

흡입 마취제인 Sevoflurane의
QT interval 연장 효과에 대한
전기생리학적인 연구: 쥐 심실근
세포에서의 K^+ 전류에 미치는 영향

연세대학교 대학원

의 과학과

채 지 은

흡입 마취제인 Sevoflurane의
QT interval 연장 효과에 대한
전기생리학적인 연구: 쥐 심실근
세포에서의 K^+ 전류에 미치는 영향

지도교수 박 윤 곤

이 논문을 석사학위 논문으로 제출함

2005 년 12 월 일

연세대학교 대학원

의 과 학 과

채 지 은

채지은의 석사 학위논문을 인준함

심사위원 _____ 박 윤 곤 _____ 인

심사위원 _____ 임 중 우 _____ 인

심사위원 _____ 민 경 태 _____ 인

연세대학교 대학원

2005 년 12 월 일

감사의 글

먼저 부족한 저에게 배움의 길을 열어 주시고 바쁘신 와중에도 논문을 완성할 수 있도록 이끌어 주신 박윤곤 교수님께 깊은 감사를 드립니다. 학문에 대한 끊임없는 열정을 보여주심으로 저의 인생의 지도를 다시 쓰게 해주셨습니다. 학문적으로 한 계단 뛰어 오를 수 있도록 도와주신 생리학 교실의 안덕선 선생님, 그리고 옆에서 항상 격려의 말씀을 아끼시지 않았던 민경태 선생님, 박세연 선생님께도 또한 감사드립니다.

학문은 제게 또 다른 세계를 보여주는 설레는 과정이었으며, 실험은 저를 끊임없이 관찰하고 생각하게 만들었습니다. 하지만, 공부하면서 무엇보다도 좋은 분들과 함께 할 수 있었다는 것이 큰 행운이었습니다. 함께 해주신 분들 속에서 더욱더 많은 것을 배울 수 있었기 때문입니다.

실험실 동기이자 저의 든든한 후원자인 주민언니, 지금은 멀리 있지만 저를 항상 따뜻하게 대해줬던 명희언니, 정남언니, 은신언니에게도 감사의 마음을 전하고 싶습니다. 특히, 실험실 생활이 어려울 때마다 끝까지 저에게 힘이 되어 주었던 명희언니에게 깊은 감사를 드립니다. 세상을 넓게 볼 줄 아는 눈으로 언제나 저의 고민을 명쾌하게 풀어주셨던 김은정 선생님, 따뜻함으로 저를 보살피 주셨던, 지금 박사과정에 계신 조윤희 선생님, 위로의 말 한마디로 저를 달래주었던 건옥언니, 옆에서 묵묵히 힘이 되어 주었던 예림, 희진에게도 감사의 마음을 전하고 싶습니다. 어려운 시기를 같이 걸어온 동기 명훈오빠, 지수오빠, 후배 덕균오빠, 은진, 나영, 영은에게도 고마움을 전합니다. 은근한 따뜻함으로 감동을 주던 수진, 실수 많은 저에게 항상 너그럽게 대해 주셨던 선배 세정언니, 은희언니, 어려울 때 도움이 되어 주셨던 진환오빠에게도 감사드립니다.

언제나 멀리서 저를 응원해 줬던, 보석같이 빛나는 친구 인경, 학위과정의 어려움을 이해해주고 항상 조언을 해줬던 지선, 지원, 그리고 논문 교정을 봐주는 수고를 아끼지 않았던, 오랜 친구 창겸에게도 고마움을 전합니다.

무엇보다도 학업을 계속할 수 있게 도와주신 부모님께 깊은 감사를 드리며, 이해심 많은 동생 정은에게도 고마움을 전합니다.

마지막으로 많이 부족한 저에게 학업의 기회를 주신 하느님께 진심으로 감사드립니다.

저자 씀

차례

국문 요약	1
I. 서론	3
II. 재료 및 방법	6
1. 쥐의 심실근 세포분리	6
2. 전기생리학적인 실험	6
가. 세포 외액 및 내액의 구성	7
나. Voltage Clamp Protocol	8
(1) 활동전위	8
(2) I_{to}	8
(3) I_{sus}	8
(4) I_{tossi}	9
(5) I_{k1}	9
(6) $I_{Ca, L}$	9
3. 투여 약물의 종류, 사용 농도 및 투여 방법	9
4. 자료 검증 방법	10
III. 결과	11
IV. 고찰	19
V. 결론	24
참고문헌	25
영문요약	32

그림 차례

Fig. 1. Effect of sevoflurane (SEVO) on action potential duration in a rat ventricular myocyte	13
Fig. 2. Effects of sevoflurane (SEVO) on transient outward K^+ currents (I_{to}) in rat ventricular myocytes	14
Fig. 3. Effect of sevoflurane (SEVO) on sustained outward K^+ currents (I_{sus}) in a rat ventricular myocyte	15
Fig. 4. Steady-state inactivation of I_{to} in rat ventricular myocytes	17
Fig. 5. Effect of sevoflurane (SEVO) on inwardly rectifying K^+ current (I_{kl}) in rat ventricular myocytes	18
Fig. 6. Effect of sevoflurane (SEVO) on L-type Ca^{2+} current ($I_{Ca, L}$) in rat ventricular myocytes	19

표 차례

Table 1. Effects of sevoflurane (SEVO) on action potential characteristics in isolated rat ventricular myocytes	12
---	----

국문요약

흡입 마취제인 Sevoflurane의 QT interval 연장 효과에 대한
전기생리학적인 연구: 쥐 심실근 세포에서의 K^+ 전류에 미치는 영향

최근 임상에서 사용하기 시작한 sevoflurane (SEVO)은 halogenated ether계통의 흡입 마취제로서 다른 흡입 마취제에 비하여 매우 낮은 혈액-가스 용해도(0.686)를 보이며, 마취 유도 및 각성이 다른 흡입 마취약제에 비해 빠르고, 냄새가 거부감이 없어 외래 마취 및 소아마취에 매우 효과적으로 사용되고 있다.

SEVO는 성인 및 소아의 심전도 상에서 QT interval을 연장시키는 데 반해, 동물실험에서는 활동전위 기간을 증가 또는 감소시킨다는 상반된 보고가 있어 왔다. 기니 피크의 심실근 세포를 이용한 전기생리학적인 연구에서 SEVO는 delayed outward K^+ current (I_k)를 감소시키는 반면, inwardly rectifying K^+ current (I_{k1})에는 영향이 없는 것으로 보고 되었다. 이러한 전류 외에 사람의 심실근 세포에는 transient outward K^+ current (I_{t0})가 존재하며, 이는 I_{k1} 과 더불어 쥐와 사람의 심실근 세포에서 재분극에 관여하는 주된 K^+ 전류로 알려져 있다. 현재 I_{t0} 에 대한 SEVO의 영향은 밝혀져 있지 않으며, I_{t0} 의 전기생리학적인 특성(kinetics)은 두 종간에 매우 유사한 것으로 보고된 바 있다.

Langendorff장치와 효소를 이용하여 쥐의 심실근세포를 분리 후 current clamp technique를 이용하여 활동전위를 측정하였으며, patch clamp 기법을 사용하여 I_{t0} 의 peak K^+ current, sustained K^+ current (I_{sus}), I_{k1} 및 L-type Ca^{2+} current ($I_{Ca, L}$)에 대한 영향을 평가하였다. I_{t0} 의 kinetics로서 막전압의 변화에 따른 불활성화(steady-state inactivation)를 평가하였다.

1.94% (0.32 mM) 및 3.95% (0.65 mM) SEVO는 심실근 세포의 활

동전위 크기 및 휴지막전위에 영향을 미치지 않았으나, 50 및 90%에서의 활동전위 기간(APD_{50} , APD_{90})의 유의 있는 연장을 보였다. +60 mV에서 측정된 I_{to} 의 peak current는 1.94% SEVO에서 대조군에 비해 $18 \pm 2\%$ (mean \pm SEM), 3.95% SEVO에서 대조군에 비해 $24 \pm 2\%$ 감소하였으며, 두 투여 농도간의 차이는 없었다. I_{sus} 는 3.95% SEVO 투여 시에도 거의 변화하지 않았으며 I_{to} 의 inactivation curve 또한 대조군과 차이를 보이지 않았다. 1.94% 및 3.95% SEVO는 I_{k1} 에 영향을 미치지 않았다. $I_{Ca, L}$ 은 1.94% SEVO에서 $28 \pm 3\%$, 3.95% SEVO에서 $33 \pm 1\%$ 감소하였으며, 두 투여 농도간의 차이는 없었다. 쥐 심실근세포에서 활동전위 기간의 연장 효과는 I_{to} 의 억제에 의한 것으로 생각된다. I_{to} 의 전류밀도가 $I_{Ca, L}$ 에 비하여 매우 크므로 I_{to} 의 억제에 의한 활동전위 기간의 연장 효과가 $I_{Ca, L}$ 의 감소에 의한 활동전위 기간의 감소 효과를 상쇄시켰을 것으로 생각된다. SEVO 투여 시 활동전위에서 휴지막전위의 변화가 없었던 것은 I_{k1} 에 영향이 없었기 때문인 것으로 생각된다.

핵심 되는 말 : sevoflurane, rat, ventricular myocytes, action potential, transient outward K^+ current, inwardly rectifying K^+ current, L-type Ca^{2+} current

흡입 마취제인 Sevoflurane의 QT interval 연장 효과에 대한
전기생리학적인 연구: 쥐 심실근 세포에서의 K^+ 전류에 미치는 영향

<지도교수 박 윤 곤>

연세대학교 대학원 의과학과

채 지 은

I. 서 론

새로운 halogenated ether계통의 흡입마취제로서 최근 임상에서 사용하기 시작한 sevoflurane (SEVO)은 현재 사용되고 있는 halogenated ether계통의 흡입 마취제인 enflurane, isoflurane 등에 비해 매우 낮은 혈액-가스 용해도(blood/gas solubility, 0.686)를 보임으로서, 마취 유도 및 각성이 다른 흡입 마취약제에 비해 빠르고 특히 약제의 냄새가 거부감이 없어 빠른 각성 및 유도가 요구되는 외래 마취 및 소아 마취에 매우 효과적으로 사용되고 있다^{1,2}.

그간의 임상 연구에서 SEVO는 수술을 받는 정상 환자에서 QTc interval을 연장시키는 효과가 있으며³⁻⁶, 또한 Gallagher 등은⁷ 선천성 LQTS가 있는 17세 여자 환자에서 SEVO 투여 시 QT interval이 더욱 연장되는 것을 관찰하였다.

동물의 심근세포를 이용한 전기생리학적인 연구에서 Park 등⁸ 및 Shibata 등은⁹ 기니 픽 심근 절편에서 SEVO가 활동전위 기간을 연장시키는 효과가 있음을 관찰하였다(심전도 상의 QT interval은 심실근 세포의 활동전위 기간과 일치). 이에 반하여 Azuma 등은¹⁰ 동일한 기니 픽 심근 절편을 사용하였음에도 불구하고 활동전위 기간을 단축시

키는 상반된 결과를 관찰하였으며, 이와 같은 단축 현상은 개의 심실근 세포를 이용한 Hatakeyama 등¹¹ 및 쥐 심실근 세포를 이용한 Rithalia 등¹²의 연구에서도 관찰되었다.

심근 세포의 활동전위 기간은 세포막을 통과하는 내향전류 및 외향전류의 상호간의 균형에 의해 결정되며, 이러한 균형의 변화에 따라 활동전위 기간이 단축 혹은 연장될 수 있다^{13,14}. 심실근 세포의 초기 재분극 시기(early repolarization phase)는 transient outward K^+ current (I_{to})의 활성화에 의해 형성된다. 즉, 활동전위의 초기 재분극 시기인 phase I 및 plateau phase의 초반은 I_{to} 에 의해 결정되며, plateau phase는 주로 L-type Ca^{2+} current ($I_{Ca, L}$)에 의해 결정된다. Plateau phase가 끝날 무렵에 delayed outward K^+ current (I_k)는 심실근 세포의 재분극에 관여하고, inwardly rectifying K^+ current (I_{kl})는 활동전위의 마지막 재분극 시기의 조절을 담당하며¹³ 또한 휴지막전위(resting membrane potential)를 유지시키는 역할을 한다(심실근 세포의 활동 전위에서의 phase 4). 따라서, I_{kl} 이 억제되면 휴지 막전위가 탈분극 되는 현상을 보이며 또한 활동전위 기간이 연장된다. 쥐의 심실근 세포에서 재분극에 관여하는 전류로는 I_{to} , $I_{Ca, L}$ 및 I_{kl} 등이 있다. 앞서 언급하였던 기니 픽 심실근 세포를 이용한 전기생리학적인 연구에서 Park 등은⁸ SEVO가 투여 농도에 비례하여 I_k 를 억제시키는 효과가 있으나, I_{kl} 의 inward 및 outward component에는 영향을 보이지 않는 점으로 보아 기니 픽 심실근 세포에서 SEVO의 활동전위 연장 효과는 I_k 의 억제 때문이라고 생각하였다. Stadnicka 등은¹⁵ 기니 픽 심실근 세포에서 SEVO의 I_{kl} 에 대한 연구에서 SEVO가 막전압 -80 mV 이하에서 I_{kl} 의 inward component를 감소시키며(0.75 mM: $\sim 20\%$), $-80 \sim 0$ mV 사이에서 관찰할 수 있는 I_{kl} 의 outward component는 증가시키는(0.75 mM: $\sim 12\%$) 효과를 보고하였다. Rithalia 등은¹² 쥐 심실근 세포에서 SEVO가 I_{to} 에 대한 영향은 없으나, $I_{Ca, L}$ 은 감소시킴으로서($\sim 12\%$) 활동전위 기간을 감소시키는 것으

로 생각하였다. 이와 같이, SEVO에 대한 전기생리학적인 연구는 연구자에 따라 동일한 포유류의 심실근 및 세포를 이용하였음에도 불구하고 활동전위 기간과 재분극의 후반부에 영향을 미치는 I_{K1} 에 대해 다른 결과를 보고하고 있으며, 특히 재분극에 중요한 역할을 담당하는 I_{to} 에 대한 연구는 거의 되어 있지 않다. 쥐의 심실근 세포를 이용한 본 연구에서 SEVO가 활동전위에 미치는 영향을 재확인하고, 아울러 재분극에 관여하는 전류인 I_{to} , I_{K1} 및 $I_{Ca, L}$ 에 대한 평가를 통해 이들 전류가 활동전위에 미치는 영향을 알아보고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 쥐의 심실근 세포분리

250~300g의 수컷 쥐(Sprague-Dawley)를 enflurane으로 흡입 마취 시킨 상태에서, 꼬리정맥으로 heparin(2500 I.U.)을 투여한 후 심장을 적출하였다. O₂를 포화시킨 실온의 정상 Tyrode용액(mM: 143 NaCl, 5.4 KCl, 1.8 CaCl₂, 0.5 MgCl₂, 5 HEPES, 0.18 glucose, pH 7.4)에 잠시 담가두어 심장내의 혈액을 배출시킨 뒤 4°C의 냉각 정상 Tyrode용액에 넣어 심박동을 멈추게 하였다. 이 상태에서 상행 대동맥을 박리한 후 Langendorff 관류장치에 현수한 다음 37°C의 정상 Tyrode용액으로 약 5분간 역관류시켰고, Ca²⁺-free Tyrode용액으로 다시 5분간 순환시켰다(flow rate: 7 ml/min). 이후, Ca²⁺-free Tyrode용액에 녹인 collagenase (0.6~0.7 mg/ml, Worthington type II, Worthington Biochemical Corporation, Lakewood NJ, USA)와 hyaluronidase (0.4 mg/ml, Sigma type II, Sigma-Aldrich Co., Mo, USA)를 10-14분간 순환시키면서 심장이 물렁물렁해지는 것을 관찰하였다. 이후 약 5분간 KB 용액(mM: 70 KOH, 50 L-glutamic acid, 50 KCl, 20 Taurine, 20 KH₂PO₄, 3 MgCl₂, 20 glucose, 5 HEPES, 0.5 EGTA, 5 Na₂ATP, 5 Pyruvic acid, pH 7.4)으로 순환시킨 다음 양측 심실을 절제하였다. 절제한 심근을 따로 KB용액에 넣고 Pasteur pipette으로 여러 번 흔들어 조직을 분해 시킨 후, 200 μm nylon mesh로 걸러 내었다. KB용액에 담겨져 있는 심근 세포를 4°C의 온도에 1시간 동안 보관 후 8시간 이내에 사용하였으며, 2 mM CaCl₂에 노출 시 수축을 보이지 않고 striation이 뚜렷한 세포를 골라 실험하였다.

2. 전기생리학적인 실험

분리된 심근 세포는 inverted microscope위에 얹혀 있는 chamber에

놓고 10분간 바닥에 가라 앉혀 고정시킨 후 whole cell mode로 각각의 전류를 측정하였다¹⁶. Axopatch 200B Patch Clamp Amplifier (Axon instruments, Foster city, CA, USA)를 사용하였으며, patch electrode는 borosilicate glass (KIMAX, American scientific, Charlotte, NC, USA)를 사용하였다. Two stage micropipette puller (PP-83, Narishige Co. Ltd, Setagaya-ku, Tokyo, Japan)를 이용하여 첨단의 저항이 2~3 MΩ인 전극을 만들어 사용하였다. 모든 실험은 실온도 (20~22°C)에서 시행하였다. Whole cell mode가 되면 4~6분간 기다려 안정 상태가 된 후 실험을 시행하였으며, chamber에서 용액의 관류량은 분당 2 ml로 하였다. Data acquisition은 version 6.0.3 pClamp system (Axon instruments)을 장착시킨 IBM-compatible Pentium III personal computer를 사용하였다.

가. 세포 외액 및 내액의 구성

세포의 외액으로는 다음과 같은 구성의 modified Tyrode용액(mM: 140 NaCl, 5.4 KCl, 1 CaCl₂, 1 MgCl₂, 5 HEPES, 10 glucose, 1 N NaOH로 pH를 7.4로 조절)을 사용하였으며, Ca²⁺ 내향전류의 억제가 필요한 경우, 0.2 mM CdCl₂를 첨가하였다. K⁺ 전류의 측정 시 patch pipette 충만 용액으로는 다음과 같은 구성의 용액(mM: 20 KCl, 110 K-aspartate, 10 EGTA, 10 HEPES, 1 MgCl₂, 5 K₂ATP, 1 CaCl₂, 10 NaCl, 3 N KOH로 pH를 7.2로 조절)을 사용하였다. Sustained outward K⁺ current (I_{sus})를 측정 시 modified Tyrode용액에 I_{to}의 선택적 차단제인 5 mM 4-aminopyridine을 첨가하여 사용하였다. I_{Ca, L}은 modified Tyrode 용액의 관류상태에서 whole cell mode을 하고 나서 다음과 같은 구성의 용액(mM: 140 NaCl, 5.4 CsCl, 2 CaCl₂, 1 MgCl₂, 10 HEPES, CsOH로 pH 7.4로 조절)으로 관류 후 측정하였으며, 이때 patch pipette 충만 용액으로는 다음과 같은 구성의 용액(mM: 30 CsCl, 100 aspartic acid, 100 CsOH, 10 BAPTA, 10

HEPES, 10 phosphocreatinine, 1 Na₂GTP, 5 Na₂ATP, 10 glucose, 2 MgCl₂, CsOH로 pH 7.2로 조절)을 사용하였다.

나. Voltage Clamp Protocol

(1) 활동전위

Patch pipette 충전 용액으로는 K⁺ 전류 측정 시의 용액을, 세포의 용액으로는 modified Tyrode 용액을 사용하였으며, current clamp mode를 시행하였다. 5 ms동안 1 Hz의 자극회수로 800 pA의 전류를 주입하였다.

(2) I_{to}

막전위를 -80 mV로 고정한 후 Na⁺ 내향 전류를 불활성화 (inactivation)시키기 위해 50 ms동안 -40 mV의 prepulse를 가한 다음 -40 mV에서 +60 mV까지 300 ms동안 5초 간격으로 10 mV씩 step pulse를 증가시켜 가면서 측정하였다. 이러한 조건하에서 막전류는 처음에 capacitative current가 발생한 후 즉시 outward direction으로 K⁺ 전류가 나타나게 된다. -40 mV에서 +60 mV까지 10 mV씩 증가시켜 가면서 depolarizing pulse를 가하였으며 전류의 모양은 초기 peak current가 나타난 후 점차적으로 감소하여 plateau current 보이게 된다.

(3) I_{sus}

막전위를 -80 mV로 고정시킨 상태에서 Na⁺ 내향전류를 불활성화 (inactivation)시키기 위하여 50 ms동안 -40 mV의 prepulse를 가한 후 -40 mV에서 +60 mV까지 5초 간격으로 10 mV씩 step pulse를 증가시켜 가면서 측정하였다. Depolarizing pulse의 기간은 I_{to} 측정 시와 동일하게 300 ms로 하였다.

(4) Steady-state inactivation of I_{to} ($I_{to\text{ssi}}$)

SEVO의 I_{to} 에 대한 억제 효과가 steady state inactivation curve의 이동과 관련이 있는지를 알아보기 위해 이 실험을 시행하였다. 막전위를 -80 mV로 고정시킨 상태에서 -100 mV에서 0 mV까지 500 ms 동안 2 초 간격으로 10 mV씩 증가시키는 step pulse를 적용한 다음, 각각의 step pulse에서 $+80$ mV의 pulse를 가하여 측정하였다. 불활성화(inactivation)의 정도는 I/I_{max} 비율로 측정하였으며, I 는 -100 mV에서 0 mV까지 각각의 두 번째 step pulse에서 측정된 I_{to} 의 크기이며, I_{max} 는 -100 mV에서 측정된 I_{to} 의 크기로 하였다. 얻어진 결과는 Boltzmann distribution ($I/I_{\text{max}} = 1/\{1 + \exp[(V_{1/2} - V_m)/S]\}$, V_m : membrane voltage, $V_{1/2}$: the voltage at half-maximal inactivation. S: slope)에 적용하였다.

(5) I_{k1}

50 ms동안 -40 mV로 Na^+ 전류를 불활성화(inactivation)시킨 상태에서 막전압을 -130 mV로부터 0 mV까지 200 ms동안 5 초 간격으로 10 mV씩 step pulse를 증가시켜 가면서 측정하였다.

Ca^{2+} 내향전류는 50 ms동안 -40 mV를 고정 막전압으로 하여 Na^+ 전류를 불활성화 시킨 상태에서 -40 mV에서 $+50$ mV까지 200 ms동안 5 초 간격으로 10 mV씩 step pulse를 증가시켜 가면서 측정하였다.

(6) $I_{Ca, L}$

SEVO가 시간에 따른 $I_{Ca, L}$ 에 미치는 영향을 관찰하기 위해 -40 mV를 고정 막전압으로 하여 Na^+ 전류를 불활성화 시킨 상태에서 0 mV로 200 ms동안 0.1 Hz의 자극 하에 측정하였다.

3. 투여 약물의 종류, 사용 농도 및 투여 방법

SEVO (Abbott Laboratories, Queenborough, UK)는 기화기

(Sevotec 3, Ohmeda, West Yorkshire, UK)를 통해 100% O₂를 gas dispersion tube를 이용하여 분당 0.25 L의 유량으로 관류액인 modified Tyrode 용액에 용해시켰다. SEVO의 투여 농도는 기화기의 출구에 호기말 이산화탄소 및 마취가스 분석기(Capnomac, Datex, Helsinki, Finland)를 부착하여 일정 농도가 나오도록 기화기를 보정 (calibration)한 후 사용하였다. Gas chromatography를 이용하여 각 투여 농도에서 관류 용액이 담겨있는 용기 내의 농도를 측정하였다. SEVO 1.7% 투여 시 용기내의 농도는 0.32 ± 0.04 mM (n = 2), SEVO 3.4% 투여 시 0.65 ± 0.02 mM (n = 3)이었다. 22 °C에서 Normal Tyrode/gas 분배계수는 0.40이므로 이를 계산하여 보면 실온에서 0.32 mM은 1.94%, 0.69 mM은 3.95%에 해당하게 된다.

대조군의 측정 후 약제 투여시간 및 세척 시간은 각각 2분으로 하였다. 대조치의 측정 후 1.94% 또는 3.95% SEVO 투여 시의 억제 및 세척 후의 회복정도를 측정하였다.

4. 자료 검증 방법

모든 수치는 mean \pm SEM으로 표시하였으며, P값이 0.05미만인 경우를 통계적인 의의가 있는 것으로 간주하였다. 대조군과 각 약물농도 투여군의 차이를 검증하기 위하여 repeated measure of ANOVA를 사용하였으며, 다중 비교로는 Student-Newman-Keuls test를 사용하였다. I_{to}, I_{kl} 및 I_{Ca L}에서 1.94%와 3.95% SEVO의 투여 효과에 대한 비교는 unpaired t-test를 사용하였다.

III. 결과

활동전위

1.94%(n = 6) 및 3.95%(n = 7) SEVO는 안정막 전위 및 활동전위의 크기에 영향을 미치지 않았으나, 활동전위 기간의 50 및 90% (APD₅₀, APD₉₀)에서 유의 있는 연장 효과를 보였다(Table 1) (Fig. 1).

I_{to}

1.94% SEVO는 +60 mV에서 측정된 I_{to}의 peak current를 대조군에 비해 18 ± 2% 감소시켰으며(n = 7, P < 0.05) (Fig. 2D), 세척 후 대조치로 회복되었다. 1.94% SEVO는 +60 mV에서 I_{to}의 plateau current를 10 ± 3% 감소시켰으며(P < 0.05), 세척 후 대조치로 회복되는 것을 관찰할 수 있었다.

3.95% SEVO는 +60 mV에서 측정된 I_{to}의 peak current를 대조군에 비해 24 ± 2% 감소시켰으며(n = 11, P < 0.05) (Fig. 2A-D), 세척 후 대조치로 회복되었다. 3.95% SEVO는 +60 mV에서 I_{to}의 plateau current를 10 ± 2% 감소시켰으며(P < 0.05) (Fig. 2C), 세척 후 회복되었다. I_{to}의 peak와 plateau current에서 두 투여 농도 사이에 차이는 없었다. SEVO 1.94% 및 3.95% 투여 군에서 I_{to}의 peak current의 대조치는 각각 3.82 ± 0.54 nA 및 3.64 ± 0.30 nA였으며, plateau current의 대조치는 각각 1.51 ± 0.12 nA 및 1.52 ± 0.10 nA였다

I_{sus}

I_{to}에서(Fig. 3A) 5 mM 4-aminopyridine을 투여 시 I_{sus}만을 관찰할 수 있었다(Fig. 3B). 3.95% SEVO 투여 시 변화를 보이지 않았으며(n = 6, NS) (Fig. 3C), 세척 후 대조치로 회복되었다. 대조치는 1.31 ± 0.12 nA였다.

Table 1. Effects of Sevoflurane (SEVO) on Action Potential Characteristics in Isolated Rat Ventricular Myocytes

	RMP, mV	AMP, mV	APD ₅₀ , ms	APD ₉₀ , ms
1.94% SEVO (n = 6)				
Control	-74 ± 2	130 ± 5	5.52 ± 1	19.56 ± 2
1.94% SEVO	-74 ± 3	127 ± 6	6.87 ± 1 *	22.45 ± 2 *
Washout	-74 ± 3	128 ± 6	6.27 ± 1	20.24 ± 2
3.95% SEVO (n = 7)				
Control	-74 ± 2	134 ± 3	5.29 ± 0	18.49 ± 0
3.95% SEVO	-74 ± 2	128 ± 4	7.01 ± 1 *	25.58 ± 1 * †
Washout	-75 ± 3	129 ± 5	5.27 ± 0	17.02 ± 1

Values represent means ± SEM. RMP: resting membrane potential, AMP: action potential amplitude, APD₅₀ and APD₉₀: action potential duration measured at 50 and 90% of repolarization, respectively. * P < 0.05 differed from control and washout values. † P < 0.05 differed from 1.94% SEVO.

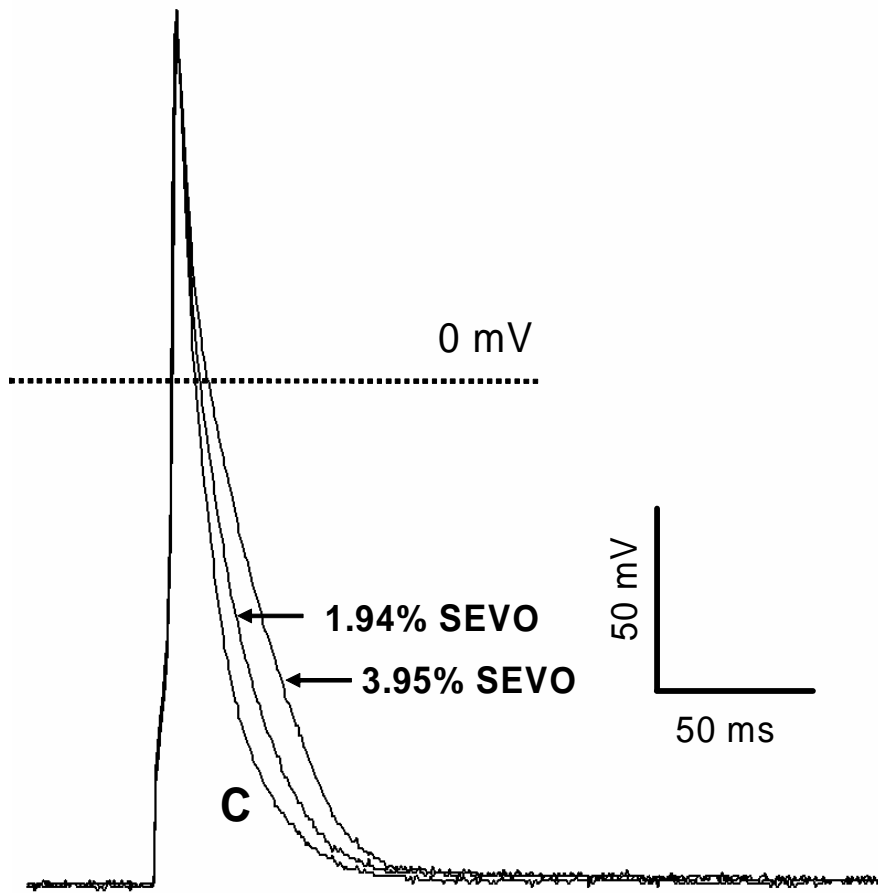


Fig. 1. Effect of sevoflurane (SEVO) on action potential duration in a rat ventricular myocyte. C represents control.

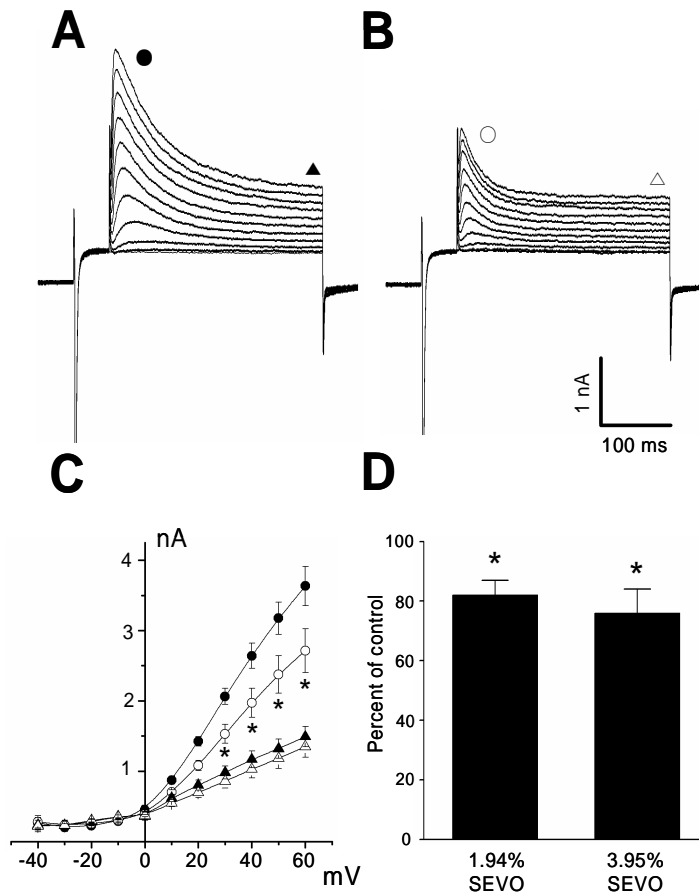
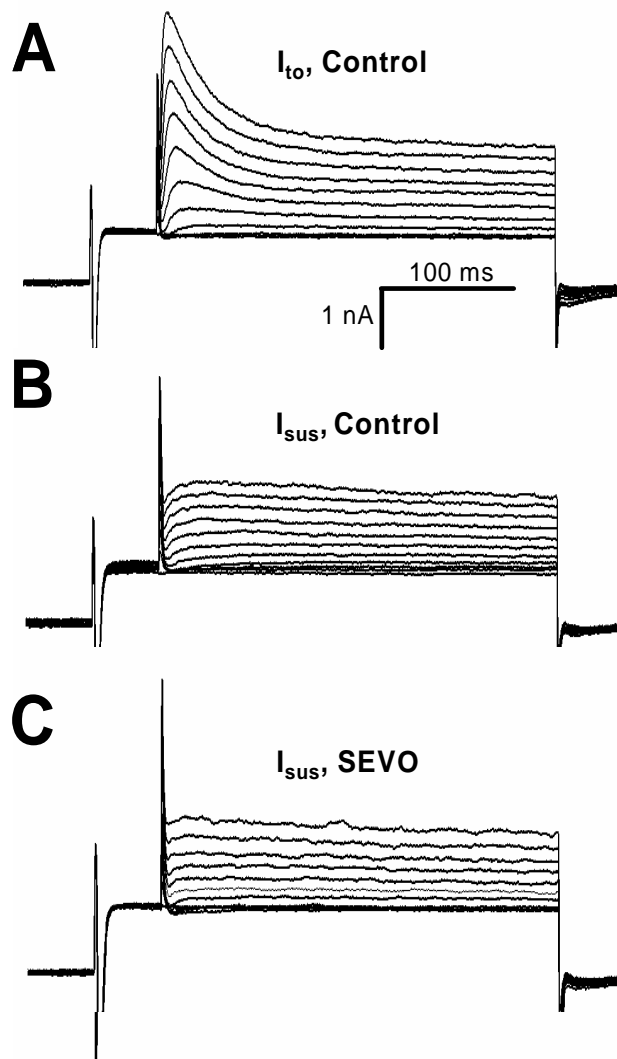


Fig. 2. Effects of sevoflurane (SEVO) on transient outward K⁺ currents (I_{t0}) in rat ventricular myocytes. (A, B) Recordings of control (A) and 3.95% SEVO (B) in a rat ventricular myocyte. (C) Current-voltage relationships of I_{t0}. Closed and open circles indicate the peak current of I_{t0} at every potential in the control and in the presence of 3.95% SEVO. Triangles are the current levels at the end of the test pulses before (closed) and after (open) application of 3.95% SEVO. (D) Effect of 1.94% and 3.95% SEVO on the amplitude of I_{t0}. * P < 0.05 vs. control. Error bars indicate mean ± SEM.



IFig. 3. Effect of sevoflurane (SEVO) on sustained outward K^+ currents (I_{sus}) in a rat ventricular myocyte. (A) A control recording of transient outward K^+ currents (I_{to}). (B) I_{sus} obtained following application of 5 mM 4-aminopyridine, a specific blocker of I_{to} . (C) After 3.95% SEVO exposure.

I_{tossi}

3.95% SEVO에서 I_{to}의 inactivation curve는 Boltzmann distribution을 보였으며, 대조군의 half inactivation (V_{1/2})은 -31.53 ± 0.68 mV, 3.95% SEVO 투여 시에는 -35.04 ± 0.84 mV로 두군 간의 차이를 보이지 않았으며(n = 4, NS) (Fig. 4B), 세척 후 대조치로 회복되었다.

I_{k1}

3.95% SEVO 투여 시 (Fig. 5A, B) -130 mV에서 측정된 I_{k1}은 대조군과 차이를 보이지 않았다(n = 7, NS). 두 투여 농도간의 차이는 없었으며, 세척 후 대조치로 회복되었다. 대조치는 -2.92 ± 0.25 nA였다.

I_{Ca, L}

+50 mV에서 1.94% 및 3.95% SEVO는 대조군에 비해 각각 $28 \pm 3\%$ (n = 8, P < 0.05), $33 \pm 1\%$ (n = 7, P < 0.05)로 감소시켰으며(Fig 6B), 세척 후 대조치로 회복되었다(Fig 6A). 두 투여 농도간의 차이는 없었다. 대조치는 SEVO 1.94% 및 3.95% 투여 군에서 각각 -0.75 ± 0.09 nA 및 -0.81 ± 0.20 nA였다.

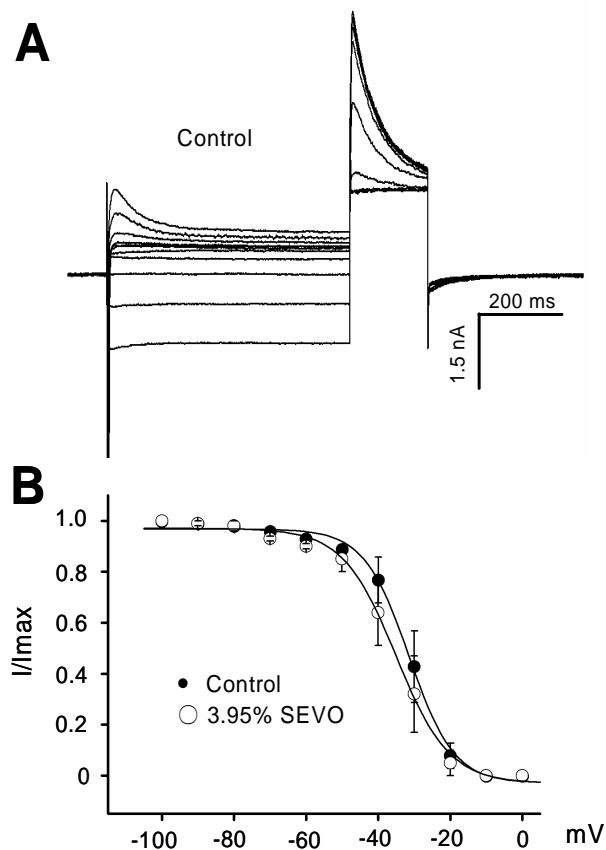


Fig. 4. Steady-state inactivation of I_{to} . (A) A representative control recording in a rat ventricular myocyte. Cells were clamped to a range of conditioning potentials from -100 to 0 mV followed by a test pulse to +80 mV to evoke residual I_{to} . (B) Steady-state inactivation curves are shown under control conditions and in the presence of 3.95% sevoflurane (SEVO). Closed and open circles indicate control and 3.95% SEVO, respectively. Data are presented as mean \pm SEM for four cells and were fitted with the Boltzmann function. The half-inactivations ($V_{1/2}$) of control and 3.95% SEVO were -31.53 ± 0.68 mV and -35.04 ± 0.84 mV, respectively, which showed no differences.

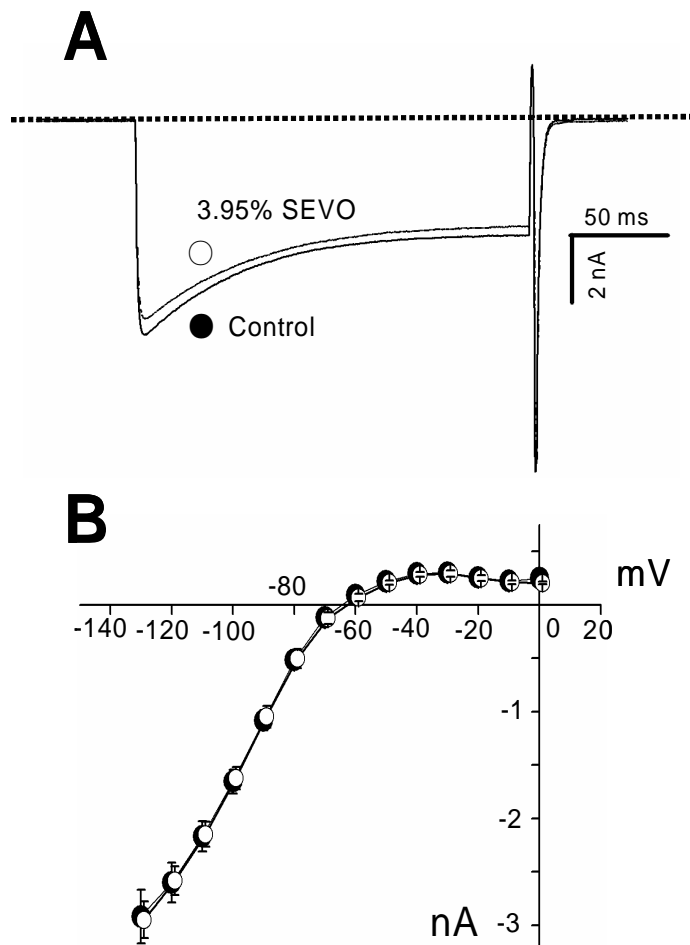


Fig. 5. Effect of sevoflurane (SEVO) on inwardly rectifying K⁺ current (I_{k1}) in rat ventricular myocytes. (A) Closed and open circles indicate control and 3.95% SEVO in a rat ventricular myocyte, respectively, at a membrane potential of -130 mV. (B) Current-voltage relationships for I_{k1} before and after addition of 3.95% SEVO. Closed and open circles indicate control and 3.95% SEVO. Error bars indicate mean ± SEM.

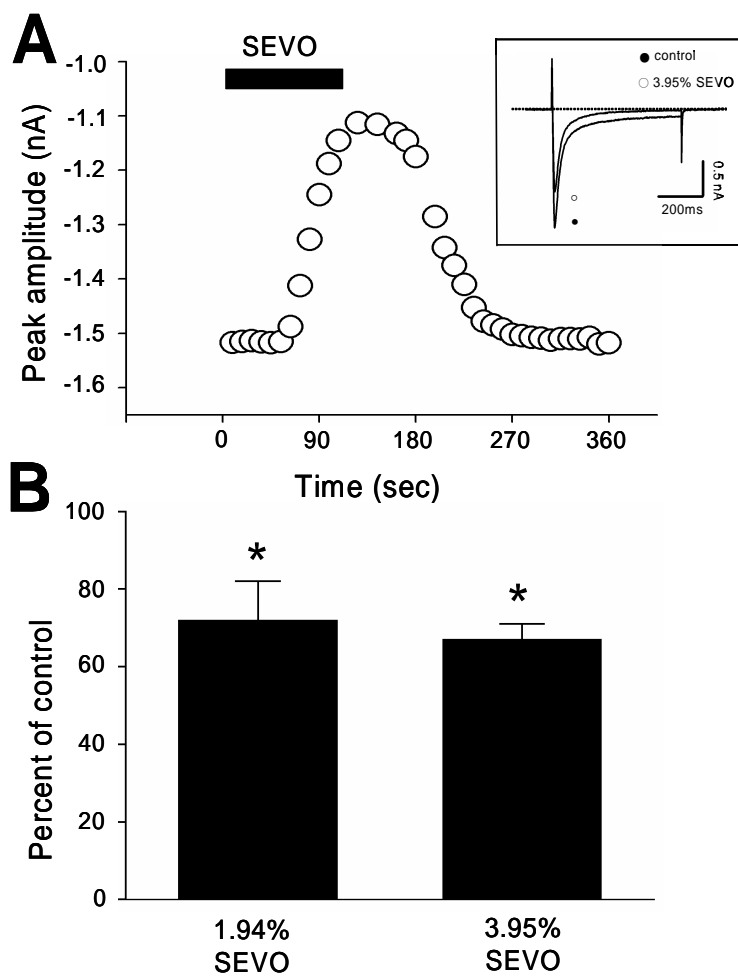


Fig. 6. Effect of sevoflurane (SEVO) on L-type Ca^{2+} current ($I_{\text{Ca,L}}$). (A) A representative example of the effect of SEVO on $I_{\text{Ca,L}}$ in a rat ventricular myocyte. The open circles represent the peak of an individual current record. The horizontal bar indicates the period when an anesthetic was applied. (Inset) an example of individual currents recorded in the presence of 3.95% SEVO. (B) Depression of $I_{\text{Ca,L}}$ following application of 1.94% and 3.95% SEVO, respectively. * vs. control. Error bars indicate mean \pm SEM.

IV. 고찰

쥐 심실근 세포를 이용한 본 실험에서 SEVO는 활동전위 기간을 연장시키는 효과를 보였다. I_{to} 와 $I_{Ca, L}$ 을 감소시켰으나, I_{k1} 과 I_{sus} 에는 별다른 영향을 보이지 않았다. SEVO의 활동전위 기간 연장효과는 기니 픽 심실근 세포에서도 관찰되었으며^{8,9}, 이러한 효과는 성인³⁻⁵ 및 소아의⁶ 심전도 상에서 SEVO가 QTc interval의 연장을 일으킨다는 보고와 일치하고 있다.

이러한 연장효과와는 달리 Azuma 등은¹⁰ 기니 픽 심실근 절편에서, Hatakeyama 등은¹¹ 개의 심실근 세포에서 SEVO가 활동전위 기간을 단축시키는 것을 관찰하였으며, 특히 Rithalia 등은¹² 저자들과 동일하게 쥐의 심실근 세포를 사용하였음에도 불구하고 SEVO가 활동전위 기간을 감소시킨다는 상반된 결과를 보고하고 있다.

I_{to} 는 쥐¹⁷, 개¹⁸, 고양이¹⁹, 토끼²⁰ 및 사람의 심실근 세포²¹에 존재하는 반면 기니 픽의 심실근 세포에는 거의 존재하지 않으며, 쥐의 심근 세포에서 I_k 는 매우 작거나 또는 분포하지 않는 것으로 알려져 있다²². I_{to} 는 potassium에 의해 전도되며, 빠른 활성화(activation) 및 불활성화(inactivation)를 보인다. 즉, 이 통로는 열리자마자 빠르게 닫히며 전체적으로 외향전류를 형성 한다²³. 전압 의존적인 특성을 갖고 있으며, 조직에서의 전류 밀도(current density)가 매우 높고, 또한 4-aminopyridine에 선택적으로 차단되는 특성을 보인다. 현재 I_{to} 는 두 가지의 종류가 있는 것으로 알려져 있다. 한 종류는 calcium 의존성 Cl^- 전류(Ca^{2+} - dependent Cl^- current)이며, 다른 한 종류는 calcium 비의존성 K^+ 전류(Ca^{2+} - independent K^+ current)로서²⁴, calcium 의존성 I_{to} 는 세포내에서 유리되는 calcium에 의해 활성화 되고²⁵ 전류 밀도는 calcium 비의존성 I_{to} 에 비해 매우 적다²⁰. 현재 이 전류의 생리학적 역할은 아직 잘 알려져 있지 않다. 반면, calcium 비의존성 I_{to} 는 활동전위 기간의 결정에 중요한 역할을 한다고 보고 되었다²⁵. 쥐의 심실근 세포에는 calcium 비의존성 I_{to} 만이 존재하는 것으로 알려져

있다²⁶.

쥐 심실근 세포에서 I_{to} 의 전류 밀도는 매우 크므로(+60 mV에서 19.9 ± 2.8 pA/pF)²⁷ 본 결과에서의 I_{to} 의 감소는 숫자상으로 볼 때 작으나 큰 전류 밀도를 생각하여 볼 때 이 정도의 감소가 실제 재분극에 미치는 영향은 클 것으로 사료된다. 또한, I_{to} 의 활성화가 매우 빠르기 때문에 phase I 및 early plateau phase에 수백 pA의 전류의 변화는 plateau phase에 관여하는 다른 전류(Ca^{2+} 내향 전류, I_k 등)에 지대한 영향을 미쳐서 결과적으로 I_{to} 의 변화는 활동전위에 큰 영향을 끼칠 수 있다. 따라서 본 실험에서 SEVO에 의한 I_{to} 의 감소는 쥐 심실근 세포에서의 활동전위 기간의 연장에 기여하였을 것으로 생각한다.

쥐 및 사람의 심실근에서 I_{to} 는 재분극에 관여하는 주된 전류이며^{17,27,28}, I_{to} 및 I_k 차단제인 tedisamil은 쥐의 단일 심실근 세포에서 활동전위 기간을 연장시키고²⁹, 이는 tedisamil을 투여한 Langendorff preparation상의 쥐 심근에서도 QT interval을 연장시키는 효과를 보이고 있다³⁰. 말기 심부전 환자에서 활동전위의 연장은 I_{to} expression level의 감소와 밀접한 관련이 있다는 보고는^{31,32} I_{to} 의 감소와 활동전위의 연장이 사람에서도 또한 깊은 연관성이 있음을 입증해 주고 있다^{33,34}.

SEVO의 I_{to} 에 대한 억제 효과가 steady state inactivation curve를 좌측으로 이동시키기 때문인지를 알아보기 위해 $I_{to,ssi}$ 를 측정하였다. SEVO 투여 시 half inactivation ($V_{1/2}$)에 거의 변화가 없는 것으로 보아 SEVO의 I_{to} 에 대한 억제 효과가 steady state inactivation curve를 좌측으로 이동시키기 때문은 아닌 것으로 생각된다. 즉, SEVO는 voltage-dependency와 inactivation kinetics를 변화시키지 않고 I_{to} 의 크기만 변화시켰는데 이것은 SEVO가 single channel conductance는 변화시키지 않으면서 단지 single opening이나 burst opening의 기간을 감소시키기 때문인 것으로 보인다²⁹. Halothane을 사용한 실험에서

Davies 등은²⁸ halothane이 I_{to} 의 크기를 감소시키며, steady state inactivation curve도 좌측으로 이동시킴을 관찰하였는데, 이것은 SEVO의 I_{to} 에 대한 불활성화 기전이 halothane과는 다르다는 것을 의미한다고 하겠다.

I_{sus} 는 4-aminopyridine에 의해 I_{to} 가 제거된 상태에서 남은 전류에 해당되며, potassium 통로 차단제인 TEA (tetraethylammonium chloride)에 의해 억제되는 것으로 보아 delayed outward K^+ current로 생각되며³⁵, 빠르게 활성화되지만 불활성화 되지 않는 전류로서 활동전위의 전체적인 재분극 과정에 영향을 미치는 것으로 보인다. 본 실험에서 SEVO가 I_{sus} 에 영향을 미치지 않은 점으로 보아 SEVO에 의한 I_{to} 의 감소는 순수하게 I_{to} 에만 영향을 준 것으로 생각할 수 있다.

I_{k1} 은 심실근 세포에서 휴지막전위의 유지에 우선적으로 작용하는 K^+ 전류이다. I_{k1} 의 억제는 이완기 탈분극(diastolic depolarization)을 일으키고 이는 심실근 세포의 흥분도(cardiac excitability)를 증가시키며³⁰ 이로 인하여 비정상적인 automaticity가 발생할 수 있다³⁶. I_{k1} 의 inward current의 이러한 작용 외에 outward component는 활동전위의 재분극 끝부분 형성에 영향을 미친다^{37,38}. 결과적으로 I_{k1} 의 억제는 early afterdepolarization을 일으키며, 활동전위 기간을 연장시킬 수 있다³⁶. 본 실험에서 SEVO는 I_{k1} 의 inward 및 outward component에 영향을 미치지 않았는데, I_{k1} 의 변화가 APD_{90} 에 해당하는 활동전위 기간과 휴지막 전위에 영향을 미칠 수 있는 점을 고려해 볼 때, SEVO 투여 시 휴지막전위에 변화가 없었던 것은 I_{k1} 의 inward component에 별다른 영향이 없었기 때문인 것으로 생각된다. Agus 등의³⁹ 실험에서 -40 mV를 고정막 전압으로 하고 세포외액에 $CdCl_2$ 를 첨가하지 않았을 때 I_{to} 가 활성화되지 않으나, $CdCl_2$ 를 첨가하면 I_{to} 가 활성화됨을 관찰 할 수 있었다. 이것은 steady state inactivation curve가 우측으로 이동되기 때문인데, 이는 0.2 mM의 $CdCl_2$ 를 첨가하였을 때 -40 mV에서도 I_{to} channel이 ~20%가 활성화되기 때문이다. 본 실험에서

I_{k1} 측정 시 세포외액에 0.2 mM의 $CdCl_2$ 를 첨가 하였으므로 -40 mV 이상의 전류에 I_{t0} 가 포함되어 있을 가능성이 있다. 따라서, 본 실험으로는 SEVO가 I_{k1} 의 outward current에 미치는 영향은 알 수 없다. Park 등은⁸ 기니 픽 심실근 세포에서 0.35 mM(1.7%에 해당) SEVO가 I_{k1} 에 거의 영향이 없다고 하였으며(inward component: ~8% 감소, outward component: ~7% 감소), 0.7 mM에서도 유사한 감소를 보임으로서 SEVO가 I_{k1} 에 별다른 영향이 없음을 보고하였다. Stadnicka 등은¹⁵ 기니 픽 심실근 세포에서 SEVO가 I_{k1} 의 inward component를 감소시키며(0.35 mM: 0%, 0.75 mM: ~20%), -80~0 mV 사이에서 관찰할 수 있는 outward component는 증가시키는(0.35 mM: ~10%, 0.75 mM: ~12%) 이중적인 효과를 보고하였으나 이 역시 억제 정도가 크다고는 할 수 없다. 기니 픽 심실근 세포에서 halothane 및 isoflurane은 SEVO와 같이 I_{k1} 의 inward 및 outward component에 유사한 이중적인 효과를 보이기는 하나 이 역시 억제 정도가 크지 않아 큰 영향이 없음을 알 수 있다⁴⁰. Halogenated ether 계통의 약제인 SEVO와 isoflurane이 I_{k1} 에 유사한 효과를 보임으로서 기타 halogenated ether 계통의 약제인 desflurane도 유사한 효과를 보일 것으로 추정되기는 하나 이는 향후 실험을 통하여 확인해 보아야 할 것이다.

$I_{Ca, L}$ 은 심근세포의 흥분-수축 연계과정에서 전압 의존성 Ca^{2+} 통로를 통한 Ca^{2+} 내향전류로 중요한 역할을 하고 있다. 활동전위의 plateau phase에 Ca^{2+} 은 세포내로 유입되며 유입된 Ca^{2+} 은 근소포체(sarcoplasmic reticulum)로부터 Ca^{2+} 방출을 유도하고, 또한 다음 방출을 위해 근소포체에 Ca^{2+} 을 공급하기도 한다⁴¹. $I_{Ca, L}$ 이 억제되면 활동전위 기간은 감소하게 된다. 본 실험에서 $I_{Ca, L}$ 을 1.94% SEVO는 ~28%, 3.95% SEVO는 ~33% 감소시켰으며, 또한 기니 픽⁸ 및 개¹¹의 심실근 세포를 이용한 실험에서도 $I_{Ca, L}$ 의 감소가 보고 되었다.

심근세포의 활동전위 기간은 세포막을 통과하는 내향전류와 외향전

류 상호간의 균형에 의해 결정되며, 이러한 균형의 변화에 따라 활동전위 기간이 단축 혹은 연장될 수 있다^{13,14}. 외향전류인 I_{to} 의 감소는 활동전위 기간을 연장시키며, 내향전류인 $I_{Ca, L}$ 의 감소는 활동전위 기간을 감소시킨다. 본 연구에서 SEVO가 I_{to} 와 $I_{Ca, L}$ 모두 감소시켰음에도 불구하고, 활동전위 기간을 연장시킨 것은 아마도 SEVO에 의한 $I_{Ca, L}$ 의 감소로 인한 활동전위 기간 단축 효과가 I_{to} 의 감소로 인한 활동전위 기간 연장 효과에 의해 상쇄되었기 때문인 것으로 생각된다.

최근 동일종의 실험에서 Rithalia 등은¹² 0.6 mM SEVO가 $I_{Ca, L}$ 을 감소시키나(~12%), I_{to} 에는 영향을 미치지 않으며, 오히려 활동전위 기간을 감소시킴을 보고하고 있다. 그러나 기니 픽 심실근을 이용한 Park 등의⁸ 실험에서 SEVO는 투여 농도에 비례하여 활동전위 기간을 연장시키며, 1.7%의 농도에서 I_k 를 ~50% 감소시키는 반면, I_{k1} 에는 별다른 영향을 미치지 않았다. 동일종의 심실근 세포를 이용한 Shibata 등의⁹ 실험에서도 0.65 mM의 SEVO가 휴지막 전위를 변화시키지 않으면서 활동전위 기간을 연장시킴을 보고하였다. I_k 를 구성하는 요소인 I_{ks} 및 I_{kr} 중 I_{ks} 를 더욱 현저히 감소시켰으며, 이 실험에서 I_{kr} 의 선택적 차단제인 E4031을 투여 후 활동전위가 더욱 연장되는 점으로 보아 I_{ks} 의 감소가 활동전위 기간 연장의 주된 원인이라고 생각하였다. 동일종의 심실근 세포에서 isoflurane 또한 유사한 결과를 보인다⁴².

본 실험에서 SEVO의 활동전위 기간 연장 효과는 임상에서 SEVO가 성인³⁻⁵ 및 소아에서⁶ QTc interval의 연장을 일으킨다는 보고와 일치하고 있다. 사람의 심실근 세포에 분포하는 전류로는 I_{to} , I_{kr} ⁴³ 및 I_{k1} 이 분포하고 있으며⁴⁴, 개나 토끼의 I_{ks} 에 비해 전류의 크기가 작기는 하나 최근 I_{ks} 도 분포하고 있음이 보고 되고 있다⁴⁵. 사람의 심실근 세포에서 I_{to} 의 전류 밀도는 쥐에 비해 3~4배 정도 낮으나(+60 mV에서 8.2 ± 0.7 pA/pF) 주된 K^+ 전류이며, 또한 두 종간에 I_{to} 의 전기생리학적 특성(kinetics)이 매우 유사한 점과²⁷, I_{k1} 에 대한 약제의 효과가

동일한 결과를 보이는 점으로 보아⁴⁶, SEVO의 임상적인 QTc interval 연장 효과는 I_{ks} 의 억제 외에 I_{to} 의 억제도 그 한 원인으로 생각할 수 있을 것이다.

V. 결론

쥐 심실근세포에서 SEVO의 활동전위 기간 연장 효과는 I_{to} 의 감소 효과에 의한 것으로 보인다. SEVO에 의한 $I_{Ca, L}$ 의 감소에도 불구하고 활동전위 기간이 연장된 것은 I_{to} 의 감소가 이를 상쇄하였기 때문인 것으로 생각된다. SEVO는 I_{K1} 의 inward 및 outward component에 영향이 없었으며, 활동 전위에서 휴지막전위의 변화가 없었던 것은 이러한 결과에 의한 것으로 사료된다.

참고문헌

1. Holaday DA, Smith FR. Clinical characteristics and biotransformation of sevoflurane in healthy human volunteers. *Anesthesiology* 1981; 54:100-106.
2. Manohar M, Parks C. Porcine systemic and regional organ blood flow during 1.0 and 1.5 minimum alveolar concentrations of sevoflurane anesthesia without and with 50% nitrous oxide. *J Pharmacol Exp Ther* 1984; 231:640-648.
3. Kleinsasser A, Kuenszberg E, Loeckinger A, Keller C, Hoermann C, Lindner KH, Puehringer F. Sevoflurane, but not propofol, significantly prolongs the Q-T interval. *Anesth Analg* 2000; 90:25-27.
4. Kuenszberg E, Loeckinger A, Kleinsasser A, Lindner KH, Puehringer F, Hoermann C. Sevoflurane progressively prolongs the QT interval in unpremedicated female adults. *Eur J Anaesthesiol* 2000; 17:662-664.
5. Beny C, Christian FB, Emmanuel S, Virginie JG, Pierre A, Jean M. QT interval prolongation after oxytocin bolus during surgical induced abortion. *Clin Pharmacol Ther* 2004; 76:359-364.
6. Whyte SD, Booker PD, Buckley DG. The effects of propofol and sevoflurane on the QT interval and transmural dispersion on repolarization in children. *Anesth Analg* 2005; 100:71-77.
7. Gallagher JD, Weindling SN, Anderson G, Fillinger MP. Effects of sevoflurane on QT interval in a patient with congenital long QT syndrome. *Anesthesiology* 1998;

- 89:1569-1573.
8. Park WK, Pancrazio JJ, Suh CK, Lynch C 3rd. Myocardial depressant effects of sevoflurane: Mechanical and electrophysiologic actions in vitro. *Anesthesiology* 1996; 84:1166-1176.
 9. Shibata S, Ono K, Iijima T. Sevoflurane inhibition of the slowly activating delayed rectifier K^+ current in guinea pig ventricular cells. *J Pharmacol Sci* 2004; 95:363-373.
 10. Azuma M, Matsumura C, Kemmotsu O. The effects of sevoflurane on contractile and electrophysiologic properties in isolated guinea pig papillary muscles. *Anesth Analg* 1996; 82:486-491.
 11. Hatakeyama N, Momose Y, Ito Y. Effects of sevoflurane on contractile responses and electrophysiologic properties in canine single cardiac myocytes. *Anesthesiology* 1995; 82:559-565.
 12. Rithalia A, Hopkins PM, Harrison SM. The effects of halothane, isoflurane, and sevoflurane on Ca^{2+} current and transient outward K^+ current in subendocardial and subepicardial myocytes from the rat left ventricle. *Anesth Analg* 2004; 99:1615-1622.
 13. Carmeliet E. Mechanisms and control of repolarization. *Eur Heart J* 1993; 14:3-13.
 14. Coraboeuf E. Ionic basis of electrical activity in cardiac tissues. *Am J Physiol* 1978; 234:101-116.
 15. Stadnicka A, Bosnjak ZJ, Kampine JP, Kwok WM. Effects of sevoflurane on inward rectifier K^+ current in guinea pig ventricular cardiomyocytes. *Am J Physiol* 1997; 273:H324-332.

16. 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.
17. Josephson IR, Sanchez-chapula J, Brown AM. Early outward current in rat single ventricular cells. *Circ Res* 1984; 54:157-162.
18. Litovsky SH, Antzelevitch C. Transient outward current prominent in canine ventricular epicardium but not endocardium. *Circ Res* 1988; 62:116-126.
19. 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.
20. 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.
21. 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.
22. Rees S, Curtis MJ. Which cardiac potassium channel subtype is the preferable target for suppression of ventricular arrhythmias? *Pharmacol Ther* 1996; 69:199-217.
23. Tristani-Firouzi M, Chen J, Mitcheson JS, Sanguinetti MC. Molecular biology of K^+ channels and their role in cardiac

- arrhythmias. *Am J Med* 2001; 110:50-59.
24. Nerbonne JM. Molecular basis of functional voltage-gated K^+ channel diversity in the mammalian myocardium. *J Physiol (Lond)* 2000; 525:285-298.
 25. 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.
 26. Dukes ID, Morad M. The transient K^+ current in rat ventricular myocytes: evaluation of its Ca^{2+} and Na^+ dependence. *J Physiol (Lond)* 1991; 435:395-420.
 27. Wettwer E, Amos G, Gath J, Zerkowski HR, Reidemeister JC, Ravens U. Transient outward current in human and rat ventricular myocytes. *Cardiovasc Res* 1993; 27:1662-1669.
 28. Davies LA, Hopkins PM, Boyett MR, Harrison SM. Effects of halothane on the transient outward K^+ current in rat ventricular myocytes. *British J Pharmacol* 2000; 131:223-230.
 29. 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.
 30. Nichols CG, Makhina EN, Pearson WL, Sha Q, Lopatin AN. Inward rectification and implications for cardiac excitability. *Circ Res* 1996; 78:1-7.
 31. Kaprielian R, Wickenden AD, Kassiri Z, Parker TG, Liu PP, Backx PH. Relationship between K^+ channel down-regulation and $[Ca^{2+}]_i$ in rat ventricular myocytes

- following myocardial infarction. *J Physiol (Lond)* 1999; 517:229-245.
32. Gidh-Jain M, Huang B, Jain P, el-Sherif N. Differential expression of voltage-gated K⁺ channel genes in left ventricular remodeled myocardium after experimental myocardial infarction. *Circ Res* 1996; 79:669-675.
 33. Kaab S, Dixon J, Duc J, Ashen D, Nabauer M, Beuckelmann DJ, Steinbeck G, McKinnon D, Tomaselli GF. Molecular basis of transient outward potassium current downregulation in human heart failure: a decrease in Kv4.3 mRNA correlates with a reduction in current density. *Circulation* 1998; 98:1383-1393.
 34. Li GR, Lau CP, Leung TK, Nattel S. Ionic current abnormalities associated with prolonged action potentials in cardiomyocytes from diseased human right ventricles. *Heart Rhythm* 2004; 1:460-468.
 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. The 'Sicilian Gambit' A new approach to the classification of antiarrhythmic drugs based on their action on arrhythmogenic mechanisms. The Task Force of the Working Group on Arrhythmias of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 1991; 12:1112-1131.
 37. Kass RS, Freeman LG. Potassium channels in the heart: cellular, molecular, and clinical implications. *Trends Cardiovasc Med* 1993; 3:149-159.
 38. 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 (Lond)* 1995; 486:647-659.
39. Agus ZS, Duker ID, Morad M. Divalent cations modulate the transient outward current in rat ventricular myocytes. *Am J Physiol* 1991; 261:C310-318.
 40. Stadnicka A, Bosnjak ZJ, Kampine JP, Kwok WM. Modulation of cardiac inward rectifier K^+ current by halothane and isoflurane. *Anesth Analg* 2000; 90:824-833.
 41. Bers DM. Cardiac excitation-contraction coupling. *Nature* 2002; 415:198-205.
 42. Suzuki A, Aizawa K, Gassmayr S, Bosnjak ZJ, Kwok WM. Biphasic effects of isoflurane on the cardiac action potential: an ionic basis for anesthetic-induced changes in cardiac electrophysiology. *Anesthesiology* 2002; 97:1209-1217.
 43. Amos GJ, Wettwer E, Metzger F, Li Q, Himmel HM, Ravens U. Differences between outward currents of human atrial and subepicardial ventricular myocytes. *J Physiol (Lond)* 1996; 491:31-50.
 44. Veldkamp MW, van Ginneken AC, Opthof T, Bouman LN. Delayed rectifier channels in human ventricular myocytes. *Circulation* 1995 15; 92:3497-3504.
 45. Virag L, Iost N, Opincariu M, Szolnoky J, Szecsi J, Bogats G, Szenohradszky P, Varro A, Papp JG. The slow component of the delayed rectifier potassium current in undiseased human ventricular myocytes. *Cardiovasc Res*

2001; 49:790-797.

46. 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.

Abstract

Electrophysiologic Mechanism of Sevoflurane on Prolongation of the QT Interval: K^+ currents in Rat Ventricular Myocytes

Ji Eun Chae

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

(Directed by Professor Wyun Kon Park)

Sevoflurane (SEVO) is a halogenated volatile anesthetic that possesses a low blood-gas solubility (0.686) and provides rapid induction and emergence from anesthesia. Inhalational induction and anaesthesia with SEVO in adults and children has been reported to significantly prolong the QT interval. In animal myocardial preparations, however, either prolongation or shortening of action potential duration (APD) by SEVO has been reported. Electrophysiologic studies using guinea pig ventricular myocytes have demonstrated that SEVO inhibited the delayed outward K^+ current (I_k) and L-type Ca^{2+} current ($I_{Ca, L}$) while the inwardly rectifying K^+ current (I_{k1}) remained almost unaffected. Whereas the transient outward K^+ current (I_{to}) is also a major repolarizing current in rat ventricular myocytes which can affect the action potential duration, little has been known on the effects of SEVO.

In preliminary studies using rat ventricular myocytes, we observed concentration-dependent prolongation of AP and inhibition of I_{to} , different from those of a previous study.

With approval of the Animal Research Committee in Yonsei University Medical College, isolated ventricular cells were obtained from enzymatically treated rat hearts. AP was measured using current clamp technique. The 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. Sustained outward K^+ current (I_{sus}) was obtained by addition of 5 mM 4-aminopyridine, a specific blocker of I_{to} . The steady-state inactivation of I_{to} was investigated by holding a prepulse voltage ranging from -100 mV to 0 mV for 500 ms before triggering a test pulse to $+80$ mV to measure peak I_{to} . The I_{kl} was obtained from a holding potential of -40 mV before their membrane potential was changed from -130 to 0 mV. The $I_{Ca, L}$ was elicited from a holding potential of -40 mV to $+50$ mV under the normal Tyrode solution.

Application of SEVO prolonged the APD, while the amplitude of the AP and the resting membrane potential remained unchanged. At membrane potential of $+60$ mV, peak I_{to} was significantly reduced by $18 \pm 2\%$ and $24 \pm 2\%$ by 1.94% and 3.95% SEVO, respectively. 3.95% SEVO did not shift the steady-state inactivation curve and I_{sus} was unaffected by 3.95% SEVO. The I_{kl} at membrane potential of -130 mV was little altered by 3.95% SEVO. $I_{Ca, L}$ was significantly reduced by $28 \pm 3\%$ and $33 \pm 1\%$ by 1.94 and 3.95% SEVO, respectively.

In conclusion, prolongation of APD in rat ventricular myocytes is

likely to be attributed to the reduction of I_{to} . Considering the high current density of I_{to} in rat ventricular myocytes, it may suggest that inhibition of I_{to} counteracts the shortening of APD induced by moderate reduction of $I_{Ca, L}$. Resting membrane potential was not affected by SEVO, which seems to be related to no alteration of I_{ki} .

Key Words : sevoflurane, rat, ventricular myocytes, action potential, transient outward K^+ current, inwardly rectifying K^+ current, L-type Ca^{2+} current