

마취유도제인 Thiopental이 쥐
심실근 세포의 Transient outward
current (I_{to}) 및 Inwardly
rectifying K^+ current (I_{kl})에
미치는 영향

연세대학교 대학원

의 과 학 과

김 명 희

마취유도제인 Thiopental이 쥐
심실근 세포의 Transient outward
current (I_{to}) 및 Inwardly
rectifying K^+ current (I_{kl})에
미치는 영향

지도교수 박 윤곤

이 논문을 석사학위 논문으로
제출함

2004 년 6 월 일

연세대학교 대학원

의 과 학 과

김 명 희

김명희의 석사 학위논문을 인준함

심사위원 박 윤곤 인

심사위원 남 택상 인

심사위원 민 경태 인

연세대학교 대학원

2004 년 6 월 일

감사의 글

부족함이 많은 제가 이렇게 결실을 맺게 되기까진 많은 분들의 도움이 있었기 때문입니다.

먼저, 부족한 저를 이끌어주시고, 학문의 길을 보여주신 박 윤곤 교수님께 깊은 감사를 드립니다. 바쁘신 와중에도 제 논문을 바로잡아 주시고 심사해주신 남 택상 선생님과 민 경태 선생님께도 또한 감사드립니다.

석사생활을 시작할 때부터 지금까지 힘들었던 날들 곁에서 정신적 위안을 주었던 윤희언니와 지금은 곁에 없지만 어려울 때마다 긍정적인 마음을 갖게 해주던 미과에게도 고마움을 전합니다. 힘들고 어려운 시간들을 함께 해온 은희, 세정, 진환, 용현이와 언제나 곁에서 위로해주었던 정남이와 김 은정 선생님께 고마운 마음 전합니다. 또한 실험실 생활을 하며 울고 웃을 수 있었던 수진, 형준, 지은, 주민, 지수, 명훈, 은신이와 이제는 박사님이 되신 경희언니에게도 감사의 마음을 전합니다. 오랜 친구 준희, 영주, 경희와 물심양면으로 도와주던 정범 선배, 원두 선배, 종호 선배에게도 감사드립니다. 많은 도움을 받았음에도 그만큼 많이 도와주지 못한 것에 또한 미안함을 전합니다.

지금까지 긴시간동안 저를 믿어주시고 제가 학업을 계속할 수 있도록 격려해주신 사랑하는 부모님과 먼곳에서 항상 저를 위해 기도하시는 할머니께 감사드립니다. 또한 어려울 때마다 늘 저의 변함없는 후원자가 되어준 복희언니와 사랑하는 동생 수원이, 막내 명원에게도 고마움을 전합니다.

많은 분들의 도움이 없었다면 지금의 저는 없었을 것입니다. 저의 부족함을 깨닫는 시간들이었지만 그렇기에 또한 더 겸손해질 수 있었고 성장할 수 있었음에 감사드립니다. 훌륭한 연구자가 되기 위해 더 매진할 것을 다짐하며 부족한 논문을 마치려 합니다. 이제까지 함께 했던 사랑하는 이들에게 이 논문을 드립니다.

차례

국문요약	1
I. 서론	3
II. 재료 및 방법	5
1. 백서의 심실근 세포분리	5
2. 전기 생리학적인 실험	6
가. 세포 외액 및 세포 내액의 구성	7
나. Voltage clamp protocol	8
(1) I_{to}	8
(2) I_{kl}	8
(3) I_{kl} 과 I_{to}	8
(4) $I_{Ca,L}$	8
3. 심근수축 및 활동전위의 측정	9
4. 자료 검증 방법	10
III. 결과	10
IV. 고찰	19
V. 결론	23
참고문헌	24
영문요약	31

그림 차례

Fig. 1. Concentration-dependent inhibition of thiopental on transient outward current (I_{to})	11
Fig. 2. Effects of thiopental on transient outward current (I_{to})	12
Fig. 3. Effects of thiopental on inwardly rectifying K^+ current (I_{K1}) and transient outward current (I_{to}) in a rat ventricular myocyte	14
Fig. 4. Effect of thiopental on inwardly rectifying K^+ current (I_{K1}) in a rat ventricular myocyte	15
Fig. 5. Effect of thiopental on $I_{Ca,L}$ in a rat ventricular myocyte	17
Fig. 6. Effect of thiopental on normal action potential at 1 Hz stimulation rate in a rat right ventricular papillary muscle	18

국문요약

마취유도제인 Thiopental이 쥐의 심실근세포의 Transient outward current (I_{to}) 및 Inwardly rectifying K^+ current (I_{kl})에 미치는 영향

심전도에서 long QT syndrome(LQTS, QTc interval $>$ 440 ms)을 보이는 환자는 torsade de pointes와 같이 생명을 위협할 수 있는 심한 심실성 부정맥이 발생할 수 있다. LQTS 환자에서는 심실의 재분극을 연장시키는 약제의 사용시 상승작용을 일으켜 이와 같은 부정맥을 촉진시키는 결과를 초래할 수 있다. 마취 유도시 사용되고 있는 정맥 마취제인 thiopental은 사람에서 QT interval을 연장시키는 효과가 있으며, thiopental의 이러한 효과는 또한 동물실험에서 활동전위 기간을 연장시키는 결과와 일치한다. Thiopental은 I_k , I_{kl} 및 I_{to} 를 억제시키나 현재 동일한 종의 동물에서 재분극에 관여하는 전류에 대한 종합적인 연구는 이루어져 있지 않다.

Langendorff 장치에 쥐의 심장을 현수후 효소 처리하여 단일세포로 분리하였다. 분리된 심근세포는 whole cell mode 전압고정법을 사용하였으며, I_{to} 와 I_{kl} 은 관류액에 0.5 mM $CdCl_2$ 를 첨가하여 Ca^{+} 내향전류를 차단시킨 상태에서 각각의 voltage protocol을 적용하여 측정하였다. 쥐 우심실 유두근을 이용하여 심근수축을 측정하였으며, 통상적인 microelectrode technique을 이용하여 정상 활동전위를 측정하였다.

50 μ M thiopental은 +60 mV에서 측정된 I_{to} 의 peak current를 $18 \pm$

1% (mean \pm SEM) 감소시켰다. Thiopental 투여농도에 따른 I_{to} 의 변화에서 IC_{50} 는 163 μ M을 보였다. Ramp protocol을 적용한 실험에서 50 μ M thiopental은 -130 mV에서 측정된 I_{kl} 의 내향전류를 $13 \pm 2\%$ 감소시켰다. -140 mV의 막전위에서 50 및 100 μ M thiopental은 I_{kl} 의 내향전류를 각각 $14 \pm 2\%$ 및 $22 \pm 4\%$ 감소시켰다. 50 μ M thiopental은 $I_{Ca,L}$ 을 $43 \pm 5\%$ 감소시켰다. 50 μ M thiopental은 심근 수축에 별다른 영향을 미치지 않았다. 정상활동 전위에서 50 μ M thiopental은 -5 mV의 탈분극을 보였고, 재분극 90%에서 활동전위 기간을 76% 연장시켰다.

쥐 심근세포에서 활동전위의 연장 효과는 I_{to} 및 I_{kl} 의 억제에 의한 것으로 생각되며, 쥐 심근 세포에서 I_{to} 의 current density가 매우 높은 점을 고려해 볼 때 I_{to} 의 억제가 활동전위의 연장에 주된 원인으로 생각된다. Ca^{2+} 내향전류의 감소에도 불구하고 심근수축의 변화가 없었던 것은 thiopental의 I_{to} 및 I_{kl} 억제 효과가 Ca^{2+} 내향전류의 감소로 인한 활동전위의 단축 효과를 상쇄시켜 세포내로의 Ca^{2+} 유입을 증가시키기 때문인 것으로 생각된다.

핵심되는 말 : Thiopental, rat, ventricular myocytes, I_{to} , I_{kl} , action potential

마취유도제인 Thiopental이 쥐의 심실근세포의 Transient outward current (I_{to}) 및 Inwardly rectifying K^+ current (I_{ki})에 미치는 영향

<지도교수 박 윤 곤>

연세대학교 대학원 의과학과

김 명 희

I. 서 론

심전도에서 long QT syndrome(QTc interval > 440 ms)을 보이는 환자는 torsade de pointes와 같이 생명을 위협할 수 있는 심한 심실성 부정맥이 발생할 수 있으며^{1,2}, 따라서 술전 이러한 소견이 발견되지 않은 상태에서 수술 및 마취를 받는 경우 심실세동(心室細動, ventricular fibrillation)³, 심실성 빈맥(心室性 頻脈, ventricular tachycardia)⁴ 및 심지어는 사망에 이를 수 있다⁵. Long QT syndrome(LQTS)의 원인은 선천적이거나 후천적(acquired)일 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 있다⁶⁻⁸. 또

한 후천적으로 LQTS를 보이는 환자에서 심실의 재분극(repolarization)을 연장시키는 약제의 사용시 상승작용을 일으켜 torsade de pointes와 같은 심한 심실성 부정맥을 촉진시킬 수 있다⁹. 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 소아¹⁴에서 QT interval을 연장시키는 효과가 있으며, thiopental의 이러한 효과는 기니 픽^{15,16}, 토끼¹⁷, 개¹⁸ 및 쥐¹⁹의 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 활동전위 기간이 440-460 ms를 초과할 수 있다²². 일반적으로 심실근 세포의 phase 1 및 plateau phase의 초반은 K^+ 이온에 의한 transient outward current (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_{k1})가 작용하게 된다¹⁷. 기니 픽을 제외한 쥐²³, 개²⁴, 고양이²⁵, 토끼²⁶의 심실근 세포 및 사람의 심실근 세포²⁷에는 I_{to} 가 재분극 초기에 관여하며, I_{to} 의 감소는 활동전위 기

간을 연장시킨다²⁸. 쥐나 사람의 심실근 세포에서 재분극에 관여하는 전류는 주로 I_{to} 및 I_{kl} 이며²⁹ 따라서 I_{to} 는 활동전위 기간의 변화에 중요한 역할을 하고 있다.

그간 동물의 심근세포를 이용한 전기생리학적인 연구에서 임상 농도의 thiopental은 I_k 및 I_{kl} 을 억제하는 것으로 알려져 있으나^{16,30-34}, 현재 I_{to} 에 대한 연구는 토끼의 심실근 세포를 이용한 Martynuk 등의³⁴ 보고 외에는 전혀 이루어져 있지 않다. Martynuk 등은³⁴ I_k 및 I_{kl} 에 대한 영향으로는 기니 픽을, I_{to} 의 동물의 종에 따른 분포 특성상 I_{to} 에 대한 평가는 토끼의 심실근 세포를 각각 이용하였는 바, 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_{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 작용에 대한 이해를 넓혀 보고자 한다.

II. 재료 및 방법

1. 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 HEPES, 0.18 glucose, pH 7.4)에 잠시 담가두어 심장내의 혈액을 배출시킨 후 4°C의 냉각 정상 Tyrode 용

액에 넣었다. 이 상태에서 현수할 상행 대동맥을 박리한 후 Langendorff perfusion system에 현수시켜 retrograde perfusion 방법으로 관류시켰다. 100% O₂로 포화시킨 37°C의 정상 Tyrode 용액으로 약 10 분간 순환시킨 후 (flow rate: 9 ml/min), Ca²⁺-free Tyrode 용액 (mM: 120 Na⁺, 125.4 Cl⁻, 5.4 K⁺, 5 MgSO₄, 5 pyruvate, 20 glucose, 20 taurine, 2 nitriloacetic acid, 10 HEPES, pH 7.4)으로 다시 5분간 순환시켰다. 그 후에 Ca²⁺-free Tyrode 용액에 녹인 collagenase (1 mg/ml, Worthington type II)와 hyaluronidase (0.4 mg/ml, Sigma type II)를 10-12분간 순환시키면서 심장이 물렁물렁해지는 것을 관찰하였다. 이후 100 ml의 KB 용액 (mM: 10 taurine, 10 oxalic acid, 70 glutamic acid, 35 K⁺, 25 Cl⁻, 10 H₂PO₄, 11 glucose, 0.5 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 µm nylon mesh로 걸러 내었다. KB 용액에 담겨져 있는 심근 세포를 4°C의 온도에 1 시간 동안 보관 후 8 시간 이내에 사용하였다. 2 mM CaCl₂에 노출 시 수축을 보이지 않고 striation이 뚜렷한 세포를 골라 실험하였다.

2. 전기 생리학적인 실험

분리된 심근 세포는 inverted microscope 위에 얹혀져 있는 chamber에 놓고 10분간 바닥에 가라 앉혀 고정시킨 후 whole cell mode 전압 고정법을 사용하였다³⁵. 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 micropipet puller (PP-83, Narishige Co, Ltd, Setagaya-ku, Tokyo, Japan)를 사용하여 칩단의 저항이 2-3 M Ω 인 전극을 만들어 사용하였다. 모든 실험은 실내온도(20-22 $^{\circ}$ C)에서 시행하였으며 whole cell mode가 되면 4-6 분간 기다려 안정 상태가 된 후 실험을 진행하였다. 측정하고자 하는 전류에 따라 bathing solution과 pipet solution을 달리하면서 대조치, 약물투여 및 세척후에 측정 전류의 변화를 관찰하였다. Data acquisition은 version 6.0.3 (Axon instruments) pCLAMP system을 장착시킨 IBM-compatible Pentium-II personal computer를 사용하였다.

가. 세포 외액 및 세포 내액의 구성

세포외액으로는 다음과 같은 구성의 modified Tyrode용액 (mM: 140 Na $^{+}$, 5 K $^{+}$, 2 Ca $^{2+}$, 1 Mg $^{2+}$, 151 Cl $^{-}$, 10 HEPES, 1 N NaOH로 pH를 7.4로 조절)을 사용하였다. 이 용액을 관류시키는 상태에서 whole cell mode가 되면 K $^{+}$ 전류 (I $_{to}$, I $_{kl}$)의 경우 다음과 같은 구성의 용액 (mM: 140 Na $^{+}$, 5 K $^{+}$, 2 Ca $^{2+}$, 1 Mg $^{2+}$, 152 Cl $^{-}$, 10 HEPES, 1 N NaOH로 pH를 7.4로 조절)으로 관류후 측정하였다. 이 용액에는 Ca $^{2+}$ 내향전류의 억제제를 위하여 0.5 mM CdCl $_2$ 를 첨가하였다. K $^{+}$ 전류의 측정시 patch pipet을 채우는 용액으로는 다음과 같은 구성의 용액 (mM: 140 K $^{+}$, 1 Ca $^{2+}$, 1 Mg $^{2+}$, 104 Cl $^{-}$, 10 EGTA, 5 HEPES, 5 Mg-adenosine triphosphate. 1N KOH를 사용하여 pH를 7.3으로 조절)을 사용하였다. Ca $^{2+}$ 내향 전류는 modified Tyrode 용액의 관류상태에서 whole cell mode로 전환시킨 후 다음과 같은 구성의 용액 (mM: 125 Cs $^{+}$, 20 tetraethylamonium, 2 Ca $^{2+}$, 1 Mg $^{2+}$, 151 Cl $^{-}$, 10

HEPES, 1N CsOH로 pH 7.3으로 조절)으로 관류후 측정하였다. Ca^{2+} 내향 전류의 측정시 patch pipet 용액으로는 다음과 같은 구성의 용액 (mM: 120 Cs^+ , 20 tetraethylammonium, 1 Ca^{2+} , 1 Mg^{2+} , 140 Cl^- , 11 EGTA, 5 HEPES, 5 Mg-adenosine triphosphate. 1N HCl를 사용하여 pH를 7.3으로 조절)을 사용하였다.

나. Voltage clamp protocol

(1) I_{to}

막전위를 -80 mV로 고정한 후 -40 mV에서 +60 mV까지 10 mV씩 증가시켜 가면서 depolarizing pulse를 가하여 측정하였다. Na^+ 내향 전류를 불활성화(inactivation) 시키기 위하여 -40 mV의 prepulse를 가하였으며 이러한 조건하에서 막전류는 처음 capacitive current가 발생한 후 즉시 outward direction으로 나타나며 -40 mV에서 300 ms 동안 depolarizing pulse를 가하면 초기 peak current가 나타난 후 점차적으로 감소하여 plateau current가 보이게 된다³⁶.

(2) I_{k1}

I_{k1} 의 활성은 -50 mV로 50 ms동안 Na^+ 전류를 불활성화 시킨 후 막전압을 -140 mV부터 -40 mV까지 20 mV씩 step pulse를 주어 측정하였다. Depolarizing pulse의 기간은 200 ms로 하였다.

(3) I_{k1} 과 I_{to}

I_{k1} 과 I_{to} 를 동시에 측정하기 위해 적용한 ramp protocol은 -40 mV로 200 ms동안 막전압을 고정시켜 Na^+ 전류를 불활성화시킨 후 -130에서 +50 mV까지 6초동안 연속적인 pulse를 가하여 측정하였다.

(4) $I_{Ca,L}$

Ca^{2+} 내향전류는 -40 mV를 고정 막전압으로 하여 Na^+ 전류를 불활

성화 시킨 후 -30 mV에서 $+60$ mV까지 step pulse를 가하여 측정하였다. Depolarizing pulse의 기간은 300 ms로 하였다.

3. 심근 수축 및 활동전위의 측정

250-300 g의 수컷 쥐(Sprague-Dawley)를 halothane으로 흡입 마취 시킨 후, 꼬리 정맥으로 heparin을 투여후 심장의 우심실 유두근을 적출하였다. 적출된 유두근의 기저부를 pin으로 고정시켜 기존의 acrylic bath에 수평으로 놓이게 한 후 유두건(chorda tendinae)의 말단부를 GRASS FTO3 force transducer (Quincy, MA, USA)에 연결하였다. 유두근의 길이는 가장 작은 휴식기 장력(resting tension)을 보이며 또한 최대의 근수축력을 나타내는 지점에 고정하였다. 0.1 Hz로 45-60 분 동안 지속적으로 자극하였으며 근수축이 일정하게 유지되는 것을 확인한 후 실험을 시작하였다. 95% O₂/5% CO₂의 혼합 가스로 기포화시킨 정상 Tyrode용액 (mM: 143 Na⁺, 5 K⁺, 2 Ca²⁺, 127 Cl⁻, 1.2 MgSO₄, 25 HCO₃⁻, 11 glucose, 0.1 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. 심근 수축의 정도는 최대 장력(peak force) 및 최대 장력 발생속도(dF/dt-max)의 측정으로 평가하였다. 0.1 Hz의 자극하에 45-60 분 동안의 지속적인 자극으로 근수축이 안정되었다고 판단되면 15분간 휴식기를 가진 후 일회 자극으로 근수축을 측정하고 (rested-state contraction) 이후 0.1, 0.25 Hz의 순서로 근 수축을 유발시켜 그 결과를 측정하였다. 대조군의 측정후 15분간 50 µM thiopental에 노출시키

고, 이후 20분간 세척 후 회복을 평가하였다.

막전압(membrane potential)은 WPI VF-amplifier (World Precision Instruments, Sarasota, FL, USA)에 연결되어 있는 3M KCl-filled glass microelectrode (10-20 M Ω)를 유두근의 기저부에 삽입시킨 후 심근을 1 Hz로 자극하여 측정하였다. 측정된 결과는 Digital storage oscilloscope (Hitachi VC-6025, Woodbury, NY, USA) 및 Gould TA240S (Gould instrument system, Inc., Valley view, OH, USA)를 통해 관찰, 기록하였다. 각 자극 회수에서의 측정시 latent period (자극-활동전위 간격, 5-10 ms)를 자극 강도의 조절에 의해 동일하게 유지하였다. 활동 전위의 크기(amplitude), 최대 탈분극속도, 재분극의 크기 90%에서의 활동전위 기간(APD₉₀) 및 휴식기 막전압의 탈분극 정도를 대조치, 약물투여, 세척후에 측정하였다.

4. 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_{kl}에서 50 μ M과 100 μ M thiopental 사이의 비교는 unpaired t-test를 사용하였다.

III. 결과

Thiopental의 투여 농도에 따른 용량-반응

마취 유도시 사용되는 thiopental 용량(6 mg/kg) (pentotal sodium,

중외 제약, 서울, 한국) 평균 최고 혈장 농도는 93 $\mu\text{g/ml}$ (352 μM)이

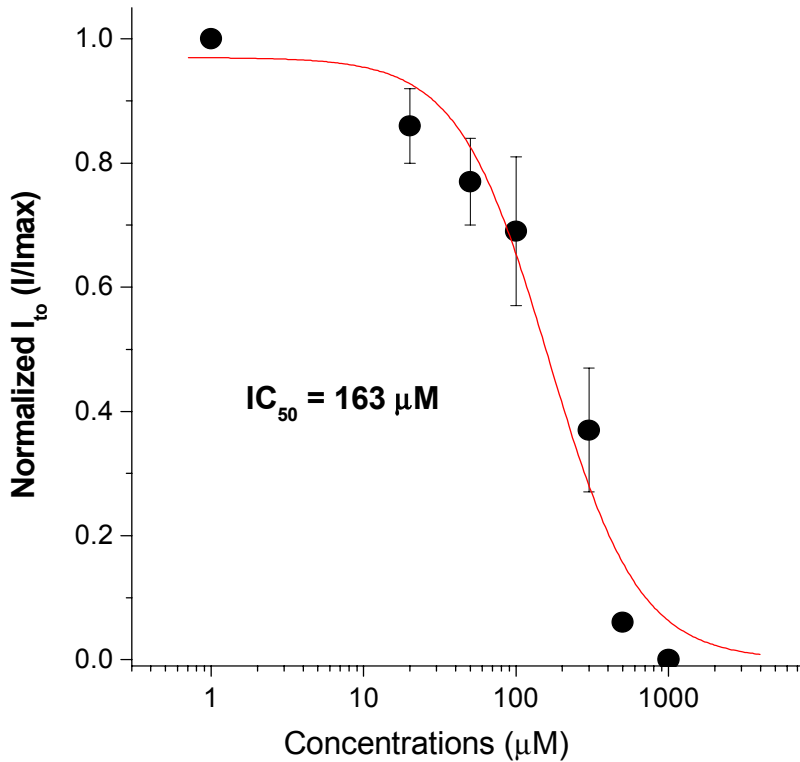


Fig. 1. Concentration-dependent inhibition of thiopental on the transient outward current (I_{to}) in rat ventricular myocytes. Current amplitudes of the I_{to} were measured in the presence of various concentrations of thiopental (1 μM [n=1], 20 μM [n = 4], 50 μM [n = 12], 100 μM [n = 4], 300 μM [n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

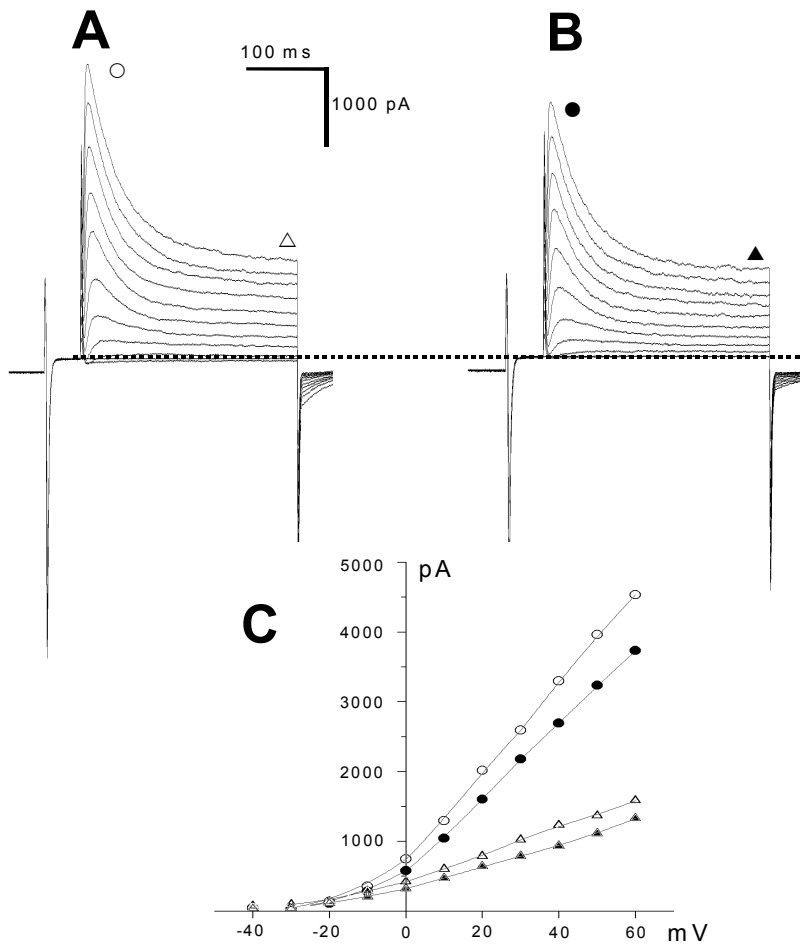


Fig. 2. Effects of thiopental on transient outward current (I_{to}) in a rat single ventricular myocyte. I_{to} was elicited by test pulses of 300 ms duration from -40 mV to +60 mV with 10 mV steps. **A.** Control recordings in modified Tyrode solution. **B.** 50 μ M thiopental. The broken line indicates zero current level. **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.

며, 이후 평균 혈장 농도는 12.6 μ g/ml (48 μ M)에 도달하게 된다³⁷. 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 된다³⁸. 유리 thiopental의 평균 혈장농도를 전후하여 투여농도 (1, 20, 50, 100, 300, 500, 1000 μ M)에 따른 I_{to} 의 변화를 측정하였으며, IC_{50} 는 163 μ M 이었다 (Fig. 1).

I_{to}

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 thiopental: 2791 ± 241 pA, $n = 12$, $P < 0.05$) (Fig. 2B), 세척후 대조군의 $97 \pm 1\%$ ($n=12$, NS)로 회복되었다. 50 μ M thiopental은 +60 mV일때 I_{to} 의 plateau current를 $10 \pm 2\%$ 감소시켰으며 (Fig. 2B) 세척후 완전히 회복되는 것을 관찰할 수 있었다.

I_{k1}

Ramp protocol을 적용한 실험에서 50 μ M thiopental은 -130 mV에서 측정된 I_{k1} 내향전류를 대조군에 비해 $13 \pm 2\%$ 감소시켰으며 (대조군: -3039 ± 419 pA, 50 μ M thiopental: -2628 ± 323 pA, $n = 6$, $P < 0.05$), 세척에도 불구하고 거의 회복이 되지 않는 양상을 보였다 (Fig. 3).

-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 thiopental: -3520 ± 532 pA, $n = 6$, $P < 0.05$) 및 $22 \pm 4\%$ (대조군:

-3505 ± 356 pA, 100 μM thiopental: -2771 ± 383 pA, n = 7, P < 0.05) 감소시켰다 (Fig. 4A,B). 두 투여 농도간에 차이는 없었다. 세척 후 전류의 회복을 관찰할 수 없었다.

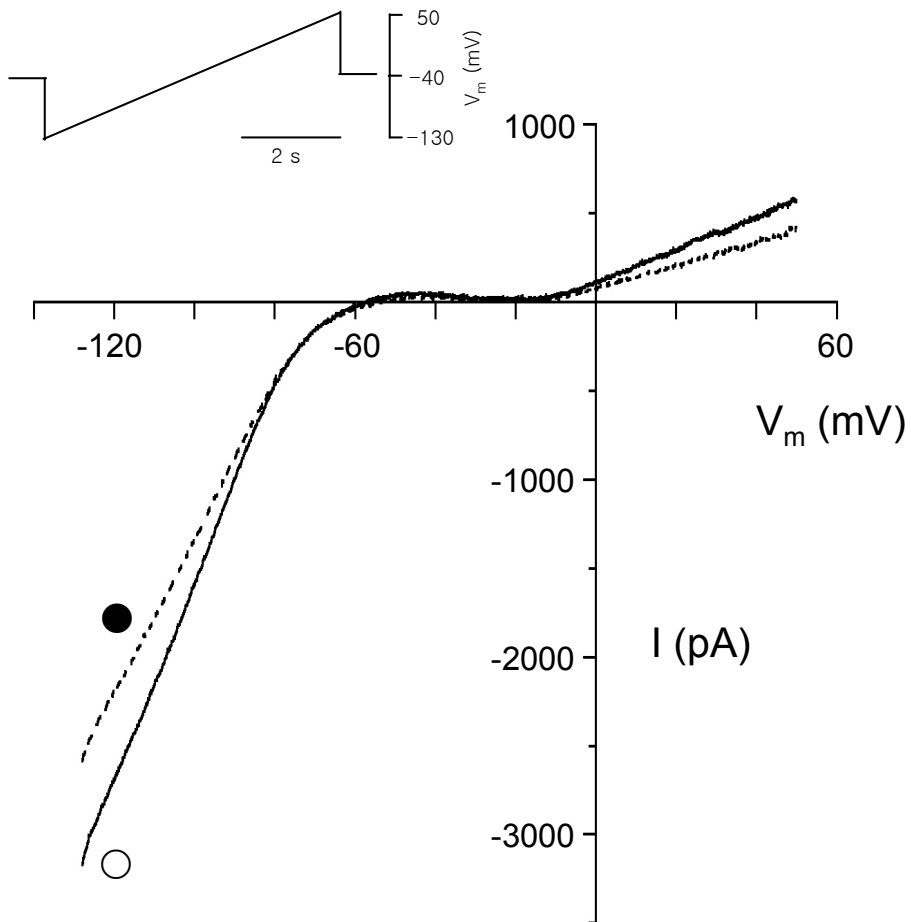


Fig. 3. Effects of 50 μM thiopental on the inwardly rectifying K⁺ current (I_{K1}) in a rat ventricular myocyte. Currents were recorded in response to a linear voltage ramp protocol in the control (○)

and in the presence of thiopental (●).

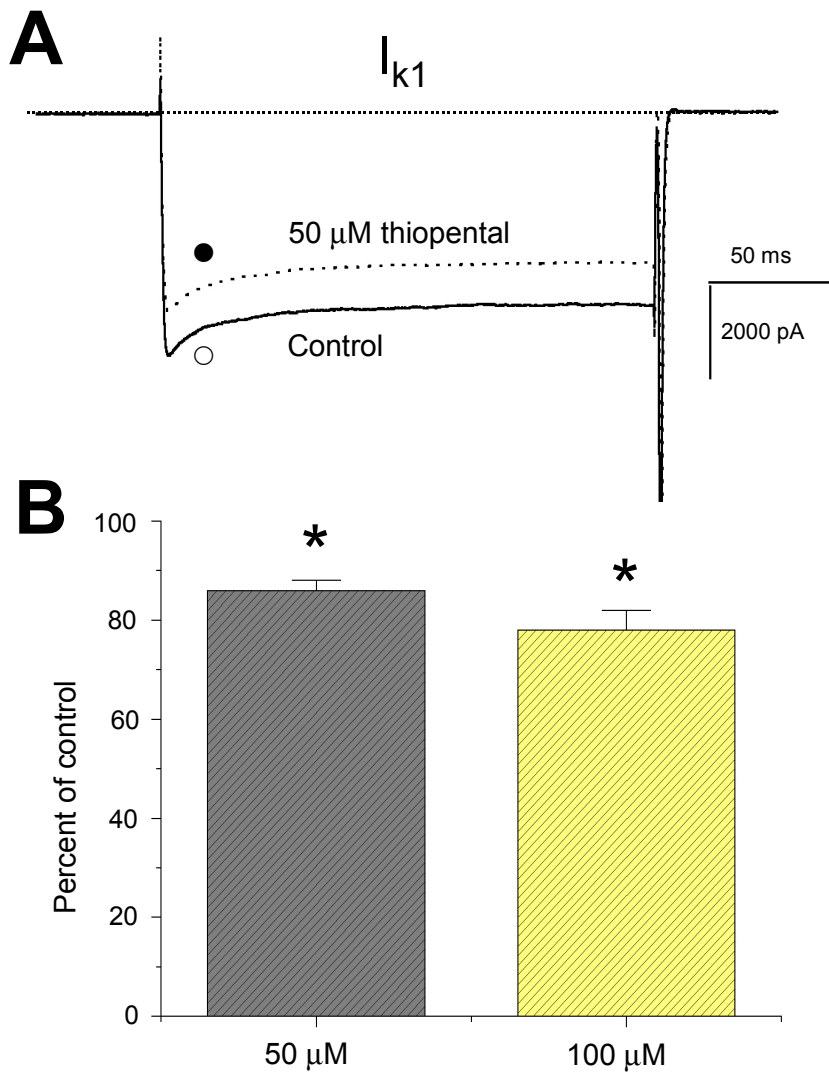


Fig. 4. A. Effect of 50 μM thiopental on inwardly rectifying K⁺ current (I_{k1}) in a rat ventricular myocyte. B. Effect of 50 μM (n = 6) and 100 μM thiopental (n = 7) on I_{k1}. * P < 0.05 vs. control.

L-type Ca^{2+} 내향 전류 ($\text{I}_{\text{Ca,L}}$)

50 μM thiopental은 +10 mV에서 대조군에 비해 $43 \pm 5\%$ 감소시켰다 (대조군: -837 ± 107 pA, 50 μM thiopental: -469 ± 66 pA, $n = 10$, $P < 0.05$) (Fig. 5). 세척후 전류의 회복을 관찰할 수 없었다.

심근 수축

Rested-state, 0.1 및 0.25 Hz의 자극에서 50 μM thiopental은 근수축 (최대 장력)에 별다른 영향을 미치지 않았다 (대조군: rested-state 1.93 ± 0.39 , 0.1 Hz: 1.40 ± 0.33 , 0.25 Hz: 1.22 ± 0.31 mN/mm². thiopental: rested-state 1.93 ± 0.42 , 0.1 Hz: 1.47 ± 0.43 , 0.25 Hz: 1.25 ± 0.40 mN/mm², $n = 10$, NS). 20분간의 세척 후 rested state contraction은 대조치로 회복되었으나 (NS), 0.1, 0.25 Hz에서는 대조치의 약 75%로 회복되었다 ($P < 0.05$).

정상 활동전위

1Hz의 자극에서 안정막 전압은 -92 mV였으며 50 μM thiopental 투여 30분에 측정된 안정막 전압은 -87 mV로 약간 탈분극을 보였고, 30분간의 세척후 -89 mV의 안정막 전압을 나타내었다 ($n = 1$). 50 μM thiopental 투여후 APD_{90} 는 76% 증가하였으며 (대조치: 24.5 ms, 50 μM thiopental: 43.1 ms) 세척후 정상으로 회복되었다. 50 μM thiopental 투여후 $dV/dt\text{-max}$ 는 3% 감소하였으며 (대조치: 340 V/s, 50 μM thiopental: 330 V/s) 세척후 대조치의 12%가 감소되는 결과를 보였다.

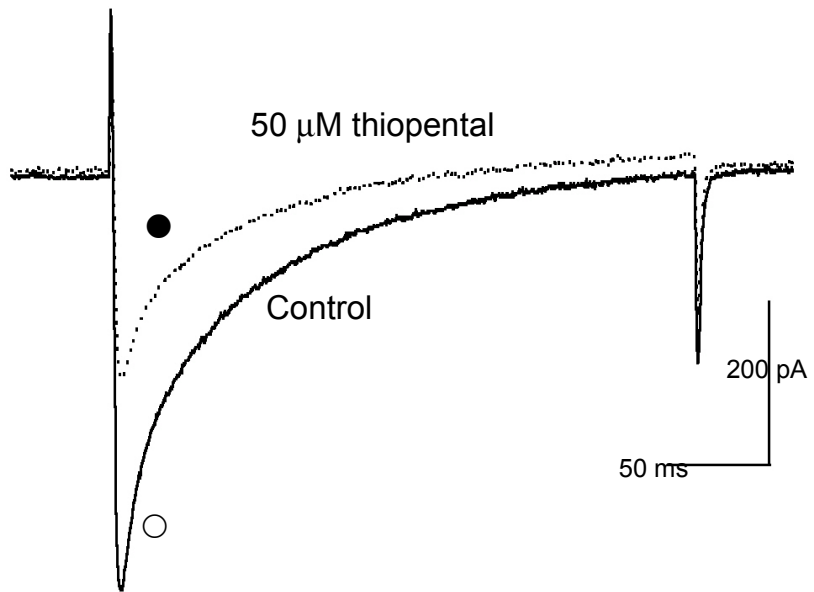


Fig. 5. Effect of thiopental on $I_{Ca,L}$ in a rat ventricular myocyte. Current trace of $I_{Ca,L}$ elicited by a test pulse to +10 mV from the holding potential of -40 mV in the modified Tyrode solution. The duration of the test pulse was 300 msec.

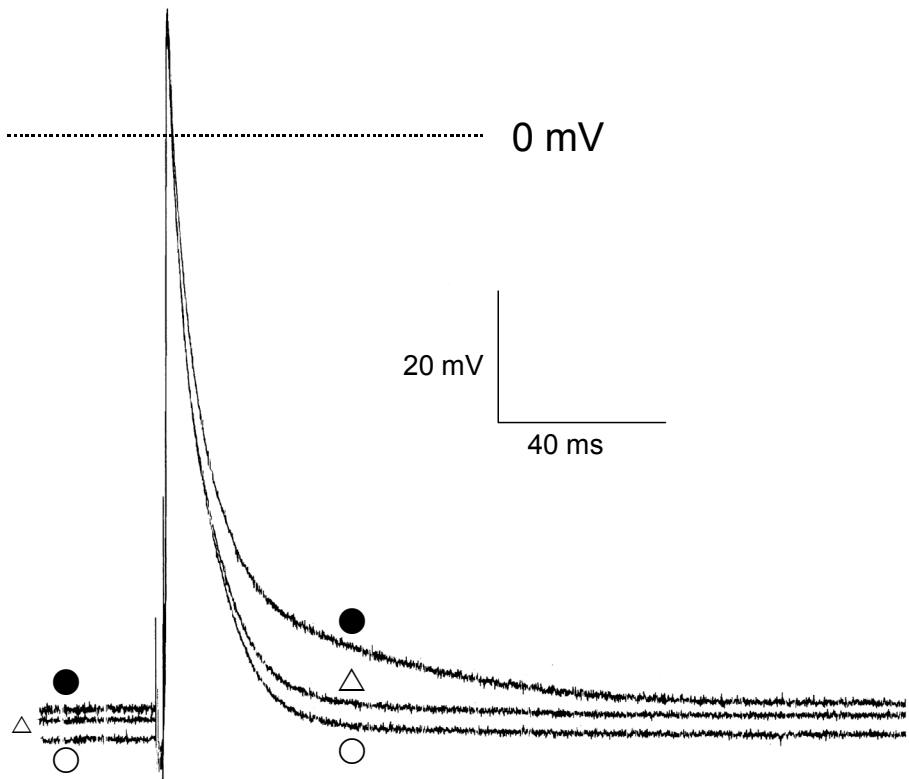


Fig. 6. Effect of thiopental on action potential duration at 1 Hz stimulation rate in a rat right ventricular papillary muscle. Depolarization of 5 mV was observed following 50 μ M thiopental administration (RMP: -92 mV vs -87 mV). Notice the marked prolongation of action potential duration (APD₉₀: 24.5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

IV. 고찰

본 실험에서 thiopental은 쥐 심실근 세포의 I_{to} , I_{kl} 및 I_{CaL} 을 감소시켰으며, 쥐 우심실 유두근에서 활동전위 기간을 연장시키는 효과를 보였다. Thiopental의 이러한 활동전위 기간의 연장효과는 그간 기니픽^{15,16}, 토끼¹⁷, 개¹⁸ 및 쥐¹⁹의 심실근을 이용한 연구에서 또한 보고되었다.

I_{to} 는 쥐²³, 개²⁴, 고양이²⁵, 토끼²⁶ 및 사람의 심실근 세포²⁷에 존재하는 반면 기니픽의 심실근에는 존재하지 않으며, 쥐의 심근 세포에서 I_k 는 매우 작거나 또는 없는 것으로 알려져 있다²⁹.

I_{to} 는 potassium에 의해 전도되며, 빠른 활성화(activation) 및 불활성(inactivation)을 보인다. 전압 의존적인 특성을 갖고 있으며, 조직에서의 current density가 매우 높고 또한 4-aminopyridine에 선택적으로 차단되는 특성을 보인다. 현재 I_{to} 는 두가지의 종류가 있는 것으로 알려져 있다. 한 종류는 calcium 의존성이며^{39,40}, 다른 한 종류는 calcium 비의존성이므로^{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 세포내에서 유리되는 calcium에 의해 활성화되고^{39,40}, current density는 calcium 비의존성 I_{to} 에 비해 매우 적으며²⁶ 현재 이 종류의 생리학적 역할은 아직 잘 알려져 있지 않다.

개의 심실근 세포에서 30 및 60 μ M thiopental이 I_{to} 를 각각 11% 및 21% 감소시키며³¹, 기니픽 심실근 세포에서 50 μ M thiopental은 I_{to} 에 별다른 영향을 미치지 않는다고 한다³⁴. 쥐의 심실근 세포를 이용한 본 결과에서는 약 18%의 감소를 관찰함으로써 개의 심실근 세포에서

의 결과와³¹ 유사한 효과를 보였다. 사람의 심실근 세포에서 I_{to} 의 current density는 매우 커 plateau phase의 조절에 주된 역할을 하는 것으로 알려져 있다²⁷. 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 있다⁴¹. 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 자극시 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 활동 전위의 기간에 영향을 미치지 않을 것으로 생각되나 실제로 사람의 심근 세포에서의 I_{to} 의 current density는 매우 크므로²⁷ 이 정도의 감소는 매우 큰 전류의 감소로 생각할 수 있다. I_{to} 의 활성화는 매우 빠르므로 I_{to} 는 phase I 및 early plateau에 크게 영향을 미치며, 이 시기에 수백 pA의 전류의 변화는 다른 plateau phase에 관여하는 전류(Ca^{2+} current, I_k)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 연장시키고²⁸, 이는 tedisamil을 투여한 Langendorff preparation상의 쥐 심근에서도 QT interval을 연장시키는 효과를 보이고 있다⁴².

Sakai 등은³¹ 기니 피크 심실근 세포를 이용한 연구에서 10 μ M

thiopental이 I_k 를 22% 감소시킨 반면 I_{kl} 에는 영향이 없었으나 100 μ M 농도에서는 I_k 를 73%, I_{kl} 을 33% 감소시켜, 임상농도 범위에서 thiopental은 $I_{Ca,L}$ 이나 I_{kl} 보다는 주로 I_k 에 미치는 영향이 크다고 보고하였다. 이에 반해 Pancrazio 등은³⁰ 기니픽 심실근 세포에서 30 및 100 μ M thiopental이 I_{kl} 을 각각 54% 및 88% 감소시켰으나, 30 μ M thiopental은 I_k 에 영향이 없었고 100 μ M은 50%를 감소시켜 상기 결과와는 달리 임상 투여농도 범위에서 thiopental은 I_{kl} 을 더 억제시킨다는 결과를 보고하였다. 또한 기니 픽 심실근 세포에서 Morey 등은³² 50 μ M thiopental이 I_k 와 I_{kl} 을 각각 47% 감소시키며, Martynyuk 등은³⁴ 50 μ M thiopental이 I_k 를 53%, I_{kl} 을 47% 감소시킨다고 하였다. Supan 등은³¹ 개 심실근 세포에서 60 μ M thiopental이 I_{kl} 을 44% 감소시킴으로서 임상 투여농도 범위에서의 thiopental은 유사한 정도의 I_{kl} 의 감소를 보이고 있다. 그러나 Carnes 등은³³ 쥐 및 사람의 심실근 세포를 이용한 연구에서 10 및 25 μ M 농도의 thiopental이 I_{kl} 을 각각 50% 및 70% 감소시켜 투여 농도에 비례하여 심하게 I_{kl} 을 감소시키는 경향을 보인다고 하였으며, 쥐와 사람 모두에서 유사한 감소를 보였다고 하였다. 쥐의 심실근 세포를 이용한 본 연구에서는 50 μ M thiopental이 I_{kl} 을 약 14%, 100 μ M thiopental은 약 22%정도 감소를 보였으며 이는 Carnes 등의³³ 결과와 큰 차이를 보인다. 상기 보고들에 따라 각 전류에 대한 결과가 다른 것은 아마도 사용한 동물의 차이, 실험 온도의 차이 또는 실험 방법의 차이에 기인하는 것으로 생각된다.

I_{kl} 은 심실근 세포에서 휴식기 막전압(resting membrane potential)의 유지에 우선적으로 작용하는 K^+ 전류이다. I_{kl} 의 억제는 이완기 탈분극(diastolic depolarization)을 일으키고 이는 심실근 세포의 흥분도

(cardiac excitability)를 증가시키며⁴² 이로 인하여 비정상적인 automaticity가 발생할 수 있다⁴³. I_{kl} 의 inward current의 이러한 작용 외에 outward component는 활동전위의 재분극의 끝부분의 형성에 영향을 미친다^{44,45}. 결과적으로 I_{kl} 의 억제제는 활동전위 기간의 연장을 일으키며 early afterdepolarization과 triggered dysrhythmia를 유발시킬 수 있다⁴³. 기니픽 심실근 및 세포에서 30 μM thiopental이 약간의 탈분극을 일으키며^{15,30}, 이는 쥐 유두근을 이용한 본 활동전위실험 결과에서도 관찰할 수 있었다. 또한 Park과 Lynch는¹⁵ 100 μM , Komai와 Rusy는⁴⁶ 75-114 μM 의 thiopental에서 automaticity를 관찰하였으며 이러한 결과는 thiopental에 의한 I_{kl} 의 억제가 주된 원인으로 생각된다.

기니픽 심실근 세포를 이용한 연구에서 10 μM thiopental이 $I_{Ca,L}$ 을 11%, 100 μM 은 17% 감소시키며¹⁶, 동일한 기니픽 심실근 세포에서 Martynuk 등은³⁴ 50 μM thiopental, Pancrazio 등은³⁰ 30 μM thiopental이 $I_{Ca,L}$ 에 별다른 영향이 없음을 보고하였다. Supan 등은³¹ 30 및 60 μM thiopental에서 각각 17% 및 28%의 감소를 보고하였다.

심근 세포의 활동전위 기간은 세포막을 통과하는 내향전류와 외향전류 상호간의 균형에 의해 결정되며, 이러한 균형의 변화에 따라 활동전위 기간이 단축 혹은 연장될 수 있다. 기니픽의 우심실 유두근을 이용한 연구에서 30 및 100 μM thiopental이 투여 농도에 비례하여 정상 및 완서 활동전위(slow action potential) 기간을 연장시키며¹⁵, 토끼¹⁶ 및 개의¹⁸ 유두근에서도 활동전위 기간을 연장시키는 효과가 있음이 보고되었다. 기니픽에서 Langendorff preparation을 이용한 monophasic 활동전위 연구에서 10 및 25 μM thiopental은 MAPD_{90} 를 연장시킨다³². 기니픽의 심실근 세포에서 thiopental 1 μM 은 APD_{20}

및 APD₉₀에 영향을 미치지 않으나, 10 μ M에서는 APD₂₀의 변화없이 APD₉₀가 연장되는 것을 관찰할 수 있으며, 50 및 100 μ M 농도에서는 연장되었던 APD₉₀을 대조치 쪽으로 단축시키는 효과가 있다고 하였다¹⁶. Martynuk등은³⁴ 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 마취유도시 thiopental의 투여가 성인^{10,12,13} 및 소아에서^{11,14} QTc interval의 연장을 일으킨다는 보고와 일치하고 있다.

V. 결론

쥐 심근세포에서 활동전위의 연장 효과는 I_{to} 및 I_{k1}의 억제에 의한 것으로 생각되며 쥐 심근 세포에서 I_{to}의 current density가 매우 높은 점을 고려해 볼 때 I_{to}의 억제가 활동전위의 연장에 주된 원인으로 생각된다. Ca²⁺ 내향전류의 감소에도 불구하고 심근 수축의 변화가 없었던 것은 thiopental의 I_{to} 및 I_{k1} 억제 효과가 Ca²⁺ 내향전류의 감소로 인한 활동전위의 단축 효과를 상쇄시켜 세포내로의 Ca²⁺ 유입을 증가시키기 때문인 것으로 생각된다.

참고문헌

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; 256:2985-2987.
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; 26:424-427.
4. Medak R, Benumof JL. Perioperative management of the prolonged Q-T interval syndrome. *Br J Anaesth* 1983; 55:361-364.
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; 64:612-620.
7. Schmelling WT, Warltier DC, McDonald DJ, Madsen KE, Atlee JL, Kampine JP. Prolongation of the QT interval by enflurane, isoflurane, and halothane in humans. *Anesth Analg* 1991; 72:137-144.
8. Owitz S, Pratilas V, Pratila MG, Dimich I. Anaesthetic considerations in the prolonged Q-T interval (LQTS): A case

- report. *Can Anaesth Soc J* 1979; 26:50-54.
9. Simons FE, Simons KJ. The pharmacology and use of H₁-receptor-antagonist drugs. *N Engl J Med* 1994; 330:1663-1670.
 10. McConachie I, Keaveny JP, Healy TE, Vohra S, Million L. Effect of anaesthesia on the QT interval. *Br J Anaesth* 1989; 63:558-560
 11. Wilton C, Hantler C. Congenital long QT syndrome: changes in QT interval during anesthesia with thiopental, vecuronium, fentanyl and isoflurane. *Anesth Analg* 1987; 66:357-360.
 12. Saarnivaara L, Klemola UM, Lindgren L, Rautianen P, Suvanto A. QT interval of the ECG, heart rate and arterial pressure using propofol, methohexital or midazolam for induction of anaesthesia. *Acta Anaesthesiol Scand* 1990; 34:276-281.
 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; 70:306-310.
 14. Saarnivaara L, Hiller A, Oikkonen M. QT interval, heart rate and arterial pressures using propofol, thiopentone or methohexitone for induction of anaesthesia in children. *Acta Anaesthesiol Scand* 1993; 37:419-423.
 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 guineapig ventricular myocytes. *Br J Anaesth* 1996; 77:508-516.
 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; 3:554-565.
 18. Ikemoto Y. Reduction by thiopental of the slow-channel mediated action potential of canine papillary muscle. *Pflügers Arch* 1977; 372:285-286.
 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:H3-H13.
 21. Coraboeuf E. Ionic basis of electrical activity in cardiac tissues. *Am J Physiol* 1978; 234:H101-H116.
 22. Witchel HJ, Hancox JC. Familial and acquired long qt syndrome and the cardiac rapid delayed rectifier potassium current. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2000; 27:753-766.
 23. Josephson IR, Sanchez-chapula J, Brown AM. Early outward

- current in rat single ventricular cells. *Circ Res* 1984; 54:157-162.
24. Litovsky SH, Antzelevitch C. Transient outward current prominent in canine ventricular epicardium but not endocardium. *Circ Res* 1988; 62:116-126.
 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; 67:1287-1291.
 26. Giles W, Shimoni Y. Comparison of sodium-calcium exchanger and transient inward currents in single cells from rabbit ventricle. *J Physiol (Lond)* 1989; 417:465-481.
 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; 73:386-394.
 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; 254:560-569.
 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; 265:358-365.

31. Supan DF, Buljubasic N, Berczi V, Marjic J, Kampine JP, Bosnjak ZJ. Comparative effects of ketamine and thiopental on calcium and potassium currents in isolated canine ventricular cells. *Anesthesiology* 1993; A389.
32. Morey TE, Martynuk 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; 87:1172-1181.
33. Carnes CA, Muir WW 3rd, Van Wagoner DR. Effect of intravenous anesthetics on inward rectifier potassium current in rat and human ventricular myocytes. *Anesthesiology* 1997; 87:327-334.
34. Martynuk 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; 90:156-164
35. 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.
36. 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.

37. Burch PG, Stanski DR. The role of metabolism and protein binding in thiopental anesthesia. *Anesthesiology* 1983; 58:146-152.
38. Becker KE. Plasma levels of thiopental necessary for anesthesia. *Anesthesiology* 1978; 49:192-196.
39. Coraboeuf E, Cameliet E. Existence of two transient outward currents in sheep cardiac Purkinje fibers. *Pflügers Arch* 1982; 392:352-359.
40. 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:H142-148.
41. Wetter E, Amos G, Gath J, Zerkowski H, Reidemeister J, Ravens U. Transient outward current in human and rat ventricular myocytes. *Cardiovas Res* 1993; 27:1662-1669.
42. Nichols CG, Makhina EN, Pearson WL, Sha Q, Lopatin AN. Inward rectification and implications for cardiac excitability. *Circ Res* 1996; 78:1-7.
43. The Sicilian Gambit. A new approach to the classification of antiarrhythmic drugs based on their actions on arrhythmogenic mechanisms. Task Force of the Working Group on Arrhythmias of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 1991; 12: 1112-31.
44. Kass RS, Freeman LG. Potassium channels in the heart: cellular, molecular, and clinical implications. *Trends Cardiovasc Med* 1993; 3:149-159.

45. 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; 486:647-659.
46. Komai H, Rusy BF. Calcium and thiopental-induced spontaneous activity in rabbit papillary muscle. *J Mol Cell Cardiol* 1986; 18:73-79.

Abstract

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

Myung Hee Kim

*Department of Medical Science
The Graduate School, Yonsei University*

(Directed by Professor Wyun Kon Park)

Patients with the long QT syndrome, either congenital or acquired, have an increased risk of a serious ventricular arrhythmia, called 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 inwardly rectifying (I_{kl}) K^+ currents at various animal myocardial preparations. The rat ventricular cells were used to study the contribution of transient outward current (I_{to}) and I_{kl} because they possess a variety of K^+ channel subtypes including I_{to} and I_{kl} 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.

With approval of the animal research committee in Yonsei University Medical College, isolated ventricular cells were obtained from enzymatically treated rat heart. The $I_{Ca,L}$ was elicited from a holding potential of -40 mV to +60 mV under the normal Tyrode solution. The I_{kl} and I_{to} was obtained from a holding potential of

-40 mV before their membrane potential was changed from -130 to +50 mV. I_{k1} was also measured by voltage steps from -140 to -40 mV in 20 mV increments. The holding potential was -50mV. 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_{to} was measured as the peak current. The $I_{Ca,L}$ was blocked by adding 0.5 mM $CdCl_2$ during measurement of I_{to} . The contractile force was measured using papillary muscles and action potential was measured using conventional microelectrode technique.

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_{k1} to $87 \pm 2\%$ of control at a test potential of -120 mV, $I_{Ca,L}$ was significantly reduced to $57 \pm 5\%$ of control. 50 μ M thiopental did not alter the contractile force. The APD_{90} was prolonged by 76% following application of 50 μ M thiopental. The results are mean \pm SEM.

Conclusion: Prolongation of APD induced by thiopental is likely to be attributed to the reduction of I_{to} and I_{k1} . Considering the high current density of I_{to} in rat ventricular myocytes, inhibition of I_{to} seems to be the main cause. It may suggest that inhibition of I_{to} and I_{k1} counteracts the shortening of APD by moderate reduction of $I_{Ca,L}$, resulting in enhancement of Ca^{2+} current, which may result in maintenance of contractile force under thiopental

Key Words : Thiopental, rat, ventricular myocytes, I_{to} , I_{k1} , action potential.