of thiopental was 163 μ M. While 50 μ M thiopental caused modest depression of I_{ki} of $87 \pm 2\%$ of control at a test potential of -130 mV, no depression was observed from -110 mV to +50 mV. $I_{Ca,L}$ was significantly reduced to $57 \pm 5\%$ of control. The APD_{90} was prolonged by 76% following application of 50 μ M thiopental.

Conclusions: Prolongation of APD induced by thiopental was associated with reduction of I_{to} . Considering the high current density of I_{to} in rat ventricular myocytes, inhibition of I_{to} seems to play a major role in thiopental-induced APD prolongation. (Korean J Anesthesiol 2004; 47: 732~40)

Key Words: thiopental, rat, ventricular myocytes, I_{to} , I_{ki} , action potential.

서론

논문접수일: 2004년 7월 7일

책임저자: 박운곤, 서울특별시 서대문구 신촌동 134번지

연세대학교 의과대학 마취통증의학교실

우편번호: 120-752

Tel: 02-361-5847, Fax: 02-312-7185

E-mail: wkp7ark@yumc.yonsei.ac.kr

이 논문은 연세대학교 의과대학 2001년도 일반과제(교수) 연구비 (6-2001-0093) 지원하에 이루어졌음.

심전도에서 long QT syndrome (QTc interval > 440 ms)을 보이는 환자는 torsade de pointes와 같이 생명을 위협할 수 있는 심한 심실성 부정맥이 발생할 수 있다.^{1,2)} 따라서 술 전 이러한 소견이 발견되지 않은 상태에서 수술 및 마취를 받는 경우 심실세동,³⁾ 심실성 빈맥⁴⁾ 및 심지어는 사망에 이

를 수 있다.⁵⁾ Long QT syndrome (LQTS)의 원인은 선천적이거나 후천적일 수 있다. 선천적 LQTS 환자의 마취시에는 torsade de pointes와 같은 악성 부정맥의 발생을 피하기 위하여 교감 신경계를 흥분시킬 수 있는 물리적인 자극을 피하고, 혈중 catecholamine을 증가시키거나 또는 교감 신경계를 자극할 수 있는 마취 약제를 피하며, 또한 QT interval을 증가시킬 수 있는 마취 약제의 사용을 피할 것이 권장되어 왔다.⁶⁻⁸⁾ 또한 후천적으로 LQTS를 보이는 환자에서 심실의 재분극을 연장시키는 약제의 사용시 상승작용을 일으켜 torsade de pointes와 같은 심한 심실성 부정맥을 촉진시킬 수 있는 위험성이 있다.⁹⁾ 따라서 마취시 마취 유도제 및 유지제의 선택은 이러한 환자에서 중요한 의미를 갖고 있다고 하겠다.

현재 마취 유도에 사용하고 있는 정맥 마취제인 thiopental (5 mg/kg)은 성인¹⁰⁻¹³⁾ 및 소아에서¹⁴⁾ QT interval을 연장시키는 효과가 있으며, thiopental의 이러한 효과는 기니 피크,^{15,16)} 토끼,¹⁷⁾ 개¹⁸⁾ 및 쥐¹⁹⁾의 심실근에서 활동전위 기간을 연장시키는 기초적인 실험결과와 일치하고 있다(심전도상의 QT interval은 심실근 세포에서의 활동전위 기간과 일치한다).

심근 세포의 활동전위 기간은 세포막을 통과하는 내향전류와 외향전류의 상호간의 균형에 의해 결정되며, 이러한 균형의 변화에 따라 활동전위 기간이 단축 혹은 연장될 수 있다.^{20,21)} 생리학적 조건에서의 활동전위의 과정은 탈분극기 (depolarization phase, phase 0), plateau phase 그리고 나머지 재분극기까지의 기간이 200-300 ms가 정상이나 LQTS의 경우 재분극이 지연되어 활동 전위 기간이 440-460 ms를 초과할 수 있다.²²⁾ 일반적으로 심실근 세포의 phase 1 및 plateau phase의 초반은 I_{to} 에 의해 결정되며, plateau phase에서의 내향 전류는 주로 L-type Ca^{2+} current ($I_{Ca,L}$)에 의해 결정된다. 심실근 세포의 plateau가 끝날 무렵 delayed outward K^+ current (I_k)가 활성화되고, 재분극 후반기와 안정막 전압에는 inwardly rectifying K^+ current (I_{kl})가 작용하게 된다.¹⁷⁾ 기니 피크를 제외한 쥐,²³⁾ 개,²⁴⁾ 고양이,²⁵⁾ 토끼²⁶⁾의 심실근 세포 및 사람의 심실근 세포²⁷⁾에는 I_{to} 가 재분극 초기에 관여하며, I_{to} 의 감소는 활동전위 기간을 연장시킨다.²⁸⁾ 쥐나 사람의 심실근 세포에서 재분극에 관여하는 전류는 주로 I_{to} 및 I_{kl} 이며²⁹⁾ 이 두 전류의 변화는 활동전위 기간에 영향을 미칠 수 있다.

그간 동물의 심근세포를 이용한 전기생리학적인 연구에서 임상 농도의 thiopental은 I_k 및 I_{kl} 을 억제시키는 것으로 알려져 있으나,^{16,30-33)} 현재 I_{to} 에 대한 연구는 토끼의 심실근 세포를 이용한 Martynuk 등의³³⁾ 보고 외에는 전혀 이루어지지 않았다. Martynuk 등은³³⁾ I_k 및 I_{kl} 에 대한 영향으로는 기니 피크, I_{to} 의 동물의 종에 따른 분포 특성상 I_{to} 에 대한 평

가는 토끼의 심실근 세포를 각각 이용하였다. 그러나 사용한 동물에 따른 약제의 반응이 다를 수 있는 점을 감안하여 볼 때 I_{to} 를 보유하고 있는 동일 종에서 재분극에 영향을 미칠 수 있는 각각의 전류(I_{to} , I_k , I_{kl} , $I_{Ca,L}$)에 대한 종합적인 평가가 필요할 것으로 생각된다. 쥐의 심근세포에서 전기생리학적인 방법을 이용한 본 연구를 통해 마취 유도약제인 thiopental이 I_{to} , I_{kl} 및 $I_{Ca,L}$ 에 미치는 효과를 검증하고 이를 통해 재분극시 활동전위 기간의 연장을 일으키는 효과에 대한 이해를 넓혀 보고자 한다.

대상 및 방법

백서의 심실근 세포분리

250-300 g의 수컷 쥐(Sprague-Dawley)를 halothane으로 흡입 마취시킨 상태에서, 꼬리 정맥으로 heparin을 투여 후 심장을 적출하였다. O_2 를 포화시킨 실온의 정상 Tyrode 용액 (mM: 143 Na^+ , 5.4 K^+ , 1.8 Ca^{2+} , 0.5 Mg^{2+} , 151 Cl^- , 5 N-2-hydroxyethylpiperazine-N'-2 ethanesulfonic acid [HEPES], 0.18 glucose, pH 7.4)에 잠시 담가두어 심장내의 혈액을 배출시킨 후 4°C의 냉각 정상 Tyrode 용액에 넣었다. 이 상태에서 현수할 상행 대동맥을 박리한 후 Langendorff perfusion system에 현수시켜 retrograde perfusion 방법으로 관류시켰다. 100% O_2 로 포화시킨 37°C의 정상 Tyrode 용액으로 약 10분간 순환시킨 후(관류량: 9 ml/min), Ca^{2+} -free Tyrode 용액 (mM: 120 Na^+ , 125.4 Cl^- , 5.4 K^+ , 5 $MgSO_4$, 5 pyruvate, 20 glucose, 20 taurine, 2 nitriloacetic acid, 10 N-2-hydroxyethylpiperazine-N'-2 ethanesulfonic acid [HEPES], pH 7.4)으로 다시 5분간 순환시켰다. 그 후에 Ca^{2+} -free Tyrode 용액에 녹인 collagenase (1 mg/ml, Worthington type II, NJ, USA)와 hyaluronidase (0.4 mg/ml, Sigma type II, MO, USA)를 10-12분간 순환시키면서 심장이 물렁물렁(flaccid)해지는 것을 관찰하였다. 이후 100 ml의 KB 용액[mM: 10 taurine, 10 oxalic acid, 70 glutamic acid, 35 K^+ , 25 Cl^- , 10 H_2PO_4 , 11 glucose, 0.5 ethylene glycol-bis (β -aminoethyl ether)-N,N,N,N-tetraacetic acid (EGTA), 10 HEPES, pH 7.4]으로 순환시킨 후 양측 심실을 절제하였다. 우심실, 좌심실을 갈라 각각의 심근을 절제해 낸 후 KB 용액에 넣고 Pasteur pipet으로 여러번 흔들어 조직을 분해시킨 후, 200 μ m nylon mesh로 걸러 내었다. KB 용액에 담겨져 있는 심근 세포를 4°C의 온도에 1시간 동안 보관 후 8시간 이내에 사용하였다. 2 mM $CaCl_2$ 에 노출 시 수축을 보이지 않고 선(striation)이 뚜렷한 세포를 골라 실험하였다.

전기 생리학적인 실험

분리된 심근 세포는 inverted microscope 위에 얹혀져 있는

chamber에 놓고 10분간 기다려 바닥에 가라 앉혀 고정시킨 후 whole cell 전압 고정법을 사용하였다.³⁴⁾ 전압 고정법 측정은 Axopatch 200B Patch Clamp Amplifier (Axon instruments, Foster city, CA, USA)를 사용하였다. Patch electrode는 borosilicate glass (KIMAX, American scientific, Charlotte, NC, USA)를 사용하였으며, two stage micropipette puller (PP-83, Narishige Co, Ltd, Setagaya-ku, Tokyo, Japan)를 사용하여 첨단의 저항이 2-3 MΩ인 전극을 만들어 사용하였다. 모든 실험은 실내온도(20-22°C)에서 시행하였으며 whole cell mode가 되면 4-6분간 기다려 안정 상태가 된 후 실험을 진행하였다. 측정하고자 하는 전류에 따라 bathing solution과 pipet solution을 달리하면서 대조치, 약물투여 및 세척 후에 측정 전류의 변화를 관찰하였다. Data acquisition은 version 6.0.3 (Axon instruments) pCLAMP system을 장착시킨 IBM-compatible Pentium-II personal computer를 사용하였다.

세포 외액 및 세포 내액의 구성

K⁺전류(I_{to}, I_{ki})의 경우 다음과 같은 구성의 용액 (mM: Na 140, K 5, Ca 2, Mg 1, Cl 152, N-2-hydroxyethylpiperazine-N'-2 ethanesulfonic acid [HE PES] 10, 1 N NaOH로 pH를 7.4로 조절)으로 관류 후 측정하였다. 이 용액에는 Ca²⁺ 내향전류의 억제제를 위하여 0.5 mM CdCl₂를 첨가하였다. K⁺ 전류의 측정시 patch pipet을 채우는 용액으로는 다음과 같은 구성의 용액 [mM: K 140, Ca 1, Mg 1, Cl 104, ethylene glycol-bis (β-aminoethyl ether)- N, N,N,N-tetraacetic acid [EGTA] 10, HEPES 5, Mg-adenosine triphosphate 5. 1N KOH를 사용하여 pH를 7.3으로 조절)을 사용하였다. Ca²⁺ 내향 전류는 modified Tyrode 용액의 관류상태에서 whole cell mode로 전환시킨 후 다음과 같은 구성의 용액 (mM : Cs 125, tetraethylammonium 20, Ca 2, Mg 1, Cl 151, HEPES 10, 1N CsOH로 pH 7.4로 조절)으로 관류후 측정하였다. Ca²⁺ 내향 전류의 측정시 patch pipet 용액으로는 다음과 같은 구성의 용액(mM: Cs 120, tetraethylammonium 20, Ca 1, Mg 1, Cl 140, ethylene glycol-bis (β-aminoethyl ether)-N,N,N,N-tetraacetic acid [EGTA] 11, HEPES 5, Mg-adenosine triphosphate 5, 1 N HCl를 사용하여 pH를 7.3으로 조절)을 사용하였다.

Voltage clamp protocol

Transient outward K⁺ current: 막전위를 -80 mV로 고정 한 후 Na⁺ 내향 전류를 불활성화 시키기 위하여 50 ms 동안 -40 mV의 prepulse를 가하였으며 이후 300 ms 동안 -40 mV에서 + 60 mV까지 10 mV씩 증가시켜 가면서 depolarizing pulse를 가하여 측정하였다. 이러한 조건하에서 막전류는 처음 capacitative current가 발생한 후 즉시 outward

direction으로 나타나며 초기 peak current가 나타난 후 점차적으로 감소하여 plateau current가 보이게 된다.³⁵⁾

Inwardly rectifying K⁺ current: I_{ki}의 활성은 -50 mV로 50 ms 동안 Na⁺ 전류를 불활성화 시킨후 막전압을 -140 mV부터 + 40 mV까지 20 mV씩 step pulse를 주어 측정하였다. Depolarizing pulse의 기간은 200 ms로 하였다. I_{ki}을 포함한 모든 K⁺ 전류의 변화를 동시에 평가하기 위해 적용한 ramp protocol은 -40 mV로 200 ms 동안 막전압을 고정시켜 Na⁺ 전류를 불활성화시킨후 -130에서 + 50 mV까지 6 초 동안 연속적인 pulse를 가하여 측정하였다.

L-type Ca²⁺ current: Ca²⁺ 내향전류는 -40 mV를 고정 막전압으로 하여 Na⁺전류를 불활성화 시킨 후 -30 mV에서 +60 mV까지 depolarizing pulse를 가하여 측정하였다. Depolarizing pulse의 기간은 300 ms로 하였다.

활동전위의 측정

250-300 g의 수컷 쥐(Sprague-Dawley)를 halothane으로 흡입 마취시킨 후, 꼬리 정맥으로 heparin을 투여 후 심장의 우심실 유두근을 적출하였다. 적출된 유두근의 기저부를 pin으로 고정시켜 기존의 acrylic bath에 수평으로 놓이게 한 후 유두근(chorda tendinae)의 말단부를 GRASS FT03 force transducer (GRASS Instruments, Quincy, MA, USA)에 연결하였다. 유두근의 길이는 가장 작은 휴식기 장력(resting tension)을 보이며 또한 최대의 근수축력을 나타내는 지점에 고정하였다. 0.1 Hz로 45-60분 동안 지속적으로 자극하였으며 근수축이 일정하게 유지되는 것을 확인한 후 실험을 시작하였다. 95% O₂/5% CO₂의 혼합 가스로 기포화시킨 정상 Tyrode 용액 [mM: 143 Na⁺, 5 K⁺, 2 Ca²⁺, 127 Cl⁻, 1.2 MgSO₄, 25 HCO₃⁻, 11 glucose, 0.1 ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA)]을 순환 펌프를 이용하여 분당 8 ml의 속도로 순환시켰으며, 용액의 온도는 37°C, pH는 7.4 ± 0.5로 유지하였다. GRASS S44 stimulator (GRASS Instruments, Quincy, MASS, USA)에 연결된 스테인리스강 전극을 bath의 벽에 부착하여 2 ms delay, 0.5 ms duration하에 심근을 자극하였다. 자극 강도는 활동 전위를 유발시키는 최소 강도의 120%를 적용하였다.

막전압(membrane potential)은 WPI VF-amplifier에 연결되어 있는 3M KCl-filled glass microelectrode (10-20 MΩ)를 유두근의 기저부에 삽입시킨 후 심근을 1 Hz로 자극하여 측정하였다. 측정된 결과는 Digital storage oscilloscope (Hitachi VC-6025, Woodbury, NY, USA) 및 Gould TA240S recorder (Gould instrument system, Inc., Valley view, OH, USA)를 통해 관찰, 기록하였다. 각 자극 회수에서의 측정시 latent period (자극-활동 전위 간격, 5-10 ms)를 자극 강도의 조절에 의해 동일하게 유지하였다. 활동 전위의 크기(ampli-

tude), 최대 탈분극속도, 재분극의 크기 90%에서의 활동전위 기간(APD_{90}) 및 휴식기 막전압의 탈분극 정도를 대조치, 약물투여, 세척 후에 측정하였다.

자료 검증 방법

모든 수치는 mean \pm SEM으로 표시하였으며, $P < 0.05$ 미만인 경우를 통계적인 의의가 있는 것으로 간주하였다. 대조군과 각 약물농도의 차이를 검증하기 위하여 repeated measure of analysis of variance (ANOVA)를 사용하였으며 다중 비교로는 Student-Newman-Keuls test를 사용하였다. I_{K1} 에서 50 μ M과 100 μ M thiopental 사이의 비교는 unpaired t-test를 사용하였다.

결 과

Thiopental의 투여 농도에 따른 용량-반응

마취 유도시 사용되는 용량의 thiopental (6 mg/kg) (penthotal sodium, 중의 제약, 서울, 대한민국)의 평균 최고 혈장 농도는 93 μ g/ml (352 μ M)이며, 이후 평균 혈장 농도는 12.6 μ g/ml (48 μ M)에 도달하게 된다.³⁶⁾ 투여된 thiopental의 83-86%는 혈장내의 단백질과 결합하므로 유리(free) thiopental의 농도는 1.9-16 μ g/ml (7.2-60 μ M)에 해당하게 된다.³⁷⁾

유리 thiopental의 평균 혈장농도를 전후하여(1, 20, 50, 100, 300, 500, 1,000 μ M) 투여농도에 따른 I_{to} 의 변화를 측정하였으며, IC_{50} 는 163 μ M이었다(Fig. 1).

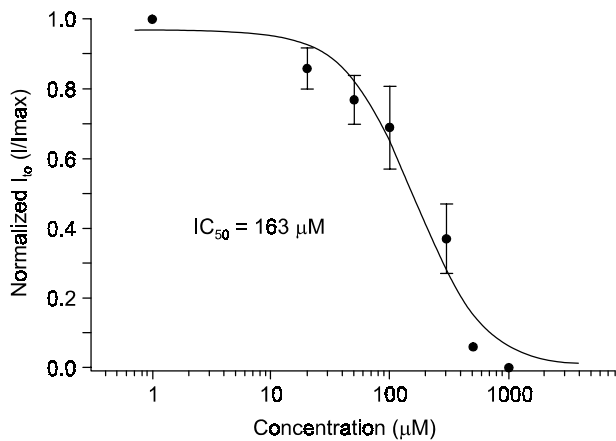


Fig. 1. Concentration-dependent inhibition of thiopental on the transient outward current (I_{to}) in rat ventricular myocytes. Current amplitudes of the I_{to} were measured in the presence of various concentrations of thiopental [1 μ M (n = 1), 20 μ M (n = 4), 50 μ M (n = 12), 100 μ M [n = 4], 300 μ M (n = 3), 500 μ M (n = 5), and 1000 μ M (n = 1)].

Transient outward K^+ current

50 μ M thiopental은 + 60 mV에서 측정된 I_{to} 의 peak current를 대조군에 비해 $18 \pm 1\%$ 감소시켰으며(대조군: 3417 ± 300 pA, 50 μ M: 2791 ± 241 . n = 12. $P < 0.05$)(Fig. 2A, C), 세척 후 대조군의 $97 \pm 1\%$ (n = 12, NS)로 회복되었다. 50 μ M thiopental은 + 60 mV일 때 I_{to} 의 plateau current를 $10 \pm 2\%$ 감소시켰으며(Fig. 2B, C) 세척

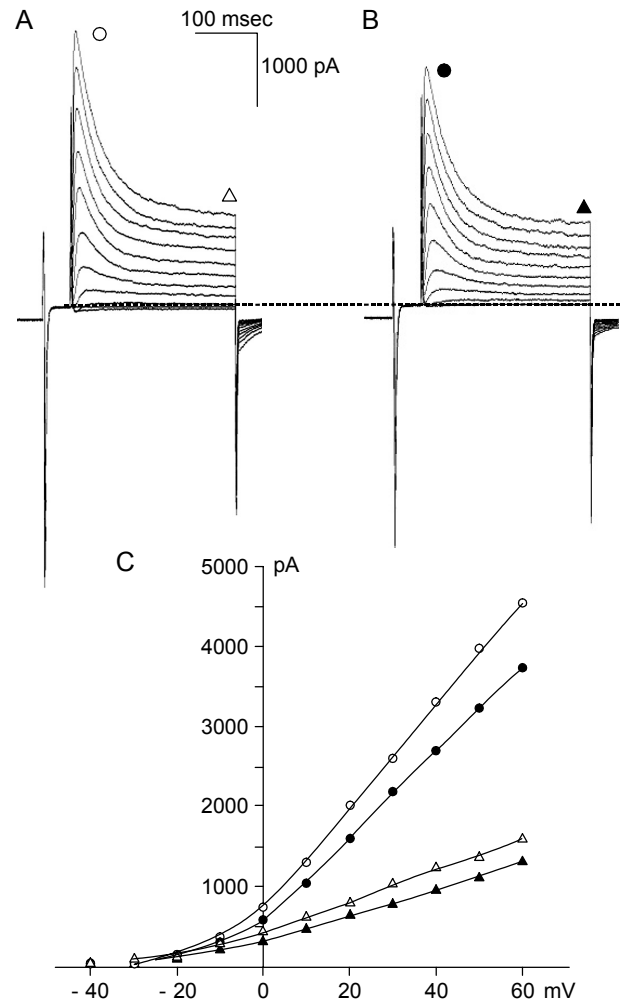


Fig. 2. Effects of thiopental on transient outward current (I_{to}) in a rat single ventricular myocyte. I_{to} was elicited by test pulses of 300 ms duration from -40 mV to + 60 mV with 10 mV steps. (A) Control recordings in modified Tyrode solution. The broken line indicates zero current level (B) 50 μ M thiopental. (C) Current-voltage relationship. Open and closed circles indicate the peak current of I_{to} at every potential in the control and in the presence of 50 μ M thiopental, respectively. Triangles are the current level at the end of the test pulses before (open) and after (closed) application of 50 μ M thiopental.

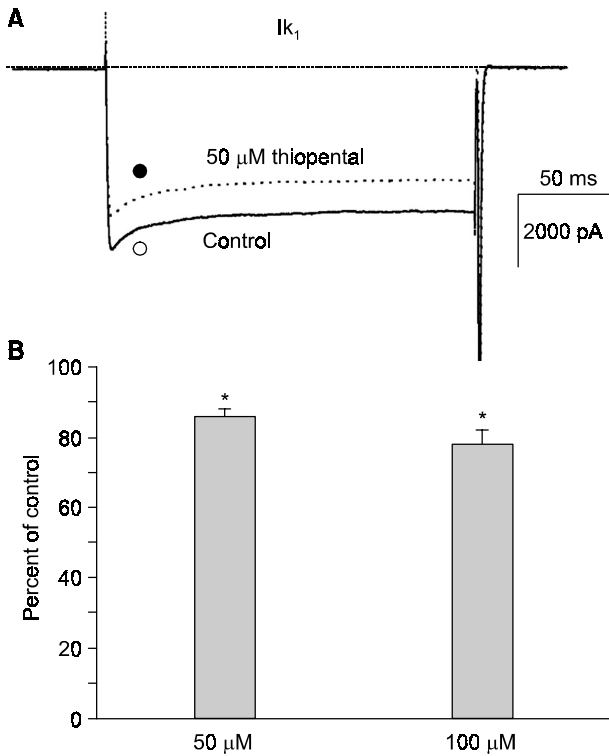


Fig. 3. A. Effect of 50 μ M thiopental on inwardly rectifying K⁺ current (I_{K1}) in a rat ventricular myocyte. B. Effect of 50 μ M (n = 6) and 100 μ M thiopental (n = 7) on I_{K1} . *P < 0.05 vs. control.

후 대조치로 회복되는 것을 관찰할 수 있었다.

Inwardly rectifying K⁺ current

-140 mV의 막전위에서 50 및 100 μ M thiopental은 I_{K1} 내향전류를 대조군에 비해 각각 $14 \pm 2\%$ (대조군: -4115 ± 630 pA, 50 μ M: -3520 ± 532 pA, n = 6, P < 0.05) 및 $22 \pm 4\%$ (대조군: -3505 ± 356 pA, 100 μ M: -2771 ± 383 pA, n = 7, P < 0.05) 감소시켰다(Fig. 3A, B). 두 투여 농도간에 차이는 없었다. 세척 후 전류의 회복을 관찰할 수 없었다.

Ramp protocol을 적용한 실험에서 50 μ M thiopental은 -130 mV에서 측정된 I_{K1} 내향전류를 대조군에 비해 $13 \pm 2\%$ 감소시켰으나(대조군: -3039 ± 419 pA, 50 μ M: -2628 ± 323 pA, n = 6, P < 0.05), -110 mV에서 +50 mV 사이에서는 대조군과의 차이를 관찰할 수 없었다. 세척에도 불구하고 거의 회복이 되지 않는 양상을 보였다(Fig. 4).

L-type Ca²⁺ current

50 μ M thiopental은 +10 mV에서 $I_{Ca,L}$ 을 대조군에 비해 $43 \pm 5\%$ 감소시켰다(대조군: -837 ± 107 pA, 50 μ M: -469 ± 66 pA, n = 10, P < 0.05)(Fig. 5). 세척 후 전류의 회복

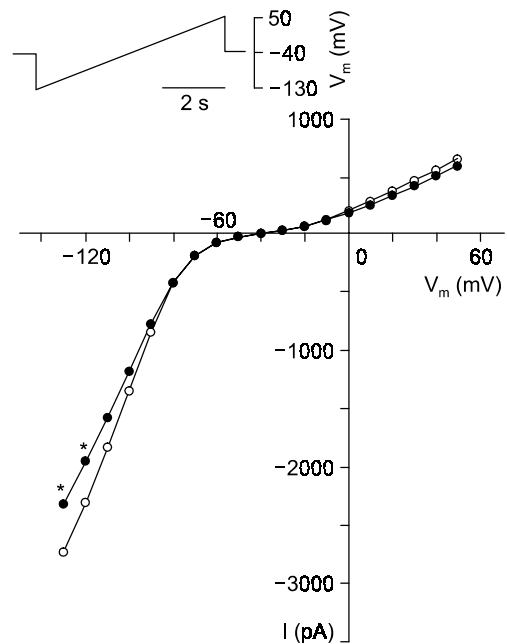


Fig. 4. Effects of 50 μ M thiopental on the inwardly rectifying K⁺ current (I_{K1}) in a rat ventricular myocyte. Currents were recorded in response to a linear voltage ramp protocol in the control (○) and in the presence of thiopental (●).

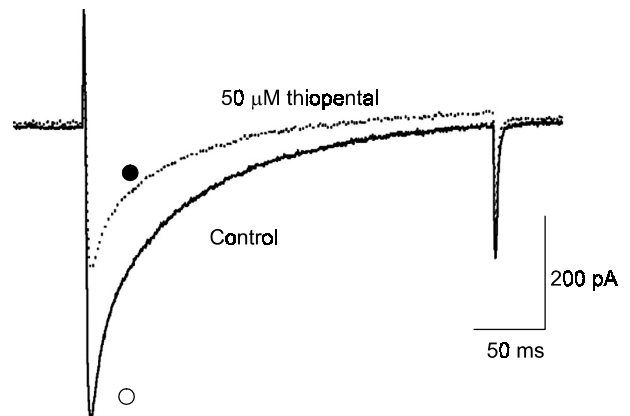


Fig. 5. Effect of thiopental on $I_{Ca,L}$ in a rat ventricular myocyte. Current trace of $I_{Ca,L}$ elicited by a test pulse to +10 mV from the holding potential of -40 mV in the modified Tyrode solution. The duration of the test pulse was 300 msec. Control (○). 50 μ M thiopental (●).

을 관찰할 수 없었다.

정상 활동전위

1 Hz의 자극에서 안정막 전압은 -92 mV였으며 50 μ M thiopental 투여 30분에 측정된 안정막 전압은 -87 mV로 약간 탈분극을 보였고, 30분간의 세척 후 -89 mV의 안정막

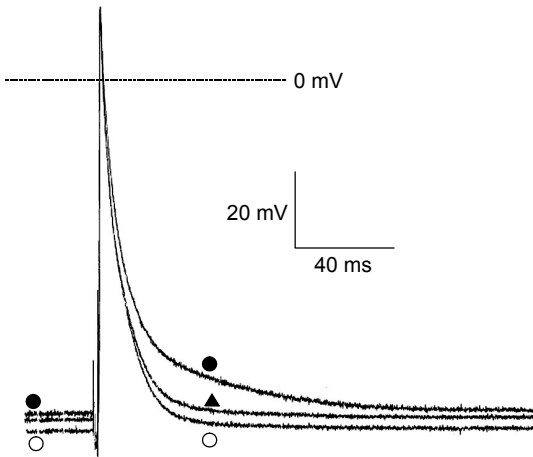


Fig. 6. Effect of thiopental on action potential duration at 1 Hz stimulation rate in a rat right ventricular papillary muscle. Depolarization of 5 mV was observed following 50 mM thiopental administration (RMP: -92 mV vs -87 mV). Notice the marked prolongation of action potential duration (APD₉₀: 24.5 msec to 44.5 msec). Control (○). 50μM thiopental (●). Recovery (▲).

전압을 나타내었다(n = 1). 50μM thiopental 투여 후 APD₉₀는 76% 증가하였으며(대조치: 24.5 ms, 50μM: 43.1 ms) 세척 후 정상으로 회복되었다. 50μM thiopental 투여 후 dV/dt-max는 3% 감소하였으며(대조치: 340 V/s, 50μM: 330 V/s) 세척 후 대조치의 12%가 감소되는 결과를 보였다.

고찰

본 실험에서 thiopental은 쥐 심실근 세포에서 I_{to} , I_{kl} 및 $I_{Ca,L}$ 을 감소시켰으며, 쥐 우심실 유두근에서 활동전위 기간을 연장시키는 효과를 보였다. Thiopental의 이러한 활동전위 기간의 연장효과는 고슴도치, 토끼, 개 및 쥐의 심실근을 이용한 연구에서 또한 보고되었다.

I_{to} 는 쥐, 개, 고양이, 토끼 및 사람의 심실근 세포²⁷에 존재하는 반면 기니픽의 심실근에는 존재하지 않으며, 쥐의 심근 세포에서 I_{kl} 는 매우 작거나 또는 없는 것으로 알려져 있다.²⁹

I_{to} 는 potassium에 의해 전도되며, 빠른 활성화(activation) 및 불활성을 보인다. 전압 의존적인 특성을 갖고 있으며, 조직에서의 current density가 매우 높고 또한 4-aminopyridine에 선택적으로 차단되는 특성을 보인다. 현재 I_{to} 는 두가지 종류가 있는 것으로 알려져 있다. 한 종류는 calcium 의존성이며,^{38,39} 다른 한 종류는 calcium 비의존성으로서^{8,11} calcium 비의존성 I_{to} 는 주로 potassium에 의해 전도되며 활동전위 기간의 결정에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 반면 calcium 의존성 I_{to} 는 세포 내에서 유리되는 calcium에 의해

활성화되고,^{39,40} current density는 calcium 비의존성 I_{to} 에 비해 매우 적으며²⁶ 현재 이 전류의 생리학적 역할은 아직 잘 알려져 있지 않다.

토끼의 심실근 세포에서 50μM thiopental은 I_{to} 에 별다른 영향을 미치지 않으나³⁴ 쥐의 심실근 세포를 이용한 본 결과에서는 약 18%의 감소를 관찰할 수 있었다. 사람의 심실근 세포에서 I_{to} 의 current density는 매우 커 plateau phase의 조절에 주된 역할을 하는 것으로 알려져 있다.²⁷ 쥐의 심실근 세포에서 I_{to} 의 current density는 사람의 것보다 2-3배 더 큰 것으로 알려져 있으며 이는 쥐 심실근 세포에 I_{to} channel이 더욱 많이 분포하고 있기 때문인 것으로 생각되고 있다.⁴⁰ 따라서 본 결과에서 I_{to} 의 18% 감소는 숫자상으로 볼 때 작으나 실제 재분극에 미치는 영향은 매우 큰 것으로 생각할 수 있다.

쥐의 심실근 세포에서 정상 박동범위인 2 Hz의 자극 시 자극 회수의 증가에 따라 활동전위 기간이 연장되며, 2 Hz의 자극에서 I_{to} 의 크기가 30% 정도 감소하는 것을 관찰할 수 있다. 감소의 크기만을 생각해 볼 때는 활동전위의 기간에 영향을 미치지 않을 것으로 생각되나 실제적으로 사람의 심근 세포에서 I_{to} 의 current density는 매우 크므로²⁷ 이 정도의 감소는 매우 큰 전류의 감소로 생각할 수 있다. I_{to} 의 활성화는 매우 빠르므로 phase I 및 early plateau에 크게 영향을 미치며, 이 시기에 수백 pA의 전류의 변화는 다른 plateau phase에 관여하는 전류(Ca^{2+} current 및 I_{kl})에 지대한 영향을 미쳐 결과적으로 활동전위에 주된 영향을 미칠 수 있다. 이렇게 초기의 I_{to} 의 활성화는 plateau시기의 막전위를 0 mV 이하로 감소시켜 결과적으로 plateau phase에서 세포내로의 calcium 유입을 감소시킬 수 있다.

쥐 및 사람의 심실근에서 I_{to} 는 재분극에 관여하는 주된 전류이며, I_{to} 의 선택적 차단제인 tedisamil은 쥐의 단일 심실근 세포에서 활동전위 기간을 연장시키고,²⁸ 이는 tedisamil을 투여한 Langendorff preparation상의 쥐 심근에서도 QT interval을 연장시키는 효과를 보이고 있다.⁴¹

Sakai 등은¹⁶ 기니 픽 심실근 세포를 이용한 연구에서 10 μM thiopental이 I_{kl} 를 22% 감소시킨 반면 I_{kl} 에는 영향이 없었으나 100μM 농도에서는 I_{kl} 를 73%, I_{kl} 을 33% 감소시켜, 임상농도 범위에서 thiopental은 $I_{Ca,L}$ 이나 I_{kl} 보다는 주로 I_{kl} 에 미치는 영향이 크다고 보고하였다. 이에 반해 Pancrazio 등은³⁰ 기니픽 심실근 세포에서 30 및 100μM thiopental이 I_{kl} 을 각각 54% 및 88% 감소시켰으나, 30μM thiopental은 I_{kl} 에 영향이 없었고 100μM은 50%를 감소시켜 상기 결과와는 달리 임상 투여농도 범위에서 thiopental은 I_{kl} 을 더 억제시킨다는 결과를 보고하였다. 또한 기니 픽 심실근 세포에서 Morey 등은³¹ 50μM thiopental이 I_{kl} 과 I_{kl} 을 각각 47% 감소시키며, Martynuk 등은³³ 50μM thiopental이 I_{kl} 을 53%, I_{kl}

을 47% 감소시킨다고 하였다. Carnes 등은³²⁾ 쥐 및 사람의 심실근 세포를 이용한 연구에서 10 및 25 μ M 농도의 thiopental이 I_{K1} 을 각각 50% 및 70% 감소시켜 투여 농도에 비례하여 심하게 I_{K1} 을 감소시키는 경향을 보인다고 하였으며, 쥐와 사람 모두에서 유사한 감소를 보였다고 하였다. 쥐의 심실근 세포를 이용한 본 연구에서는 50 μ M thiopental이 I_{K1} 을 약 14%, 100 μ M thiopental은 약 22% 정도 감소를 보였으며 이는 Carnes 등의³²⁾ 결과와 큰 차이를 보인다. 상기 보고들에 따라 각 전류에 대한 결과가 다른 것은 아마도 사용한 동물의 차이, 실험 온도의 차이 또는 실험에 사용한 방법(Carnes 등은³²⁾ perforated patch 방법을 사용)의 차이 등에 기인하는 것으로 생각된다.

I_{K1} 은 심실근 세포에서 휴식기 막전압의 유지에 우선적으로 작용하는 K^+ 전류이다. I_{K1} 의 억제제는 이완기 탈분극(diastolic depolarization)을 일으키고 이는 심실근 세포의 흥분도를 증가시키며⁴¹⁾ 이로 인하여 비정상적인 automaticity가 발생할 수 있다.⁴²⁾ I_{K1} 의 inward current의 이러한 작용외에 outward component는 활동전위의 재분극의 끝부분의 형성에 영향을 미친다.^{43,44)} I_{K1} 의 outward component의 억제는 활동전위 기간의 연장을 일으키며 early afterdepolarization과 triggered dysrhythmia를 유발시킬 수 있다.⁴²⁾ 기니픽 심실근 및 세포에서 30 μ M thiopental이 약간의 탈분극을 일으키며,^{15,30)} 이는 쥐 유두근을 이용한 본 활동 전위실험 결과에서도 관찰할 수 있었다. 또한 Park과 Lynch는¹⁵⁾ 100 μ M, Komai와 Rusy는⁴⁵⁾ 75-114 μ M의 thiopental에서 automaticity를 관찰하였으며 이러한 결과는 thiopental에 의한 I_{K1} 의 억제가 주된 원인으로 생각된다.

기니픽 심실근 세포를 이용한 연구에서 10 μ M thiopental이 $I_{Ca,L}$ 을 11%, 100 μ M은 17% 감소시키며,¹⁶⁾ 동일한 기니픽 심실근 세포에서 Martynuk 등은³³⁾ 50 μ M thiopental, Pancrazio 등은³⁰⁾ 30 μ M thiopental이 $I_{Ca,L}$ 에 별다른 영향이 없음을 보고하였다.

심근 세포의 활동전위 기간은 세포막을 통과하는 내향전류와 외향전류 상호간의 균형에 의해 결정되며, 이러한 균형의 변화에 따라 활동전위 기간이 단축 혹은 연장될 수 있다. 기니 픽의 우심실 유두근을 이용한 연구에서 30 및 100 μ M thiopental이 투여 농도에 비례하여 정상 및 완서 활동전위(slow action potential) 기간을 연장시키며,¹⁵⁾ 기타 토끼¹⁶⁾ 및 개의¹⁸⁾ 유두근에서도 활동 전위 기간을 연장시키는 효과가 있음이 보고되었다. 기니 픽에서 Langendorff preparation을 이용한 monophasic 활동전위 연구에서 10 및 25 μ M thiopental은 MAPD₉₀를 연장시킨다.³¹⁾ 기니 픽의 심실근 세포에서 thiopental 1 μ M은 APD₂₀ 및 APD₉₀에 영향을 미치지 않으나, 10 μ M에서는 APD₂₀의 변화없이 APD₉₀가 연장되는 것을 관찰할 수 있으며, 50 및 100 μ M 농도에서는 연장

되었던 APD₉₀을 대조치 쪽으로 단축시키는 효과가 있다고 하였다.¹⁶⁾ Martynuk 등은³³⁾ 기니픽 심실근 세포에서 50 μ M thiopental이 활동전위 기간을 연장시키는 효과가 있음을 또한 보고하였다. 본 실험에서도 50 μ M thiopental이 활동전위 기간을 연장시키는 것을 관찰할 수 있었다. 이러한 동물 실험에서의 활동전위 기간의 연장 효과는 임상에서 마취유도 시 thiopental의 투여시 성인^{10,12,13)} 및 소아에서^{11,14)} QTc interval의 연장을 일으킨다는 보고와 일치하고 있다.

쥐 심근세포에서 활동전위의 연장 효과는 thiopental이 I_{K1} 의 outward component에 영향을 미치지 않은 점으로 보아 I_{to} 의 억제에 의한 것으로 생각되며, 또한 $I_{Ca,L}$ 의 감소에 의한 활동전위 기간의 단축 효과를 I_{to} 의 억제가 상쇄시키는 것으로 생각된다. 쥐 심근 세포에서 I_{to} 의 current density가 매우 높은 점을 고려해 볼 때 I_{to} 의 억제가 활동전위의 연장에 주된 원인으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. Moss AJ, Schwartz PJ: Delayed repolarization (QT or QTU prolongation) and malignant ventricular arrhythmias. Mod Concepts Cardiovasc Dis 1982; 51: 85-90.
2. Moss AJ: Prolonged QT-interval syndromes. JAMA 1986; 256: 2985-7.
3. Forbes RB, Morton GH: Ventricular fibrillation in a patient with unsuspected mitral valve prolapse and a prolonged Q-T interval. Can Anaesth Soc J 1979; 26: 424-7.
4. Medak R, Benumof JL: Perioperative management of the prolonged Q-T interval syndrome. Br J Anaesth 1983; 55: 361-4.
5. Wig J, Bali IM, Singh RG, Kataria RN, Khattri HN: Prolonged Q-T interval syndrome: sudden cardiac arrest during anaesthesia. Anaesthesia 1979; 34: 37-40.
6. Galloway PA, Glass PS: Anesthetic implications of prolonged QT interval syndromes. Anesth Analg 1985; 64: 612-20.
7. Schmelling WT, Wartier DC, McDonald DJ, Madsen KE, Atlee JL, Kampine JP: Prolongation of the QT interval by enflurane, isoflurane, and halothane in humans. Anesth Analg 1991; 72: 137-44.
8. Owitz S, Pratilas V, Pratala MG, Dimich I: Anaesthetic considerations in the prolonged Q-T interval (LQTS): A case report. Can Anaesth Soc J 1979; 26: 50-4.
9. Simons FE, Simons KJ: The pharmacology and use of H₁-receptor-antagonist drugs. N Engl J Med 1994; 330: 1663-70.
10. McConachie I, Keaveny JP, Healy TE, Vohra S, Million L: Effect of anaesthesia on the QT interval. Br J Anaesth 1989; 63: 558-60.
11. Wilton C, Hantler C: Congenital long QT syndrome: changes in QT interval during anesthesia with thiopental, vecuronium, fentanyl and isoflurane. Anesth Analg 1987; 66: 357-60.
12. Saarnivaara L, Klemola UM, Lindgren L, Rautanen P, Suvasanto A: QT interval, heart rate and arterial pressure using

- propofol. Methohexital or midazolam for induction of anaesthesia. *Acta Anaesthesiol Scand* 1990; 34: 276-81.
13. Lindgren L, Yli-Hanakala A, Randell T, Kirvela M, Scheinin M, Neuvonen PJ: Haemodynamic and catecholamine responses to induction of anaesthesia and tracheal intubation: comparison between propofol and thiopentone. *Br J Anaesth* 1993; 70: 306-10.
 14. Saarnivaara L, Hiller A, Oikkonen M: QT interval, heart rate and arterial pressures using propofol, thiopentone or methohexital for induction of anaesthesia in children. *Acta Anaesthesiol Scand* 1993; 37: 419-23.
 15. Park WK, Lynch C III: Propofol and thiopental depression of myocardial contractility. A comparative study of mechanical and electrophysiologic effects in isolated guinea pig ventricular muscle. *Anesth Analg* 1992; 74: 395-405.
 16. Sakai F, Hiraoka M, Amaha K: Comparative actions of propofol and thiopentone on cell membranes of isolated guinea pig ventricular myocytes. *Br J Anaesth* 1996; 77: 508-16.
 17. Frankl WS, Poole-Wilson PA: Effects of thiopental on tension development, action potential, and exchange of calcium and potassium in rabbit ventricular myocardium. *J Cardiovasc Pharmacol* 1981; 3: 554-65.
 18. Ikemoto Y: Reduction by thiopental of the slow-channel mediated action potential of canine papillary muscle. *Pflügers Arch* 1977; 372: 285-6.
 19. Descorps-Declere A, Sauviat MP, Samii K, Lecarpentier Y: Mechanical and electrophysiological effects of thiopental on rat cardiac left ventricular papillary muscle. *Br J Anaesth* 2001; 86: 103-7.
 20. Carmeliet E: Mechanisms and control of repolarization. *Eur Heart J* 1993; 14:suppl H3-13.
 21. Coraboeuf E: Ionic basis of electrical activity in cardiac tissues. *Am J Physiol* 1978; 234: H101-16.
 22. Witchele HJ, Hancox JC: Familial and acquired long qt syndrome and the cardiac rapid delayed rectifier potassium current. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2000; 27: 753-66.
 23. Josephson IR, Sanchez-chapula J, Brown AM: Early outward current in rat single ventricular cells. *Circ Res* 1984; 54: 157-62.
 24. Litovsky SH, Antzelevitch C: Transient outward current prominent in canine ventricular epicardium but not endocardium. *Circ Res* 1988; 62: 116-26.
 25. Furukawa T, Myerburg RJ, Furukawa N, Bassett AL, Kimura S: Differences in transient outward currents of feline endocardial and epicardial myocytes. *Circ Res* 1990; 67: 1287-91.
 26. Giles W, Shimoni Y: Comparison of sodium-calcium exchanger and transient inward currents in single cells from rabbit ventricle. *J Physiol (Lond)* 1989; 417: 465-81.
 27. Nabauer M, Beuckelmann DJ, Erdmann E: Characteristics of transient outward current in human ventricular myocytes from patients with terminal heart failure. *Circ Res* 1993; 73: 386-94.
 28. Dukes ID, Cleemann L, Morad M: Tedisamil blocks the transient and delayed rectifier K^+ currents in mammalian cardiac and glial cells. *J Pharmacol Exp Ther* 1990; 254: 560-9.
 29. Rees S, Curtis MJ: Which cardiac potassium channel subtype is the preferable target for suppression of ventricular arrhythmias? *Pharmacol Ther* 1996; 69: 199-217.
 30. Pancrazio JJ, Frazer MJ, Lynch C III: Barbiturate anesthetics depress the resting K^+ conductance of myocardium. *J Pharmacol Exp Ther* 1993; 265: 358-65.
 31. Morey TE, Martynyuk AE, Napolitano CA, Raatikainen MJ, Guyton TS, Dennis DM: Ionic basis of the differential effects of intravenous anesthetics on erythromycin-induced prolongation of ventricular repolarization in the guinea pig heart. *Anesthesiology* 1997; 87: 1172-81.
 32. Carnes CA, Muir WW III, van Wagoner DR: Effect of intravenous anesthetics on inward rectifier potassium current in rat and human ventricular myocytes. *Anesthesiology* 1997; 87: 327-34.
 33. Martynyuk AE, Morey TE, Raatikainen MJ, Seubert CN, Dennis DM: Ionic mechanisms mediating the differential effects of methohexital and thiopental on action potential duration in guinea pig and rabbit isolated ventricular myocytes. *Anesthesiology* 1999; 90: 156-64.
 34. Hamil OP, Marty A, Neher E, Sakmann B, Sigworth FJ: Improved patch-clamp techniques for high-resolution current recordings from cells and cell-free membrane patches. *Pflügers Arch* 1981; 391: 85-100.
 35. Apkon M, Nerbonne JM: Characterization of two distinct depolarization-activated K^+ currents in isolated adult rat ventricular myocytes. *J Gen Physiol* 1991; 97:973-1011.
 36. Burch PG, Stanski DR: The role of metabolism and protein binding in thiopental anesthesia. *Anesthesiology* 1983; 58: 146-52.
 37. Becker KE: Plasma levels of thiopental necessary for anesthesia. *Anesthesiology* 1978; 49: 192-6.
 38. Coraboeuf E, Carmeliet E: Existence of two transient outward currents in sheep cardiac Purkinje fibers. *Pflügers Arch* 1982; 392: 352-9.
 39. Escande D, Coulomb A, Faivre JF, Deroubaix E, Coraboeuf E: Two types of transient outward currents in adult human atrial cells. *Am J Physiol* 1987; 252: H142-8.
 40. Wetter E, Amos G, Gath J, Zerkowski H, Reidemeister J, Ravens U: Transient outward current in human and rat ventricular myocytes. *Cardiovas Res* 1993; 27: 1662-9.
 41. Nichols CG, Makhina EN, Pearson WL, Sha Q, Lopatin AN: Inward rectification and implications for cardiac excitability. *Circ Res* 1996; 78: 1-7.
 42. The Sicilian Gambit. A new approach to the classification of antiarrhythmic drugs based on their action on arrhythmic mechanism. The Task Force of the Working group on Arrhythmias of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 1991; 12: 1112-31.
 43. Kass RS, Freeman LG: Potassium channels in the heart: cellular, molecular, and clinical implications. *Trends Cardiovasc*

- Med 1993; 3: 149-59.
44. Koumi S, Wasserstrom JA, Ten Eick RE: Beta-adrenergic and cholinergic modulation of the inwardly rectifying K^+ current in guinea pig ventricular myocytes. *J Physiol* 1995; 486: 647-59.
45. Komai H, Rusy BF: Calcium and thiopental-induced spontaneous activity in rabbit papillary muscle. *J Mol Cell Cardiol* 1986; 18: 73-9.
-