흰쥐 횡격막 신경-근 표본에서 근 수축효과에 미치는 Tetraethylammonium의 영향

원광대학교 의과대학 마취과학고실 및 약리학고실*

이항주 · 이광수 · 송윤강 · 김태요 · 최봉규*

=Abstract=

Effect of Tetraethylammonium on the Contractile Response in the Isolated Rat Phrenic-Hemidiaphragm

Hyang Joo Lee, M.D., Kwang Soo Lee, M.D., Yoon Kang Song, M.D.
Tai Yo Kim, M.D. and Bong Kyu Choi, M.D.*

Departments of Anesthesiology and Pharmacology*,
Wonkwang University Medical School, Iksan, Korea

Background: Recently, the pharmacologic and therapeutic significance of various types of potassium channels are being realized. Thus it was attempted to delineate the role of voltage-gated K^+ -channels on the excitation-contraction coupling in skeletal muscle.

Methods: The effects of tetraethylammonium, a well known K^+ -channel blocker, on the electrically-evoked twitch response, train-of-four and tetanic stimulation, and the influence of various agents on the these effects were studied in the isolated rat hemi-diaphragm preparation.

Results: Tetraethylammonium (1 & 3 mM) increased the electrically-evoked twitch response, but the large dose (10 mM) decreased the twitch response. And tetraethylammonium decreased the TOF- and tetanus-ratio in a dose-related fashion. d-Tubocurarine (1 μ M) decreased the twitch response, and tetraethylammonium recovered the d-tubocurarine- induced-depression of twitch response. When the Ca^{++} ($6\times$) and K^+ ($2\times$) concentration of the medium were increased, the twitch response caused by tetraethylammonium were slightly inhibited than that observed in the normal solution, but the fade phenomenon was potentiated. The tetraethylammonium (10 mM)-induced depression of twitch response were reduced by reducing the stimulus frequency to 0.01 Hz and choline (400 μ M) treatment. And N-ethylmaleimide inhibited the tetraethylammonium-induced increment of twitch response and also potentiated the tetraethylammonium-induced fade phenomenon. However, it is noteworthy the 4-aminopyridine, another K^+ -channel blocker, potentiated the electrically- evoked twitch response but did not affect the TOF- and tetanus-ratio.

Conclusion: These result indicate that tetraethylammonium elicited two distinctive types of response in the rat phrenic-hemidiaphragm preparation. The potentiating effects of twitch response is mediated by blocking delayed K^+ -rectifier channel and decreasing effects of twitch response, TOF- and tetanus-ratio is may be due to decreased the acetylcholine release from presynaptic nerve terminal. (Korean J Anesthesiol 1996; 30: 7~14)

Key Words: Anatomy: hemi-diaphragm. Physiology: Potassium channel. Drug: Tetraethylammonium

논문접수일 : 1995년 9월 4일

심사완료일 : 1995년 12월 27일

서 론

Furukawa 등(1981)¹⁾이 돼지와 기니픽의 관상 동맥에서 nicorandil의 혈관확장제로서의 작용기전을 전기 생리학적으로 관찰하고 혈관근 이완 효과가 K^+ 통로 개방에 의한다는 것을 처음 보고한 이래 세포막에서 K^+ 통로의 개방으로 막전위가 K^+ 이온의 평형전위의 방향으로 과분극화되어 결과적으로 Ca^{++} 을 비롯하여 Na^+ , Cl^- 등 이온의 개방율이 감소되어 막의 탈분극과 흥분성이 억제됨이 밝혀졌다. 이어서 몇가지 평활근 이완 작용을 가진 약물들의 작용기전이 K^+ 통로의 개방에 의함이 밝혀졌다^{2,3)}. 따라서 K^+ 통로 변조제들이 치료의학에 있어 치료제로서 주목을 받게 되었으며, 특히 K^+ 통로 개구제들이 심혈관계, 신경계 및 내분비계 질환의 치료제로서 그 효과가 입증된 바 있다^{4,5)}. 그러나 아직까지 K^+ 통로 변조제들의 정확한 약리학적 특성에 관하여는 밝혀지고 있지 않다.

K^+ 통로는 그 자체로 어떠한 역할을 하기 보다는 세포자극에 따른 세포내 Ca^{++} 증가에 의한 K^+ 통로가 활성화되어 세포의 재분극에 관여하거나^{6,7)}, 세포내 ATP가 증가되면 ATP에 의존적인 K^+ 통로가 봉쇄되며 따라서 전압 의존성 Ca^{++} 통로가 활성화되는 등⁸⁾, 세포내외의 Ca^{++} 이온의 이동과 밀접한 관계를 가지고 있다.

본 교실에서는 비탈분극성 근 이완제의 작용기전을 구명하기 위하여 근 이완제들의 횡격막 이완에 미치는 영향 및 이에 미치는 Ca^{++} 통로 차단제들의 영향을 관찰하여 보고⁹⁻¹²⁾한 바 있으나 그 정확한 작용기전이 밝혀지고 있지 않다. 따라서 본 연구에서는 K^+ 통로 차단제인 tetraethylammonium(TEA)의 횡격막 신경-근 표본의 수축에 미치는 영향 및 이에 미치는 여러가지 약물들의 영향을 관찰하여 골격근 수축 및 이완의 기전에 대한 지견을 얻고자 한 것이다.

대상 및 방법

중량 250~300 gm의 흰쥐(Sprague-Dawley)를 암수 구별 없이 단두기를 사용하여 처사시킨 후 Bülbirg

의 방법¹³⁾을 모방하여, 약 3 cm 길이의 횡격신경이 부착된 횡격신경-근 표본(phrenic-hemidiaphragm)을 만들었다. 표본의 늑골부(costal margin)는 stainless steel로 제작한 갈고리에 연결하여 bath 하부에 고정시키고, 건축(tendinous portion)은 실로 묶어 isometric transducer(Grass FT 03)에 연결하여 그 변동을 polygraph(Grass 7D)에 기록하였다. 이중벽 구조의 bath 내 용적은 100 ml였고, 영양액은 5% CO_2 가 함유된 95% O_2 로 포화시키면서 37°C를 유지시켰다. 조직편은 bath에 매단 후 4 g의 resting tension 하에서 한 시간 동안 평형 시키면서 장력이 감소되면 기계적 조작으로 4 g의 장력을 유지시킨 후 전기자극으로 단순연축(single twitch) 운동을 일으켰다. 자극(phrenic nerve stimulation)은 전기 자극기(Grass S44)를 이용하여, 단순연축은 0.1 Hz, 0.2 ms, 10 V의 supra-maximal 구형파로 하였고, train-of-four(TOF)는 2 Hz, 0.2 ms, 10 V로 2초간, 강직성자극(tetanic stimulation)은 50 Hz, 0.2 ms, 20 V로 2초 동안 자극하였다. Fade 현상을 측정하기 위하여 TOF 비(ratio)는 $T_4/T_1 \times 100$ 으로 계산하였으며, 강직성자극 시는 자극끝의 반응을 자극시작 시의 반응으로 나누어 백분율로 나타내었다. TEA의 작용기전을 구명하기 위하여 TEA의 효과에 미치는 여러가지 약물들의 영향을 관찰한 실험들에서는 동일한 개체에서 적출한 횡격신경-근 표본을 한쪽은 대조로, 다른 한쪽은 실험측으로 하였다.

영양액(modified Krebs solution)의 조성은, NaCl 113, KCl 4.7, $CaCl_2$ 2.5, $MgSO_4$ 1.2, KH_2PO_4 1.2, $NaHCO_3$ 25 및 glucose 11.5 mM 이었으며, 실험에 사용한 약물들은 tetraethylammonium bromide, d-tubocurarine chloride, N-ethylmaleimide 및 choline chloride 등은 미국 Sigma 회사에서, 4-aminopyridine은 일본 Nakarai 회사에서 구득하여 사용하였으며, 모든 약물은 투여 직전에 증류수에 녹여 물 농도로 환산하여 투여하였다.

약물의 효과는 투여전치를 기준으로 하여 백분율로 나타내었으며, 실험성적의 통계학적 검정은 분산분석(ANOVA) 후에 약물투여 전후의 변동을 Student's paired t-test 로써, 각 군간의 차는 unpaired t-test¹⁴⁾로 하였다.

결 과

1) TEA의 효과와 이에 미치는 d-tubocurarine (d-Tc)의 영향

연축작용이 일정하게 된 다음 TEA를 소정의 농도가 되도록 bath내에 투여하였다. Fig. 1에는 이와 같은 실험 1예를 나타내었으며, Table 1에 그 결과를 종합하였다. TEA 1 mM 투여시 연축작용의 증가가 일어나나 TOF 비 및 강직성 자극에 변화를 보이지 않았다.

TEA의 양을 세 배 올려 3 mM 투여 시에는 연축작용의 증가는 그대로 나타나지만 약 60분 이후부

터 점차 감소하였으며, TOF비는 약간 감소하였으나 강직성 자극시 뚜렷한 fade를 나타내었다. 투여량을 약 세 배 더 올린 10 mM 투여시 연축작용의 일과성인 증가 후 곧 감소를 나타내었으며, TOF 및 강직성 자극에서 뚜렷한 fade 현상을 나타내고 특히

Table 1. Effect of Tetraethylammonium on the Electrically-evoked Twitch Response, T_4/T_1 - and Tetanic Ratio(T-ratio)

Dose(μ M)	n	Twitch response	T_4/T_1	T-ratio
		%		
0	10	100	96.6 ± 0.7	108.6 ± 2.6
1	10	$117.3 \pm 2.8^*$	98.1 ± 0.4	111.7 ± 2.4
3	16	$114.4 \pm 1.0^*$	96.8 ± 1.1	$21.2 \pm 7.2^*$

Data are expressed as mean $\pm$ SEM. n indicates the number of experiments. Significant difference from drug-free control is marked with asterisk(*= $p < 0.001$).

Fig. 1. Typical trace of the effect of tetraethylammonium(mM) on the electrically-evoked(0.1 Hz) twitch response from a rat phrenic-hemidiaphragm preparation. After a stable twitch was obtained, a train-of-four stimulation(2 Hz) followed by a tetanus stimulation(50 Hz) for 2 sec were applied, respectively. Amplitude was reduced to 20% for the tetanus stimulation. The tracing rate was 2.5 mm/min at 0.1 Hz stimulation and 100 mm/min at either 2 or 50 Hz stimulation. O indicates the bath fluid was exchanged with fresh physiological salt solution.

Fig. 2. Influence of d-tubocurarine(d-Tc, μ M) upon the effect of TEA(mM) on the electrically-evoked twitch response from the rat phrenic-hemidiaphragm. After a stable twitch was obtained, a train-of-four stimulation(2 Hz) followed by a tetanus stimulation(50 Hz) for 2 sec were applied, respectively. Amplitude was reduced to 20% for the tetanus stimulation. The tracing rate was 2.5 mm/min at 0.1 Hz stimulation and 100 mm/min at either 2 or 50 Hz stimulation.

강직성 자극 시에는 peak tetanic tension이 감소하며 post-tetanic fade가 나타남을 볼 수 있었다. 다음에는 이러한 TEA의 효과에 미치는 d-Tc의 영향을 관찰하였다(Fig. 2). d-Tc에 의한 연축작용의 감소는 TEA에 의해 회복되었으나 TOF 및 강직성 자극시 fade는 대조실험에 비해 뚜렷하였으며, 반대로 먼저 TEA 투여에 의해 연축반응이 증가되어 있을때 d-Tc를 투

여하여 보면 대조실험에서 나타나지 않았던 연축반응의 감소와 fade가 나타남을 확인할 수 있었다.

2) K^+ 및 Ca^{++} 농도변화가 TEA 효과에 미치는 영향

TEA의 효과를 영양액 내의 K^+ 및 Ca^{++} 이온의 농도를 변화시키며 확인하였다(Fig. 3 및 Table 2). 영양액 내의 K^+ 농도를 2 배로 증가시키면 그 자체로 약간의 연축운동의 증가가 나타나며 이때 TEA 3 mM 투여시 그대로 TEA 효과가 나타남을 볼 수 있

Fig. 3. Effect of varying K^+ -concentration on the effect of TEA on the electrically-evoked(0.1 Hz) twitch response from a rat phrenic-hemidiaphragm preparation. After a stable twitch was obtained, a train-of-four stimulation(2 Hz) followed by a tetanus stimulation(50 Hz) for 2 sec were applied, respectively. Amplitude was reduced to 20% for the tetanus stimulation. The tracing rate was 2.5 mm/min at 0.1 Hz stimulation and 100 mm/min at either 2 or 50 Hz stimulation.

Fig. 4. Influence of high Ca^{++} concentration upon the effect of TEA on the phrenic-hemidiaphragm. After a stable twitch was obtained, a train-of-four stimulation(2 Hz) followed by a tetanus stimulation(50 Hz) for 2 sec were applied, respectively. Amplitude was reduced to 20% for the tetanus stimulation. The tracing rate was 2.5 mm/min at 0.1 Hz stimulation and 100 mm/min at either 2 or 50 Hz stimulation.

Table. 2. Influence of High K^+ and Ca^{++} on the Effect of TEA(3 mM) on the Electrically-evoked Twitch Response, T_4/T_1 - and Tetanic Ratio(T-ratio)

Drugs	n	Twitch response	T_4/T_1	T-ratio
			%	
TEA	8	125.8 ± 6.1	98.2 ± 0.4	25.9 ± 9.4
2 × K^+ solution + TEA	4	113.8 ± 2.1	98.2 ± 1.2	15.3 ± 6.4
1/4 × K^+ solution + TEA	4	142.7 ± 12.9	98.4 ± 0.7	28.9 ± 7.2
2 × K^+ solution + TEA	4	116.6 ± 2.0	88.4 ± 1.7*	0*

Data are expressed as mean ± SEM. n indicates the number of experiments. Significant difference from drug-free control is marked with asterisk(*=p<0.01).

었다. 영양액 내의 K^+ 농도를 1/3 및 1/4로 줄였을 때에는 그 자체로 약간의 연속운동 증가 후 감소가 일어나며, 또한 basal tension이 약간 증가됨을 볼 수 있었으며, 이때 TEA 투여시 일시적인 연속운동 증가 후 점차 감소를 나타냄을 볼 수 있었다(Fig. 3).

Fig. 4에는 TEA 효과에 미치는 Ca^{++} 이온의 영향을 나타낸 것으로 영양액 내의 Ca^{++} 을 6 배로 증가시키면 그 자체로 연속운동의 감소가 초래되며 이때 3 mM TEA 투여에 의해 연속운동의 일시적인

증가 후 점차 감소를 나타내었으며 TOF나 강직성 자극시 대조(Fig. 4. 상단)에 비해 fade가 더욱 뚜렷하게 나타남을 볼 수 있었다.

3) 신경전달물질 유리에 미치는 약물들의 TEA 효과에 미치는 영향

TEA의 근 수축에 미치는 영향의 기전을 좀더 명확히 구명하고자 여러가지 조건 하에서 실험을 하였다. TEA 10 mM 투여시 일과성 증가 후 곧 감소가 일어나는데 이때 자극 빈도를 0.1 Hz에서 0.01 Hz 낮추면 연속운동 감축효과가 감약되는 것을 볼 수 있었다(Fig. 5. A). 신경전달 물질의 유리를 증가시키는 약물로 알려진 NEM의 TEA의 효과에 미치는 영향을 관찰하였다(Fig. 5. B). 30 μ M NEM 자체로는 연속반응, TOF 및 강직성 자극에 영향을 미치지 않는 양이나 TEA와 동시 투여시 연속반응의

Fig. 5. (A) Effect of amplitude of twitch in a TEA-depressed preparation by reducing the stimulus frequency to 0.01 Hz at open arrow. (B) The influence of NEM(μ M) on the effect of TEA. (C) Recovery of amplitude of twitch in a TEA-depressed preparation after choline chloride (CCl, μ M). After a stable twitch was obtained, a train-of-four stimulation(2 Hz) followed by a tetanus stimulation(50 Hz) for 2 sec were applied, respectively. Amplitude was reduced to 20% for the tetanus stimulation. The tracing rate was 2.5 mm/min at 0.1 Hz stimulation and 100 mm/min at either 2 or 50 Hz stimulation.

Fig. 6. Effect of 4-aminopyridine(4-AP, mM) on the electrically-evoked twitch response from the rat phrenic-hemidiaphragm. After a stable twitch was obtained, a train-of-four stimulation(2 Hz) followed by a tetanus stimulation(50 Hz) for 2 sec were applied, respectively. Amplitude was reduced to 20% for the tetanus stimulation. The tracing rate was 2.5 mm/min at 0.1 Hz stimulation and 100 mm/min at either 2 or 50 Hz stimulation.

Table 3. Effect of 4-Aminopyridine on the Electrically-evoked Twitch Response, T_4/T_1 - and Tetanic Ratio(T-ratio)

Dose (μ .l)	n	Twitch response	T_4/T_1	T-ratio
		%		
0	10	100	96.6 ± 0.7	108.6 ± 2.6
0.1	8	$149.3 \pm 10.8^{***}$	97.2 ± 1.5	105.4 ± 1.9
0.3	8	$145.4 \pm 6.4^{***}$	97.5 ± 0.7	$101.3 \pm 0.7^*$

Data are expressed as mean $\pm$ SEM. n indicates the number of experiments. Significant differences from drug-free control are marked with asterisks (*= $p < 0.05$ and ***= $p < 0.001$).

감소와 강직성 자극시 fade 현상의 강화를 나타냄을 볼 수 있었으며, post-tetanic fade도 출현함을 볼 수 있었다. 한편 대량의 TEA 투여에 의해 일시적인 연축증가 후 감소가 뒤따르는데 이때 choline을 투여하면 연축반응의 감소가 대조에 비해 훨씬 느리게 나타남을 볼 수 있었다(Fig. 5, C).

4) 4-Aminopyridine(4-AP)의 효과

한편 TEA의 근 수축에 미치는 영향을 보다 확실히 하고자 하여, 또다른 K^+ 통로 개방제인 4-AP를 0.1, 0.3 및 1 mM을 투여하여 보았다. 세 양에서 모두 연축운동의 증가를 초래하였으며 이는 TEA의 효과보다 훨씬 크게 나타남을 볼 수 있었으며, 3 및 10 mM TEA 투여시 볼 수 있었던 연축반응의 감소 효과 및 TOF 및 강직성 자극시의 fade 현상도 전혀 나타나지 않음을 볼 수 있었다(Fig. 6 및 Table 3).

고 찰

본 연구에서 TEA는 간접자극(Phrenic nerve stimulation)에 의한 연축운동을 증가시켰다. 연축운동의 증가는 근초에서 delayed rectifier K^+ 통로가 억제되면 활동전위 중 재분극 시간이 증가되며¹⁵⁾ 이러한 활동전위의 증가가 근 소포체에서 Ca^{++} 의 유리를 증가시켜¹⁶⁾ 연축운동의 증가가 일어날 수 있다는 보고들에 부합되며, 다른 연구자들^{17,18)}의 연구결과와도 일치한다. 그러나 TEA 투여량 증대에 따라 연축운

동의 일시적인 증가 후 감소를 나타내고 TOF 및 강직성 자극시 fade 현상을 나타냄을 볼 수 있었다. 이러한 결과는 TEA의 효과가 단순하지 않고 복합적인 기전에 의해 일어난다고 할 수 있다.

Elliot¹⁹⁾는 TEA가 신경-근 접합부에서 acetylcholine의 유리를 증가시킬 뿐만 아니라 콜린성 수용체를 강력하게 차단할 수 있다고 하였다. 본 연구의 결과 연축운동 크기의 증가가 투여량에 비례하지 않았으며 오히려 중등도 이상의 양에서는 연축운동을 감소시켰을 뿐만 아니라 fade 현상이 출현하는 것으로 보아 신경 말단에서 ACh의 유리를 일으킨다고는 생각되지 않으며 또한 니코틴성 수용체의 선택적 차단제인 d-tubocurarine(d-Tc) 전 처리에 의해 연축운동의 감소가 일어났을 때 TEA에 의해 연축운동이 회복되며 TEA의 투여에 의해 연축운동의 감소시 d-Tc의 효과가 그대로 출현하는 점으로 보아 TEA의 콜린성 수용체를 차단하는 효과는 있을 수 없다고 생각된다.

한편 영양액 내의 Ca^{++} 및 K^+ 이온 농도를 변화시켰을 때 TEA에 의한 연축운동 증가 효과 및 fade 현상 출현의 변화는 TEA의 효과가 전위차에 의존적이라는 것을 확인할 수 있었다. 고농도의 K^+ 및 Ca^{++} 이온에 의한 저분극상태에서는 연축운동의 증가가 약간 감약되었고 강직성 자극시의 fade 현상이 더욱 강화되었으나, 저농도의 K^+ 이온에 의한 고분극 상태에서는 fade 현상에 영향이 없이 연축반응의 증가를 볼 수 있었다. 이러한 사실은 Røed¹⁸⁾의 실험 결과와는 상반됨을 알 수 있었다. 이러한 차이는 Røed는 TEA를 한 양(2.6 mM)을 투여한 후 반복해서 강직성 자극을 하였으나 본 연구에서는 TEA를 여러 양을 사용하여 강직성 자극을 반복하지 않은 실험방법의 차이에 기인한다고 할 수 있겠으나, 고농도 및 저농도의 Ca^{++} 및 K^+ 이온의 영향이 미치는 효과에 관하여는 앞으로 구명되어야 하리라 생각된다.

Simon등²⁰⁾은 TEA가 synaptosome에서의 choline의 재흡수를 차단함을 보고한 바 있으며 그 후 Buyuksal과 Wurtman²¹⁾도 흰쥐 해마 synaptosome에서 TEA가 high affinity choline uptake를 차단하여 새로 만들어지는 ACh의 유리를 억제한다 하였으며 Røed¹⁸⁾ 등은 반복되는 강직성 자극에 의한 연축반응의 감

소는 TEA에 의한 choline 재흡수 차단효과이며 이러한 효과는 hemicholinium-3의 효과와 비슷한 것이었다. 본 연구에서도 이들의 결과를 확인하고자 하였던 바 대량의 TEA에 의해 일어나는 연축반응의 감소 효과가 전기 자극 빈도를 1/10로 줄였을때 및 대량의 choline 투여에 의해 연축반응의 감소효과가 약화되는 것은 앞의 연구자들의 보고를 뒷받침하는 결과라 생각되며, 더욱이 신경전달물질의 기저유리(spontaneous release)를 증가시키는 약물로 알려진 N-ethylmaleimide²²⁾에 의해 연축반응이 감소되고 fade가 강화됨을 볼 수 있었으며 이는 TEA에 의한 Choline 재흡수 차단의 결과 새로운 ACh 생성이 안되는 상태에서 NEM이 저장되어 있는 ACh의 유리를 촉진시키기 때문에 일어나는 현상이라고 추론된다.

또한 본 실험에서의 TEA에 의한 fade 현상의 출현은 Bowmann²³⁾등의 가설, 즉 fade 현상의 출현은 신경-근 접합부에서의 ACh 유리 억제에 기인한다는 사실에 비추어 본 연구에서의 TEA의 효과는 choline 재흡수 차단에 의한 ACh 생성을 억제함에 기인한다 할 수 있다.

한편 또다른 K⁺ 통로 개구제인 4-AP의 근 수축에 미치는 효과는 TEA의 효과와 다르게 나타남을 알 수 있었으며 이는 약물에 따른 K⁺ 통로의 차이에 기인할지 모른다 생각되며 이러한 점은 앞으로 더욱 추구하여야 할 과제로 생각된다.

결론적으로 적출 흰쥐 횡격막 신경-근 표본에서 TEA의 효과는 단순하지 않고, 연축운동의 증가는 K⁺ 흐름의 차단에 의한 탈분극 시간의 증가에 의한 것이며, 대량에 의한 연축반응의 감소 및 fade 현상의 출현은 전 접합부(presynaptic) 신경말단에서의 ACh 유리 억제에 기인하는 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. Furukawa K, Itoh T, Kajiwara M, Kitamura K, Suzuki H, Ito Y, et al. Vasodilating actions of 2-nicotinamido-ethylnitrate on porcine and guinea pig coronary arteries. *J Pharmacol Exp Ther* 1981; 218: 248-59.
2. Hamilton TC, Weir SW, Weston AH. Comparison of the effects BRL 34915 and verapamil on electrical and mechanical activity in rat portal vein. *Br J Pharmacol* 1986; 88: 103-11.
3. Weir SW, Weston AH. The effects of BRL 34915 and

- nicorandil on electrical and mechanical activity and on ⁸⁶Rb efflux in rat blood vessels. *Br J Pharmacol* 1986; 88: 121-8.
4. Robertson DW, Steinberg MI. Potassium channel modulators: scientific applications and therapeutic promise. *J Med Chem* 1990; 33: 1529-41.
5. Hamilton TC, Weston AH. Cromakalim, nicorandil and pinacidil: novel drugs which open potassium channels in smooth muscle. *Gen Pharmacol* 1989; 20: 1-9.
6. Cooke NS. The pharmacology of potassium channels and their therapeutic potential. *Trends Pharmacol Sci* 1988; 9: 21-8.
7. Schwarz W, Passow H. Ca⁺⁺-activated K⁺-channels in erythrocytes and excitable cells. *Ann Rev Physiol* 1983; 45: 359-74.
8. Boyd AE. Sulfonylurea receptors, ion channels and fruit flies. *Diabetes* 1988; 37: 847-50.
9. 박종관, 송운강, 김태요, 최봉규. Pancuronium 및 vecuronium의 신경-근 차단작용에 미치는 diltiazem의 영향. *대한마취과학회지* 1993; 26: 36-45.
10. 최유선, 김태요. 흰쥐 횡격막 신경-근 표본에서 근 수축 효과에 미치는 nifedipine의 영향. *대한마취과학회지* 1993; 26: 633-41.
11. 손용, 송운강, 김태요, 최봉규. 흰쥐 횡격막 신경-근 표본에서 diltiazem 및 verapamil의 신경-근 차단효과에 미치는 영향. *대한마취과학회지* 1993; 26: 611-9.
12. 이태훈, 김태요, 윤재승, 최봉규. Pipecuronium 및 atracurium의 신경-근 차단작용에 미치는 diltiazem 및 verapamil의 영향. *대한마취과학회지* 1994; 27: 1099-108.
13. Bülbbring E. Observations on the isolated phrenic nerve diaphragm preparation of the rat. *Br J pharmacol* 1946; 1: 38-61.
14. Snedecor GW, Cochran WG. Statistical methods, 6th ed. Iowa, 1973.
15. Stanfield PR. Tetraethylammonium ions and the potassium permeability of excitable cells. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 1983; 97: 1-67.
16. Taylor SR, Preiser H, Snadow A. Action potential parameters affecting excitation-contraction coupling. *J Gen Physiol* 1972; 59: 421-36.
17. Delbono O, Kotsias BA. Relation between action potential duration and mechanical activity on rat diaphragm fibers. Effects of 3,4-diaminopyridine and tetraethylammonium. *Pflügers Arch* 1987; 410: 394-400.
18. Røed A. The effects of tetraethylammonium during twitch and tetanic stimulation of the phrenic nerve diaphragm preparation in the rat. *Neuropharmacology* 1989; 28: 585-92.

19. Elliott RC. Minireview: The actions of tetraethylammonium at the neuromuscular junction. *Gen Pharmacol* 1982; 13: 11-4.
 20. Simon JR, Mittag TW, Kuhar MJ. Inhibition of synaptosomal uptake of choline by various choline analogs. *Biochem Pharmacol* 1975; 24: 1139-42.
 21. Buyukuysal RL, Wurtman RJ. Tetrahydroaminoacridine but not 4-aminopyridine inhibits high-affinity choline uptake in striatal and hippocampal synaptosomes. *Brain Res* 1989; 482: 371-5.
 22. Chang CC, Lu SE, Wang PN, Chuang ST. A comparison of the effects of various sulfhydryl reagents on neuromuscular transmission. *Eur J Pharmacol* 1970; 11: 195-203.
 23. Bowman WC, Marshall IG, Gibb AJ. Feedback control of transmitter release at the neuromuscular junction. *TIPS* 1988; 9: 16-20.
-