Desflurane의 심근 수축 억제 기전에 대한 기계적 및 전기생리학적인 연구

연세대학교 대학원

의과학사업단

지　영　석

Desflurane의 심근 수축 억제 기전에 대한 기계적 및 전기생리학적인 연구

지도교수 박 윤 곤

이 논문을 박사 학위논문으로 제출함

2001년 6월 일

연세대학교 대학원

의과학사업단

지 영 석

지영석의 박사 학위논문을 인준함

심사위원_________________________ 인

심사위원_________________________ 인

심사위원_________________________ 인

심사위원_________________________ 인

심사위원_________________________ 인

연세대학교 대학원

2001년 6월 일

감사의 글

주말과 일요일도 잊고 밤 늦게까지 저를 지도해 주시느라 노고가 많으셨고 이 논문을 통해 학문의 즐거움을 엿볼 수 있도록 해주신 큰 은혜에 대해 박윤곤 교수님께 진심으로 감사드립니다. 바쁘신 가운데서도 논문을 읽고 지도하여 주신 심사위원 선생님들께도 감사의 말씀을 드립니다. 또 큰 학문을 할 수 있도록 해주신 남용택 마취과 주임교수님과 그간 부족한 저를 이끄시고 관심과 사랑으로 지켜봐 주셨던 원주의과대학 마취과의 최 령 교수님, 엄대자 교수님, 우남식 교수님께도 감사드립니다. 많은 관심과 격려를 아끼지 않으신 강희륜 박사님, 임웅철 선생님과 그 외 삼성 제일병원 마취과의 동료들에게 이 자리를 빌어 감사의 말씀을 드리고 싶습니다. 많은 질문에도 귀찮아 하지 않고 실험을 도와준 김기준 선생에게도 또한 감사를 드립니다.

저를 위하여 늘 기도하시고 오직 자식을 위해 모든 것을 희생해오신 아버님, 어머님께 감사의 말씀을 올립니다. 그리고 사랑하는 아내와 저희 가족이상으로 기뻐하시고 기도하여 주신 김 철, 박양자 권사님께도 감사를 드립니다. 이 모든 일을 가능케 하시고 인도하여 주신 하나님의 크신 은혜에 감사와 영광을 돌립니다.

저 자 씀

차 례

그림 차례

표 차례

국문요약

Desflurane의 심근 수축 억제 기전에 대한 기계적 및 전기생리학적인 연구

최근 임상 마취에서 사용되기 시작한 흡입 마취제인 desflurane은 투여 농도의 증가에 비례하여 혈압을 감소시키는 작용이 있으며, 이의 원인으로서 심박출량 및 말초 혈관 저항의 감소 및 심근 수축 저하 작용이 그간 사람, 동물 및 생체외 적출 심장 및 심근을 이용한 연구에서 보고되었다. Desflurane의 직접적인 심근 수축 저하 작용에 대한 일부 보고에서 desflurane은 심근 소포체로부터의 Ca^{2+} 배출에 별다른 영향을 미치지 않는다고 하는 외에 기타 심근 수축 저하에 관여하는 기전은 현재 규명되어 있지 않다. 기니 픽 및 쥐의 유두근 및 기니픽의 심근 세포를 이용한 기계적 및 전기 생리학적인 실험을 통해 desflurane이 심근 수축 저하에 관여하는 기전을 알아 보고자 하였다. 기니 픽의 우심실 유두근을 이용하여 정상 및 26 mM K^{+} Tyrode 용액에서 rested-state (RS)에서 3 Hz까지의 자극 횟수에서의 심근 수축을 측정하였다. 심근 소포체로부터 Ca^{2+} 배출에 미치는 영향을 평가하기 위해 정상 Tyrode 용액에서 쥐의 우심실 유두근과 low Na^{+} (25 mM) Tyrode 용액에서 기니 픽의 우심실 유두근을 이용하여 RS 및 0.1 Hz의 자극에서 근수축을 측정하였다. 기니 픽에서 급속 냉각 경축법(rapid cooling contracture)을 이용하여 세포내의 Ca^{2+}량 및 심근 소포체로부터의 Ca^{2+} 배출에 미치는 영향을 평가하였다. 정상 및 완서 활동 전위에서 활동 전위의 크기, 재분극 50% (APD_{50}) 및 90% (APD_{90})에서의 활동 전위 간격 및 최대 탈분극 속도에 미치는 영향을 평가하였으며, patch clamp 기법을 이용하여 기니 픽의 심근 세포에서 desflurane이 Ca^{2+} 내향 전류에 미치는 영향을 평가하였다. 1 MAC (minimum alveolar concentration) (6%) 및 2 MAC (12%) desflurane은 RS에서 3 Hz까지의 자극 횟수에서 투여 농도에 비례하여 심근 수축을 저하시켰으며(1 MAC: 약 30%, 2 MAC: 약 60%), 1 MAC (1.15%) 및 2 MAC (2.3%) isoflurane은 약 25% 및 45%를 감소시켜 두 마취제는 유사한 심근 수축 저하 효과를 보였다. 2 MAC desflurane은 RS 및 0.1 Hz의 자극에서 쥐의 심근 수축에 영향을 미치지 않았으며, 또한 low Na^{+} (25 mM) Tyrode 용액하의 기니 픽의 심근 수축에 영향을 미치지 않았다. 26 mM K^{+} Tyrode 용액에서 관찰할 수 있는 이상성 근수축(biphasic contraction)에서 1 MAC 및 2 MAC desflurane은 후반부 근수축을 각각 60% 및 80%로 심하게 저하시켰으며, 전반부 근수축은 각각 20% 및 40% 정도 감소시켰다. 1 MAC desflurane에서 급속 냉각 경축은 거의 발생하지 않았다. 정상 및 완서 활동 전위에서 2 MAC desflurane은 활동 전위의 크기 및 최대 탈분극 속도에 변화를 보이지 않은 반면, APD_{50} 및 APD_{90}는 의의있게 연장시켰다. 심근 세포에서 1 MAC 및 2 MAC desflurane은 Ca^{2+} 내향 전류를 각각 30% 및 60% 정도 감소시켰다. 요약하면, desflurane은 동일 MAC 농도에서 isoflurane과 유사한 심근 수축 저하 효과를 보인다. 정상적인 탈분극에 의한 심근 소포체로부터의 Ca^{2+} 배출에는 영향을 미치지 않으나 급속 냉각시에만 작용하는 Ca^{2+} 배출 통로는 심하게 억제하는 것으로 생각되며, 심근 소포체로의 Ca^{2+} 흡수에 영향을 미치지 않는 것으로 생각된다. 전기생리학적인 실험에서 desflurane은 정상 및 완서 활동 전위 기간을 연장시키며, Ca^{2+} 내향 전류를 감소

시켰다. 결론적으로, desflurane에 의한 심근 수축 저하 작용은 Ca^{2+} 내향 전류의 감소가 주된 한 원인으로 생각되며, 따라서 desflurane을 이용한 전신 마취에서 저혈압의 발생시 Ca^{2+} 내향 전류를 증가시키기 위한 임상적 방법들은 혈역학의 개선에 도움을 줄 수 있을 것으로 생각된다.

핵심되는 말: 활동 전위, Ca^{2+} 내향 전류, desflurane, 심근 수축, 기니 픽, 급속 냉각 경축, 쥐, 심근 소포체

Desflurane의 심근 수축 억제 기전에 대한 기계적 및 전기생리학적인 연구

<지도교수 박 윤 곤>

연세대학교 대학원 의과학사업단

지 영 석

I. 서 론

최근에 개발되어 사용되기 시작한 흡입 마취제인 desflurane은 현재 임상 마취에서 주된 흡입 마취제로 사용되고 있는 isoflurane의 alpha-ethyl carbon에 결합되어 있는 chlorine을 fluorine으로 대치시켜 합성한 새로운 흡입 마취제이다. Desflurane의 혈액/가스 분배계수는 0.42로서[1] 현재 사용되고 있는 기타 마취제에 비해 현저히 낮아 마취의 유도 및 각성이 매우 빠르고 또한 생체내 분해가 극히 적어[2] 외래 환자의 마취에 적합한 흡입 마취제로 각광을 받고 있다. 이러한 장점에도 불구하고 desflurane은 마취 유지중 혈압을 감소시키는 작용이 있으며, 이의 원인으로서 전신 혈관 저항의 감소 외에 심근 수축력의 억제로 인한 심박출량의 감소가 사람[3] 및 생체내(in vivo) 동물실험을[4-6] 통해 보고되었다. Pagel 등은[7] 개를 이용한 생체내 연구에서 교감신경계 차단 약물을 이용하여 교감신경계가 심장에 미치는 영향을 차단한 상태에서 desflurane은 직접적인 심근 수축 저하 작용이 있음을 보고하였으며, Bovan 등은[8] Langendorff 장치를 이용한 기니 픽의 적출 심장에서 desflurane이 투여 농도에 비례하여 직접적으로 심근 수축을 저하시키는 작용이 있음을 보고하였다. 그러나 이러한 심근 수축 저하 작용에 대한 보고와는 달리 최근 쥐[9]와 햄스터(hamster)[10]의 심근을 이용한 생체외 연구에서 desflurane은 심근 수축에 직접적인 영향을 미치지 않으며, 특히 쥐의 심근에서는 desflurane이 심근에서 catecholamine을 유리시켜 심근 수축력을 증가시키는 작용이 있다고 하였다. 일부 생체외 연구에서 desflurane은 심근 소포체로부터 Ca^{2+} 배출에 별다른 영향을 미치지 않는다는 보고가 있는 외에[9] 기타 심근 수축에 관여하는 기전들은 아직 규명되어 있지 않다. 기니 픽 및 쥐의 유두근 및 기니 픽의 심근 세포를 이용한 기계적 및 전기생리학적인 연구를 통해 desflurane이 심근 수축 저하 작용에 관여하는 기전을 규명해 보고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 조직 표본의 준비

암컷 기니 픽(300 400 gm) 및 쥐(Sprague-Dawley, 300 400 gm)를 pentobarbital (30 mg/kg)을 복강내 투여하여 우심실 유두근을 적출하였다. 적출된 유두근의 기저부를 pin으로 고정시켜 기존의 acrylic bath에 수평으로 놓이게 한 후 유두건(chorda tendinae)의 말단부를 GRASS FT03 force transducer (GRASS Instruments, Quincy, MASS, USA)에 연결하였다. 유두근의 길이는 가장 작은 휴식기 장력(resting tension)을 보이며 또한 최대의 근수축력을 나타내는 지점에 고정하였다. 0.5 Hz 자극을 1시간 동안 계속하여 휴식기 장력의 변화없이 근수축이 일정하게 유지되는 것을 확인한 후 실험을 시작하였다. 95% O_2/5% CO_2의 혼합 가스로 기포화시킨 정상 Tyrode 용액 [mM: Na 143, K 5, Cl 123, $MgSO_4$ 1.2, Ca 2, HCO_3^- 25, glucose 11, ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) 0.1]을 순환 펌프를 이용하여 분당 12 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.

2. 심근 수축의 측정

가. 정상 Tyrode 용액에서의 심근 수축의 측정

(1) 기니 픽 유두근을 이용한 심근 수축의 측정: 심근 수축의 정도는 최대 장력(peak force) 및 최대 장력 발생 속도(maximum rate of force development, dF/dt-max)의 측정으로 평가하였다. 0.5 Hz 자극을 1시간 동안 지속하여 근수축이 안정되었다고 판단되면 15분간 휴식기를 가진 후 일회 자극으로 근 수축 [이후 이러한 방식의 근수축을 rested-state(RS) contraction이라 일컬음]을 측정하고 이후 0.1, 0.5, 1, 2, 3 Hz의 순서로 근수축을 유발시켜 그 결과를 측정하였다. 심근 수축은 각각의 자극 횟수에서 동일한 시점을 선택하여 측정, 기록하였다. 각 자극 횟수에서의 심근 수축을 대조치로 하고 1 MAC (minimum alveolar concentration) (6%) 및 2 MAC desflurane 또는 1 MAC (1.15%) 및 2 MAC isoflurane을[8] 각각 15분간 차례로 투여한 후 각 농도에서 심근의 최대 장력 및 최대 장력 발생 속도를 측정하였으며, 20분간의 세척 후 회복 정도를 측정하였다.

(2) 쥐 유두근을 이용한 심근 수축의 측정: 정상 Tyrode 용액에서 15분간의 휴식기 후 대조치의 심근 수축을 측정하였고, 15분간 2 MAC desflurane 투여 후 및 20분간의 세척 후 근수축의 변화에 대해 관찰하였다. 자극 횟수는 RS 및 0.1 Hz의 순서로 하였다.

쥐에서는 휴식기 중 심근 소포체에 Ca^{2+}이 가장 많이 축적되므로 일정 기간의 휴식기

후 첫 번째 자극에 의한 근수축인 RS contraction이 기타 자극 횟수에 비해 제일 큰 근수축을 나타내게 된다.[11] 여러 종류의 동물의 심방 및 심실근 중 쥐의 심실근 수축이 근소포체로부터의 calcium-induced calcium release에 가장 의존적인 것으로 알려져 있다.[12]

(3) 급속 냉각 경축(**rapid cooling contracture**): 37°C의 정상 Tyrode 용액하에서 기니 픽의 우심실 유두근을 15분간 휴식시킨 후 1 Hz로 심근을 자극하여 근수축을 유발시켰다. 이후 2 Hz 자극하에 지속적인 최대 장력을 유발시키면서 37°C로 순환시키던 순환 펌프를 중단시키고 0 5°C의 정상 Tyrode 용액으로 급속 냉각을 시켜 이때 유발되는 경축의 최대 장력을 측정하였다. 급속 냉각 후 10 12초에 최대 경축을 관찰할 수 있으며, 50 60초에는 이완기 휴식 장력(diastolic resting force)에 도달하게 된다. 대조치 측정 후 1 MAC 및 2 MAC desflurane에 차례로 각각 15분간 노출시킨 후 급속 냉각을 시행하였으며, 20분간의 세척 후 급속 냉각을 재 시행하였다.

2 Hz의 자극시 근소포체 내에 일부 Ca^{2+}이 축적되게 되고 이 축적되었던 Ca^{2+}이 0 5°C의 급속 냉각에 의해 배출되어 경축을 발생시킨다. 급속 냉각에 의한 경축의 크기는 심근소포체내에 존재하고 있는 Ca^{2+}의 양을 간접적으로 나타내는 지표로 생각되고 있다.[13]

나. **Low Na^+ Tyrode** 용액에서의 심근 수축의 측정

기니 픽의 우심실 유두근을 사용하였다. 정상 Tyrode 용액에서 143 mM Na^+ 대신 25 mM Na^+을 사용하였으며, 대신 100 mM에 해당하는 Na^+을 234 mM sucrose로 대치시켜 삼투압을 정상으로 유지시킨 용액을 사용하였다(mM: Na 25, K 5, Cl 9, Ca 2, Mg 1.2, SO_4 1.2, HCO_3^- 25, glucose 11, EDTA 0.1, sucrose 234). 정상 Tyrode 용액하에서 근 수축을 확인 후 low Na^+ Tyrode 용액에 노출시킨 상태에서 15분간의 휴식기 후 RS 및 0.1 Hz의 자극 횟수에서 근수축을 측정하였다. 이후 2 MAC desflurane에 15분간 노출시켰고, 20분간 세척 후 근 수축을 측정하였다.

세포내와 세포외의 Na^+ 차이를 감소시키면 Na/Ca 교환펌프의 작용이 억제되어 세포외로 Ca^{2+}을 배출시키려는 힘(driving force)이 약해지므로 배출되지 못한 Ca^{2+}은 심근 소포체 내로 흡수(uptake)되어 소포체내에 저장되게 된다.[14] 따라서 이때의 RS contraction의 정도는 심근 소포체로부터의 Ca^{2+} 배출에 대한 지표로 생각할 수 있다. 15분간의 휴식기후 전기자극을 주면 비교적 큰 수축을 보이며 이는 Ca^{2+} 통로 차단제의 전 처치에도 영향을 받지 않음으로서 이를 통해 심근 소포체로부터의 Ca^{2+} 배출에 미치는 영향을 검증해 볼 수 있을 것이다.

다. **26 mM K^+ Tyrode** 용액에서의 심근 수축의 측정

정상 Tyrode 용액에서 0.5 Hz의 자극횟수로 1시간 동안 지속하여 근수축이 안정되었다고 판단되면 0.1 μM isoproterenol이 첨가된 26 mM K^+ Tyrode용액에 노출시켰다. 15분간의 휴식기를 가진 후 RS contraction을 측정하고 이후 0.1, 0.25, 0.5, 1, 2, 3 Hz의 순서로 근수축을 유발시켜 그 결과를 측정하였다. 심근 수축의 정도는 최대 장력과 전반부 및 후반부

최대 장력 발생 속도(dF_E/dt-max, dF_L/dt-max)의 측정으로 평가하였다. 대조치의 측정 후 1 MAC 및 2 MAC desflurane에 각각 15분간 차례로 노출시킨 후 및 20분간의 세척 후 근수축을 측정하였다.

26 mM K^+ Tyrode 용액 [mM: Na 122, K 26, Cl 121, Ca 2, Mg 1.2, SO_4 1.2, HCO_3^- 25, glucose 11, EDTA 0.1]에 심근이 노출되면 부분적인 탈분극화 현상 (partial depolarization, 약 −40 mV)으로 심근막의 Na^+ 통로가 불활성화 되고 이에 0.1μM isoproterenol을 첨가하면 심근 세포막에서 활성화될 수 있는 Ca^{2+} 통로의 수가 증가되어 세포내로의 Ca^{2+} 유입이 증가하게 되므로 전기 자극시 완서 활동 전위를 발생시키고 또한 심근 수축이 증가하게 된다.[15] 0.1μM isoproterenol이 첨가된 26 mM K^+ Tyrode용액에서는 정상 Tyrode 용액에서와는 달리 느린 자극 횟수(RS, 0.1, 0.5, 1 Hz)에서 특징적인 이상성 근수축(biphasic contraction)을 관찰할 수 있다.[16]

각 유두근에 대한 실험이 끝난 후 유두근의 길이 및 무게(밀도, 1.04 g/ml)를 측정하여 유두근의 횡단면을 계산하였다. 실험에 사용되었던 유두근의 횡단면 넓이는 기니픽 및 쥐에서 각각 0.93±0.07 mm^2 (mean±SEM, n = 46) 및 1.19±0.18 mm^2 (mean±SEM, n = 12)이었다.

3. 전기 생리학적인 실험

가. 활동 전위의 측정

막전압(membrane potential)은 WPI VF-Amplifier에 연결되어 있는 3 M KCl-filled glass microelectrode (10 20 MOhm)를 유두근의 기저부에 삽입시킨 후 심근을 0.1 및 0.25 Hz로 자극하여 측정하였다. 측정된 결과는 Digital storage oscilloscope (Hitachi VC-6025, Woodbury, NY, USA) 및 Gould TA240S (Gould instrument systems, Inc., Valley view, OH, USA)를 통해 관찰, 기록하였다. 실험 기간동안 동일한 세포내에서 microelectrode의 유지가 되지 않은 경우는 결과에서 제외하였다. 자극 강도는 활동 전위를 유발시키는 최소 강도의 120%를 적용하였으며 각 자극 횟수에서의 측정시 latent period (자극-활동 전위 간격, 5 10 ms)를 자극 강도의 조절에 의해 동일하게 유지하였다. 활동 전위의 크기(amplitude), 최대 탈분극 속도, 재분극(repolarization)의 크기 50 및 90%에서의 활동 전위 기간(APD_{50}, APD_{90}) 및 휴식기 막전압의 탈분극 정도를 측정하였다. 정상 Tyrode 용액 및 26 mM K^+ Tyrode 용액을 사용하여 정상 및 완서 활동 전위를 측정하였다. 완서 활동 전위는 Ca^{2+} 통로를 통해 유입되는 Ca^{2+}에 의해 유발되므로 이때 최대 탈분극 속도를 측정함으로서 세포내로의 Ca^{2+} 유입 정도를 간접적으로 측정할 수 있다. 대조치, 2 MAC desflurane 투여 및 세척 후 상기 항목들을 측정하였다.

나. Patch clamp 기법을 이용한 Ca^{2+} 내향 전류의 측정

약 300 gm의 기니 픽에서 pentobarbital (30 mg/kg)을 복강내 투여하여 마취시킨 후 심장

을 빠른 속도로 적출하여 Langendorff 장치에 현수하였다. 100% O_2로 포화시킨 pH 7.4, 온도 37°C의 정상 Tyrode 용액으로 약 15분간 순환시켰다. 이후 low Ca^{2+} Tyrode 용액(mM: Na 120, Cl 125.4, K 5.4, Ca 12 μM, Mg 5, SO_4 5, pyruvate 5, glucose 20, taurine 20, nitriloacetic acid 2, N-2-hydroxyethylpiperazine-N'-2 ethanesulfonic acid [HEPES] 10)으로 5분간 순환시킨 후, collagenase (0.05 gm/50 ml), hyaluronidase (0.02 gm/50 ml) 및 $CaCl_2$ 25 μM을 첨가시킨 low Ca^{2+} Tyrode 용액으로 약 20분간 순환시키면서 심장이 물렁물렁(flaccid)해지는 것을 관찰하였다. 100 ml의 KB 용액(mM: taurine 10, oxalic acid 10, glutamic acid 70, K 35, Cl 25, H_2PO_4 10, glucose 11, ethylene glycol-bis(β-aminoethyl ether)-N,N,N,N-tetraacetic acid [EGTA] 0.5, HEPES 10)으로 약 30분간 순환시킨 후 양측 심실을 절제하였다. 우심실, 좌심실을 갈라 각각의 내피 표면에서 심근을 절제해 낸 후 KB 용액에 담그고 흔들어 조직을 분해시킨 후 200 μm nylon mesh로 걸러 내었다. KB 용액에 담겨져 있는 심근 세포는 37°C의 95% air/5% CO_2 incubator에 보관시켜 놓은 후 사용하였다. 2 mM $CaCl_2$에 노출시 수축을 보이지 않으며 striation이 뚜렷한 세포를 골라 실험하였다. 세포외액으로는 다음과 같은 구성의 용액(mM: Na 140, K 5, Ca 2, Mg 1, Cl 151, HEPES 10)을 사용하였으며 1 N NaOH를 사용하여 pH를 7.4로 조절하였다. Ca^{2+} 내향 전류를 측정하기 위해 patch pipette을 채우는 용액으로는 다음과 같은 구성의 용액(mM: Cs 120, tetraethylamonium 20, Ca 1, Cl 140, EGTA 11, HEPES 10, Mg-adenosine triphosphate 5)을 사용하였으며 1 N HCl을 사용하여 pH를 7.3으로 조절하였다. Whole cell이 된 후에는 bathing solution을 다음과 같은 성분의 용액(mM: Cs 125, tetraethylamonium 20, Ca 2, Mg 1, Cl 151, HEPES 10)을 사용하였고, 1 N CsOH를 사용하여 pH를 7.4로 조절하였다. 분리된 심근 세포는 inverted microscope 위에 엎혀져 있는 chamber에 고정시킨 후 whole cell 전압 고정법을 사용하였다.[17] 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 첨단의 저항이 2 3 MΩ인 것을 사용하였다. Two stage micropipette puller를 사용하여 electrode를 만든 후 electrode의 끝은 microforge로 열처리시킨 후 사용하였다. 모든 실험은 실내 온도(20 22°C)에서 시행하였다. Data acquisition은 version 6.0.3 pCLAMP System(Axon instruments)을 이용하였다. Whole cell이 되면 4 6분간 기다렸다가 안정상태가 된 후 다음의 실험을 진행하였다. Ca^{2+} 내향 전류는 −40 mV를 고정 막전압으로 한 후 −30 mV에서 +60 mV까지 step pulse를 적용하였으며 대조치, 1 MAC 및 2 MAC desflurane 투여 및 세척후 측정하였다.

4. 투여 약물의 종류와 사용 농도 및 투여 방법

Desflurane 기화기(vaporizer) (Devapor Type M32600, Drager AG, Lübeck, Germany) 또는 isoflurane 기화기(Isotec 3, Ohmeda, west Yorkshire, UK)를 통해 95% O_2/5% CO_2를 분당 1 L

의 유량으로 통과시켜 기화시키면서 gas bubbler를 통해 순환 용액인 정상 Tyrode 용액 200 ml에 용해시켰다. 각 흡입 마취제의 투여 농도는 마취 가스 분석기(Capnomac, Datex, Helsinki, Finland)를 이용하여 측정하였으며, bath내의 농도는 200 ml의 reservoir에 용해되어 있는 흡입 마취 가스 농도를 gas chromatography를 이용하여 측정하였다. 37°C에서 1 MAC 및 2 MAC desflurane은 각각 0.18 mM 및 0.44 mM, 1 MAC 및 2 MAC isoflurane은 0.22 및 0.42 mM의 농도를 나타내었다. 37°C에서 desflurane 및 isoflurane의 water/gas 분배계수는 각각 0.225[1]와 0.55[18]임을 참조하여 볼 때 0.18 mM 및 0.44 mM의 desflurane은 0.33 MAC (2%) 및 0.42 MAC (5%), 0.22 및 0.42 mM의 isoflurane은 0.87 MAC (1%) 및 1.19 MAC (1.94%)의 투여 농도에 해당하게 된다.

5. 자료 검증 방법

심근 수축 및 활동 전위 측정치의 투여 농도에 따른 차이 및 동일 자극횟수에서 대조군과 각 흡입 농도의 차이를 검증하기 위하여 repeated measures of analysis of variance (ANOVA)를 사용하였고, 각 집단간의 유의성을 검증하기 위하여 Fisher's PLSD test를 적용하였다. 동일 투여 농도에서 desflurane 및 isoflurane의 각 자극 횟수에서의 수축 크기의 비교는 unpaired t-test를 적용하였다. 모든 수치는 mean±SEM으로 표시하였으며, P 값이 0.05 미만인 경우를 통계적인 의의가 있는 것으로 간주하였다.

III. 결　　과

1. 심근 수축에 미치는 영향

기니 픽의 심근에서 1 MAC 및 2 MAC desflurane은 RS에서 3 Hz까지의 자극 횟수에서 심근 수축력을 약 30% (2 Hz: 2.99±0.63 mN/mm^2 vs 1.94±0.7 mN/mm^2, $P<0.05$) 및 60% (2 Hz: 2.99±0.63 mN/mm^2 vs 1.22±0.42 mN/mm^2, $P<0.05$) 감소시켰으며(Fig. 1), 1 MAC 및 2 MAC isoflurane은 전 자극 횟수에 걸쳐 약 25% (2 Hz: 6.56±1 mN/mm^2 vs 5.13±0.96 mN/mm^2, $P<0.05$) 및 45% (2 Hz: 6.56±1 mN/mm^2 vs 3.88±0.9 mN/mm^2, $P<0.05$)를 감소시켰다(Fig. 2). Desflurane 및 isoflurane은 투여 농도에 비례하여 심근 수축을 저하시키는 결과를 보였으나 각 자극 횟수 간의 심근 수축력 크기의 차이는 없었다. 1 MAC의 desflurane과 isoflurane은 동일한 자극 횟수에서 심근 수축력 크기의 차이를 보이지 않았으며($P>0.05$), 2 MAC의 투여 농도에서도 동일한 결과를 나타내었다. 20분간의 세척 후 desflurane은 약 50

60%의 회복을 보였으며 이후 60분간의 세척에도 불구하고 더 이상의 회복은 관찰할 수 없었다. 이에 반해 isoflurane은 20분간의 세척후 대조치로 회복되는 양상을 나타내었다.

쥐 심근의 RS 및 0.1 Hz 자극에서 desflurane이 근 수축에 미치는 효과를 측정함으로써 심근 소포체로부터의 Ca^{2+} 배출에 미치는 영향을 확인해 보고자 하였다. 여러 동물의 심방

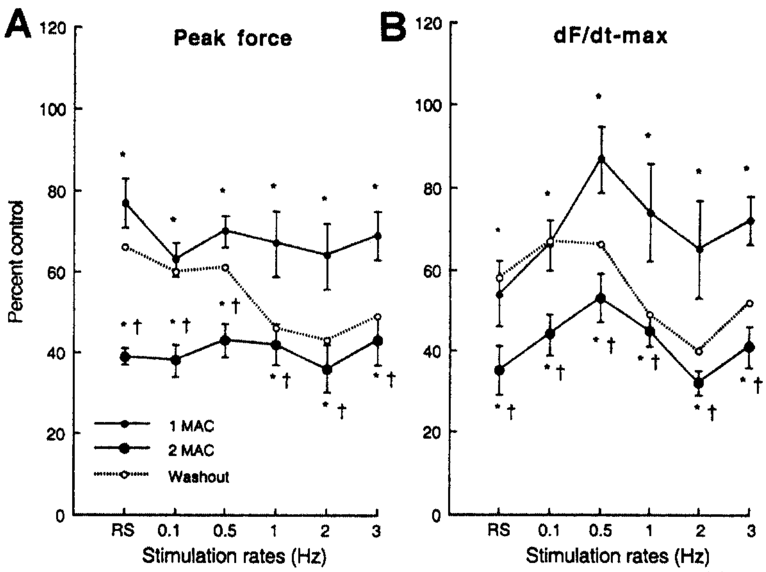

Fig. 1. Effects of 1 MAC and 2 MAC desflurane on myocardial contractile force at various stimulation rates. Peak force (A) and maximum rate of force development (dF/dt-max) (B) (n=8). Dotted lines indicate washout for 20 min. Error bars indicate SEM. $*^{\dagger}$ Differences ($P<0.05$) from control and 1 MAC desflurane, respectively.

근 및 심실근 중, 쥐의 심실근이 심근 소포체로부터의 calcium-induced calcium release에 가장 의존적인 것으로 알려져 있으며,[12] 쥐의 심근은 휴식기중 심근 소포체에 Ca^{2+}이 축적되므로 일정 기간의 휴식기 후 첫 번째 자극에 의한 심근 수축인 RS contraction이 기타 자극 횟수에 비해 제일 큰 수축을 나타내게 된다.[11] 이때의 심근 수축은 심근 소포체로부터의 Ca^{2+} 배출에 전적으로 의존하게 되므로 이는 심근 소포체로부터의 Ca^{2+} 배출에 대한 영향을 간접적으로 나타내는 것이라 할 수 있다. RS에서 3 Hz까지의 자극에서 쥐 유두근은 자극 횟수의 증가에 따라 심근 수축력이 감소하는 정상적인 양상을 나타내었다. RS 및 0.1 Hz의 자극 횟수에서 2 MAC desflurane 투여시 및 20분간의 세척후의 근수축은 대조군과 비교하여 차이를 보이지 않았다(Table 1). 대조군에서 RS 및 0.1 Hz의 자극시 최대 장력은 각각 7.65±2.09 mN/mm^2 및 7.01±2.43 mN/mm^2을 보였으며, 최대 장력 발생 속도는 136.89±31.57 $mN/s/mm^2$ 및 124.6±33.65 $mN/s/mm^2$을 나타내었다.

서로 다른 종에 따른 차이(species difference)를 검증하기 위하여 기니 픽 심근을 이용한 low Na^+ Tyrode 용액 실험에서 desflurane이 심근 소포체로부터의 Ca^{2+} 배출에 미치는 영향을 확인해 보고자 하였다. 세포외액의 Na^+이 낮은 상태에서는 세포막에 존재하고 있는 Na/Ca 교환 펌프의 작용이 억제되어 세포외로의 Ca^{2+} 배출이 억제되어 세포내에 Ca^{2+}이 축적되고, 결과적으로 심근 소포체내의 Ca^{2+}량이 증가하게 된다.[14] 따라서 이때의 RS

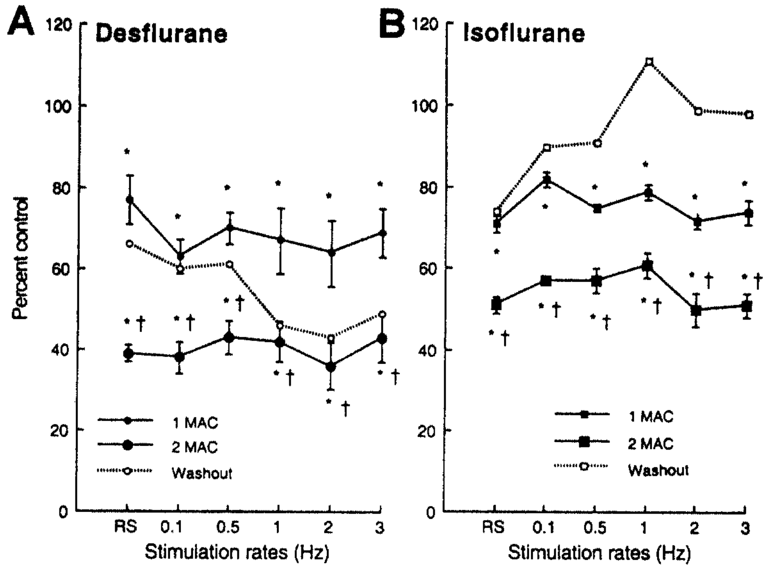

Fig. 2. Effects of equivalent anesthetic concentrations of desflurane and is on myocardial force development. (A) Effects of 1 MAC and 2 MAC desf on myocardial peak force at various stimulation rates in guinea pig pa muscles (n=8). (B) Effects of 1 MAC and 2 MAC isoflurane (1.15% and respectively) on myocardial peak force at various stimulation rates in gu papillary muscles (n=5). Dotted lines indicate washout for 20 min. Erro indicate SEM. *Differences ($P<0.05$) from control; † Differences ($P<0.05$) 1 MAC desflurane or 1 MAC isoflurane, respectively.

Table 1. Effect of 2 MAC Desflurane on Contractile Force in Rat Myocardium

		Control	Desflurane	Recovery
Peak force	RS	7.65±2.09	6.99±1.91	7.19±1.91
(mN/mm^2)	0.1 Hz	7.01±2.43	6.22±2.07	6.35±2.04
dF/dt-max	RS	136.89±31.57	126.85±30.83	131.33±39.89
($mN/s/mm^2$)	0.1 Hz	124.36±33.65	108.77±31.02	126.87±38.08

Values are mean±SEM (n=6). Desflurane showed no alterations in peak force and dF/dt-max.

contraction의 정도는 심근 소포체로부터의 Ca^{2+}배출에 대한 간접적인 지표로 생각할 수 있다. Low Na^{+} Tyrode 용액에서 RS 및 0.1 Hz의 자극에서 2 MAC desflurane 투여시 및 20분간의 세척후의 근수축은 대조군과 비교하여 차이를 보이지 않았다(Table 2). 대조군에서 RS 및 0.1 Hz의 자극 시 최대 장력은 각각 7.34±2.33 mN/mm^2 및 9.44±2.98 mN/mm^2을 보였으며, 최대 장력 발생 속도는 43.26±9.83 $mN/s/mm^2$ 및 79.44±23.72 $mN/s/mm^2$을 나타내

Table 2. Effect of 2 MAC Desflurane on Contractile Force in Low Na^+ (25 mM) Tyrode's Solution

		Control	Desflurane	Recovery
Peak force	RS	7.34±2.33	6.96±2.03	7.14±2.08
(mN/mm^2)	0.1 Hz	9.44±2.98	7.87±2.49	8.95±2.92
dF/dt-max	RS	43.26±9.83	50.04±13.50	50.0±18.17
($mN/s/mm^2$)	0.1 Hz	79.44±23.72	72.29±22.25	78.32±25.35

Values are mean±SEM (n=6). Desflurane showed no alterations in peak force and dF/dt-max.

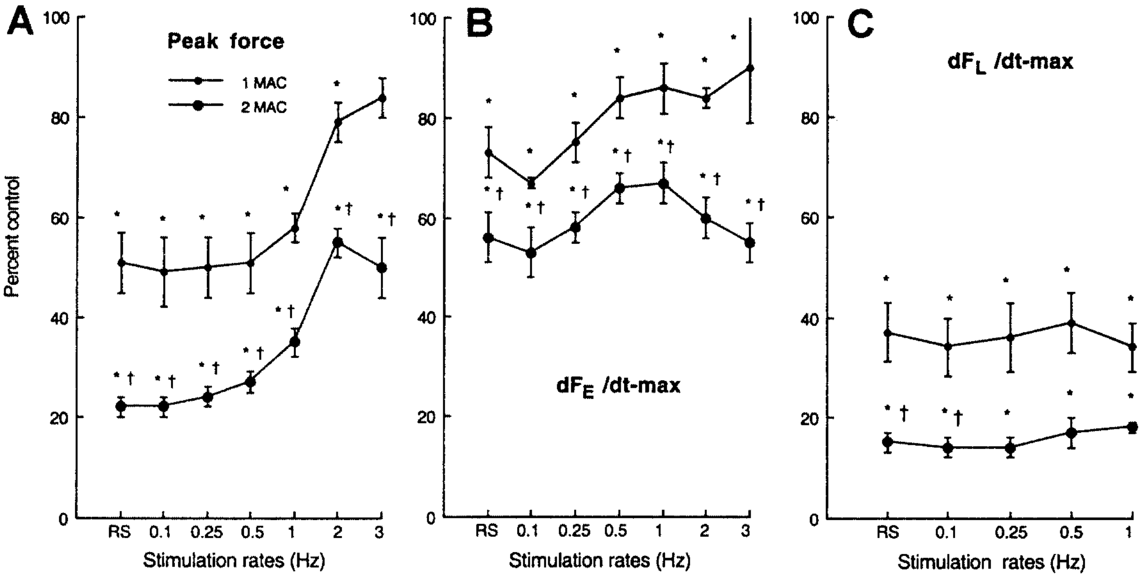

Fig. 3. Effects of desflurane on myocardial force development in 26 mM K^+ Tyrode's solution with 0.1μM isoproterenol in guinea pig ventricular myocardium. (A) Effects of 1 MAC and 2 MAC desflurane on average peak force. Effects of 1 MAC and 2 MAC desflurane on maximum rate of early, dF_E/dt-max (B), and late force development, dF_L/dt-max, (C) as a function of stimulation rate (n=4). Error bars indicate SEM. $*, ^\dagger$ Differences (P<0.05) from control and 1 MAC desflurane, respectively.

었다.

26 mM K^+ Tyrode 용액에서 0.1μM isoproterenol 투여시 관찰할 수 있는 이상성 근수축에서 전반부 근수축은 이전의 활동 전위들에 의해 심근 소포체내에 측적되어 있던 Ca^{2+}이 현재의 활동 전위에 의해 배출되어 유발되고, 후반부 근수축은 현재의 활동 전위에 의해 유입된 Ca^{2+}이 심근 소포체에 흡수되어 동일한 활동 전위의 후반부에 심근 소포체로부터 배출되어 유발되는 것으로 알려져 있다.[19] 26 mM K^+ Tyrode 용액하의 근수축에서 1 MAC 및 2 MAC desflurane은 투여 농도에 비례하여 최대 장력을 저하시키는 효과를 보였으며,

특히 후반부 최대 장력을 크게 감소시켰다. 전반부 최대장력 발생 속도는 1 MAC 및 2 MAC desflurane이 약 20% (0.5 Hz: 25.61± 14.45 mN/s/mm^2 vs 20.43± 11.57 mN/s/mm^2, P< 0.05) 및 40% (0.5 Hz: 25.61± 14.45 mN/s/mm^2 vs 15.69± 8.48 mN/s/mm^2, P<0.05)를 감소시켰으며, 후반부 최대장력 발생 속도는 약 60% (0.5 Hz: 60.88±40.06 mN/s/mm^2 vs 29.84± 23.00 mN/s/mm^2, P<0.05) 및 80% (0.5 Hz: 60.88±40.06 mN/s/mm^2 vs 12.90±9.80 mN/s/mm^2, P<0.05)를 감소시켜, 전반부에 비해 후반부 최대 장력 발생 속도를 현저히 감소시키는 효과를 나타내었다(Fig. 3). 정상 Tyrode 용액하에서와는 달리 20분간의 세척 후 전반부 및 후반부 근수축은 대조치의 약 80%로 회복되는 양상을 나타내었다.

급속 냉각시에 나타나는 경축의 크기는 급속 냉각 직전에 심근 소포체내에 존재하는 Ca^{2+}의 양을 간접적으로 나타내는 지표로 생각되고 있다.[13] 대조군에서는 2 Hz의 자극 횟수에서 일정 기간동안 근수축을 유발시킨 후 자극을 중단시키면서 동시에 0 5°C의 냉각 정상Tyrode 용액을 투여시 3 8초 동안의 정상적인 phasic contracture를 관찰할 수 있었다(Fig. 4).

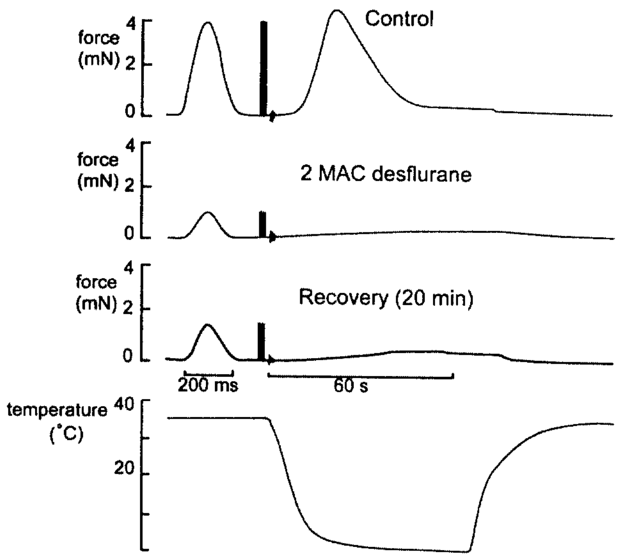

Fig. 4. Typical record of 2 MAC desflurane on the rapid cooling contractures in guinea pig myocardium. Steady state contractile force evoked by 2 Hz stimulation rate (shown at high and low chart speed) followed by immediate cooling from 37°C to <3°C achieved within 1.5 s, as shown by the temperature measurement in bottom record. Treatment with 2 MAC desflurane caused a profound reduction in the rapid cooling contractures. Note that while desflurane-induced depression in the electrically evoked contractions showed partial recovery, the effect of desflurane on the rapid cooling contracture was not recovered to baseline value at all.

대조군에서 급속 냉각 경축의 크기는 3.60±0.52 mN/mm^{2}으로서 2 Hz 자극시의 근수축의 크기(2.77±0.67 mN/mm^2)보다 더 큰 양상을 나타내었다(급속 냉각 경축의 크기/최대 장력 = 1.3). 1 MAC 및 2 MAC desflurane 투여시 2 Hz 자극 횟수에서의 최대 장력은 약 40% (2.77±0.67 mN/mm^2 vs 2.29±0.83 mN/mm^2, P<0.05) 및 60% (2.77±0.67 mN/mm^2 vs 1.37±0.53 mN/mm^2, P<0.05)가 감소되어 정상 Tyrode 용액하의 근수축과 유사한 감소를 보였으나, 급속 냉각 경축은 현저히 감소시켰다(1 MAC: 3.60±0.52 mN/mm^2 vs 0.46±0.10 mN/mm^2, P<0.05; 2 MAC: 3.60±0.52 mN/mm^2 vs 0.36±0.07 mN/mm^2, P<0.05). 20분간의 세척후 최대 장력은 대조치의 약 60%로 회복되었으나 급속 냉각 경축의 회복은 관찰할 수 없었다. 60분간 더 세척한 결과 급속 냉각 경축은 대조치의 약 65%로 회복되었으나 최대 장력은 20분간의 세척 후의 결과와 차이를 보이지 않았다(Fig. 5).

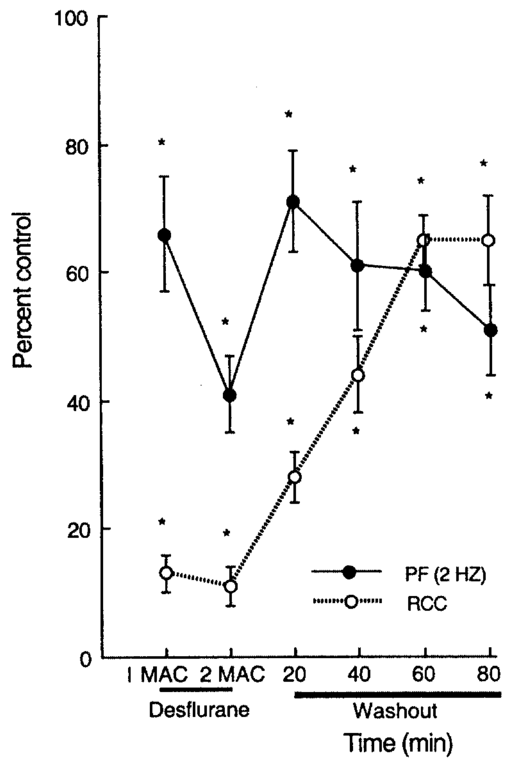

Fig. 5. Effects of 1 MAC and 2 MAC desflurane on th covery of peak force and rapid cooling contractures continuous washout period. Filled circle represents peak and unfilled circle and dotted line indicate rapid coo contractures (n=9). PF=peak force. RCC=rapid cooling tracture. Error bars indicate SEM. *Differences (P< from control.

2. 전기 생리학적인 효과

정상 활동 전위에서 2 MAC desflurane**은** 0.25 Hz**의 자극 횟수에서 활동 전위의 크기**(**대조치**: 128±5 mV) **및** dV/dt-max (**대조치**: 126±12 V/s)**의 변화를 보이지 않았으나**, APD_{50} **및**

Table 3. Effects of 2 MAC Desflurane on Normal and Slow Action Potential Characteristics at 0.25 Hz Stimulation Rate

	Amplitude (mV)	APD_{50} (ms)	APD_{90} (ms)	dV/dt-max (V/s)
Normal APs (n=6)				
Control	128±5	173±6	206±6	126±12
Desflurane	130±6	195±5*	228±6*	123±11
Recovery	131±6	191±2*	220±3	132±14
Slow APs (n = 6)				
Control	102±1	165±12	190±13	16±2
Desflurane	104±1	174±13	215±9*	16±2
Recovery	104±2	175±9	201±1	16±1

Values are mean±SEM. AP=action potential; dV/dt-max=maximum rate of depolarization of the AP; APD_{50} and APD_{90}=the duration of the AP at 50% and 90% repolarization, respectively. Repeated measures of analysis of variance (ANOVA) followed by Fisher PLSD test was used to test for difference among groups. *$P<0.05$ differed from control.

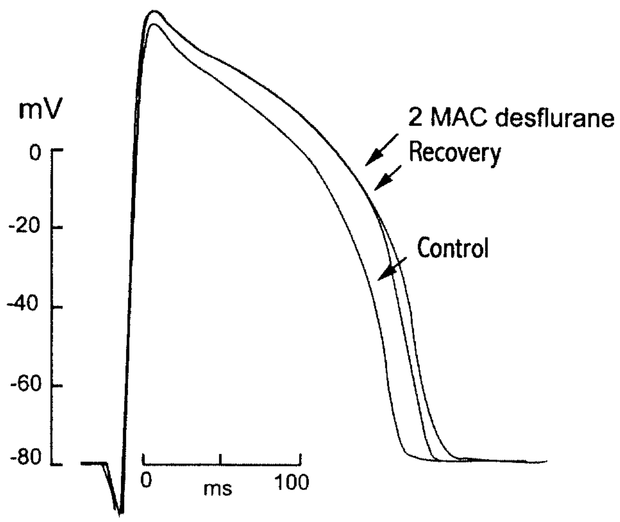

Fig. 6. Effects of 2 MAC desflurane on normal cardiac a potentials recorded at 0.25 Hz stimulation rate in no Tyrode's solution.

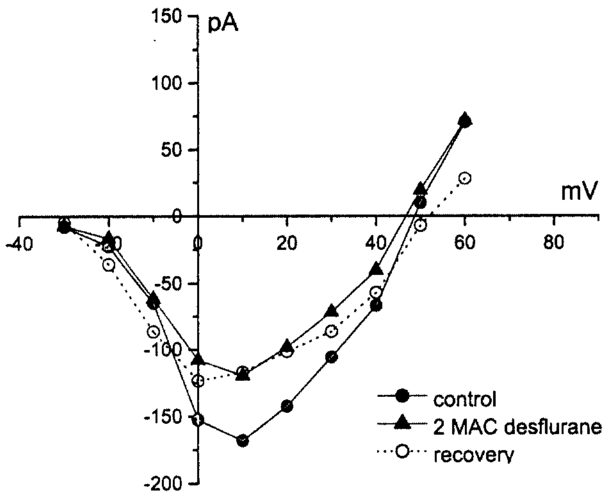

Fig. 7. I-V relations of 1 MAC desflurane on I_{Ca} in guinea pig ventricular myocytes at room temperature. Voltage-dependent Ca^{2+} current was evoked by step depolarizations from −30 mV to +60 mV from a holding potential of −40 mV (n=5). The effect of desflurane was not reversible.

APD_{90}은 각각 13% (173±6 ms vs 195±5 ms, $P<0.05$) 및 11% (206±6 ms vs 228±6 ms, $P<0.05$) 연장시키는 효과를 나타내었다(Table 3, Fig. 6). 휴식기 막전압의 변화(−87 −92 mV)는 관찰할 수 없었다. 완서 활동 전위에서 2 MAC desflurane은 정상 활동 전위에서와 같이 0.25 Hz의 자극 횟수에서 활동 전위의 크기(대조치: 102±1 mV) 및 dV/dt-max (대조치: 16±2 V/s)의 변화를 보이지 않았으나, APD_{50} 및 APD_{90}은 각각 9% (165±12 ms vs 174±13 ms, $P>0.05$) 및 15% (190±13 ms vs 215±9 ms, $P<0.05$) 연장시키는 효과를 나타내었다(Table 3). 휴식기 막전압의 변화(−39 −44 mV)는 관찰할 수 없었다.

1 MAC 및 2 MAC desflurane은 Ca^{2+} 내향 전류를 약 30% (−167±12 pA vs −120±17 pA, $P<0.05$) 및 60% 감소시키는 효과(−203±28 pA vs −104±5 pA, $P<0.05$)를 나타내었다(Fig. 7, 8).

IV. 고 찰

본 실험에서 desflurane은 기니 픽 심실근에서 투여 농도에 비례하여 심근 수축을 저하시키는 효과를 보였다. Desflurane의 심근 수축 저하 효과는 그간 사람과[3] 동물,[4-6] Langendorff 장치를 이용한 기니 픽의 적출 심장[8] 및 쥐,[9] 햄스터의 심근 절편을 이용한 연구에서[10] 보고되었다. 대부분의 생체내 동물 실험[4,6,7] 및 사람의 연구에서[3,20] 동일 MAC 투여 농도의 desflurane과 isoflurane은 유사한 정도의 심근 수축 저하 효과를 나타낸 반면, 동물을 이용

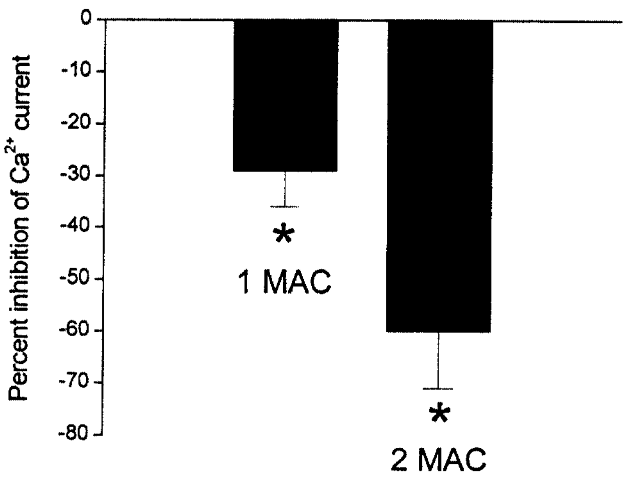

Fig. 8. Effects of 1 MAC and 2 MAC desflurane on I_{Ca} in isolated guinea pig ventricular myocytes whole cell patch clamped at room temperature. Currents shown are in response to 200 ms depolarizations to +10 mV. Average depression of peak I_{Ca} by 1 MAC and 2 MAC desflurane for 5 myocytes at each concentration are shown. Error bars indicate SEM. *Differences ($P<0.05$) from control.

한 다른 생체내 연구에서는 desflurane이 isoflurane보다 심근 수축을 더 저하시키거나[21] 또는 이와 반대로 isoflurane이 desflurane보다 더 저하시킨다는 보고[5]가 있어 왔다. Bovan 등은[8] 기니픽의 적출 심장을 이용한 연구에서 동일 MAC 투여 농도의 desflurane이 isoflurane보다 수축기 좌심실 압을 더 감소시킨다고 보고한 반면, 쥐[9]나 햄스터[10]의 유두근을 이용한 연구에서는 isoflurane이 심근 수축을 저하시키나 이에 반해 desflurane은 심근 수축에 별다른 영향을 보이지 않음을 보고하고 있다. Pagel 등은[7] 개의 교감신경계를 약물 투여로 차단시킨 상태에서 심근 수축력의 지표인 PRSW (preload recruitable stroke work)/EDL (end-diastolic segmental length)을 비교한 연구에서 1 MAC의 desflurane (개에서의 1 MAC은 7.2%)과 isoflurane (1.28%)은 약 28%의 유사한 수축력 감소를 보였다고 하였다. Bovan 등은[8] 1 MAC (기니픽에서의 1 MAC은 약 6%)의 desflurane에서 좌심실압이 약 15%, 2 MAC에서 약 30%의 감소를 보였으며, isoflurane에서는 약 11 및 24%의 수축력 감소를 보여 동일 MAC 농도에서 desflurane이 isoflurane에 비해 심근 수축력을 약간 더 감소시킨다고 보고하였다. 본 연구에서는 1 MAC의 desflurane이 약 30% 정도의 수축력 감소를 나타내어 Pagel 등의[7] 결과와 유사한 심근 수축력 감소를 나타내었다.

Bovan 등이[8] gas chromatography로 측정한 1 MAC 및 2 MAC desflurane의 관류액 내의 농도는 각각 0.59 mM (6.8%에 해당) 및 1.02 mM (11.8%에 해당)로서 본 연구에서 측정한 0.18 mM (2%에 해당) 및 0.44 mM (5%에 해당)에 비해 2 3배에 해당하는 높은 농도를 나

타내었다. 이와 같은 차이는 아마도 본 연구에서는 desflurane을 기포화(bubbling)시키는 reservoir를 대기에 노출시킨 상태에서 측정하였는데 반해, Bovan 등은[8] reservoir가 밀폐된 상태에서 측정하였기 때문인 것으로 생각된다. 동일 MAC 투여시 water/gas 분배 계수가 desflurane이 0.25, isoflurane이 0.55로서 이는 desflurane이 iosflurane에 비해 상대적으로 더 많이 대기로 증발되는 것을 의미하므로 이로 인하여 gas chromatography로 측정한 desflurane의 reservoir내의 농도가 isoflurane에 비하여 더 낮았던 것으로 생각된다. 본 연구 결과에서 reservoir에 녹아 있는 desflurane의 농도는 1 MAC (6%)의 desflurane 투여시 0.18 mM로서 이는 2% (0.33 MAC) desflurane에 해당하며, isoflurane의 경우는 1 MAC (1.15%) 투여시 0.22 mM로서 이는 1% (0.87 MAC) isoflurane에 해당함으로 실제적으로는 동일 MAC 투여시 desflurane이 isoflurane에 비해 직접적으로 심근 수축을 더 저하시키는 것으로 생각된다.

본 연구의 흥미로운 결과로서 20분간의 세척 후 desflurane에서는 근수축이 대조치로 회복되지 않았으며 이후 60분간 더 세척하였음에도 불구하고 그 이상 더 회복되지 않았다. 이의 원인으로서 본 연구에서의 기본적인 심근 표본의 준비 상태가 시간이 지날수록 수축력이 점차적으로 감소된다는 것을 의심할 수 있겠으나 isoflurane의 경우 20분간의 세척후 근수축이 대조치로 회복되었고, 또한 따로 시행한 desflurane을 투여하지 않은 상태에서의 동일 시간대의 근수축 실험에서 20분간의 세척 후 근수축이 대조치의 약 80%로 회복되는 점으로 보아 이는 desflurane이 심근 세포내에서 심근 수축에 관여하는 부위에 따라 다르게 작용한다는 것을 의미할 것이다.

본 실험의 결과에서 desflurane은 저 자극 횟수에서 쥐의 심근 수축 및 low Na^{+} Tyrode 용액하의 기니픽의 심근 수축에 영향을 미치지 않았다. 15분간의 휴식기동안 다른 동물들과는 달리 쥐의 심근 소포체에는 Ca^{2+}이 소실되지 않고 반대로 축적되는 특성을 가지고 있다.[22,23] 쥐의 심근은 특히 다른 동물에 비해 calcium-induced calcium release의 특성을 갖고 있어 활동 전위에 의해 유입되는 Ca^{2+}의 양이 감소하여도 심근 소포체로부터의 Ca^{2+} 배출은 그다지 큰 영향을 받지 않음으로서 쥐의 심근 수축은 주로 심근 소포체로부터의 Ca^{2+} 배출에 의해 영향을 받게 된다.[12] 따라서 쥐의 심근을 이용하여 심근 소포체로부터의 Ca^{2+} 배출에 미치는 영향을 추정해 볼 수 있을 것이다. 1 MAC의 desflurane은 심근 수축을 저하시키지 않음으로서 desflurane은 심근 소포체에서의 Ca^{2+} 흡수 및 배출에 영향을 미치지 않는 것으로 생각된다. 종에 따른 차이를 배제하기 위하여 기니 픽을 이용하여 재검증하여 보았으나 이 역시 desflurane의 투여에 의해 심근 수축이 변화하지 않음으로서 desflurane은 심근 소포체에서의 Ca^{2+} 흡수 및 배출에 영향을 미치지 않는 것으로 생각된다. 쥐의 유두근을 이용한 본 실험의 결과는 Gueugniaud 등의[9] postrest-potentiated contraction 실험 결과와 동일한 소견을 보이고 있다. Isoflurane[24-26]과 sevoflurane[27]은 desflurane과 유사한 효과를 나타내나 halothane과 enflurane은 휴식기 동안 심근 소포체의 Ca^{2+} 배출 통로를 활성화시켜 소포체내의 Ca^{2+}양을 고갈시킴으로서 RS contraction이 감소되는 효과를 보이는 것으로 알

려져 있다.[28,29]

Desflurane은 26 mM K^{+} Tyrode 용액하의 근수축 실험에서 후반부 근수축을 심하게 감소시켰으며 이는 isoflurane,[24] enflurane[25] 및 sevoflurane[27]에서도 유사하게 관찰되고 있다. 현재의 활동 전위에 의해 유입된 Ca^{2+}이 이전의 활동 전위들에 의해 심근 소포체내에 축적되어 있던 Ca^{2+}을 현재의 탈분극에 의해 배출시켜 전반부 근수축을 발생시키고, 이후 근소포체로 흡수된 후 근소포체로부터 배출되어 후반부 근수축을 일으키는 것으로 알려져 있다.[19] Desflurane에 의한 후반부 근수축의 심한 감소는 Ca^{2+}내향 전류의 감소에 의해 발생할 수 있으며 또한 심근 소포체로부터 Ca^{2+}배출의 억제에 의해서도 발생할 수 있을 것이다. 쥐와 low Na^{+} Tyrode 용액하의 실험에서 심근 소포체로부터의 Ca^{2+} 배출에 desflurane이 거의 영향을 미치지 않음으로서 후반부 근수축의 감소는 Ca^{2+} 내향 전류의 감소에 의한 것으로 생각되며, 이는 또한 patch clamp 실험 결과에서 확인할 수 있었다. Desflurane에 의한 전반부 근수축의 감소는 이 역시 Ca^{2+} 내향 전류의 감소에 기인하는 것으로 생각된다. Ca^{2+} 유입이 감소되거나 또는 세포외 용액의 Ca^{2+}량을 감소시키더라도 일정 기간의 근수축 후의 심근 소포체내의 Ca^{2+}량은 정상 상태의 Ca^{2+}량과 동일하나[30,31] 이때 근수축이 감소하는 것은 calcium-induced calcium release에서 trigger로 작용하는 Ca^{2+}의 양이 감소되어 이차적으로 심근 소포체로부터 배출되는 Ca^{2+}의 양이 적기 때문인 것으로 생각되고 있다. 따라서 desflurane에 의한 전반부 근수축의 감소도 심근 소포체로부터 Ca^{2+} 배출의 억제에 의한 것이라기 보다는 desflurane에 의한 Ca^{2+} 내향 전류의 감소에 의한 것으로 생각된다.

휴식기후의 첫 번째 자극에 의한 RS contraction은 이상성 근수축을 보이며 주로 후반부 근수축이 관찰된다. 기니 픽에서 일정 기간의 휴식기동안에는 심근내의 Ca^{2+}이 세포외로 배출되어 심근 세포내의 Ca^{2+}이 고갈되게 된다.[14,32] RS contraction은 전기적 자극에 의해 유입된 Ca^{2+}에 의해 발생되며 따라서 desflurane에 의한 RS contraction의 감소는 Ca^{2+} 내향 전류의 감소를 그 원인으로 생각할 수 있을 것이다.

본 실험에서 desflurane은 급속 냉각에 의한 근소포체로부터의 Ca^{2+} 배출을 심하게 억제하였다. 급속 냉각에 의한 경축의 크기는 급속 냉각전 근소포체내에 존재하고 있는 Ca^{2+}의 양으로 생각되고 있다.[13] 1 MAC desflurane에 의해 급속 냉각에 의한 경축의 크기가 현저히 저하되었음은 심근 소포체 내에 Ca^{2+}이 거의 없다는 것을 의미할 수 있겠으나 급속 냉각전 2 Hz의 자극 횟수에서 심근 수축이 유지되는 점을 고려하여 볼 때 심근 소포체내에 Ca^{2+}이 없다는 것은 이해하기 곤란하다. 세포외액의 Ca^{2+}량을 감소시키거나,[30,31] 또는 Ca^{2+} 통로 차단제인 nickel[33]이나 cobalt[34] 등을 전처치한 경우에도 일정 기간동안의 근수축 후에 심근 소포체내의 Ca^{2+}량은 정상 근수축시의 소포체내의 Ca^{2+}량과 동일하며, 또한 본 실험에서 심근 소포체내로의 Ca^{2+} 흡수에 desflurane이 영향을 미치지 않는 점을 고려하여 볼 때 심근 소포체내의 Ca^{2+}이 존재하는 것으로 생각해야 할 것이다. 따라서 급속 냉각에 의한 경축이 심하게 감소한 것은 desflurane이 급속 냉각시에만 작동되는 ryanodine에 반응

하지 않는 Ca^{2+} 배출 통로(ryanodine-insensitive calcium release pathway)를 선택적으로 억제하기 때문인 것으로 생각된다. 최근 Fehr와 Rebeyka는[35] 급속 냉각시에 Ca^{2+} 배출은 탈분극에 의해 Ca^{2+}이 배출되는 ryanodine에 반응하는 Ca^{2+} 배출 통로에 의하지 않고, 이와는 다른 ryanodine에 반응하지 않는 Ca^{2+} 배출 통로(심근 소포체막의 Ca^{2+}-ATPase로 추정)에 의해 배출된다는 것을 보고하였다. 급속 냉각 경축이 이와 유사하게 심하게 억제되는 것은 desflurane외에 isoflurane[36] 및 sevoflurane[27]과 같은 동일 halogenated ether 계통의 흡입 마취제에서도 관찰되고 있다.

완서 활동 전위 실험에서 desflurane은 dV/dt-max의 변화를 보이고 있지 않으나 활동 전위 기간을 연장시켰다. Na^{+} channel이 불활성화(inactivation)된 상태에서의 완서 활동전위에서의 dV/dt-max는 탈분극에 관여하는 모든 전류 (주로 Ca^{2+}과 K^{+} 전류)의 상호 종합적인 결과(net effect)를 나타내므로 만일 desflurane이 K^{+} 전류를 억제하여 활동 전위 기간을 연장시킨다면 Ca^{2+} 내향 전류의 감소가 있음에도 불구하고 dV/dt-max의 변화는 초래되지 않을 수 있다. Patch clamp 기법을 이용한 본 실험 결과에서 desflurane은 직접적으로 Ca^{2+} 내향 전류를 감소시켰으며, 또한 본 연구에서 시행한 일부 실험에서 desflurane이 I_k 및 I_{K1}을 억제시키는 것을 관찰함으로서 완서 활동 전위에서 dV/dt-max의 변화가 없는 것을 설명할 수 있을 것이다. Desflurane에 의한 I_k 및 I_{K1}의 억제가 desflurane에 의한 활동 전위 기간을 연장시키는 한 원인으로 생각되며 향후 이에 대한 좀 더 자세한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

V. 결 론

기니 픽 및 쥐의 유두근 및 기니픽의 심근 세포를 이용하여 desflurane의 직접적인 심근 수축 저하 기전을 규명하고자 하였다. Desflurane은 투여 농도에 비례하여 직접적으로 심근 수축을 저하시켰으며, isoflurane과는 동일 MAC 투여 농도에서 유사한 심근 수축 저하 효과를 나타내었다. 심근 소포체내로의 Ca^{2+} 흡수 및 탈분극에 의한 심근 소포체로부터의 Ca^{2+} 배출에는 거의 영향을 미치지 않으나, 급속 냉각시에 관여되는 Ca^{2+} 배출 부위는 심하게 억제하였다. 전기생리학적인 실험에서 정상 및 완서 활동 전위 기간을 연장시켰으며, Ca^{2+} 내향 전류를 투여 농도에 비례하여 직접적으로 감소시키는 효과를 보였다.

결론적으로, desflurane은 직접적인 심근 수축 저하 작용이 있으며, 동일 MAC 농도에서 isoflurane과 매우 유사함을 보인다. Ca^{2+} 내향 전류의 감소는 desflurane의 직접적인 심근 수축 저하의 주된 한 원인으로 생각된다. 따라서 desflurane을 이용한 전신마취에서 저혈압의 발생시 Ca^{2+} 내향 전류를 증가시키기 위한 임상적 방법들은 혈역학의 개선에 도움을 줄 수 있을 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. Eger EI II. Partition coefficients of I-653 in human blood, saline, and olive oil. Anesth Analg 1987;66:971-3.
2. Koblin DD, Weiskopf RB, Holmes MA, Konopka K, Rampil IJ, Eger EI II, et al. Metabolism of I-653 and isoflurane in swine. Anesth Analg 1989;68:147-9.
3. Weiskopf RB, Cahalan MK, Eger EI II, Yasuda N, Rampil IJ, Ionescu P, et al. Cardiovascular actions of desflurane in normocarbic volunteers. Anesth Analg 1991;73:143-56.
4 Weiskopf RB, Holmes MA, Eger EI II, Johnson BH, Rampil IJ, Brown JG. Cardiovascular effects of I653 in swine. Anesthesiology 1988;69:303-9.
5. Pagel PS, Kampine JP, Schmeling WT, Warltier DC. Comparison of the systemic and coronary hemodynamic actions of desflurane, isoflurane, halothane, and enflurane in the chronically instrumented dog. Anesthesiology 1991;74:539-51.
6. Merin RG, Bernard JM, Doursout MF, Cohen M, Chelly G. Comparison of the effects of isoflurane and desflurane on cardiovascular hemodynamics and regional blood flow in the chronically instrumented dog. Anesthesiology 1991;74:568-74.
7. Pagel PS, Kampine JP, Schmeling WT, Warltier DC. Influence of volatile anesthetics on myocardial contractility in vivo: desflurane versus isoflurane. Anesthesiology 1991;74:900-7.
8. Boban M, Stowe DF, Buljubasic N, Kampine JP, Bosnjak ZJ. Direct comparative effects of isoflurane and desflurane in isolated guinea pig hearts. Anesthesiology 1992;76:775-80.
9. Gueugniaud PY, Hanouz JL, Vivien B, LeCarpentier Y, Coriat P, Riou B. Effects of desflurane in rat myocardium. Comparison with isoflurane and halothane. Anesthesiology 1997;87: 599-609.
10. Vivien B, Hanouz JL, Gueugniaud PY, LeCarpentier Y, Coriat B, Riou B. Myocardial effects of desflurane in hamsters with hypertrophic cardiomyopathy. Anesthesiology 1998;89:1191-8.
11. Fabiato A. Calcium-induced release of calcium from the cardiac sarcoplasmic reticulum. Am J Physiol 1983;245:C1-14.
12. Bers DM. Ca influx and sarcoplasmic reticulum Ca release in cardiac muscle activation during postrest recovery. Am J Physiol 1985;248:H366-81.
13. Bridge JHB. Relationships between the sarcoplasmic reticulum and sarcolemmal calcium transport revealed by rapidly cooling rabbit ventricular muscle. J Gen Physiol 1986;88:437-73.
14. Reiter M, Vierling W, Seibel K. Excitation-contraction coupling in rested-state contractions of guinea-pig ventricular myocardium. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol 1984;325: 159-69.
15. Reuter HSH. The regulation of the calcium conductance of cardiac muscle by adrenaline. J Physiol (Lond) 1977;264:49-62.

16. Seibel K, Karema E, Takeya K, Reiter M. Effects of noradrenaline on early and late component of the myocardial contraction. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol 1978;305:65-74.
17. Hamill OP, Marty A, Neher E, Sakmann B, Sigworth FJ. Improved patch-clamp techniques fot high-resolution current recording from cells and cell-free membrane patches. Pflügers Arch 1981;391:85-100.
18. Renzi F, Waud BE. Partition coefficients of volatile anesthetics in Kreb's solution. Anesthesiology 1977;47:62-3
19. Lynch C III. Pharmacological evidence for two types of myocardial sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} release. Am J Physiol 1991;260:H785-95.
20. Stevens WC, Cromwell TH, Halsey MJ, Eger EI II, Shakespeare TF, Bahlman SH. The cardiovascular effects of a new inhalational anesthetic, Forane, in human volunteers at constant arterial carbon dioxide tension. Anesthesiology 1971;35:8-16.
21. Weiskopf RB, Holmes MA, Rampil IJ, Johnson BH, Yasuda N, Targ AC, et al. Cardiovascular safety and actions of high concentrations of I-653 and isoflurane in swine. Anesthesiology 1989;70:793-8.
22. Shattock MJ, Bers DM, Rat VS. Rabbit ventricle: Ca influx and intracellular Na assessed by ion-selective microelectrodes. Am J Physiol 1989;256:C813-22.
23. Bassani JWM, Bassani RA, Bers DM. Relaxation in rabbit and rat cardiac cells; Species-dependent differences in cellular mechanisms. J Physiol (Lond) 1994;476:279-93.
24. Lynch C III. Differential depression of myocardial contractility by volatile anesthetics in vitro; Comparison with uncouplers of excitation-contraction coupling. J Cardiovasc Pharmacol 1990; 15:655-65.
25. Lynch C III. Differential depression of myocardial contractility by halothane and isoflurane in vitro. Anesthesiology 1986;64:620-31.
26. Lynch C III, Frazer MJ. Depressant effects of volatile anesthetics upon rat and amphibian ventricular myocardium: Insights into anesthetic mechanisms of action. Anesthesiology 1989; 70:511-22.
27. Park WK, Pancrazio JJ, Suh CK, Lynch C III. Myocardial depressant effects of sevoflurane. Anesthesiology 1996;84:1166-76.
28. Connelly TJ, Coronado R. Activation of the Ca^{2+} release channel of cardiac sarcoplasmic reticulum by volatile anesthetics. Anesthesiology 1994;81:459-69.
29. Lynch C III, Frazer MJ. Anesthetic alteration of ryanodine binding by cardiac calcium release channels. Biochim Biophys Acta 1994;1194:109-17.
30. Bers DM. SR Ca loading in cardiac muscle preparations based on rapid cooling contractures. Am J Physiol 1989;256:C109-20.
31. Bers DM, Bridge JHB, Spitzer KW. Intracellular Ca^{2+} transients during rapid cooling contractures in guinea-pig ventricular myocytes. J Physiol (Lond) 1989;417:537-53.

32. Lewartowski B, Prokopczuk A, Pytkowski B. Effect of inhibitors of slow calcium current on rested state contraction of papillary muscles and the post rest contractions of atrial muscle of the cat and rabbit hearts. Pflügers Arch 1978;377:167-75.

33. Komai H, Rusy BF. Effects of inhibition of transsarcolemmal calcium influx by nickel on force of postrest contraction and on contracture induced by rapid cooling. Cardiovasc Res 1993; 27:801-6.

34. Kurihara SM, Sakai T. Effects of rapid cooling on mechanical and electrical responses in ventricular muscle of guinea pig. J Physiol (lond) 1985;361:361-78.

35. Fehr JJ, Rebeyka IM. Cooling and pH jump-induced calcium release from isolated cardiac sarcoplasmic reticulum. Am J Physiol 1994;267:H962-9.

36. Komai H, Redon D, Rusy BF. Effects of isolfurane and halothane on rapid cooling contractures in myocardial tissue. Am J Physiol 1989;257:H1804-11.

Abstract

Direct myocardial depressant effect of desflurane: Mechanical and electrophysiological actions in Vitro

Young Seok Jee

Brain Korea 21 Project for Medical Sciences
The Graduate School, Yonsei University

(Directed by Professor Wyun Kon Park)

Desflurane actions on myocardial contractility and cellular electrophysiologic behavior were studied in isolated guinea pig and rat right ventricular papillary muscles. Isometric force of isolated guinea pig ventricular muscle was studied in normal and 26 mM K^{+} Tyrode's solution at various stimulation rates. Experiments using rat papillary muscles under normal Tyrode's solution at rested-state (RS) and using guinea pig papillary muscles under low Na^{+} Tyrode's solution (25 mM) were performed to evaluate the effect on Ca^{2+} release from the sarcoplasmic reticulum (SR). Effects of desflurane on SR function in situ were examined by its effect on rapid cooling contractures (RCCs). Normal and slow action potentials (APs) were evaluated by using conventional microelectrode technique. Finally, Ca^{2+} currents of isolated guinea pig ventricular myocytes were examined using the whole cell patch clamp technique. 1 MAC (minimum alveolar concentration: 6%) and 2 MAC desflurane were applied. 1 MAC and 2 MAC desflurane depressed guinea pig myocardial contractions by 30% and 60%, respectively, from RS to 3 Hz stimulation rates. 1 MAC (1.15%)) and 2 MAC isoflurane depressed peak force by 25% and 45%, respectively. Contractile force after rest in rat and guinea pig myocardium under low Na^{+} Tyrode's solution showed modest depression. In the partially depolarized, adrenergically stimulated myocardium, 1 MAC and 2 MAC desflurane caused marked depression of late peak force (1 MAC: 60%, 2 MAC: 80%) with moderate changes of early peak force (1 MAC: 20%, 2 MAC: 40%). RCCs were abolished at 1 MAC desflurane. Desflurane did not alter the peak amplitude or dV/dt-max of normal and slow APs, however, AP duration was significantly prolonged. In isolated guinea pig myocytes at room temperature, 1 MAC and 2 MAC desflurane caused 30% and 60% decrease in Ca^{2+} current, respectively. In summary, myocardial depressant effect of desflurane was similar to those of equivalent concentrations of isoflurane. The rapid initial release of Ca^{2+} from the SR by depolarization seems to be modestly depressed, while certain release pathways induced by rapid cooling appear to be markedly depressed. Ca^{2+} uptake into SR may not be affected. In electrophysiological studies, desflurane caused prolongation of normal and slow action potential duration, and decreased inward Ca^{2+} current through cardiac membrane. Conclusively, these results indicate that desflurane causes a dose-dependent depression of contractile force in isolated ventricular myocardium, which is

comparable to that of isoflurane. The depression seems to be related, at least in part, to its ability to reduce inward Ca^{2+} currents through the cardiac membrane. Therefore, it is likely that various methods employed to enhance inward Ca^{2+} current may improve the hemodynamic depression induced by desflurane.

Key Words: action potential, Ca^{2+} current, desflurane, myocardial contractility, guinea pig, rapid cooling contracture, rat, sarcoplasmic reticulum