

## 관상동맥경련 유발에 있어 Endothelium-Derived Relaxing Factor의 역할 및 Ethanol의 작용기전\*

서울대학교 의과대학 내과학교실

울산의대 내과학교실\*\*

서정돈 · 송재관\*\* · 김철호 · 손대원 · 오병희  
이명묵 · 박영배 · 최윤식 · 이영우

= Abstract =

### Role of the Endothelium - derived Relaxing Factor in the Pathogenesis of Coronary Artery Spasm and its Relationship with Ethanol

Jung Don Seo, M.D., Jae Kwan Song, M.D.,\*\* Cheol Ho Kim, M.D.,  
Dae-Won Sohn, M.D., Byung Hee Oh, M.D., Myoung Mook Lee, M.D.,  
Young Bae Park, M.D., Yun Shick Choi, M.D., Young Woo Lee, M.D.

*Department of Internal Medicine, College of Medicine, Seoul National University, Seoul, Korea*

*Department of Internal Medicine\*\*, College of Medicine, Asan Medical Center, Ulsan University,  
Seoul, Korea*

Isometric tension recording was performed in the transverse strips of porcine coronary arteries and rabbit aorta to observe the effects of the endothelium and endothelium - derived relaxing factor(EDRF) on vasomotor tone and to test the hypothesis that alcohol may have the deleterious effect on endothelium-dependent vasorelaxation. Tension-development by vasoconstrictor was markedly attenuated in the endothelium-intact strips compared to the endothelium denuded strips. Administration of hemoglobin(10-5 M) to inhibit the action of EDRF increased tension selectively in the endothelium-intact strips, which is suggestive of basal EDRF secretion. Nitro L-arginine(10-5 M), an analogue of L-arginine, completely inhibited the endothelium-dependent vasorelaxation and large amount of L-arginine(10-4 M) partially reversed the inhibitory effect of nitro L-arginine. Ethyl alcohol inhibited bradykinin-induced endothelium-dependent vasorelaxation of porcine coronary artery in dose-dependent manner. These data suggest that the protective effect of the vascular endothelium to the action of vasoconstrictors can be explained by existence of basal EDRF release and damaged endothelium would be a great risk of induction of vasospasm. Also we believe that there is a relationship of competitive inhibition between L-arginine, a precursor of EDRF, and its analogues on the action of EDRF and alcohol intake would be hazardous to the patients with coronary artery disease because its inhibitory action on endothe-

\*본 논문은 1989년도 서울대학교 병원 대단위 연구비의 보조로 이루어진 것임

lium-dependent vasorelaxation may evoke myocardial ischemia.

**KEY WORDS :** EDRF(endothelium-derived relaxing factor) · Coronary vasospasm · Ethyl alcohol.

## 서 론

관동맥연축(coronary artery spasm)은 혈관긴장도(vascular tone)의 일시적인 증가에 의해 심외막관동맥(epicardial coronary artery)을 통한 심근혈류량이 급속히 감소되어 심근허혈(myocardial ischemia)이 유발되는 역동적 현상으로 임상적으로는 처음 기술된 이형협심증(variant angina) 뿐만 아니라 노력성협심증(effort angina), 불안정협심증(unstable angina), 심근경색 혹은 급사의 발현이나 진행에 지대한 역할을 할 것이라고 추측되고 있다.

관동맥연축의 가능한 기전으로는 교감 및 부교감신경을 통한 혈관운동 긴장도조절의 이상, 이상대사물질(abnormal metabolites)에 대한 국소적인 혈관반응 및 순환하고있는 혈관작용물질에 대한 이상반응성(hypersensitivity) 등이 단독 혹은 복합적으로 작용하리라 예상되고 있으나<sup>1)</sup> 혈관긴장도조절의 기전에 관한 연구가 아직 초보적인 단계인지라 결론을 내리지 못하고있는 실정이다.

혈관내피세포(vascular endothelium)가 단순한 물질교환의 장벽으로서의 기능뿐만 아니라 혈관평활근의 긴장도를 조절하는 기능이 있으리라는 추측은 혈관이완작용을 갖는 prostacyclin이 내피세포로부터 합성되어진다는 것이 밝혀진 뒤 여러 학자들에 의해 꾸준히 제기되었으며, 1980년대에 들어 내피세포가 확산이 가능한 수용성물질(Endothelium-derived Relaxing Factor, 이하 EDRF)을 분비하여 평활근의 긴장도를 현저히 감소시킨다는 사실이 입증된 뒤<sup>2)</sup> 혈관긴장도조절에 미치는 내피세포의 역할이 새삼 강조되었다. 관동맥조영술의 경험으로 볼때 관동맥연축의 가장 특징적인 소견은 연축이 국소적으로 관찰된다는 것으로 특히 미약하게나마 죽상경화에의한 구조적인 병변이 있는 자리에 호발된다는 점이다<sup>3,4)</sup>. 이 사실을 근거로 죽상경화에 의한 내피세포의 파괴가 관동맥연축유발의 선행인자로 주목되었으며 최근에는 내피세포로부터 분비되어 강력한 혈관이완작용을 하는

EDRF가 국소적인 내피세포의 파괴 혹은 기능저하로 분비되지 않아 혈관긴장도가 증가되어 경련이 유발된다는 가설이 제기되고 있다<sup>5)</sup>.

한편 알코올의 섭취가 심장및 순환기에 미치는 영향에 관해서는 논란의 여지가 많은 실정이며 특히 알코올이 갖고있다고 발표된 관동맥질환의 예방효과에도 불구하고<sup>6-8)</sup> 죽상경화에 의한 관동맥질환환자에서 협심증의 악화가 알코올의 섭취로 유발되며 이것은 관동맥연축이 알코올의 섭취로 일어나 심근허혈을 더욱 악화시키는 것으로 설명될 수 있다는 보고도 있다<sup>9-11)</sup>.

또한 관동맥연축에 의한 이형협심증환자들의 장기추적연구에서 알코올 섭취가 단독으로 예후에 나쁜 영향을 미치고 있다는 최근의 보고는<sup>12)</sup> 알코올이 죽상경화와 같은 구조적인 변화외에 관동맥평활근의 긴장도조절에 관여할 수 있으리라는 점을 시사하고있다. 하지만 현재까지 알코올이 관동맥긴장도에 미치는 영향에 관한 연구는 알코올투여에 따른 혈관내경 혹은 혈류의 변화를 살펴보는 것으로, 최근 혈관평활근의 긴장도조절에 중추적인 역할을 한다고 알려진 EDRF 분비와 이에의한 내피세포의존성 혈관이완에 관해서는 발표된 것이 없다.

이러한 배경을 근거로 저자들은 토끼의 대동맥 및 돼지의 관동맥을 이용하여 혈관긴장도에 미치는 내피세포의 역할, EDRF 분비및 작용의 특성, EDRF 분비에 의한 내피세포의존성 혈관이완작용에 미치는 알코올의 효과를 알아보고자한다..

## 연구대상 및 방법

### 1. 실험재료

실험재료로 사용한 돼지의 관동맥은 가축도축장에서 얻은 것으로 도축장에서 돼지의 심장이 나오자마자 좌전하행지의 주행방향으로 절개를 하여 관동맥이 매몰되어있는 심근덩어리를 얻어 이를 100% 산소로 평형을 이룬 Tris-완충용액이 들어있는 보온병에 넣고 실험실로 가져와서 현미경시야

하에 혈관주위조직을 깨끗이 박리하였다. 그 뒤 혈관의 주행방향으로 절개하여 펼친 뒤 이를 일정한격으로 잘라 3mm×10mm 정도의 횡단절편(transverse strip)을 만든다. 실험에 사용된 토끼는 체중 2Kg 내외로 암수구별없이 sodium pentotal로 마취후 총경동맥을 절단하여 실험시킨 뒤 흉부대동맥을 적출하여 100% 산소로 포화된 phosphate 완충 Tyrode 용액 내에서 혈관주위 조직을 깨끗이 박리하고 역시 현미경시야하에서 횡단절편을 만들었다.

혈관의 횡단절편을 근육고정기에 이완된 상태로 고정 한 뒤 36℃에 100% 산소로 평형을 이룬 Tris-완충 Tyrode 용액으로 채워져있는 실험용기(용량 50cc)에 옮겨 근육고정기와 근수축변환기(Grass FT 03)를 연결시키고 기록기(physiograph, Device 혹은 Gould RS 3200)에 연결하여 등장성수축(isometric contraction) 곡선을 기록할 수있도록 장치하였다(그림 1).

실험용기는 내피세포가 유지된 절편과 파괴시킨 절편의 등장성수축을 동시에 기록할 수있도록 특

별히 고안되었으며 내피세포가 파괴된 절편을 만들기 위해 횡단절편의 내경을 작은 솜방망이로 가볍게 수차례 문질러서 파괴시켰으며 초기실험에서 이 방법이 효과적으로 내피세포를 파괴시키는 지를 확인하기위하여 scanning electron microscopy를 시행하였다(그림 2).

실험용기내에서 실험이 시작되기 전에 90~120분 정도 충분히 이완된 길이에서 회복시켰으며 이 동안에 매 10분마다 새로운 Tyrode용액으로 갈아주어 회복을 촉진시켰다. 근육이 완전히 이완된 상태에서 충분히 회복시킨 뒤 최대장력을 발생하는 혈관절편의 최적길이(optimal length)를 찾기위하여 실험용기내에 근육표본과 평행으로 장치한 전극을 통하여 전장자극(field stimulation, A.C., 60 Hz, 5.5 V/cm, 매 3분마다 15초씩)을 하여 위상성수축(phasic contraction) 곡선을 그리면서 단계적으로 길이를 늘려 최대장력을 발생하는 조건을 정하였다. 최적 길이에서의 기초장력(resting tension)은 약 200mg 정도이었다.

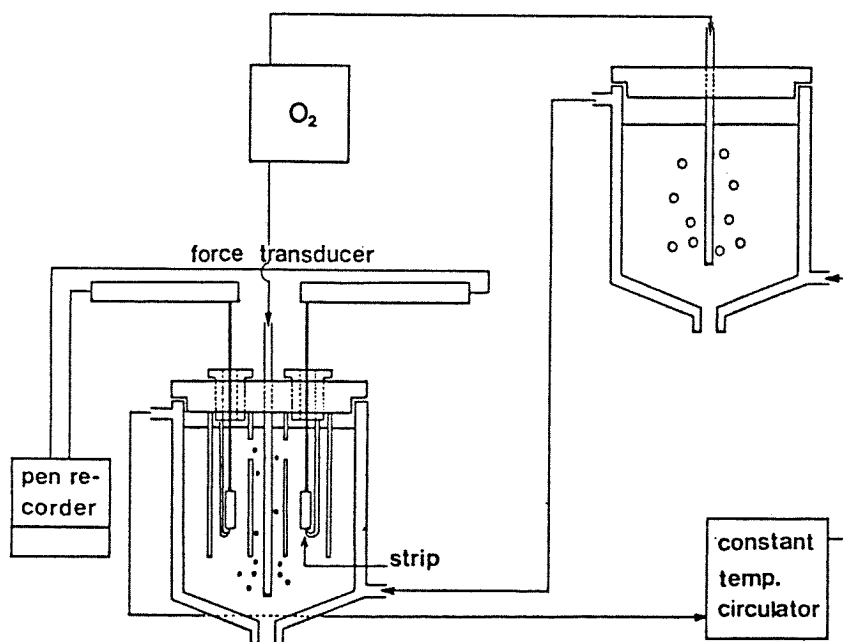


Fig. 1. A schematic representation of the 50cc vertical chamber and the isometric recording system. Two vascular strips with intact endothelium and damaged endothelium were mounted in the same chamber and the difference between the response of the strips with intact endothelium and that of the endothelium-denuded strip could be recorded simultaneously.

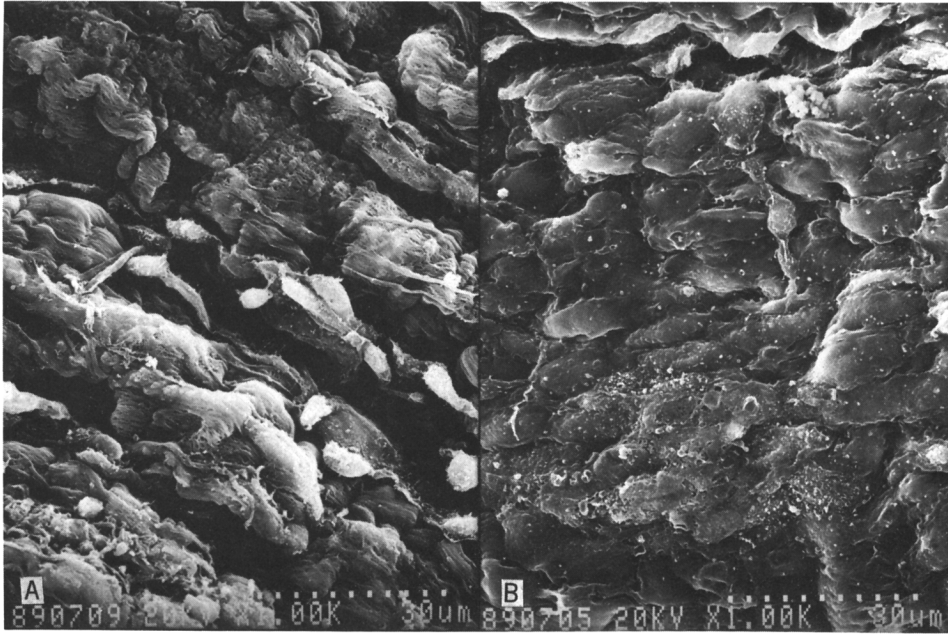


Fig. 2. Scanning electron micrographs of intimal surfaces of porcine coronary strips with damaged endothelium(A) and intact endothelium(B). Polygonal endothelial cells covered uniformly the intimal surfaces of the strips with intact endothelium, but connective tissue and fibers of smooth muscles were exposed in the endothelium-denuded strips.

## 2. 실험조사방법

전술한 바와 같은 실험준비가 끝나면 실험용기 내에 약물을 투여하여 이에 따른 등장성 수축-이완 곡선을 기록하였다.

### 1) 내피세포가 혈관수축제에 의한 장력발생에 미치는 효과

돼지의 관동맥을 대상으로 내피세포가 유지된 혈관절편과 이를 파괴시킨 혈관절편을 같은 실험용기에 넣고 혈관수축제를 낮은 농도에서 높은 농도까지 투여하여 각각의 등장성 수축곡선을 동시에 기록하였다. 혈관수축제로는 prostaglandin F<sub>2</sub> α(이하 PGF<sub>2</sub>α)와 serotonin을 이용하였으며 serotonin의 혈관수축작용을 기록할 때에는 serotonin 수용체 차단제인 ketanserin의 효과도 함께 관찰하였다. 각 혈관수축제의 투여농도와 발생된 장력간의 농도-반응 곡선을 기록하였다.

### 2) 내피세포의존성 혈관이완작용의 증명과 특성에 관한 관찰

EDRF의 분비에 의한 내피세포의존성 혈관이완 작용에 관한 연구는 대상 혈관에 따라 사용되는

혈관수축제와 EDRF 분비자극제의 조합이 달라져야 하는데 본 실험에서는 돼지의 관동맥일 경우에는 혈관수축제로 PGF<sub>2</sub>α를 이용하였고 EDRF 분비자극제는 bradykinin을 이용하였다. 토끼의 대동맥일 경우에는 norepinephrine과 acetylcholine을 각각 혈관수축제와 EDRF 분비자극제로 사용하였다. 내피세포가 유지된 절편과 파괴시킨 절편을 동시에 같은 용기에 넣고 혈관수축제를 투여하여 장력이 최고도에 도달했을 때에 EDRF 분비자극제를 투여하여 내피세포가 유지된 절편에서만 장력의 감소가 있는지를 확인하였다. 이 조작을 EDRF의 불활성화 물질로 알려진 hemoglobin 투여후 반복하였고 기저상태의 혈관긴장도에 미치는 EDRF의 영향을 알아보기 위하여 혈관수축제가 투여되지않은 상태에서 실험용기내에 hemoglobin을 투여하여 내피세포 유무에 따른 장력발생의 차이를 관찰하였다.

최근 EDRF의 생성에 관여하리라 기대되는 L-arginine-nitric oxide pathway가 내피세포의존성 혈관이완에 미치는 효과를 알아보기 위하여 L-arginine과 그의 analogue인 nitro L-arginine을 EDRF 분비자극제 투여 전후에 처치하여 등장성 수축-이완

곡선을 기록하였다.

EDRF 분비자극제로 bradykinin을 사용하는 경우 prostacyclin 생성으로 인한 혈관이완작용을 막기위하여 내피세포의존성 혈관이완을 기록하는 모든 실험에서는 prostacyclin 생성차단제인 indomethacin (10~5M)을 40분간 전처치하였다.

3) 관동맥의 내피세포의존성 혈관이완작용에 미치는 알코홀의 효과측정상 생리식염수와 알코홀 농도를 변화시킨 생리식염수(100mg%, 200mg%, 300mg%)에서 bradykinin에 의한 내피세포의존성 혈관이완작용을 반복시행하였다.

### 3. 실험에 사용된 약제

· 혈관수축제 : prostaglandin F<sub>2</sub>α, serotonin, norepinephrine

· EDRF 분비자극제 : bradykinin, acetylcholine

· EDRF inhibitor : hemoglobin

· L-arginine, nitro L-arginine

· ethyl alcohol

· prostacyclin 생성차단제 : indomethacin

· serotonin blocker : ketanserin

Ketanserin은 Janssen Pharmacy의 협조로 구했으며 그외 모든 약제는 Sigma사의 제품을 사용하였다.

### 4. 자료의 분석

혈관수축제로 인한 장력발생의 크기를 비교하는

Table 1. Effect of the endothelium on the vasoconstrictor activity of prostaglandin F<sub>2</sub>α (PGF<sub>2</sub>α) in porcine coronary artery

PGF <sub>2</sub> α	Developed tension(%)		T-test
	E(-)	E(+)	
10 <sup>-7</sup>	1.6± 0.2	1.4± 0.2	p>0.1
10 <sup>-6</sup>	30.8± 7.5	13.2± 6.3	p<0.01
5×10 <sup>-6</sup>	78.6± 13.4	35.2± 9.5	p<0.01
10 <sup>-5</sup>	100 ±	46.2± 10.1	p<0.01
ED <sub>50</sub>	2.7×10 <sup>-6</sup> M (± 0.3×10 <sup>-6</sup> )	2.6×10 <sup>-6</sup> M (± 0.2×10 <sup>-6</sup> )	p>0.1

Tension(mean± S.D.) was expressed as a percentage of the contraction to 10<sup>-5</sup>M PGF<sub>2</sub>α in the endothelium-denuded strips(E(-)).

E(+): endothelium-intact strips

ED<sub>50</sub>: effective dose of PGF<sub>2</sub>α which produces 50% response of the contraction to 10<sup>-5</sup>M PGF<sub>2</sub>α (mean± S.D.)

실험에서는 투여된 최고농도에 의해 발생된 장력을 100%로 하였을 때 이의 50%에 해당하는 장력발생을 유발한 혈관수축제의 농도를(ED<sub>50</sub>: effective dose of 50% response) 농도-반응 곡선에서 구해 이를 비교하였다. 내피세포의존성 혈관이완작용을 기록한 실험에서는 혈관수축제로 발생된 최고장력을 100%로하고 EDRF 분비자극제 투여로 이 장력이 감소되는 것을 기록한 농도-반응곡선에서 장력을 50%까지 감소시킨 EDRF 분비자극제의 농도를(IC<sub>50</sub>: concentration of EDRF stimulator causing 50% inhibition of the maximum contraction) 구해 통계처리 하였다. 알코홀 농도를 변화시킨 실험은 정상 Tyrode 용액에서 실험했던 것과 같은 절편을 사용하였으므로 paired t-test를 이용하여 p-value를 구하였고, p-value가 0.05 이하인 경우에 통계적인 유의성을 인정하였다.

## 결 과

### 1. 내피세포가 혈관수축제에 의한 장력발생에 미치는 효과

돼지의 관상동맥에서 혈관수축제의 투여에 따른 장력발생은 혈관내피세포의 존재에 의해 크게 감소되었다. 표 1은 PGF<sub>2</sub>α의 투여농도와 장력발생간의 상관관계를 나타낸 것으로 내피세포가 제거된 혈

Table 2. Effect of the endothelium on the vasoconstrictor activity of serotonin in porcine coronary artery

Serotonin	Developed tension(%)		T-test
	E(-)	E(+)	
10 <sup>-9</sup> M	1.2± 0.4	1.1± 0.4	p>0.1
10 <sup>-8</sup> M	2.1± 0.6	1.2± 0.3	p>0.1
10×10 <sup>-7</sup> M	8 ± 2	3.2± 0.7	p<0.01
10 <sup>-6</sup> M	46 ± 10	32 ± 10	p<0.01
10 <sup>-5</sup> M	100 ±	97 ± 14	p>0.1
ED <sub>50</sub>	2.3×10 <sup>-6</sup> M (± 0.4×10 <sup>-6</sup> )	5×10 <sup>-6</sup> M (± 0.3×10 <sup>-6</sup> )	p<0.05

Tension(mean± S.D.) was expressed as a percentage of the contraction to 10<sup>-5</sup>M serotonin in the endothelium-denuded strips(E(-)).

E(+): endothelium-intact strips

ED<sub>50</sub>: effective dose of serotonin which produces 50% response of the contraction to 10<sup>-5</sup>M serotonin (mean± S.D.)

관절편에서 PGF2 $\alpha$  10-5M 투여시 발생된 장력을 100으로 하였을 때 각각의 농도와 발생된 장력을 %로 기록한 것이다. 이를 보면 내피세포가 유지된 절편에서는 PGF2 $\alpha$  10-5M로 발생된 장력이 내피세포가 없는 절편의 약 50%에 겨우 미침을 알 수있다.

Serotonin의 경우에는 최고농도인 10-5M에 발생되는 장력의 크기는 내피세포의 유무와 큰 차이가 없었으나 ED50는 내피세포가 유지된 혈관절편에서 훨씬 더 증가됨을 알 수있었다(표 2). 또한 돼지의 관동맥에서의 serotonin의 혈관수축작용은 serotonin 수용체차단제인 ketanserin 10-6M에 의해 완전히 차단되며 이는 내피세포의 존재 유무와 상관없이 나타났다(그림 3).

## 2. 내피세포의존성 혈관이완작용의 특성

그림 4는 토끼의 대동맥을 대상으로 acetylcholine의 내피세포의존성 혈관이완작용과 nitroprusside에 의한 내피세포비의존성 혈관이완작용(endothelium-independent vasorelaxation)을 증명한 등장성 수축곡선의 일례이다. 토끼의 대동맥에 norepinephrine 10-7M을 투여하여 장력발생이 최고도에 도달했을 때 acetylcholine을 투여하면 내피세포가 유지된 혈관절편에서만 선택적으로 장력이 감소하

는 반면 nitroprusside를 투여하면 내피세포의 존재와 상관없이 두 절편 모두에서 장력의 감소가 관찰된다. 이러한 내피세포의존성 혈관이완작용은 내피세포로부터 분비된 EDRF의 작용을 차단한다고 알려진 hemoglobin(Hb)에 의해 완전히 억제되었다. 즉 그림 5는 돼지의 관동맥을 대상으로 한 등장성 수축-이완곡선의 일례로 내피세포가 유지된 혈관절편에서 혈관수축제인 PGF2 $\alpha$  2 $\times$ 10-6M에 의해 발생된 장력이 bradykinin 투여로 감소되지만 Hb 10-5M로 전처치할 경우(15 분) 내피세포의존성 혈관이완이 완전히 억제됨을 알수있다.

그림 6은 EDRF의 기저분비(basal secretion)가 혈관긴장도 조절에 미치는 영향을 나타낸 것으로 EDRF 작용차단제인 hemoglobin을 기저상태의 혈관절편에 투여하면(A) 내피세포가 유지된 혈관절편에서는 혈관장력이 급격히 상승하며 내피세포가 효과적으로 제거된 절편에서는 장력상승이 극히 미미하였다. 즉 Hb 10-5M을 투여하였을 때 내피세포가 유지된 혈관절편에서는 혈관수축제인 PGF2 $\alpha$  2 $\times$ 10-6M을 투여시 발생하는 장력의 1.6배 가량 혈관긴장도가 증가하였으나 내피세포를 제거한 혈관절편에서는 약 10%의 장력 증가가 관찰되었다(그림 7). Hemoglobin에 의한 장력증가는 혈관수

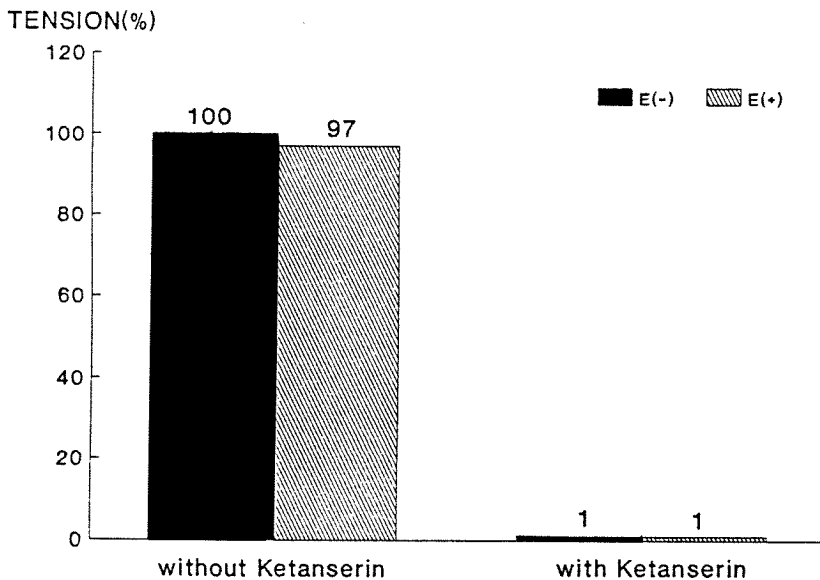


Fig. 3. Effect of ketanserin( $10^{-6}$ M), a serotonin antagonist, on the vasoconstrictor activity of serotonin in porcine coronary artery. Tension was expressed as a percentage of the contraction to  $10^{-5}$ M serotonin in the endothelium-denuded strips(E(-)).

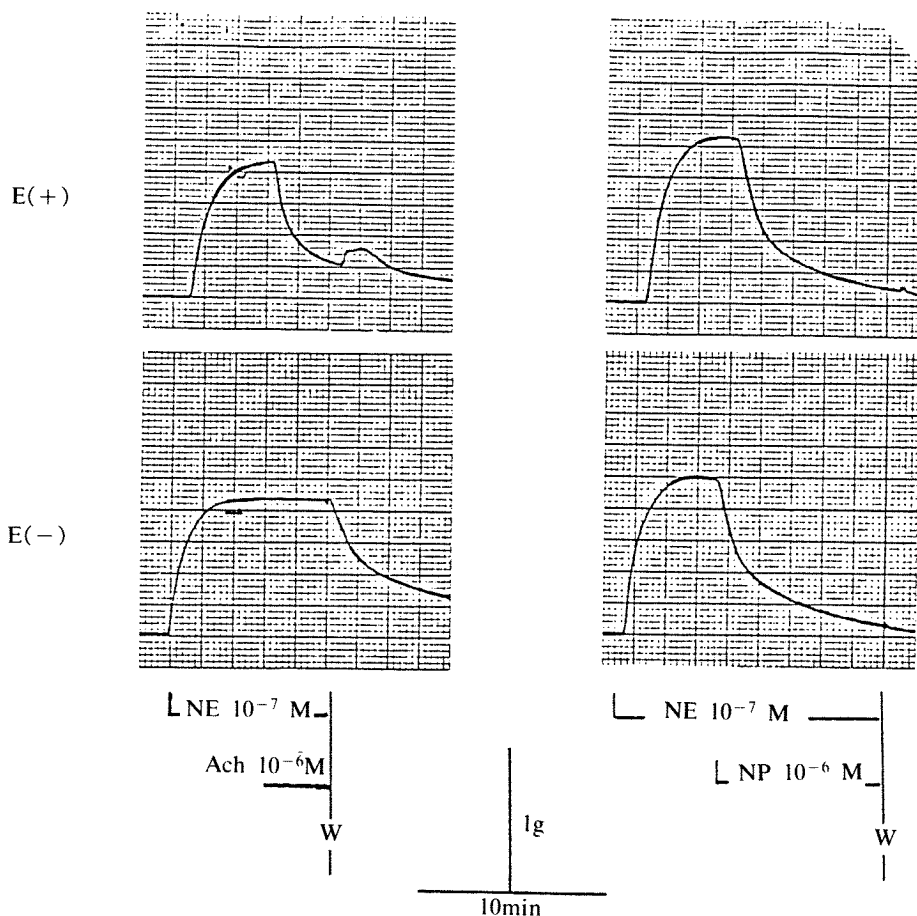


Fig. 4. Endothelium-dependent vasorelaxation by acetylcholine(Ach) and endothelium-independent vasorelaxation by nitroprusside(NP) in rabbit aorta. Ach induced vasorelaxation selectively in the endothelium-intact vascular strip(E(+)), while there was no change of the isometric tension developed by norepinephrine(NE) in the endothelium-denuded vascular strip(E-). Nitroprusside-induced vasorelaxation was observed in both strips. W : wash the tissue bath with physiologic salt solution.

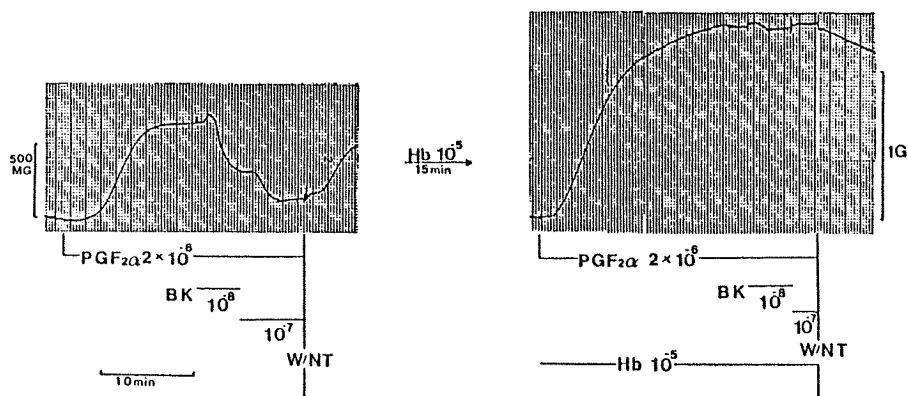


Fig. 5. Effect of hemoglobin on the bradykinin(BK)-induced endothelium-dependent vasorelaxation in porcine coronary artery. Pretreatment of hemoglobin(Hb  $10^{-5}$  M), a known EDRF inactivator, completely abolished endothelium-dependent vasorelaxation. W : wash the tissue bath with normal Tyrode solution.

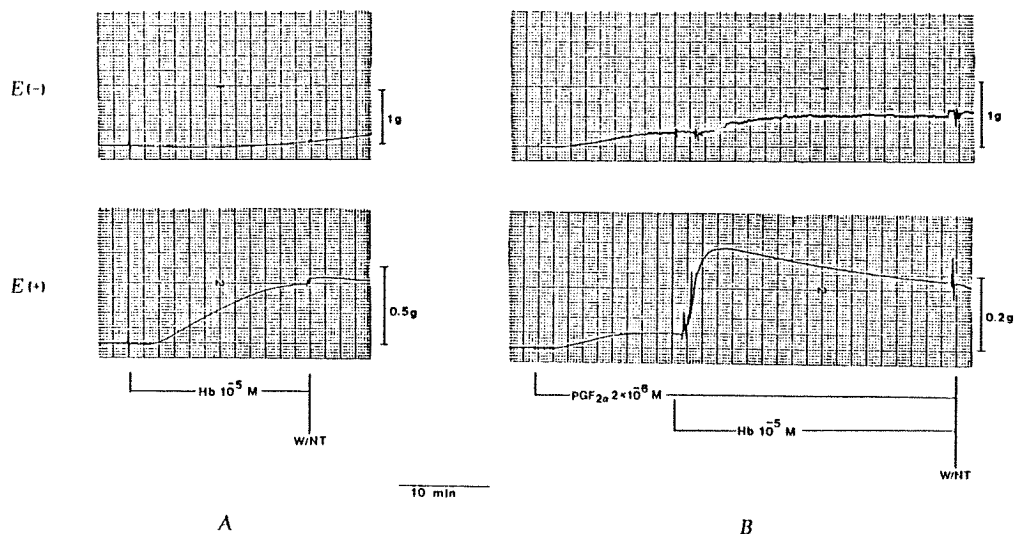


Fig. 6. Isometric tension recordings showing the effect of hemoglobin on the basal vascular tension of porcine coronary artery. Hb( $10^{-5}$ M) selectively increased the basal tension of vascular strip with intact endothelium(A). The tension-increasing effect of hemoglobin was observed after the administration of vasoconstrictor(PGF $_2\alpha$ , B).

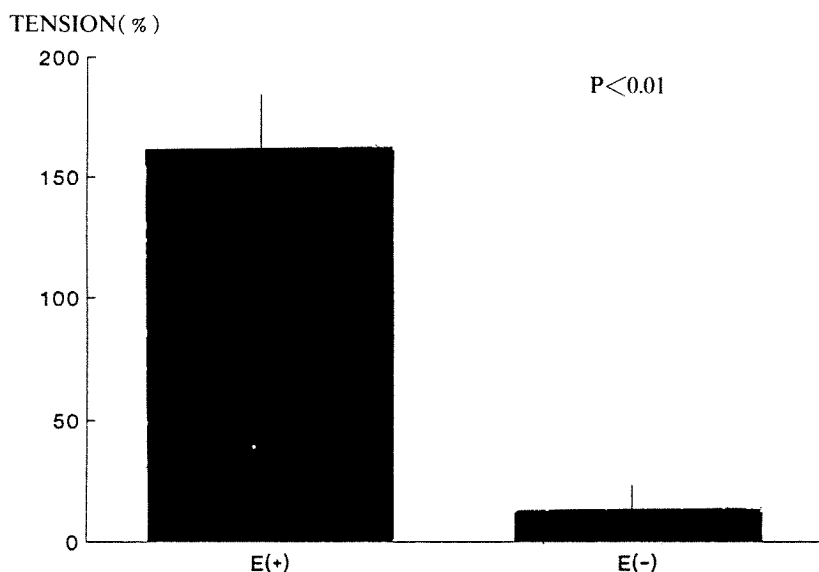


Fig. 7. Diagram showing the difference of the hemoglobin( $10^{-5}$ M) on the changes of basal tension in porcine coronary artery according to the existence of the endothelium. Tension developed by hemoglobin was expressed as a percentage of the contraction to  $2 \times 10^{-6}$ M PGF $_2\alpha$ .

축제 투여이후에도 관찰되었는데(그림 6, B) 돼지의 관동맥에 PGF $_{2\alpha}$   $2 \times 10^{-6}$ M을 투여하여 장력발생이 최고도(plateau)에 도달한 뒤 Hb  $10^{-5}$ M을 추가하면 기저상태와 마찬가지로 내피세포가 유지된 혈관절편에서만 선택적으로 장력이 급상승하였다.

그림 8과 9는 L-arginine 및 nitro L-arginine이 내피세포의존성 혈관이완에 미치는 효과를 보여주는 것으로 EDRF의 전구물질로 알려진 L-arginine의 유도체(analogue)인 nitro L-arginine은 내피세포의존성 혈관이완작용을 완전히 억제하며(그림 8) 다량의 L-arginine은 nitro L-arginine의 이러한 억제



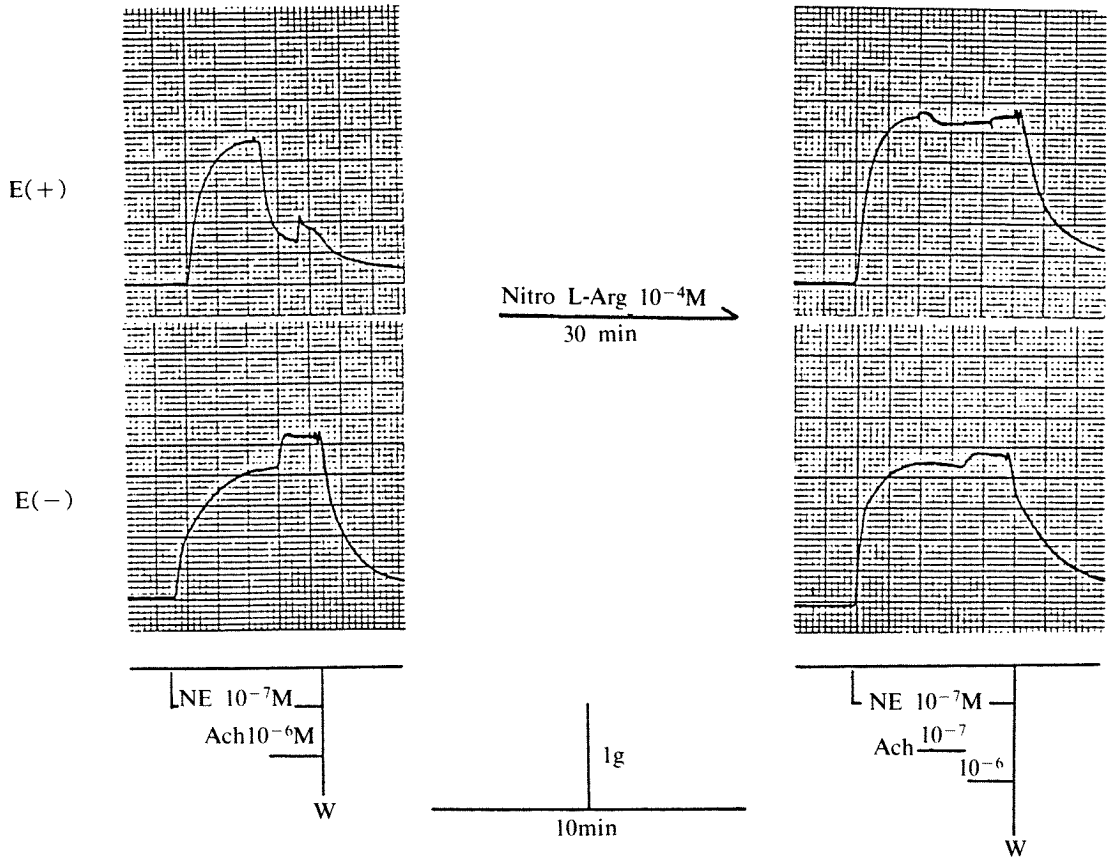


Fig. 8. Isometric tension recordings demonstrating the inhibitory effect of nitro L-arginine, an analogue of L-arginine, on endothelium-dependent vasorelaxation.

효과를 부분적으로 반전시켰다(그림 9).

### 3. 관동맥의 내피세포의존성 혈관이완작용에 미치는 알코홀의 효과

그림 10은 알코홀 농도를 변화시킨 생리적 식염수와 정상 생리식염수 상태에서의 bradykinin에 의한 내피세포의존성 혈관이완을 관찰한 대표적인 등장성 수축-이완곡선이며 그림 11은 이를 bradykinin의 농도와 장력감소간의 농도-반응 곡선으로 나타낸 것이다. 투여된 알코홀의 농도가 증가함에 따라 농도의존적으로 bradykinin에 의한 내피세포의존성 혈관이완이 억제됨을 알 수있으며 알코홀 농도 200mg%와 300mg%에서의 IC<sub>50</sub> 값은 각각  $1.7 \times 10^{-8}M$ ,  $4.7 \times 10^{-8}M$ 로 정상 생리식염수에서의  $6.1 \times 10^{-9}M$ 보다 통계적으로 유의한 증가를 보였다(표 3).

## 고 안

혈관긴장도(vascular tone)의 조절에 관한 연구는 1980년대 이전까지는 주로 교감신경계 및 부교감신경계를 통한 길항작용과 순환하고 있는 몇몇 물질들에 의한 직접적인 작용 등에 대해 중점적으로 이루어져 왔으나 국소적인 혈관긴장도의 변화와 이의 조절작용에 관해서는 별다른 진척이 없었던 실정이었다. 1980년 Furchgott와 Zawadzki에 의해 acetylcholine에 의한 혈관이완작용에 혈관내피세포의 유무가 결정적으로 작용하여 내피세포가 유지된 혈관에서만 선택적으로 acetylcholine에 의한 혈관이완이 관찰된다고 보고된 이래<sup>2)</sup> 혈관긴장도에 미치는 내피세포의 역할이 중점적으로 연구되는 계기가 되었다. 그뒤 혈관내피세포는 단순한 물질

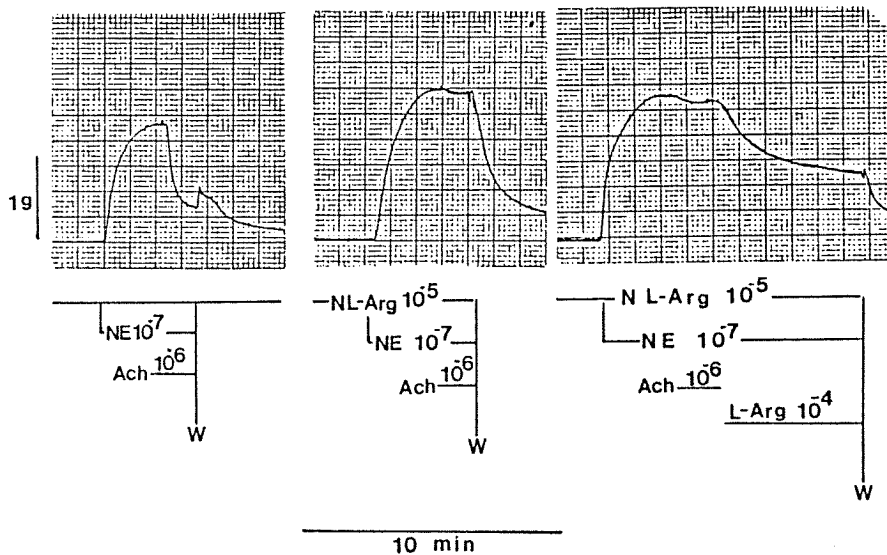


Fig. 9. Isometric tension recordings showing the effect of L-arginine, precursor of EDRF, and nitro L-arginine. Nitro L-arginine (NL-Arg) completely abolished the acetylcholine (Ach)-induced endothelium-dependent vasorelaxation in rabbit aorta and large amount of L-arginine (L-Arg) partially reversed the inhibitory effect of nitro L-arginine.

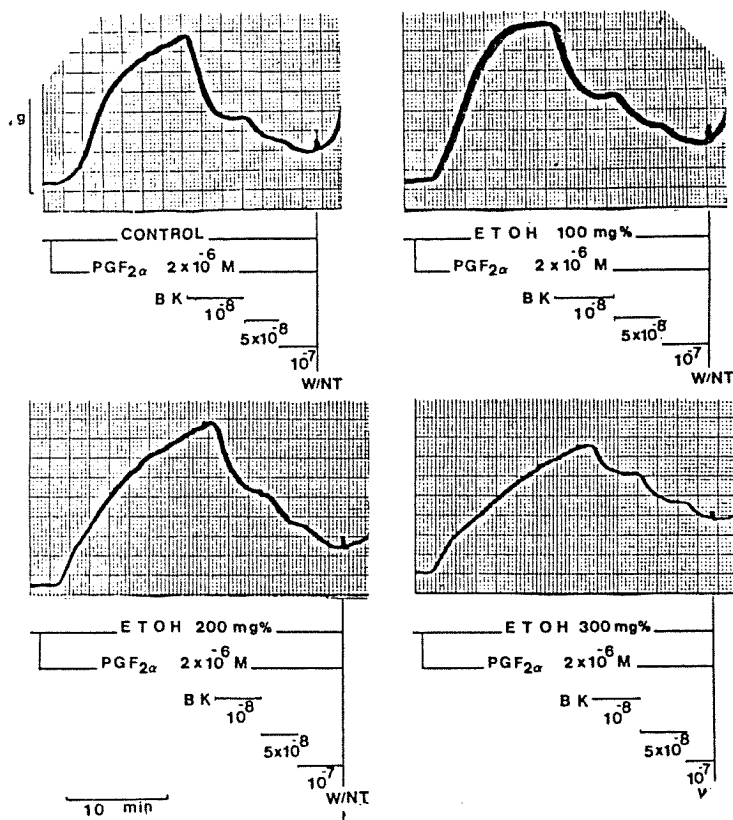


Fig. 10. Isometric tension recordings of bradykinin-induced endothelium-dependent vasorelaxation of porcine coronary artery in normal physiologic salt solution and various concentrations of ethyl alcohol. ETOH : ethyl alcohol.

교환의 장벽으로서의 기능 뿐만아니라 확산이 가능한 수용성 물질을 분비하여 혈관긴장도를 현저히 낮추는 작용을 한다는 것이 인정되었고 이 물질을 endothelium-derived relaxing factor(이하 EDRF)로 통칭하게 되었으며 EDRF에 의한 혈관이완작용을 내피세포의존성 혈관이완(endothelium-dependent vasorelaxation)이라 하여 nitrate나 nitroprusside

등처럼 내피세포의 유무와 상관없이 일어나는 혈관이완작용(endothelium-independent vasorelaxation)과 구별하게되었다(그림 4). 뒤이은 연구에서 밝혀진 EDRF의 몇가지 특성들 중에서 EDRF 자체의 짧은 반감기와<sup>13,14)</sup> EDRF 분비가 극성(polarity)이 있어 혈관내강(lumen) 쪽보다는 혈관평활근 쪽으로 더 많이 분비된다는 사실<sup>15)</sup> 그리고 EDRF가 순환하고 있는 적혈구내의 hemoglobin과 혈장내의 hemoglobin-haptoglobin complex에 의해 불활성화된다는 특성<sup>16)</sup> 등은 강력한 혈관이완작용을 갖는 EDRF의 작용을 전신효과없이 국소적으로만 일어나게하는 안전장치들이라 할 수있어 내피세포가 국소적인 혈관긴장도 조절에 중추적인 역할을 할 것이라는 기대를 갖게하였다.

내피세포가 갖는 혈관긴장도 조절기능이 알려진 뒤 혈관절편을 이용한 고식적인 등장성 수축실험에서 혈관수축제 투여에 따른 장력의 발생이 내피세포가 유지된 절편에서 내피세포가 제거된 절편에 비해 훨씬 감소된다는 사실이 입증되었다. 돼지의 관동맥을 대상으로한 본 연구에서도 PGF<sub>2</sub>α와 serotonin의 장력발생은 내피세포의 존재에 의해 감소됨을 관찰할 수 있었다(표 1, 2). 내피세포의 장력발생 억제작용은 두가지 형태로 대별할 수 있는데<sup>17)</sup> 본 실험의 PGF<sub>2</sub>α 처럼 ED50의 변화 없이 혈관수축제의 최고농도 투여시 발생하는 장력의 절대값이 감소되는 경우도 있고 serotonin처럼 최고 장력의 절대 값은 큰 차이가 없으나 ED50 값이

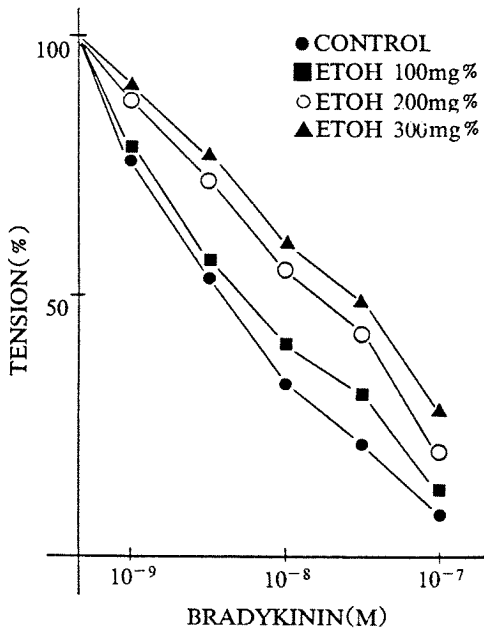


Fig. 11. Cumulative concentration-response curves of precontracted vascular strips to bradykinin in different ethanol(ETOH) concentrations (N=7). Changes of tension are plotted as a percentage of the contraction to  $2 \times 10^{-6}$ M PGF<sub>2</sub>α.

Table 3. Effect of ethyl alcohol on the endothelium-dependent vasorelaxation by bradykinin(BK) in porcine coronary artery

BK(M)	Percent Relaxation(%)			
	Control	Ethyl alcohol		
		100mg%	200mg%	300mg%
$10^{-9}$	$23 \pm 9$	$22 \pm 10$	$12 \pm 6$	$10 \pm 4$
$5 \times 10^{-9}$	$46 \pm 12$	$43 \pm 13$	$28 \pm 10$	$23 \pm 10$
$10^{-8}$	$67 \pm 14$	$59 \pm 13$	$45 \pm 12$	$40 \pm 11$
$5 \times 10^{-8}$	$78 \pm 17$	$69 \pm 14$	$57 \pm 14$	$51 \pm 13$
$10^{-7}$	$92 \pm 8$	$87 \pm 10$	$80 \pm 9$	$72 \pm 12$
IC <sub>50</sub>	$6.1 \times 10^{-9}$	$1.7 \times 10^{-8}$	$4.7 \times 10^{-8}$	
P-value		$p > 0.1$	$p < 0.05$	$p < 0.05$

Changes in tension(mean±S.D.) are expressed as a percentage of the contraction to  $2 \times 10^{-6}$ M PGF<sub>2</sub>α.  
IC<sub>50</sub>: concentration of bradykinin causing 50% inhibition of the maximum contraction to  $2 \times 10^{-6}$ M PGF<sub>2</sub>α(mean±S.D.).

현격히 증가되는 양상을 나타낼 수도 있는데, 실험에 사용된 혈관의 종류와 혈관수축제에 의해 결정된다고 한다. 혈관수축제에 의한 장력발생을 내피세포가 감소시킬 수 있는 가능한 기전으로 첫째 내피세포가 단순한 확산장애물(diffusion barrier)로 작용하여 혈관수축제가 평활근까지 도달하는 농도를 감소시킬 수 있으며 둘째로는 혈관수축제를 내피세포에서 대사시켜 불활성화 시키며 셋째로는 내피세포에서 혈관이완작용을 하는 물질을 분비시켜 길항하는 것을 들 수 있으나 각각의 상대적인 중요성에 관해서는 아직 정립된 바가 없다. 하지만 최근들어 기저상태의 EDRF 분비로 이를 설명해 보려는 시도들이 있는데 이는 주로 EDRF 불활성화 물질들을 이용하여 혈관장력의 변화를 관찰해보려는 것이 기본이다<sup>18)</sup>. 그 중에서 hemoglobin은 분자량이 커 세포내로는 직접 투과할 수 없으므로 내피세포로부터 유리된 EDRF가 혈관평활근으로 확산되어갈 때 이를 불활성화 시키리라 기대되기 때문에 세포내에서의 작용이 같이 있을 것으로 예상되는 다른 물질(methylene blue, superoxide anion 등)들에 비해 기저상태의 EDRF분비와 이의 역할에 관한 실험에 가장 좋은 약제라고 생각된다<sup>19, 20)</sup>. 본 연구에서 bradykinin에 의해 유리되는 EDRF의 작용을 완전히 차단시킨(그림 5) Hb 10-5M 을 아무런 약제가 투여되지 않은 실험용기에 넣으면 내피세포가 유지된 혈관절편에서만 장력이 급상승함을 관찰하게 되는데(그림 6, A) 이것은 내피세포가 유지된 절편에서 bradykinin 같은 EDRF 분비자극제에 노출되지 않은 기저상태에서도 EDRF가 유리되어 혈관이완작용을 하고있음을 반증하는 것이라 볼 수 있다. Hb의 선택적인 장력 상승효과는 혈관수축제 투여후에도 관찰되었다(그림 6, B). Hb의 이러한 효과가 내피세포가 제거된 혈관절편에서도 미약하게 남아있어 기저상태의

EDRF 분비와 이로 인한 혈관이완만으로 모든 현상을 설명할 수 없지만 이러한 형태의 실험이 기저상태의 혈관긴장도 조절에 관한 정보를 어느정도 제공할 수 있으리라 기대된다.

기존의 혈관이완물질에 비해 그 기전과 물리화학적 성상이 분명히 다른 EDRF의 존재가 인정된 이래 EDRF의 화학적 성상에 관한 연구가 시도되었는데 arachidonic acid의 대사산물 혹은 free oxygen radical 등이 초기에 거론되었으나 여러가지 이유로 학자들의 공감을 얻지 못 하였다. 1980년대 중반에 들어 organic nitrates인 nitroglycerin이나 inorganic nitrates인 nitroprusside를 포함한 'nitrovasodilators'들의 혈관이완작용시 free radical인 nitric oxide(NO)를 생성하며 이는 cyclic GMP를 이차전령으로 이용한다는 사실들이 알려진 뒤<sup>21)</sup>, soluble guanylate cyclase를 활성화시키고 hemoglobin 혹은 methylene blue에 의해 불활성화될 수 있으며 그 작용이 세포외액의 calcium 이온농도에 의존적이면서 반감기가 비슷할 뿐만 아니라 항혈소판응집 기능을 갖고있다는 공통점을 들어 nitric oxide(NO)가 EDRF일 것이라는 주장이 대두되었다<sup>22,23)</sup>. 그뒤 Palmer 등에 의해 혈관내피세포는 단독으로 L-arginine으로부터 nitric oxide를 생성한다는 것이 밝혀졌고<sup>24)</sup> 최근에는 macrophage에서 L-arginine이 NADPH를 cofactor로 갖는 효소에 의해 L-citrulline으로 대사되면서 부산물로 nitric oxide를 발생시킨다는 것이 밝혀져<sup>25)</sup> EDRF가 L-arginine으로부터 생성되는 nitric oxide일 것이라는 설명이 지배적이다(그림 12). EDRF의 전구물질(precursor)로 여겨지는 L-arginine은 여러가지 구조적 유도체(analogues)들을 갖고 있는데(그림 13) 재미있는 현상은 이들 유도체들은 L-arginine과 달리 내피세포의존성 혈관이완작용을 억제한다는 사실이다<sup>26)</sup>. 그림 8은 토끼의 대동맥을 대상으로 한 실험으로

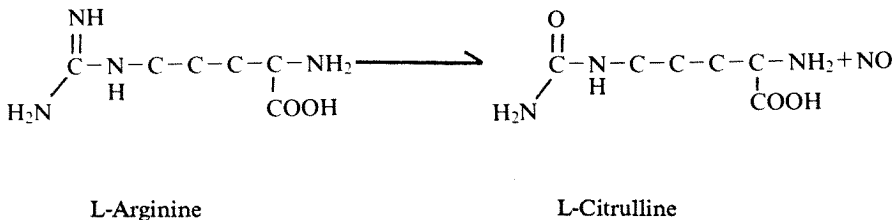
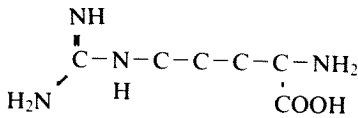
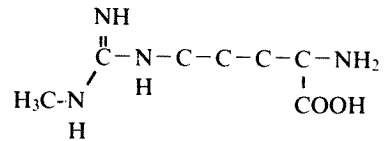


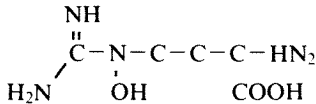
Fig. 12. Suggested biosynthetic pathway of EDRF(NO) from L-arginine.



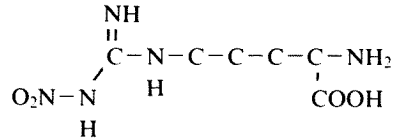
L-Arginine



L-N<sub>G</sub>-monomethyl arginine  
(L-NMMA)



L-Canavanine



Nitro-L-Arginine

Fig. 13. Molecular structure of L-arginine and its analogues.

acetylcholine에 의한 내피세포의존성 혈관이완이 nitro L-arginine에 의해 완전히 차단됨을 나타내고 있으며 이것은 다량의 L-arginine의 투여로 어느정도 회복되는 양상을 보여(그림 9) L-arginine과 그의 유도체들이 EDRF 생성에 관여하는 효소에 대해 competitive inhibition의 관계가 있음을 시사하는 소견이라고 사료된다.

내피세포로부터 분비되며 특히 그 특성이 전술한대로 혈관긴장도 조절의 local modulator로서의 기능을 수행하기에 적합한 EDRF의 발견은 관동맥연축, 고혈압, 지주막하 출혈뒤의 뇌동맥경련 등의 병적상황과 EDRF와의 연관성에 관한 논의를 자연스럽게 만들었다. EDRF와 관동맥연축유발의 연관성에 대해 현재까지 논의되어온 설명은 혈관 내피세포의 손상 혹은 기능저하로 인하여 EDRF 분비가 감소되어 내피세포의존성 혈관이완이 억제되고 EDRF의 항혈소판응집기능이 소실되면 혈소판응집이 국소적으로 일어나, 유리된 serotonin및 thromboxane A2의 강력한 혈관수축을 길항하지 못하여 관동맥연축이 쉽게 일어난다는 것이다<sup>27)</sup>. 아직 내피세포로부터 분비되어 강력한 혈관수축작용을 하는 여러가지 물질들과 EDRF가 혈관긴장도 조절에 미치는 상호작용에 관한 기초정보가 미미하고 혈관긴장도 증가에 있어 end organ이라고 할수있는 혈관평활근의 역할에 관해서도 정립되어야 할 부분이 많아 결론을 내리기는 미흡하지만, EDRF의 발견은 혈관긴장도 조절기전에 관한 연

구의 새로운 지평을 제시하고 있음을 부인할 수는 없으며 관동맥연축의 발생기전에 관한 설명에도 돌파구를 마련해 주리라 기대되고있다.

알코올의 섭취가 심근기능 저하를 초래하여 심근병증이나<sup>28,29)</sup> 급사를<sup>30,31)</sup> 유발할 수 있다고 일반적으로 인정되고 있으나 대규모의 역학조사 결과를 보면 중증도의 알코올 섭취는 관상동맥질환의 발병을 줄일 수 있으며<sup>6-8)</sup> 이는 지단백질(lipoprotein)에 대한 알코올의 효과로 알려져 있어<sup>32)</sup> 알코올이 심장및 순환기에 미치는 영향에 대해서는 논란의 여지가 많은 실정이다. 특히 알코올이 갖는 관상동맥질환의 예방효과가 언급되는데도 불구하고 죽상경화에 의한 관상동맥질환환자에서 협심증의 악화가 알코올 섭취로 유발되며 이것은 관동맥연축이 알코올에 의해 일어나 심근허혈을 더욱 악화시키는 것으로 설명될 수 있다는 보고<sup>9-11)</sup>와 관동맥연축에 의한 변이형협심증 환자들의 장기 추적 연구에서 알코올 섭취가 단독으로 예후에 나쁜 영향을 미칠 수 있다는 최근의 보고는<sup>12)</sup> 알코올이 죽상경화와 같은 구조적인 변화 외에 관동맥 평활근의 긴장도에 직,간접적으로 관여하리라는 점을 시사하고있다.

알코올이 혈관의 긴장도에 미치는 영향에 관한 여태까지의 연구는 혈관의 종류에 따라 서로 상반되는 점이 있다. 즉 세동맥(arteriole)이나 세정맥(venule)및 피부혈관들에 대해서는 혈관이완작용을 일으킨다고 보고되어 있지만<sup>33)</sup> 개의 관동맥을 대

상으로 한 실험에서 알코홀은 농도가 증가할수록 관상동맥을 수축시키며 이는 phentolamine, propranolol, indomethacin, methysergide maleate 등을 전 처치하여도 변화하지않는 것으로 되어있다<sup>34,35)</sup>. 관동맥외에 신혈관(renal artery), 뇌혈관및 폐혈관에서도 알코홀에 의한 혈관수축작용이 보고되어 있다<sup>36,37)</sup>. 알코홀에 의한 혈관이완작용은 교감신경을 통한 것이고 혈관수축작용은 교감신경의 지배와 무관하다는 설명이 혈관의 종류에 따른 알코홀 효과의 차이를 이해하려는 시도이지만 아직 정립된 바가 없는 실정이다<sup>35)</sup>. 또한 현재까지 알코홀이 관동맥긴장도에 미치는 영향에 관한 연구는 알코홀 투여에 따른 혈관내경 혹은 혈류의 변화를 보는 것으로, 최근 혈관평활근의 긴장도 조절에 중추적인 역할을 한다고 알려진 EDRF 분비와 이에 의한 내피세포의존성 혈관이완에 미치는 효과에 관해서는 발표된 것이 없어 저자들은 돼지의 관동맥을 대상으로 일반적인 사회생활에서 쉽게 도달하게되는 알코홀 농도에서 bradykinin에 의한 내피세포의존성 혈관이완의 변화를 관찰하였다. 알코홀의 농도와 bradykinin에 의한 장력감소간의 농도-반응 곡선을 보면(그림 11) 알코홀은 그 농도가 증가할수록 내피세포의존성 혈관이완작용을 억제하였으며 특히 200mg%와 300mg%에서는 그 통계적인 유의성이 인정되었다. 이 사실을 근거로 저자들은 알코홀은 EDRF에 의한 혈관이완작용을 억제하여 혈관의 긴장도를 증가시키는 효과가 있는 바 관동맥질환자들의 알코홀 섭취는 비록 그것이 소량일지라도 관동맥긴장도의 조절에 있어 심근허혈을 더욱 가중시키는 경향이 분명히 있으리라 사료되었다.

하지만 위의 실험은 EDRF의 공급원인 내피세포와 이와 반응하여 혈관긴장도가 변화하는 혈관평활근을 분리한 bioassay 실험이 아니라서 알코홀의 효과가 EDRF의 생성에 관여하는지 아니면 EDRF와 혈관평활근의 상호작용에 관여하는 가를 밝힐 수없는 한계점이 있다. 또한 임상경험으로 볼때 알코홀 섭취에 따른 관동맥연축은 알코홀의 혈중농도가 최고도에 도달할 시기에도 유발될 수 있지만 많은 예에서 알코홀 섭취후 상당시간이 경과한 뒤에 연축이 유발되는 것으로 알려져있어 알코홀의 급성 효과를 관찰한 저자들의 실험으로

알코홀이 직접적으로 내피세포의존성 혈관이완을 억제시켜 관동맥연축을 유발시킨다고 결론지을 수는 없다. 알코홀의 생체내 대사산물들에 대한 연구와 자율신경계를 통한 평활근긴장도 조절과 내피세포의존성 혈관이완작용과의 상호작용을 규명하기위한 in vivo 실험이 병행되어야 알코홀섭취에 따른 관동맥연축의 정확한 기전을 규명할 수 있으리라 사료된다.

## 요 약

내피세포가 혈관긴장도 조절에 미치는 효과를 관찰하고 내피세포유래 혈관확장물질(endothelium-derived relaxing factor, 이하 EDRF)에 의한 혈관이완작용과 관동맥연축과의 연관관계를 규명하며 내피세포의존성 혈관이완에 미치는 알코홀의 효과를 알아보기 위하여 돼지의 관동맥과 토끼의 대동맥을 대상으로 실험용기내에서 등장성 수축이완 실험을 반복하였다.

1) 내피세포가 유지된 혈관절편은 혈관수축제 투여에 따른 장력발생이 내피세포가 제거된 혈관절편에 비해 감소되었으며, EDRF 분비에 의한 내피세포의존성 혈관이완을 차단시키는 hemoglobin은 내피세포가 유지된 혈관절편에서만 선택적으로 급격한 장력상승을 나타내었다.

2) 내피세포의존성 혈관이완작용은 L-arginine의 유도체인 nitro L-arginine에 의해 차단되었으며 nitro L-arginine에 의해 차단된 내피세포의존성 혈관이완작용은 L-arginine의 다량투여로 부분적으로 회복될 수 있었다.

3) 알코홀은 농도의존적으로 돼지의 관동맥에서 bradykinin에 의한 내피세포의존성 혈관이완을 억제하였다.

이상으로 내피세포가 갖고있는 혈관긴장도 상승의 억제효과는 내피세포로부터 분비되는 EDRF의 존재와 이로 인한 혈관이완작용으로 설명되어질 수있어 국소적인 내피세포의 파괴 혹은 기능저하는 EDRF에 의한 혈관긴장도 감소의 억제로 관동맥연축의 유발에 크게 관여하리라 예상되며 EDRF의 전구물질인 L-arginine과 그의 유도체인 nitro L-arginine은 EDRF의 생성에 서로 competitive inhibition을 하고있음을 알 수있었다. 또한 알코홀섭취는

내피세포의존성 혈관이완작용을 억제시켜 관동맥의 긴장도를 증가시킬 수 있으므로 관동맥연축이 호발될 수있는 조건이 될 수 있으리라 사료되었다.

## Reference

- 1) 1) Conti CR, Pepine CJ, Curry BCJr : *Coronary artery spasm : An important mechanism in the pathophysiology of ischemic heart disease. Curr Prob Cardiol* 4 : 1, 1979
- 2) Furchgott RF, Zawadzki JV : *The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. Nature* 288 : 373, 1980
- 3) 박영배 · 이영우 : 관상동맥경련에 관한 연구. 순환기 18 : 161, 1988
- 4) MacAlpin RN : *Relation of coronary arterial spasm to sites of organic stenosis. Am J Cardiol* 46 : 143, 1980
- 5) Braunwald E : *On future directions for cardiology. Circulation* 77 : 13-31, 1988
- 6) Dyer AR, Stamler J, Paul O, Berkson DM, Shekelle RB, Lepper MH, McKean H, Lindberg HA, Garside D, Tokich T : *Alcohol, cardiovascular risk factors and mortality : The Chicago experience. Circulation* 64(suppl III) : III-20-III-27, 1981
- 7) Gordon T, Kannel WB : *Drinking habits and cardiovascular disease : The Framingham study. Am Heart J* 105 : 667-673, 1983
- 8) Blackwelder WC, Katsuhiko Y, Rhoads GG, Kagan A, Gordon T, Paleschi Y : *Alcohol and mortality : The Honolulu heart study. Am J Med* 68 : 164-169, 1980
- 9) Matsuguchi T, Araki H, Anan T, Hayata N, Nagasaki O, Takeshita A, Nakamura M : *Provocation of variant angina by alcohol ingestion. Eur Heart J* 5 : 906-912, 1984
- 10) Fernandez D, Rosenthal JE, Cohen LS, Hammond G, Wolfson S : *Alcohol-induced Prinzmetal variant angina. Am J Cardiol* 32 : 238-239, 1973
- 11) Takizawa A, Hirofumi Y, Omote S, Nagao M, Hyon H, Nishida S, Horie M : *Variant angina induced by alcohol ingestion. Am Heart J* 107 : 25-27, 1984
- 12) Yasue H, Takizawa A, Nagao M, Nishida S, Horie M, Kubota J, Omote S, Takaoka K, Okumura K : *Long-term prognosis for patients with variant angina and influential factors. Circulation* 78 : 1-9, 1988
- 13) Griffith TM, Edwards DH, Lewis MJ, Nevby AC, Henerson AH : *The nature of endothelium-derived relaxant factor. Nature* 308 : 645, 1984
- 14) Rubanyi GM, Vanhoutte PM : *Superoxide anions and hyperoxia inactivate endothelium-derived relaxing factor(s) : Inactivation by catecholamines. Am J Physiol* 249 : H95, 1985
- 15) Busse R, Trogis G, Bassege E : *The role of endothelium in the control of vascular tone. Basic Res Cardiol* 80 : 475, 1985
- 16) Griffith TM, Henderson AH : *The nature of endothelium-derived relaxing factor, in Vanhoutte(ed) : Contracting and relaxing factors. Clifton, Humana Press, p41, 1988*
- 17) Miller RC, Schini V, Schoeffter P : *Modulation by the endothelium of agonist-induced contractions of vascular smooth muscle, in Vanhoutte PM(ed) : Contracting and relaxing factors. Clifton, Humana Press p241-265, 1988*
- 18) Martin W : *Basal release of endothelium-derived relaxing factor, in Vanhoutte PM(ed) : Contracting and relaxing factors. Clifton, Humana Press p159-178, 1988*
- 19) Martin W, Villani GM, Jothianandan D, Furchgott RF : *Blockage of endothelium-dependent and glyceryl trinitrate-induced relaxation of rabbit aorta by certain ferrous hemoproteins. J Pharmacol Exp Ther* 233 : 679-685, 1985
- 20) Martin W, Furchgott RF, Villani GM, Jothianandan D : *Depression of contractile responses in rat aorta by spontaneously released endothelium-derived relaxing factor(EDRF). J Pharmacol Exp Ther* 237 : 529-538, 1986
- 21) Murad F : *Cyclic guanosine monophosphate as a mediator of vasodilation. J Clin Invest* 78 : 1, 1986
- 22) Furchgott RF : *Studies on relaxation of rabbit aorta by sodium nitrite : The basis for the proposal that the acid-activatable inhibitory factor from bovine retractor penis is inorganoic nitrite and its similarity to nitric oxide radical, in Vanhoutte(ed) : Mechanisms of vasodilation, New York, Raven Press, p401, 1988*
- 23) Ignarro LJ, Byrns RE, Wood KS : *Biochemical and pharmacological properties of endothelium-derived*

- relaxing factor and its similarity to nitric oxide radical, in Vanhoutte(ed) : Mechanisms of vasodilation, New York, Raven Press, p427, 1988*
- 24) Palmer RMJ, Ashton DS, Moncada S : *Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. Nature* 333 : 664, 1988
  - 25) Hibbs JB, Taintor RR, Vavrin Z, Rachlin EM : *Nitric oxide : A cytotoxic activated macrophage effector molecule. Biochem Biophys Res Commun* 157 : 87, 1988
  - 26) Moncada S, Palmer RM, Higgs EA : *Biosynthesis of nitric oxide from L-arginine : A pathway for the regulation of cell function and communication. Biochem Pharmacol* 38 : 709, 1989
  - 27) Vanhoutte PM, Shimokawa H : *Endothelium-derived relaxing factor and coronary vasospasm. Circulation* 80 : 1, 1989
  - 28) Regan TJ, Koroxenidis G, Moschos CB, Oldewurtel HA, Lehan PH, Hellens HK : *The acute metabolic and hemodynamic responses of the left ventricle to ethanol. J Clin Invest* 45 : 270-280, 1966
  - 29) Regan TJ : *Alcoholic cardiomyopathy. Prog Cardiovasc Dis* 45 : 141-152, 1984
  - 30) Dyer AR, Stamler J, Paul O, Berkson DM, Lepper MH, Heiss G : *Alcohol consumption, cardiovascular risk factors, and mortality in two Chicago epidemiologic studies. Circulation* 56 : 1067-1074, 1977
  - 31) Fraser GE, Upsdell M : *Alcohol and other discriminants between cases of sudden death and myocardial infarction. Am J Epidemiol* 114 : 462-476, 1981
  - 32) Gordon T, Ernst N, Fisher M, Rifkind BM : *Alcohol and high-density lipoprotein cholesterol. Circulation* 64(suppl III) : III-63-III-66, 1981
  - 33) Altura BM, Ogunkoya A, Gebrewold A, Altura T : *Effects of ethanol on terminal arterioles and muscular venules : Direct observations on the microcirculation. J Cardiovasc Pharmacol* 1 : 97-113, 1979
  - 34) Altura BM, Altura BT, Carella A : *Ethanol produces coronary vasospasm : Evidence for a direct action of ethanol on vascular muscle. Br J Pharmacol* 78 : 260-262, 1983
  - 35) Hayes SN, Bove AA : *Ethanol cause epicardial artery vasoconstriction in the intact dog. Circulation* 78 : 165-170, 1988
  - 36) Altura BM, Altura BT : *Microvascular and vascular smooth muscle actions of ethanol, acetaldehyde, and acetate. Fed Proc* 41 : 2447-2451, 1982
  - 37) Toda N, Konishi M, Miyazaki M, Komura S : *The effects of ethanol and acetaldehyde on dog arterial smooth muscle. J Stud Alcohol* 44 : 1-15, 1983