Propofol이 개 대장 근세포의 외향성 K^+ 전류에 미치는 영향

*한양대학교 의과대학 마취통증의학교실, 가톨릭대학교 의과대학 마취통증의학교실

염종훈* · 심재항* · 서정주 · 한인수

The Effect of Propofol on Outward K^+ Currents in Canine Colonic Myocytes

Jong Hoon Yeom, M.D.*, Jae Hang Shim, M.D.*, Jeong Ju Seo, M.D., and In Su Han, M.D.

*Department of Anesthesiology and Pain Medicine, School of Medicine, Hanyang University, Seoul, Korea; Department of Anesthesiology and Pain Medicine, College of Medicine, Holy Family Hospital, Catholic University, Bucheon, Korea

Background: Propofol (2,6-diisopropylphenol) is a widely used intravenous anesthetic, and the effects of propofol on several ion channels have been studied at the whole cell and single-channel levels. However, in general there is no report on the effect of propofol on outward K^+ currents in canine colonic myocytes, in which there are two types of outward K^+ currents, a large-conductance Ca^{2+} -activated K^+ current and a classical delayed rectifier K^+ current. We examined the effects of propofol on the two types of outward K^+ currents the kinetics involved.

Methods: Experiments were performed on freshly dispersed smooth muscle cells from the circular muscle layer of the proximal canine colon. Outward currents were recorded using the patch clamp technique in the whole cell configuration.

Results: The application of propofol (600 nM-600 μ M) decreased net outward current in a dose-dependent manner. Propofol (6-60 μ M) also decreased peak delayed rectifier K^+ currents. Pretreatment with TEA abolished propofol effects on delayed rectifier K^+ currents. However, propofol still decreased delayed rectifier K^+ currents in the presence of 4-AP.

Conclusions: These data suggest that propofol decrease net outward K^+ currents primarily by inhibiting large-conductance Ca^{2+} -activated K^+ currents and 4-AP resistant delayed rectifier K^+ currents. These results suggest that propofol action on outward currents may depend on the different blocking mechanisms of the different types of K^+ channels. If propofol cannot induce contraction, Ca^{2+} currents in colonic myocytes warrant further study. (Korean J Anesthesiol 2004; 47: 393~402)

Key Words: canine colonic myocytes, delayed rectifier K^+ currents, large-conductance Ca^{2+} -activated K^+ currents, propofol.

서론

Propofol (2,6-diisopropylphenol)은 현재 널리 사용되고 있는 정맥 마취제로 여러 종류의 이온 통로에 대한 propofol의 효과가 전 세포와 단독 통로 수준에 대하여 연구가 이루어졌다.

L-type Ca^{2+} 전류(I_{Ca})에 대한 propofol의 효과에 대하여 많은 보고가 있었다. Propofol은 개 심실 근세포에서 농도 의존적으로 I_{Ca} 를 감소시켰는데 60 μ M의 농도에서 I_{Ca} 를 33 $\pm$ 5% 감소시켰다.¹⁾ 심근 세포의 막에 있는 L-type Ca^{2+} 통로

의 dihydropyridine 결합 부위에 작용하여 이온 전류를 감소시켰다.²⁾ 또한, propofol은 돼지 기도의 평활근 세포의 전압 의존성 Ca^{2+} 통로를 억제하여 3×10^{-4} M의 농도에서는 I_{Ca} 의 50%를 감소시켰으나 이온 통로의 개폐성의 막전압 의존성에는 변화를 초래하지 않았다.³⁾

Ca^{2+} -activated Cl^- 전류($I_{Cl(Ca)}$)에 대한 propofol의 효과가 토끼의 심근(36°C)에서 분리된 토끼의 심근 세포에서 관찰되었다. 0.1-300 μ M의 propofol에 의하여 $I_{Cl(Ca)}$ 중 I_{Ca} -비의존성 성분은 관류 농도에 의존적으로 억제(half-blocking concentration, EC_{50} ; 5 μ M)되었으며 propofol에 의한 차단 효과는 막전압에 의존적이지 않았다고 하는 반면 I_{Ca} -의존성 성분은 50 μ M 농도까지 거의 영향이 없었다.⁴⁾

쥐 뇌의 hippocampal CA1 신경 세포에서 과분극으로 활성화되는 내향성 전류(hyperpolarization-activated inward current)는 propofol에 의하여 관류 농도에 의존적으로 억제되었다.⁵⁾ 10 μ M 이상의 propofol은 혈관 이완제로 사용되는 ATP-

논문접수일 : 2004년 6월 3일

책임저자 : 한인수, 경기도 부천시 원미구 소사동 2

가톨릭대학교 성가병원 마취통증의학과

우편번호: 420-050

Tel: 032-340-2158, Fax: 032-340-2664

E-mail: orange0@nate.com

박사학위 논문임.

sensitive potassium channels openers인 cromakalin이나 pinacidil에 의해 생긴 동맥 이완을 의미 있게 감소시켰는데 이들 결과들은 정맥 마취제인 propofol이 혈관 평활근 세포의 ATP-sensitive potassium channels가 매개된 혈관 확장 과정을 억제시킨다는 것을 의미한다.⁶⁾ 개 심근 세포에서 60 μ M의 propofol은 일시적인 외향성 K⁺ 전류를 9 $\pm$ 2%로 감소시켰으나 inward-rectifier K⁺ channel currents에 대하여서는 영향이 없었다.¹⁾

위에서 언급한 바와 같이 propofol이 여러 종류의 세포와 여러 이온 통로에 미치는 영향에 대한 연구가 이루어졌으나 주로 혈관 평활근 세포와 신경 세포에 관한 것으로 소화기계의 평활근 세포의 전기 생리학적 특성에 미치는 영향에 대해서는 알려진 바가 없다. 위장관 평활근 세포의 외향성 막전류는 주로 large-conductance Ca²⁺-activated K⁺ (BK) 전류와⁷⁻⁹⁾ classical delayed rectifier K⁺ 전류로¹⁰⁻¹²⁾ 구성되어 있다. 따라서 본 연구에서는 개 대장 평활근 세포에서 propofol이 두 종류의 외향성 K⁺ 전류에 미치는 영향을 연구하였다.

대상 및 방법

조직 수집과 세포 준비

실험은 개 대장의 환상근 층에서 분리된 평활근을 대상으로 시행되었다. 암수 잡종 전을 과량의 pentobarbital sodium (45 mg/kg, iv)과 ketamine (15 mg/kg, iv)으로 안락사 시킨 후 즉시 복부를 절개하고 돌막 창자 괄약근(ileocecal sphincter)으로부터 대장 근위부를 6-14 cm를 절제하여 Krebs 완충액[NaCl 125, KCl 5.9, CaCl₂ 2.5, MgCl₂ 1.2, NaHCO₃ 15.5, NaH₂PO₄ 1.2, glucose 11.5 (mM), pH 7.4, 95% O₂ 및 5% CO₂]에 보관하였다.

산소로 포화된 Ca²⁺-free Hank's 용액[NaCl 125, KCl 5.36, NaHCO₃ 15.5, Na₂HPO₄ 0.336, KH₂PO₄ 0.44, glucose 10, sucrose 2.9, HEPES (N-2-hydroxyethylpiperazine-N'-2-ethanesulphonic acid) 11 (mM), pH 7.4] 내에서 대장을 창자 간막(mesenteric) 경계를 따라 열어 남아 있는 대변을 제거하고 대장을 3 $\times$ 3 cm 크기의 절편으로 제작한 후 해부점시의 바닥에 핀으로 고정하였다. 세로근 층으로부터 분리한 환상근에서 주위 점막과 결체 조직을 제거한 후 가위로 잘게 자른 다음 잘게 잘라진 조직은 345 units/ml collagenase (Worthington Biochemical Corp, USA), 2 mg/ml soybean trypsin inhibitor (Sigma chemical, USA), 2 mg/ml fatty acid albumin 및 0.5 mg/ml ATP를 포함한 Ca²⁺-free Hank's 용액에서 37°C로 30분 동안 소화시켰다. 소화된 절편에서 효소를 제거하기 위해 Ca²⁺-free Hank's 용액으로 5-6회 씻어내고 세포를 분리시키기 위해 불꽃 처리된 Pasteur 피펫으로

부드럽게 흡입과 배출을 반복하였다. 이렇게 만들어진 환상근 세포는 최소 배양 배지(minimal essential media, 50%; v/v)에서 최대 6시간까지 보관(4°C)하며 필요 시 실험에 사용하였다.

Patch clamp 기록

분산된 세포를 포함하는 용액을 역상 현미경의 스테이지에 설치된 기록방(recording chamber)의 바닥을 이루고 있는 유리 coverslip 위에 점적하고 대략 10분 동안 세포가 부착되도록 유지하였다. 그 후에 관류 용액을 흐르게 하고 진공으로 흡입하였다. 이때 기록방을 관류하는 용액의 양은 분당 기록 방 부피의 10배 이상으로 유지하였다. 선택된 환상근 세포에서 막전류를 기록하기 위해 내경과 외경이 각각 1.17과 1.50 mm인 불꽃 처리된 borosilicate 피펫을 사용하였으며 피펫 용액으로 채워졌을 때 첨단 저항은 2-4 M Ω 이었다. "Giga-seal"이 얻어진 후 세포막을 파열하였고 파열 후 약 5분간 세포를 안정시킨 후 선택된 환상근 세포의 외향성 전류를 회색 전 세포 형상(dialyzed whole cell configuration)으로 기록하였다. 실험은 실내 온도(18-20°C)에서 시행하였으며, 막전류(whole cell currents)를 측정하기 위해 표준 patch clamp amplifier (EPC-7, List Medical Inc, USA)를 사용하였으며 세포의 막전압은 -80 mV로 고정하였고 -80 mV로부터 +70 mV 혹은 +30 mV까지 15초 간격으로 매 10 mV씩 증가시키는 500 ms voltage step을 적용하였다. 전기 신호는 1 KHz Bessel filter를 통하여 잡음을 제거한 후 ADC (analog-digital converter)를 통해 5 KHz의 표본 추출률로 digitization한 후 자료의 분석을 위해 컴퓨터에 저장하였다. 한편 실험 중 고 저항 밀봉이 1 G Ω 이하로 된 경우에는 실험을 중단하였다. 확산 전위(junctional potential)는 기계적으로 상쇄하였으며 누출 전류(leak currents)는 수동적으로 교정하였고 정전 용량(capacitance)과 직렬 저항(series resistance)은 교정하지 않았다.

용액

외향성 K⁺ 전류를 기록하기 위하여 관류 용액은 Ca²⁺이 포함되어 있는 생리 식염수[CaPSS; NaCl 135, KCl 5, CaCl₂ 2, glucose 10, MgCl₂ 1.2와 HEPES 10 (mM): Tris base (tris-hydroxymethyl-aminomethane)로 pH 7.4로 조절]를 사용하였다. Delayed rectifier K⁺ 전류를 기록하기 위하여 관류 용액으로는 CaPSS에서 CaCl₂를 같은 농도의 MnCl₂로 치환된 Ca²⁺-free PSS (MnPSS)를 사용하였다. 외향성 K⁺ 전류를 기록하기 위하여 기본적인 피펫 용액[KCl 110, K-gluconate 20, MgCl₂ 5, K₂ATP 2.7, Na₂GTP 0.1, creatine phosphate disodium 2.5, HEPES 5 (mM), pH 7.2]에 0.1 mM의 ethylene glycol-bis (β -aminoethylether) N, N, N', N'-tetraacetic acid

Fig. 1. Representative whole cell currents waveforms, as recorded in a calcium physiological saline solution (A) and in the presence of propofol of 60 (B) and 600 μM (C). Panel D shows the depolarizing voltage protocol used to record whole cell currents (described in Materials and Methods).

(EGTA)를 첨가하였고 delayed rectifier K⁺ 전류를 기록하기 위하여 Ca²⁺ 킬레이터인 10 mM의 1,2-bis (2-aminophenoxy) ethane-N,N,N',N'-tetraacetic acid (BAPTA)를 첨가하였다. 피펫 용액에서의 free Ca²⁺ 농도는 Ca²⁺ 소형 전극으로 측정 한 바 0.1 mM EGTA와 10 mM BAPTA에서 각각 81 nM과 13 nM이었다.

Propofol은 초음파 생성기를 이용하여 관류 용액에 용해 하여 사용하였으며 tetraethylammonium (TEA) 및 4-aminopyridine (4-AP)은 저장 용액으로 만들어 4°C에서 보관하였으며 실험 당일에 희석하여 최종 농도가 각각 10 mM이 되도록 하였다. 모든 약물들은 Sigma chemical에서 구입하였다.

통계 분석

컴퓨터에 저장된 자료는 pClamp (version 8.01, Axon Instrument, USA)를 사용하여 분석하였고 GraphPad Prism (version 3.02, USA)을 이용하여 통계 처리하였다. 자료는 평균 ± 표준오차로 기록하였으며 'n'은 기록된 세포의 수를 나타내며 통계적 의미는 Student's paired t test로 평가하였고 P값은 0.05 미만을 유의한 것으로 간주하였다.

결 과

외향성 전류에 대한 propofol의 효과

본 연구에서는 CaPSS에서 0.1 mM의 EGTA로 희석된 세포의 최고점 전류(peak currents)의 분석을 통하여 개 대장 평활근 세포의 외향성 전류에 대하여 알아보았고 외향성 전류에 대한 정맥 마취제인 propofol의 효과를 관찰하였다. 선택된 세포는 -80 mV로 고정하였고 -80 mV로부터 +70 mV까지 15초 간격으로 매 10 mV씩 증가시키는 500 ms voltage step을 적용하였다. 전류-전압(current-voltage, I-V) 관계는 voltage steps에 의해 생성된 최고점 전류로 기록하였다

Fig. 2. Current-voltage (I-V) relationships of the peak outward current amplitude, as measured in calcium physiological saline solution (n = 8), 5 min after addition of propofol 600 nM, 6, 60, and 600 μM to this bath solution. The peak outward currents showed outward rectification by voltage. *: Significant difference between in the currents in control and 6 μM propofol. †: Significant difference between the currents in control and 60 μM propofol.

(Fig. 1). Propofol이 외향성 전류에 미치는 영향을 관찰한 실험의 결과에서 외향성 전류는 -40 mV에서부터 분석하였고 +40 mV 이상의 최고점 외향성 전류는 전압에 의한 외향성 정류(rectification)를 나타내었으며 관류 용액 내 propofol 농도에 의존적으로 감소되었다(Fig. 2). Propofol의 EC₅₀은 0 mV와 +60 mV에서 각각 29.93 ± 4.34 μM, 1.87 ± 0.36 μM로 상당히 서로 다른 농도를 나타내었는데 이들 결과는 propofol이 두 종류의 다른 전압 의존성 차단 기전을 가지고 있을 수도 있다는 것을 나타낸다(Fig. 3).

개 대장 근세포의 외향성 전류는 주로 large conductance

Fig. 3. Representative dose-response curves of propofol. The peak currents decreased in dose-dependent manner. EC₅₀ of propofol at 0 mV (A) and +60 mV (B) were 29.93 ± 4.34 μM and 1.87 ± 0.36 μM, respectively (n = 8). These data suggest that propofol might have two different voltage-dependent blocking mechanisms. $G/G_{max} = 1/[1 + \exp\{- (V - V_{half})/V_s\}]$.

Fig. 4. Representative whole cell currents waveforms, as recorded in a calcium physiological saline solution (A) and in the presence of 6 μM propofol (B). Panel C: the outward waveforms obtained by subtraction of the current waveforms presented in B from those shown in A. Subtracted currents shows the properties of large conductance Ca²⁺ activated K⁺ (BK) currents that were the increase of voltage-dependent noise and fluctuation of currents. Panel D: representative current-voltage curve of subtracted currents. The depolarizing voltage protocol (seen schematically in the inset) is described in Materials and Methods.

Ca²⁺-activated K⁺ (BK) 전류와 delayed rectifier K⁺ 전류로 구성되어 있으므로⁷⁻¹³⁾ propofol에 의하여 감소된 전류의 종류를 알아보기가 대조 기록에서 6 μ M의 propofol의 기록을 공제하여 propofol에 의하여 감소된 전류를 나타내었고 대표적으로 공제된 I-V관계를 나타내었다(Fig. 4). Propofol에 민감한 전류(공제된 기록)는 전류의 전압 의존적 노이즈와 기복(fluctuation)을 가진 BK전류의 성질을 보여주고 있으나 propofol이 BK 전류에만 영향을 주는지는 명확하지 않다. 그러므로, 저자는 delayed rectifier K⁺ 전류에 대한 propofol의 효과를 알아보기 위해 delayed rectifier K⁺ 전류를 분리하도록 실험을 계획하였다.

Delayed rectifier K⁺ 전류에 대한 propofol의 영향

Ca²⁺의 내향성 전류를 제거하고 BK 전류의 영향을 감소시키기 위하여 관류 용액의 CaCl₂를 같은 농도의 MnCl₂ (MnPS, 대상 및 방법 참조)로 대체하였다. 세포는 10 mM의 BAPTA로 희석되었고 세포 내 free Ca²⁺ 농도는 10 nM 이하로 계산되었다. 세포의 막전압은 -80 mV로 고정하였

고 -80 mV로부터 +30 mV까지 15초 마다 매 10 mV씩 증가시키는 500 ms voltage step를 적용하였다. +30 mV에서 최고점 전류의 크기는 684.6 $\pm$ 152.6 pA로 0.1 mM의 EGTA의 크기(1213 $\pm$ 190.5 pA)보다는 통계학적으로 유의하게 작았다(n = 8, P < 0.05). 기록된 전류들은 +30 mV까지 파동하는 전류의 모습을 나타내지 않았다. 이런 상황에서 delayed rectifier K⁺ 전류의 최고점 전류는 실험전위 +10, +20, +30 mV에서 각각 530.7 $\pm$ 75.3, 592.1 $\pm$ 82.0, 684.5 $\pm$ 72.6 pA였으며 propofol은 최고점 전류의 크기를 6 μ M에서 각각 416.0 $\pm$ 63.2, 551.4 $\pm$ 84.0, 623.6 $\pm$ 89.0 pA로 감소하게 하였으나 유의한 차이는 없었고 60 μ M에서는 395.0 $\pm$ 54.5, 511.7 $\pm$ 68.8, 573.1 $\pm$ 75.1 pA로 유의하게 감소시켰다(Fig. 5). 본 연구에서는 또한, propofol 적용 전후의 약동학의 변화를 비교하였는데 실험 전위에 의해 유도된 표준화된 최고점 전류는 조절 전압의 함수로서 표시하였고 자료들은 Boltzman 함수 $G/G_{max} = 1/[1 + \exp\{-(V - V_{half})/V_s\}]$ 를 이용하여 자료 맞추기 혹은 곡선 맞추기를 하였다. Delayed rectifier의 반감 활성화 전압(half

Fig. 5. Representative delayed rectifier K⁺ current waveforms, as recorded in manganese physiological saline solution (A) and in the presence of propofol of 6 (B) and 60 μ M (C). Panel D: current-voltage (I-V) relationships of the peak outward current amplitude, as measured in a manganese physiological saline solution, 5 min after addition of propofol 6, and 60 μ M to this bath solution (n = 8). *: Significant difference between the currents in control and 60 μ M propofol.

Fig. 6. Kinetics of propofol in manganese physiological saline solution. Panel A: voltage-dependence of activation. Panel B: time-constant of activation. Propofol application did not change the voltage-dependence of activation and the time constant of activation.

Fig. 7. Representative TEA resistant delayed rectifier K⁺ current waveforms, as recorded in manganese physiological saline solution (A) and in the presence of 10 mM TEA (B) and 10 mM TEA + 60 μM propofol (C). Panel D: current-voltage (I-V) relationships of the peak outward current amplitude, as measured in a manganese physiological saline solution, 5 min after addition of 10 mM TEA, 10 mM TEA + 6 μM propofol and 10 mM TEA + 60 μM propofol to this bath solution (n = 7). *: Significant difference between the currents in control and TEA.

activation voltage, V_{half})은 -12.64 mV였고 전도의 기울기 (slope, V_s)는 10.91이었다. 6 μM과 60 μM의 propofol은 활성화의 전압 의존에는 영향을 미치지 않았으며 0 mV 이상의 양 실험전압에서 활성화 시간 상수(activation time constant)

에 유의한 변화를 초래하지는 않았다(Fig. 6).

Delayed rectifier K⁺ 전류는 약리학적으로 두 종류로 분류되어질 수 있는데 하나는 TEA에 민감하고 다른 하나는 4-AP에 민감하다.¹³⁾ 그러므로, TEA와 4-AP로 delayed recti-

Fig. 8. Kinetics of propofol of TEA-resistant delayed rectifier K⁺ current in manganese physiological saline solution. Panel A: voltage-dependence of activation. Panel B: time-constant of activation. Propofol application did not change the voltage-dependence of activation and the time constant of activation.

Fig. 9. Representative 4-AP resistant delayed rectifier K⁺ current waveforms, as recorded in a manganese physiological saline solution (A) and in the presence of 10 mM 4-AP (B) and 10 mM 4-AP + 60 μM propofol (C). Panel D: current-voltage (I-V) relationships of the peak outward current amplitude, as measured in a manganese physiological saline solution, 5 min after addition of 10 mM 4-AP, 10 mM 4-AP + 60 μM propofol, and 10 mM 4-AP + 60 μM propofol to this bath solution (n = 5). *: Significant difference between the currents in control and 4-AP. †: Significant difference between the currents in 4-AP and 4-AP + 60 μM propofol.

fier K⁺ 전류를 각각 전처리한 후 propofol의 영향을 비교하였다. 대조 조건(MnPSS)에서 최고점 전류는 +10, +20, +30 mV에서 각각 378.3 ± 50.3 , 465.1 ± 59.2 , 546.6 ± 66.2

pA였고 TEA는 같은 실험 전위에서 최고점 전류를 166.9 ± 42.4 , 203.7 ± 50.7 , 237.8 ± 58.9 pA로 유의하게 감소시켰으나(n = 7, P < 0.05) 추가적으로 투여한 6 μM과 60 μM의

Fig. 10. Kinetics of propofol of 4-AP resistant delayed rectifier K^+ current in manganese physiological saline solution. Panel A: voltage-dependence of activation. Panel B: time-constant of activation. The application of 4-AP increased the time constant of activation at 0 mV of test potential. The slowed activation was increased by the treatment of propofol at 0 mV. However, propofol did not change the voltage-dependence of activation ($n = 5$). *: Significant difference between the currents in control and 4-AP. †: Significant difference between the currents in 4-AP and 4-AP + 60μM propofol.

propofol은 유의한 감소를 초래하지 않았다(Fig. 7). TEA와 TEA+propofol은 활성화의 전압 의존성에 변화를 일으키지 아니하였고 또한 TEA 전처리 후에 propofol은 활성화 시간 상수에 영향을 주지 않았다(Fig. 8).

4-AP는 delayed rectifier K^+ 전류의 최고점 전류를 극적으로 감소시켰다. 대조 조건의 최고점 전류는 +10, +20, +30 mV에서 각각 364.2 ± 43.5 , 459.1 ± 54.7 , 557.3 ± 71.3 pA였고 4-AP는 같은 실험 전압에서 각각 185.7 ± 55.7 , 205.0 ± 68.9 , 246.8 ± 75.3 pA로 유의하게 감소시켰다($n = 5$, $P < 0.05$). 4-AP의 존재 하에 propofol은 6μM에서 각각 최고점 전류를 137.8 ± 48.2 , 193.8 ± 58.8 , 218.5 ± 66.4 pA로 감소시켰으나 유의한 차이는 없었고 60μM은 125.3 ± 41.1 , 149.6 ± 53.0 , 189.4 ± 68.9 pA로 유의하게 감소시켰다($n = 5$, $P < 0.05$)(Fig. 9). 4-AP의 전처치는 실험 전위의 0 mV에서 활성화 시간 상수를 22.9 ± 6.9 ms에서 63.6 ± 22.5 ms로 증가시켰으며 4-AP의 전처리 후 6μM과 60μM의 propofol은 각각 110.0 ± 56.9 , 209.4 ± 68.9 ms로 더욱 증가시켰다. 그러나 propofol은 활성화의 전압 의존성을 변하게 하지는 않았다(Fig. 10).

이 자료들은 propofol은 delayed rectifier K^+ 전류에 비교적 중요하지 않은 영향을 미치며 영향을 미치더라도 TEA resistant 전류가 아니라 4-AP resistant 전류에 미약한 영향을 미치는 것을 보여준다.

고 찰

최근에 이온 통로 활동에 마취제의 효과에 대한 많은 보고가 있다. 정맥 마취제의 하나인 propofol은 L-type Ca^{2+} 통로의 억제제를 통하여 심혈관에 다양한 영향을 미친다. 그러나 propofol에 의한 위장관의 운동성에 대한 보고는 저자가 확인한 바로는 없었다. 본 논문에서 저자는 개 대장 근세포의 외향성 전류에 대한 propofol의 효과를 기술하였다.

앞서 다른 논문에서⁷⁻¹²⁾ 두 종류의 외향성 전류가 개 대장 근세포에서 기술되었다. 하나는 large conductance Ca^{2+} activated K^+ (BK) 전류로 charybdotoxin과 저 농도의 TEA (1 mM)에 민감하며 이들 전류들은 세포 내 Ca^{2+} 농도와 막전압에 의해 활성화되며 막전류는 보통 Ca^{2+} events에 의한 기록에 의하여 유도된다. 다른 전류는 delayed rectifier K^+ 전류로 약리학적 접근법에 의해서 특징지워질 수 있다. 이들 전류의 빠르게 활성화하는 성분은 4-AP에 의해 차단되어 4-AP resistant 전류는 느리게 활성화하는 것을 보여주며 이와는 반대로 느리게 활성화하는 성분은 TEA에 의해 차단되며 TEA resistant 전류는 빠르게 활성화하는 것을 보여준다.¹³⁾

본 연구에서는 앞서 보고된 개 대장 근세포의 외향성 K^+ 전류의 특징을 기초로 하여 이들 전류에 대한 propofol의 영향을 실험하였다. Propofol은 외향성 전류 중 주로 BK 전류를 감소시켰으며 흥미롭게도 0 mV와 +60 mV에서 EC_{50} 이 명확하게 달랐다. 즉, +40 mV 이상의 양 전위에서는 저

농도의 propofol로 외향성 전류를 억제한 반면에 +30 mV 이하에서는 외향성 전류를 억제하기 위해서 상대적으로 고 농도의 propofol이 필요하였다. 이 자료들은 propofol의 차단 효율이 BK와 delayed rectifier 전류에 대해 다르다는 것을 시사한다.

일반적으로 BK 전류는 세포질 내의 free Ca²⁺의 농도에 의존적이다. 따라서 평활근 세포에 각종 자극이 가해지면 세포막에서 inositol-1,4,5-trisphosphate (IP₃)를 생성하거나, 세포가 탈분극 되어 막전압 의존성 Ca²⁺ 이온 통로를 통한 Ca²⁺의 유입이 유발된다. 유입된 Ca²⁺은 평활근 세포내의 Ca²⁺ 저장고로부터 Ca²⁺의 방출(calcium induced calcium release, CICR)을 유발한다. 또한, 세포막에서 생성된 IP₃도 Ca²⁺ 저장고로부터 Ca²⁺의 방출(IP₃ induced calcium release, IICR)을 유발한다. 결국 어떠한 경로를 통하는 세포질의 free Ca²⁺의 농도가 상승하면 이는 BK 전류의 활성화로 이어져 평활근 세포의 흥분성을 다시 감소시킨다. 따라서 본 연구에서 propofol이 BK 전류를 감소시킨 것은 세포질의 Ca²⁺ 농도와 관련된 기전에 관여한 것인지 직접 BK 이온 통로를 차단함으로써 유발된 것인지는 불명확하나, 심근 세포에서 Ca²⁺ 이온 전류를 감소시킨다는 연구보고는 시사하는 바가 있다.

인간의 T 임파구 세포의 막전압 의존성 K⁺ 통로(K_v)에 대한 propofol의 영향이 전 세포 형상으로 연구되었으며 EC₅₀이 대략 40μM이며 농도 의존적으로 K_v를 차단한다고 하였고 propofol에 의한 최고점 전류는 전압에 의존적이지 않게 감소한다고 하였다.¹⁴⁾ 돼지의 관절 연골 세포의 전압에 의해 활성화되는 K⁺ 통로에 대한 영향이 연구되었는데 propofol이 농도 의존적으로 K⁺ 통로를 차단한다고 하였다. 차단 효과는 막전압에 의존적이지 않았으며 Hill coefficient는 1.85 ± 0.18였고 slope conductance나 단독 통로 운동학에서 어떠한 변화도 관찰되지 않았으며 EC₅₀은 6.0 ± 0.49 μM이었다.¹⁵⁾ 50μM부터 1 mM 농도의 propofol은 분화되지 않은 클론의 크롬 친화성 모세포종 세포(PC 12)에서 농도에 의존적으로 K⁺ 전류(I_k) 크기를 감소시켰고 delayed rectifier K⁺ 전류의 EC₅₀은 우리의 결과와 많이 다르지 않았다.¹⁶⁾

Delayed rectifier K⁺ 전류에 대한 propofol의 영향은 미약 하였으며 흥미롭게도 propofol은 전압 의존과 활성화 시간 상수를 포함한 어떤 운동학에도 변화를 일으키지 않았다. 쥐의 심근 세포에서 Na⁺ 전류에 대한 propofol은 정상 상태 비활성화(steady state inactivation) 곡선의 전압 의존이 30과 10μg/ml의 propofol 에서 각각 18 mV와 8 mV로 더욱 과분극된 전압으로 전이되었으며 propofol이 마취 중에 얻을 수 있는 Na⁺ 전류의 차단과 비슷한 농도에서 심근 세포의 Na⁺ 전류의 차단을 초래한다고 하였다.¹⁷⁾

TEA로 전처리 후 propofol은 전류의 감소를 초래하지

않았으나 4-AP로 전처리한 후 propofol은 전류의 감소를 초래하였다. 이들 자료들은 delayed rectifier 전류에 대한 propofol의 미약한 효과는 4-AP resistant (TEA sensitive) 전류의 감소로 인한 것이라고 시사한다.

결론적으로 외향성 전류에 대한 propofol은 주로 large conductance Ca²⁺-activated K⁺ 전류를 감소시키고 delayed rectifier 전류 중 4-AP resistant (TEA sensitive) 전류를 미약하게 감소시키는데 이러한 결과는 K⁺ 통로의 종류에 따라 다른 차단 기전이 작용할 수도 있다는 것을 시사하며 propofol이 개 대장 근세포의 외향성 K⁺ 전류를 유의하게 감소시키나 동물의 종과 세포의 종류에 따라 이온 통로의 종류와 밀도가 다르므로 propofol이 대장의 수축을 초래하지 않는다면 세포질 내 Ca²⁺ 농도나 Ca²⁺ 전류에 대한 연구가 필요하겠다.

참 고 문 헌

1. Buljubasic N, Marijic J, Berczi V, Supan DF, Kampine JP, Bosnjak ZJ: Differential effects of etomidate, propofol, and midazolam on calcium and potassium channel currents in canine myocardial cells. *Anesthesiology* 1996; 85(5): 1092-9.
2. Zhou W, Fontenot HJ, Liu S, Kennedy RH: Modulation of cardiac calcium channels by propofol. *Anesthesiology* 1997; 86(3): 670-5.
3. Yamakage M, Hirshman CA, Croxton TL: Inhibitory effects of thiopental, ketamine, and propofol on voltage-dependent Ca²⁺ channels in porcine tracheal smooth muscle cells. *Anesthesiology* 1995; 83(6): 1274-82.
4. Asahina T, Kawano S, Umino M, Hiraoka M: Effects of propofol on a Ca²⁺-activated Cl⁻ current in rabbit ventricular myocytes. *J Med Dent Sci* 1998; 45(3): 177-84.
5. Funahashi M, Higuchi H, Miyawaki T, Shimada M, Matsuo R: Propofol suppresses a hyperpolarization-activated inward current in rat hippocampal CA1 neurons. *Neurosci Lett* 2001; 311: 177-80.
6. Kinoshita H, Ishida K, Ishikawa T: Thiopental and propofol impair relaxation produced by ATP-sensitive potassium channel openers in the rat aorta. *Br J Anaesth* 1998; 81(5): 766-70.
7. Walsh JV, Singer JJ: Voltage clamp of single freshly dissociated smooth muscle cells: current-voltage relationships for three currents. *Pflügers Archiv* 1981; 490: 207-10.
8. Benham CD, Bolton TB, Lang RJ, Takewaki T: Calcium-activated potassium channels in smooth muscle cells of rabbit jejunum and guinea pig mesenteric artery. *J Physiol* 1986; 371: 45-67.
9. Carl A, Sanders KM: Ca²⁺-activated K⁺ channels of canine colonic myocytes. *Am J Physiol* 1989; 257: C470-80.
10. Ohya Y, Terada K, Kitamura K, Kuriyama H: Membrane currents recorded from a fragment of rabbit intestinal smooth muscle cells. *Am J Physiol* 1986; 251: C335-46.
11. Noack T, Deitmer P, Lammel E: Characterization of membrane currents in single smooth muscle cells from the guinea-pig gastric

- antrum. Br J Physiol 1986; 451: 387-417.
12. Bielefeld DR, Hume JR, Krier J: Action potentials and membrane currents of isolated single smooth muscle cells of cat and rabbit colon. Pflugers Archiv 1990; 415: 678-87.
13. Carl A: Multiple components of delayed rectifier K^+ current in canine colonic smooth muscle. J Physiol 1995; 484.2: 339-53.
14. Mozrzymas JW, Teisseire A, Vittur F: Propofol blocks voltage-gated potassium channels in human T lymphocytes. Biochem Pharmacol 1996; 52(6): 843-9.
15. Mozrzymas JW, Visintin M, Vittur F, Ruzzier F: Potassium channels of pig articular chondrocytes are blocked by propofol. Biochem Biophys Res Commun 1994; 202(1): 31-7.
16. Magnelli V, Nobile M, Maestroni E: K^+ channels in PC12 cells are affected by propofol. Pflugers Arch 1992; 420: 393-8.
17. Saint DA, Tang Y: Propofol block of cardiac sodium currents in rat isolated myocardial cells is increased at depolarized resting potentials. Clin Exp Pharmacol Physiol 1998; 25(5): 336-40.
-