

白鼠 冠狀 血流에 미치는 Phenylephrine 및 Clonidine의 影響

金 昊 鎬** · 金 鍾 淳** · 崔 峰 奎** · 崔 順 浩*

— Abstract —

Influence of Phenylephrine and Clonidine on the Coronary Flow in Rats

K.H. Kim, M.D., J.S. Kim, M.D., B.K. Choi, M.D. and S.H. Choi, M.D.

The regulatory role of the post α_1 - and α_2 -adrenoceptors on cardiac function, particularly in coronary flow rate, was investigated in the isolated rat heart treated with 10^{-6} M propranolol. When introduced into the left atrium of the heart, phenylephrine (10^{-7} ~ 10^{-2} M) decreased coronary flow rate and increased mean coronary resistance in a dose related fashion, but did not affect heart rate. Methoxamine also elicited the increment of coronary resistance and the decrement of coronary flow rate, though the effects of methoxamine were weaker than those by phenylephrine. The effect of phenylephrine was inhibited by 1μ M prazosin and shifting the dose-response curve to the right.

The effects of clonidine, a selective α_2 -adrenoceptor agonist, were studied in the heart taken from reserpinized rats. Clonidine increased coronary resistance, decreased heart rate and coronary flow rate with a dose-dependent manner. These effects were abolished by 10^{-6} M yohimbine, a selective α_2 -antagonist, and were not affected by 10^{-6} M prazosin. Clonidine also decreased coronary flow and increased mean coronary resistance in electric paced heart. These effects were inhibited by rauwolfscine, a selective α_2 -antagonist.

These results indicate that the stimulation of both post α_1 - and α_2 -adrenoceptor causes coronary vasoconstriction. And it is inferred that this model of sympathomimetics-induced coronary vasospasm may provide a useful tool for investigating spasmolytic agents which are of benefit in the treatment of variant angina.

緒 論

冠狀 血流은 주로 心筋의 代謝性 要求에 따라 血流을 調節하는 局所의 機轉에 의하여 維持되나^{1,2)} 交感

神經系 역시 冠狀血流 調節에 重要한 役割을 하고 있다. 즉 交感神經系는 α -adrenergic 受容體를 통하여 冠狀血管의 收縮을 惹起시키며 이 收縮은 冠狀動脈의 代謝性 擴張에 拮抗하게 되어 酸素供給을 妨害하는 것으로 推測되어왔다³⁻⁵⁾.

*圓光大學校 醫科大學 胸部外科學教室, **藥理學教室
*Departments of Thoracic and Cardiovascular Surgery, **Pharmacology, School of Medicine, Wonkwang University Iri, Korea
1990년 12월 24일 접수

冠狀血管이 交感神經 및 副交感神經의 支配를 받고 있음은 이미 잘 알려진 事實이며^{6,7)} 冠狀血流에 미치는 이들의 役割에 관해 여러 角度에서 研究가 進行되어 왔으나 그 直接的인 重要性은 아직까지 밝혀지고

있지 않다. 심한 出血性 底血壓時 phenoxybenzamine 投與가 冠狀血流量을 增加시키고⁸⁻¹¹⁾, 外因性 norepinephrine이 冠狀血流量 收縮效果를 減弱시킨다는 報告¹²⁾가 있었으며, α -adrenoceptor 拮抗藥인 phentolamine이 運動하는 개에서 冠狀血管抵抗을 減少시킨다는 報告¹³⁾와 아울러 이와 비슷한 效果가 여러 研究者들에 의해 觀察되었다¹⁴⁻¹⁶⁾. 한편 methoxamine, phenylephrine과 같은 選擇的 α_1 -agonist가 冠狀血管 收縮을 일으킨다는 報告들^{17,18)} 및 post synaptic α_2 -adrenoceptor가 冠狀血管收縮에 關與한다는 報告¹⁹⁾이래 冠狀血管收縮에는 post α_1 -receptor가 더 重要하다는 說²⁰⁻²²⁾, post α_2 -adrenoceptor의 關與가 重要하다는 說^{23,24)} 그리고 α_1 과 α_2 -adrenoceptor가 다 關與한다는 說^{25,26)}은 說等, 研究者들과 實驗動物 및 實驗模型에 따라 그 結果가 一致하고 있지는 않다.

따라서 著者들은 冠狀血流量 調節에 關與하는 交感神經系의 役割을 究明키 위하여 摘出 白鼠 心臟을 利用하여 α_1 - 및 α_2 -adrenoceptor에 選擇的인 興奮藥 및 그 遮斷藥을 使用 그들의 心臟血力學에 미치는 影響, 特別히 冠狀血管 血流量에 미치는 影響을 分析하여, 冠狀血流量調節에 미치는 α_1 - 및 α_2 -adrenoceptor의 役割을 究明하고자 하였다.

實驗 材料 및 方法

體重 250-280g의 雄性 白鼠(Sprague-Dawley)를 diethyle ether로 가볍게 麻醉하여 仰臥位로 四肢를 結紮하였다. 大腿 靜脈을 통해 heparin(500IU/kg)을 注射하고 約 2分 뒤 正中開胸한 다음 心臟을 摘出하여 4℃의 生理 食鹽收에 담겼다. 摘出된 心臟을 Tyers 等²⁷⁾ 및 崔等²⁸⁾의 摘出心臟 灌流裝置(isolated heart perfusion system)에 매달고, 非作業性 心臟循環(Langendorff perfusion, non-working heart circulation)을 80cm 淨水壓으로 施行하였다. 灌流液으로는 變造된 Krebs-Henseleit buffer 溶液(Table 1)을 使用하였으며, 이 溶液을 實驗裝置 內에서 循環시키면서 37.5℃로 加溫 維持하였고, 95% O₂ 와 5% CO₂의 混合가스로 飽和시켰다. 이때 酸素 分壓은 約 450-500mmHg 二酸化炭素의 分壓은 31-34mmHg 이었으며 pH는 7.4로 維持시켰다. 灌流液은 30 μ m의 動脈血流量 濾過필터(Harvey Co.)에 通過시켜 沈澱物을 除去하였으며 灌流中 兩側肺靜脈이 到達하는 部位

Table 1. The composition of modified Krebs-Henseleit buffer solution

Components	mM
NaCl	118.0
KCl	4.7
CaCl ₂ 2H ₂ O	2.5
MgSO ₄ 7H ₂ O	1.2
KH ₂ PO ₄	1.2
NaHCO ₃	25.0
Na ₂ EDTA	0.03
Glucose	11.1

사이의 左心房 後壁을 切開하고 16gauge 캐놀라를 넣어 固定시켰다. 作業性 心臟循環(working heart circulation)은 非作業性 心臟循環을 遮斷하고 17cm H₂O 壓으로 buffer 溶液을 固定된 캐놀라를 通하여 左心房으로 流入시켜 左心室로 부터 80cm H₂O 높이 壓이 걸리는 再循環 裝置의 大動脈管으로 搏出되도록 하였다(Fig. 1). 作業性 心臟循環狀態에서 大動脈搏出量은 80cm H₂O 壓을 이겨내어 흘러내리는 冠狀血管 灌流量(coronary flow)은 右心臟으로부터의 流出量을 各各 fraction collector에 採集하여 分당 流出量을 무게로 測定하였으며, 最大大動脈 收縮氣壓(peak aortic pressure), 脈壓(pulse pressure) 및 大動脈 dp/dt(aortic dp/dt)는 polygraph(Grass, model 7E) 上에 表示하였고 心搏動數는 tachometer로써 測定하였다. 이미 測定된 大動脈 搏出量과 冠狀血管 血

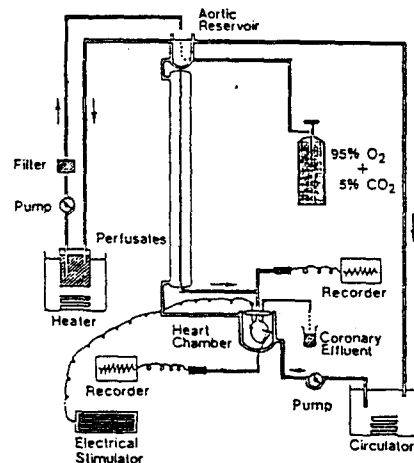


Fig. 1. Schematic drawing of the experimental set up.

實驗成績

流量에서 心搏出量(Cardiac output=aortic flow+ coronary flow)을 求하고, 大動脈 收縮氣壓에서 脈壓의 1/2를 除하여 平均血壓(mean pressure=peak aortic pressure-pulse pressure/2)을 求하였으며, 平均 冠狀血管 抵抗은 冠狀血管 血流量과 平均血壓으로부터 求하였다(mean coronary resistance=coronary flow/aortic mean pressure). 藥物의 投與는 各 濃度 別로 infusion pump를 利用하여 分當 1ml의 速度로 左心房에 注入하였으며, 電氣刺戟 實驗은 電氣刺戟機(Grass SD9)를 利用하였다. Reserpine 전처리 에서의 實驗은 5mg/kg의 reserpine을 腹腔內에 이틀간 注入하여 3일째에 使用하였다. 實驗에 使用한 藥物은 phenylephrine HCl(Sigma), dl-propranolol HCl(Sigma), methoxamine HCl(Sigma), clonidine HCl(Sigma), prazosin HCl(Pfizer), yohimbine HCl(Sigma), rawoulsine HCl(RBI) 등이었으며, 모든 藥物은 蒸溜水에 녹여 stock solution을 만들어 두었다. 投與直前 營養液으로 稀釋하여 使用하였다. 各 心臟機能 尺度의 統計學的 有意性 檢定은 ANOVA 와 Duncan's multiple range test²⁹⁾를 利用하였으며 各群間의 差는 Student's unpaired "t"-test³⁰⁾를 利用하였다.

I. 本 實驗模型에서의 血力學的 機能의 變動

本 實驗模型에서 心臟機能의 安定性(stability)을 確認하기 위하여 作業性 心臟機能의 여러 尺度를 時間 經過에 따라 觀察하였다(Table 2). 非作業性 心臟循環에서 作業性 心臟循環으로 轉換시킨 直後부터 各 尺度의 變動을 觀察하였는데, 心搏數는 10分 後부터 對照值(0-10分)의 約 80%로 減少하여 2時間以上 變動 없이 그대로 持續되었으며 最大 大動脈收縮氣壓은 10分 以後 10%정도 增加하여 持續되었다. 脈壓은 10分 以後 約 30%정도 增加하였다가 時間 經過에 따라 60分 後에는 20% 水準에서 그대로 維持되었으며, 外의 各 尺度들도 2時間以上 變動없이 維持되었다(Table 2).

한편 本 實驗에서의 藥物投與實驗時 β -adrenoceptor의 影響을 排除하기 위하여 propranolol의 影響을 보았는데, 10^{-6} M propranolol에 의하여서는 心臟機能諸尺度에 變動을 일으키지 않았다.

II. α -adrenoceptor agonist의 效果

A. α_1 -agonist

藥物 投與實驗은 本實驗模型에서, 非作業性循環에

Table 2. Stability of the isolated working heart

Time (min)	Heart Rate (beat/min)	LVP* (mmHg)	Pulse pressure (mHg)	Aortic flow (ml/min)	Coronary flow (ml/min)	Cardiac output (ml/min)	MCR+ (mmHg/ml/min)
0-10	259±13.1	105±8.4	47±7.2	19.1±1.6	15.8±0.8	35.0±2.1	5.5±0.45
10-20	224±11.8	116±7.3	61±5.2	21.1±1.1	16.5±0.7	37.6±0.7	5.5±0.38
20-30	220±11.0	118±7.2	63±4.6	20.4±1.0	17.8±0.6	38.0±0.8	5.1±0.36
30-40	222±9.4	116±7.1	60±4.6	19.3±1.0	18.9±0.5	38.2±0.7	4.7±0.32
40-50	222±11.8	115±7.2	60±5.1	18.5±0.9	19.2±0.5	37.7±0.6	4.7±0.31
50-60	222±11.4	114±7.4	59±5.3	18.2±0.9	19.1±0.5	37.3±0.7	4.7±0.35
60-70	227±13.9	113±7.7	57±5.6	18.0±0.9	18.7±0.5	36.8±0.7	4.7±0.37
70-80	229±15.4	112±8.2	57±5.7	18.0±0.8	18.4±0.5	36.4±0.7	4.8±0.40
80-90	229±13.7	112±7.9	57±5.1	18.0±0.8	18.0±0.5	36.0±0.6	4.9±0.40
90-100	227±13.4	111±7.7	56±4.4	18.4±0.9	17.0±0.5	36.2±0.7	4.9±0.39
100-110	224±10.6	112±7.4	56±4.6	18.2±0.8	17.5±0.6	35.7±0.9	5.0±0.42
110-120	225±10.5	111±7.2	55±4.5	18.0±0.7	17.1±0.6	35.1±0.8	5.2±0.42
120-130	226±11.2	110±7.1	53±4.9	17.1±0.8	16.7±0.7	33.8±1.0	5.3±0.45

* : Peak systolic left ventricular pressure.

+ : Mean coronary resistance.

Values are mean±SEM from seven hearts.

Table 3. Effect of 10^{-4} M phenylephrine (infusion for 5 min) on the functional parameters of the isolated working rat heart

Time (min)	Heart rate (beat/min)	LVP (mmHg)	Pulse pressure (mmHg)	Aortic flow (ml/min)	Coronary flow (ml/min)	Cardiac output (ml/min)	MCR (mmHg/ml/min)	Aortic dp/dt (mmHg/sec)
control	262.0±13.37	102.4±3.34	34.9±5.38	22.9±1.00	14.6±0.42	37.6±0.85	5.8±0.23	1348±113.07
0-1	260.0±13.27	102.6±2.98	35.0±5.51	23.5±1.02	13.7±0.41	37.2±0.84	6.2±0.18	1348±112.30
1-2	260.0±11.31	101.8±3.06	34.5±5.87	24.0±1.44	13.1±0.31*	37.1±1.30	6.4±0.17*	1420±113.09
2-3	256.8±9.070	103.4±3.08	36.3±6.39	23.7±1.53	13.2±0.30	36.7±1.51	6.4±0.15	1466±123.27
3-4	255.2±11.06	102.8±3.43	36.1±6.65	23.5±1.68	13.1±0.35*	36.5±1.64	6.5±0.17	1482±124.07
4-5	255.2±11.06	103.2±3.50	36.4±6.54	23.3±1.73	13.2±0.28*	36.6±1.72	6.4±0.15	1484±121.93
5-10	256.0±13.56	103.2±2.13	36.1±5.19	22.3±1.38	14.5±0.48	36.9±1.32	5.9±0.23	1438±82.00
10-15	255.2±12.03	103.0±2.72	35.3±5.57	21.3±1.06	15.2±0.49	37.3±0.94	5.6±0.22	1396±103.28
15-20	254.4±14.62	103.6±3.39	35.8±6.03	22.1±1.05	15.3±0.54	37.4±0.79	5.6±0.24	1366±118.47
20-25	253.6±13.06	102.8±3.40	35.7±5.83	22.0±0.98	15.1±0.62	37.0±0.68	5.7±0.29	1346±121.10
25-30	250.4±13.00	103.4±3.04	36.2±5.39	22.0±0.94	15.0±0.61	37.1±0.66	5.7±0.29	1346±98.72

Values are mean ± SEM of five hearts. Significance of differences from control values were tested with Duncan's multiple range test (#=p<0.05). Other legends are as in previous tables.

서 作業性循環으로의 轉換後 心搏數가 10分부터 安定 되기 때문에 10分 以後부터 5分씩 두번의 對照期(non-control)를 가진 後 分當 1ml의 速度로 5分간 注入하였다.

10^{-4} M phenylephrine (以下 PE라 略함) 投與時 (Table 3), 心搏數는 時間經過에 따라 輕微한 減少를 나타낸 반면 冠灌流量은 藥物投與 2分 頃에 10% 정도 의 減少를 나타내었으며 投藥中斷後 原水準으로 回復 되었다. 冠狀血管抵抗은 最大 11%까지 統計的으로 有意한 增加를 보인 후 回復됨을 알 수 있었다. PE의 效果 中 冠灌流量과 冠狀血管抵抗의 變動만을 綜合하였다 (Fig. 2.3). 冠灌流量의 變動에 있어 대체로 投與量에 比例한 減少를 나타내었으나, 大量 즉 10^{-2} M 投與時 그 減少가 弱화됨을 볼 수 있었으며 이는 大量投與時 心搏數가 增加되었는바, 心搏數 增加에 의한 心管收縮力의 減退에 起因한다 하겠다. 冠狀血管抵抗 역시 投與藥物 增大에 比例하여 增加하였다. Fig. 4는 PE 10^{-7} M 부터 10^{-3} M까지 投與時, 藥物投與 期間 中 그 效果가 가장 뚜렷한 期間의 冠灌流量의 減少와 冠狀血管抵抗 增加 사이의 相關을 나타낸 것이다. PE 投與時 冠灌流量 減少와 冠狀血管抵抗增加 사이에 統計的으로 有意한 (p<0.05) 相關關係가 있음을 알 수 있다.

또한 adrenergic α -receptor에 比較적 選擇性이 強 하다고 알려진 또하나의 藥物인 methoxamine (MTX 라 略함)의 心機能에 미치는 影響을 觀察하였다. 10^{-5} M 投與時 輕微한 冠灌流量 減少와 아울러 冠狀血管

抵抗 增加를 볼 수 있었으며, 量을 10倍 올린 10^{-4} M 投與時 (Table 4) 뚜렷한 冠灌流量 減少와 아울러 冠狀血管 抵抗의 增加를 招來하였다. 그러나 그 效果는 同量의 PE에 비해 훨씬 強하였으나 그 作用期間은 길 게 나타남을 볼 수 있었으며, 量을 10倍 더올린 10^{-3} M MTX에 의하여는 그 效果가 오히려 10^{-4} M에 의 한 것보다 뚜렷치 않아 MTX에 의하여는 藥物用量-反應 關係가 뚜렷하지 않음을 알 수 있었다.

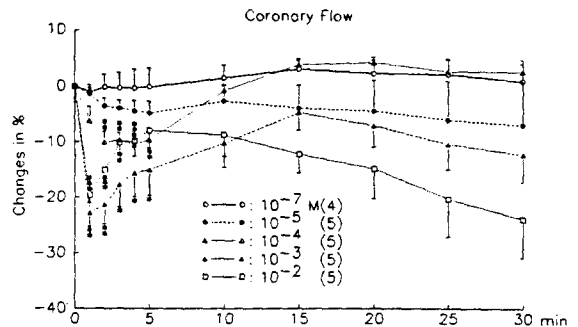


Fig. 2. Effect of phenylephrine on the coronary flow in the isolated working heart. Experiments were carried out under 10^{-6} M propranolol. Mean changes from the values of control period and one standard error are depicted. Numerals in parentheses are the number of experiments. The asterisks indicate significant differences from the control period (*=p<0.05, **=p<0.01 and ***=p<0.001).

Table 4. Effect of 10^{-4} M methoxamine(infusion for 5min)on the functional parameters of the isolated working rat heart

Time (min)	Heart Rate (beat/min)	LVP (mmHg)	Pulse pressure (mmHg)	Aortic flow (ml/min)	Colony flow (ml/min)	Cardiac output (ml/min)	MCR (mmHg/ml/min)	Aortic dp/dt (mmHg/sec)
control	218.0±20.95	133.0±5.92	57.1± 9.42	22.0±1.06	17.4±1.17	39.3±0.65	6.1±0.49	1818.0±128.10
0- 1	217.6±19.86	133.8±6.11	59.2± 9.97	21.4±0.64	16.9±1.27	39.2±0.60	6.4±0.54	1862.0±125.00
1- 2	213.6±19.29	134.2±6.15	59.9±10.00	22.3±1.20	16.9±1.21	39.1±0.74	6.3±0.48	1840.0±113.60
2- 3	212.0±19.47	135.0±5.90	61.4± 9.64	22.5±1.25	16.9±1.13	39.4±0.59	6.3±0.48	1886.0±107.20
3- 4	211.2±18.65	136.0±5.68	62.4± 9.54	22.6±1.18	16.6±1.18	39.2±0.64	6.4±0.50	1920.0±115.80
4- 5	212.0±17.44	136.2±5.92	61.8± 9.37	22.8±1.29	16.6±1.19	39.4±0.58	6.5±0.53	1914.0±117.30
5-10	224.8±16.41	132.0±4.85	55.6± 8.04	22.4±1.07	16.9±1.13	39.3±0.55	6.3±0.46	1846.0±109.00
10-15	224.0±15.44	132.0±4.43	54.4± 7.51	22.0±0.95	16.9±1.01	38.8±0.58	6.3±0.44	1812.0± 92.46
15-20	223.2±15.30	131.2±4.47	54.2± 7.54	21.9±0.96	16.5±0.96	38.8±0.54	6.4±0.46	1750.0± 84.68
20-25	223.2±15.92	130.2±4.49	53.5± 7.35	22.0±0.94	16.1±0.94	38.1±0.68	6.5±0.46	1728.0±113.10
25-30	221.6±16.38	132.4±4.46	54.5± 7.97	22.1±0.77	15.6±0.90	37.7±0.54	6.8±0.50	1710.0±112.50

Values are mean±SEM from five hearts. Legends are as in previous tables.

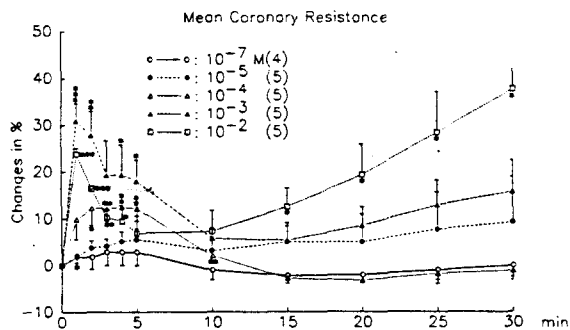


Fig. 3. Effect of phenylephrine on the mean coronary resistance in the isolated working rat heart. Legends are as in Fig. 2.

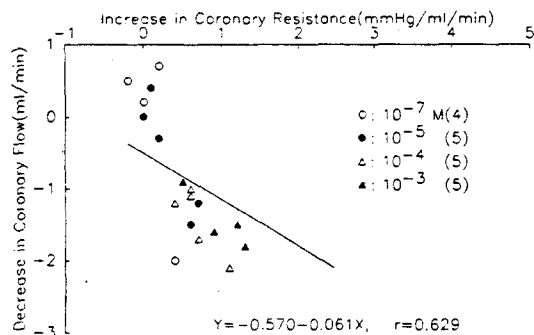


Fig. 4. Relationship between the coronary flow and coronary artery resistance during the first 5min period of phenylephrine infusion. In the parentheses are number of experiments.

B. α_2 -agonist의 효과

本實驗에서는 presynaptic α -receptor의 影響을 排除하기 위하여 reserpine 前處理 한 쥐에서 實驗하였다.

a. Clonidine의 효과

α_2 -adrenoceptor 興奮劑인 clonidine의 心臟機能에 미치는 影響을 觀察하였다. 代表的인 藥物濃度에 의한 效果를 分析하여 보면 (Table 5), 10^{-4} M 投與에 의해 心搏數는 藥物投與後 最大 15%까지 減少하였다가 投與中斷後 원수준으로 回復되었으며, 冠狀血管 抵抗은 統計的으로 有意한 增加를 나타내었고 아울러 冠灌流量은 有意한 減少를 나타내었다. 大動脈 dp/dt 또한 統計的으로 有意한 增加를 나타내었다. 이와같은 clonidine의 效果를 綜合하였다 (Fig. 5,6,7). 心搏流量은 clonidine 投與量 增大에 比例하여 減少를 나타내었으며, 冠狀血管 抵抗은 投與藥物 濃度에 比例한 增加를 나타내었다.

b. 電氣刺戟 동안의 clonidine 效果

Clonidine에 의한 冠灌流量의 減少가 心搏數 減少에 起因하는지의 與否를 알기 위하여 電氣刺戟下에서 實驗을 實施하였다. 電氣刺戟은 作業性 循環으로의 轉換後 心搏數를 計測하여 8-12%정도의 心搏數 增加를 일으킬 수 있도록 刺戟(3-6pps, 0.5ms, 20V)하였다. Clonidine의 效果가 뚜렷한 10^{-3} 및 10^{-2} M을 電氣刺戟 中 投與하였다 (Fig. 11 參照). 電氣刺戟에 의해 心搏數가 일정하게 維持될 때도 clonidine은 冠灌流量의

Table 5. Effect of 10^{-4} M clonidine (infusion for 5 min) of the isolated working rat heart

Time (min)	Heart Rate (beat/min)	LVP (mmHg)	Pulse pressure (mmHg)	Aortic flow (ml/min)	Colony flow (ml/min)	Cardiac output (ml/min)	MCR (mmHg/ml/min)	Aortic dp/dt (mmHg/sec)
control	240.3±5.76	96.3±2.04	41.6±2.33	23.7±0.73	14.5±0.87	38.2±0.58	5.30±0.29	1690.0±61.16
0-1	227.3±6.81	101.0±2.94	48.4±3.74	24.6±0.45	13.4±0.73	37.9±0.60	5.83±0.30	1771.7±77.56
1-2	214.7±5.43*	103.5±3.29	25.3±4.14	25.5±0.45	12.1±0.71	37.6±0.80	6.50±0.38*	1845.0±115.75
2-3	206.0±6.75**	106.3±4.59	56.6±5.81*	25.8±0.45*	11.7±0.74*	37.6±1.02	6.80±0.46*	1903.3±116.72
3-4	204.0±8.13**	108.8±4.71*	61.0±6.01**	25.7±0.41*	12.0±0.78	37.7±0.96	6.70±0.46*	1986.7±107.91*
4-5	204.0±10.9**	111.8±4.59**	65.5±6.36**	25.6±0.41	12.1±0.83	37.7±0.96	6.80±0.58*	2053.3±104.68*
5-10	240.0±8.20	95.2±3.42	40.4±4.11	24.0±0.44	13.9±0.74	37.8±0.53	5.48±0.29	1668.3±72.50
10-15	251.3±7.04	92.7±2.39	36.8±2.45	22.4±0.72	14.8±0.82	37.2±0.58	5.10±0.30	1560.0±51.06
15-20	248.0±8.82	93.3±2.98	38.0±3.21	22.0±0.73	14.6±0.85	36.6±0.76	5.20±0.32	1558.3±72.77
20-25	244.0±7.66	93.7±2.91	38.3±3.42	21.7±0.75	14.3±0.88	36.0±0.99	5.30±0.35	1540.0±79.12
25-30	242.7±6.59	93.2±2.21	37.6±2.40	21.3±0.94	13.8±0.86	35.1±1.34	5.50±0.37	1526.7±70.03

Values are mean \pm SEM from six reserpinized rats. Experiments were carried out under 10^{-6} M propranolol. Significant changes from control values were tested with Duncan's multiple range test (#=p<0.05, ##=p<0.01 and ###=p>0.001). Other legends are as in previous tables.

減少 및 灌狀血管抵抗의 增加를 가져왔으나 그 정도는 對照實驗에 비해 強化되었음을 볼 수 있었다.

III. α -adrenergic 遮斷藥의 影響

a. Prazosin이 phenylephrine 및 clonidine 效果에 미치는 影響

PE 및 clonidine의 效果를 選擇的 α -adrenoceptor 遮斷藥인 prazosin存在下에서 觀察하였다. 이때 使用한 $1\mu\text{M}$ prazosin 그 自體는 心機能 全般에 걸쳐 별다

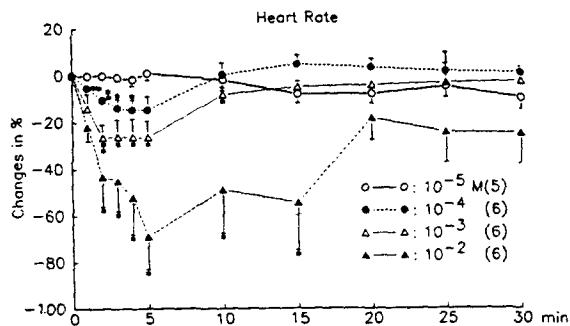


Fig. 5. Effect of clonidine on heart rate in the isolated working heart from reserpinized rats. Experiments were carried out under 10^{-6} M propranolol. Mean decreases from the values of control periods and one standard error are depicted. Numerals in parentheses are the number of experiments. The asterisks indicate the significant differences from the control period (*p<0.05, **=0.01 and ***=p<0.001).

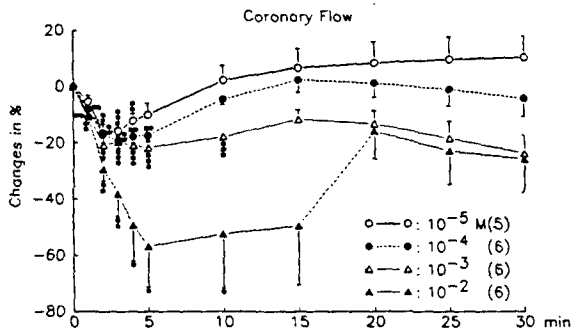


Fig. 6. Effect of clonidine on the coronary flow in the isolated working heart of reserpinized rat. Legends are as in Fig. 5.

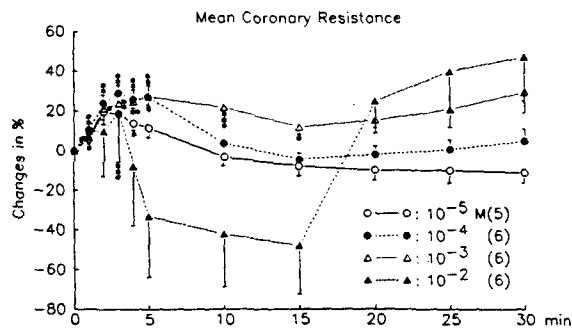


Fig. 7. Effect of clonidine on the mean coronary resistance in the isolated working rat heart. Legends are as in Fig. 5.

큰 영향을 나타내지 않는 양이었으며, prazosin은 實驗始作時 부터 灌流液에 含有시켰다. 冠灌流量 및 冠狀血管 抵抗 增加에 대한 prazosin下의 PE效果를 綜合하여 보면(Fig. 8), PE에 의한 用量에 比例한 冠灌流量의 減少 및 冠狀血管抵抗의 增加가 prazosin에 의하여 完全히 遮斷되었으며 用量反應 曲線이 右側으로 移動됨을 볼 수 있었다. Prazosin 1 μ M 前處理에 의하여 clonidine의 效果는 전혀 影響을 받지 않았다.

b. Clonidine 效果에 미치는 yohimbine의 影響

Clonidine의 心機能에 미치는 效果를 α_2 -adrenoceptor 選擇의 遮斷藥인 yohimbine 下에서 觀察하였다. 이때 使用한 10⁻⁶ M yohimbine은 그 自體로 心機能 全般에 별 影響을 미치지 않는 양이었다. Yohimbine 역시 實驗始作時 부터 灌流液에 含有시켰다. Clonidine 10⁻⁴ M, 10⁻³ M의 yohimbine 下에서의 效果를 Fig. 9,10에 綜合하였다. 여기에서 알 수 있듯이 10⁻⁴ M clonidine에 의한 冠灌流量 減少 및 冠狀血管 抵抗 增加는 yohimbine에 의하여 遮斷된 效果가 뚜렷하나, 大量 即 10⁻³ M clonidine의 效果 中 藥物投與 期間 동안(5分間)의 效果는 yohimbine에 의하여 遮斷되지 못함을 알 수 있었고 그 이후 持續的으로 나타나는 效果는 yohimbine에 의하여 統計的으로 有意하게 遮斷됨을 알 수 있었다.

c. 電氣刺戟中의 clonidine 效果에 미치는 rawoulsine의 影響

한편 電氣刺戟으로 心搏數를 一定하게 維持하였을 때에도 clonidine에 의해 冠灌流 減少 및 冠狀血管 抵抗의 增加가 일어남으로, 이 또한 α_2 -adrenoceptor를 通하여 일어나는 지를 確認하기 위하여 그 自體 效果

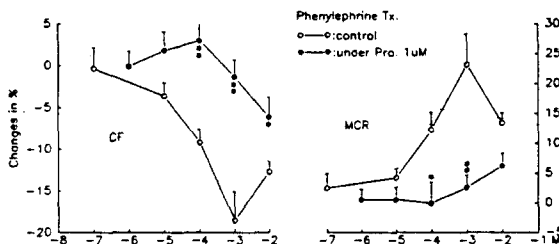


Fig. 8. Influence of prazosin(Pra.) upon the effects of phenylephrine(control) on the coronary flow(CF) and mean coronary resistance(MCR) in isolated working heart. Data are represented as mean \pm SEM (n=5-6). The asterisks indicate significant differences (*= p <0.05 and **= p <0.01).

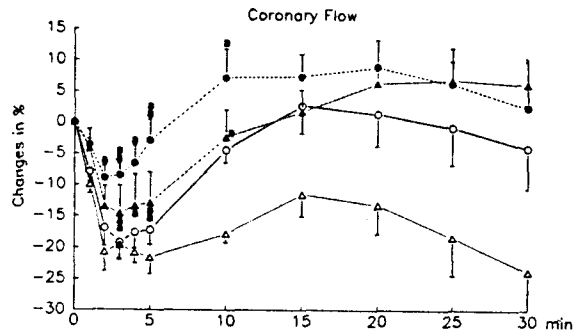


Fig. 9. Influence of yohimbine(Yoh)upon the effects of clonidine(Clo) in isolated working heart of reserpinized rat. Data are represented as mean \pm SEM (\circ : Clo 10⁻⁴ M(5), \bullet : Yoh 10⁻⁶ M+Clo 10⁻⁴ M(6), \blacktriangle : Clo 10⁻³ M(6), \blacktriangle : Yoh 10⁻⁶ M+Clo 10⁻³ M (6). Asterisks indicate the significant differences between corresponding values of both groups(α = p <0.05, $\alpha\alpha$ = p <0.01 and $\alpha\alpha\alpha$ = p <0.001).

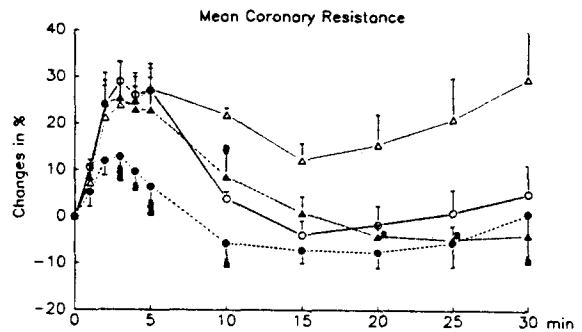


Fig. 10. Influence of yohimbine upon the effects of clonidine. Legends are as in Fig. 9.

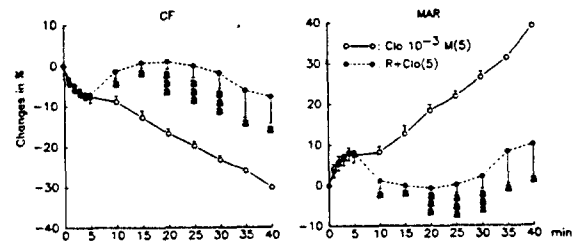


Fig. 11. Influence of rawoulsine(R)upon the effects of clonidine(Clo) on the coronary flow(CF) and mean coronary resistance (MCR) in the electric paced hearts. In the pare-ntheses are the number of experiments. Legends are as in Fig. 9.

가 큰 卽 藥物投與 期間 동안의 效果가 yohimine에 의하여 遮斷되지 않는 $10^{-3}M$ clonidine을 電氣刺戟 中에 投與하여 그 效果가 또다른 α_2 -adrenoceptor 遮斷劑이며 그 遮斷效果가 yohimbine보다 4배 더 強하다고 알려진 rawoulsine에 의해서 遮斷되는지를 觀察하였다(Fig. 11). 電氣刺戟中 $10^{-3} M$ clonidine에 의한 冠灌流 減少 및 冠狀血管抵抗의 增加는 뚜렷하였으며 이 效果 역시 yohimbine에서와 마찬가지로 첫 5分 동안의 效果는 rawoulsine에 의하여 影響을 받지 않았으나 그 以後의 效果는 完全히 遮斷되었다.

考 察

本 研究의 結果, phenylephrine(PE)은 投與 增量에 比例한 冠灌流量의 減少 및 冠狀血管 抵抗의 增加를 招來하였으며, 이러한 效果는 prazosin에 의하여 遮斷되었다. Methoxamine(MTX) 역시 冠灌流의 減少 및 冠狀血管 抵抗의 增加를 나타내었다. Clonidine은 藥物投與量 增加에 比例한 心搏數 減少, 冠灌流量의 減少 및 冠狀血管 抵抗의 增加를 招來하였으며, 이러한 效果는 yohimbin에 의하여 抑制됨을 볼 수 있었다. 電氣刺戟으로 心搏數를 一定하게 維持시켰을 때도 clonidine은 冠灌流量의 減少 및 冠狀血管 抵抗의 增加는 그대로 出現하였으며 이 效果는 prazosin에 의해 影響받지 않고 rawoulsine에 의해 遮斷됨을 볼 수 있었다.

冠狀血流에 미치는 交感神經系의 直接的인 調節作用에 관하여는 오래전부터 研究가 進行³¹⁾되어 왔으나, 그 確實한 機轉에 관하여는 아직도 論難의 餘地가 많다. 그 理由로는 冠灌流量은 1) 動脈壓 2) 心搏數 3) 心筋內의 酸素分壓 4) 心臟의 收縮期 中에 일어나는 冠狀血管에 대한 心筋 收縮時의 壓力等 여러가지 要因들에 의한 複合的인 影響을 받기 때문에, 實驗方法의 差 또는 實驗動物 等의 特性에 따라 그 效果를 分析하는데 見解가 달라질 수 있기 때문이다.

本 實驗에서는 注入液의 壓力(pre-load)은 一定하고, 大動脈 搏出量은 80cm H₂O를 이겨내는 標本만을 試驗하였기 때문에 動脈壓(after-load)도 一定하다할 수 있다. 또한 心搏動이 매우 빨라서 心筋 收縮期에도 冠狀血管으로 血液의 流入이 停止될 수 없을 것으로 생각되어 動脈壓이나 收縮期에 일어나는 冠狀血管에 대한 收縮期 壓力의 變動에 의한 影響은 排除할 수 있

다.

冠灌流에 미치는 心搏數의 影響을 살펴보면 PE 및 MTX에 의한 冠灌流量의 減少가 있었으나 이때 心搏數의 變動이 없었기 때문에 PE나 MTX에 의한 冠灌流量의 減少는 冠狀血管 抵抗의 增加에 起因하는 것으로 생각되며 이는 다른 研究者들의 報告^{7,18,20,25)}와도 一致한다. 그러나 clonidine은 PE나 MTX와는 달리 reserpine 前處理를 하였음에도 불구하고 冠灌流量 減少 및 冠狀血管 抵抗의 增加와 同伴하여 心搏減少를 뚜렷하게 나타내었으므로 clonidine에 의한 冠灌流量 減少에는 心搏數 影響을 미칠 수 있으리라 생각되나, 電氣刺戟으로 心搏數를 一定하게 維持시켰을 때에도 역시 clonidine에 의해 冠狀血管 抵抗의 增加와 아울러 冠灌流量의 減少가 일어난은 冠灌流量의 減少가 心搏數 減少에 起因하지만은 않으며 clonidine에 의한 直接的인 冠狀血管 收縮에 의한 것으로 생각되고 이는 Kakihana 等³²⁾의 개에서 clonidine을 靜脈內 注射하였을 때 冠狀血管 抵抗의 增加를 일으킨다는 報告와 一致한다. 다음 冠灌流量은 心搏數와 心筋의 張力³³⁾ 및 心筋의 收縮力³⁴⁾에 密接한 影響을 받고 있는바 本實驗에서의 clonidine에 의한 冠灌流量의 減少는 clonidine에 의한 心搏數 減少에 起因한 心筋酸素代謝의 減少에 의한 冠狀血管 收縮에 의한 것이라고도 생각되며 이는 cholinergic agonist들을 使用하여 實驗한 心搏數 減少와 冠灌流量의 減少에 대한 Nutinen 等³⁵⁾의 報告와 類似하나 앞으로 더 追求해야할 問題이다.

心外膜 冠狀血管의 攣縮(epicardial coronary spasm)이 異型 狹心症(variant angina)에서 뿐만 아니라, 休止期(resting) 또는 勞作性(exertional) 狹心症 및 一部 急性 心筋梗塞 等의 病因에 重要な 役割을 하리라는 것은 널리 알려진 事實이나³⁶⁻³⁸⁾ 冠狀血管 收縮을 일으키는 正確한 機轉에 관하여는 그 全貌가 밝혀지고 있지않다. 體液中 및 神經細胞末端에서 遊離된 norepinephrine은 心筋의 β -adrenoceptor 뿐만 아니라 coronary α_1 및 α_2 -adrenoceptor를 活性化시켜 心筋의 虛血이 없을 때라도 α -receptor의 興奮과 直接的인 交感神經의 刺戟은 冠狀血管 收縮을 일으키는 것으로 알려져 있다^{20,23)}. 그리고 이러한 α -adrenergic tone은 局所的인 大謝機轉에 의해 惹起된 冠狀血管 擴張과 拮抗한다⁴⁾. 心筋虛血時에는 冠狀血管이 充分히 擴張된다는 것은 이미 알려진 事實이나 最近, 心筋 협착을 일으킨 개에서 交感神經 刺戟에 의한 冠狀血管 收縮이

局所的인代謝性血管弛緩을克服하여心筋虛血을 더욱惡化시킬수 있다하였으며 이收縮은adrenergic α_2 -受容體에 의해媒介된다는報告³⁰⁾가 있다.潛在的으로해로운 이機轉은심한心筋虛血시活動的이라하였다. 그러나 이러한直接的인交感神經의刺戟은生理的인自律神經系와의活性和 비슷하지 않을지도 모르나冠狀血管收縮에自律神經系가關與할수 있으리라는 것은推測할수 있으며 따라서冠狀血管收縮에 대한自律神經系의關與機轉에關한研究가 많이進行되어왔다.即,冠狀動脈收縮에는 α_1 -adrenoceptor가重要하다²⁰⁻²²⁾. 또는 α_2 -adrenoceptor가 더強力하다는說^{23,24)} 및 또는 α_1 -및 α_2 -adrenoceptor가 다關與한다^{25, 26)}는說等 아직 그結果가一致하지는 않다. 특히 α_2 -adrenoceptor가關與한다고結論을 내린研究中에는agonist들의效果分析보다는遮斷藥의效果만을分析하여結論을 내린報告들이 많이 있어冠狀血管收縮의機轉에는아직도論難의여지가 많이 남아있다.本實驗의結果選擇的 α_1 -및 α_2 -adrenoceptor遮斷藥인prazosin 및yohimbine에 의하여PE 및clonidine의效果가遮斷되었으므로白鼠冠狀血管에 α_1 -및 α_2 -adrenoceptor의存在는確實하다 할수 있으며 이러한 α_1 - 및 α_2 -受容體를 통하여冠狀血管收縮이 일어난다 할수 있다. 그러나 어떤type의受容體가 더욱 강력하게收縮에關與하는나는本實驗의研究結果만으로는正確히알수 없으나동량의PE 및clonidine의效果를分析(Table 및 Fig. 참조)하여 보면clonidine의效果가 더욱 크고 그作用期間이PE은投藥中斷後 즉시回復되는 반면에clonidine은 그效果가 더욱持續的인 점으로 보아 post synaptic α_2 -receptor가 더強力하게冠狀血管收縮을 일으킨다 할수 있겠다.

한편 이러한冠狀血管收縮이異型狹心症의病因이 될수 있다는 것은確實하다 할수 있어 Winniford 等⁴⁰⁾은 α_1 -選擇的遮斷藥인 prazosin을治療에應用하였으나失敗하였고 그뒤 Chen 等²⁶⁾은 NE等에 의해誘導된冠狀血管收縮이 prazosin에 의해遮斷되지 않고 yohimbine에 의해遮斷되는 점으로 보아 NE 및 epinephrine에 의해 일어나는收縮은 주로 post synaptic α_2 -adrenoceptor가重要하다하여異型狹心症의原因에는 α_2 -adrenoceptor가重要하다하였으며 Kakhana 等³²⁾도 clonidine 效果를觀察하여 pre α_2 -와 post α_2 -adrenoceptor가異型狹心症의病因에重要的役割

을 할것이라 하였다. 그러나最近異型狹心症의病因에 중요한役割을 하고 있다는報告들⁴¹⁻⁴³⁾도 있어異型狹心症의病因을 밝히는데 있어交感神經系만을追求함은不足하다할수 있어 앞으로冠狀血管收縮에關한研究는 더욱 다각도로 이루어져야 할 것으로思料된다.

結 論

本研究에서는摘出된쥐心臟에서의心臟效果, 특히冠狀血管收縮에 미치는 post α_1 - 및 α_2 -adrenergic 受容體의役割을追求하고자 하였다.

Propranolol 存在下에서選擇的 α_1 -adrenoceptor 興奮藥인 phenylephrine(PE)은藥物投與用量(10^{-7} - 10^{-2} M) 增大에比例하여冠灌流量的減少 및冠狀血管抵抗의增加를招來하였으며, 이때心搏數는 별다른變動이 없었다. methoxamine 역시冠灌流量減少 및冠狀血管抵抗의增加를 나타내었으나, 그크기는PE에 의한 것보다 적었다. PE의效果는選擇的 α_1 -adrenoceptor 遮斷藥인 $1\mu\text{M}$ prazosin에 의하여完全히消失되었다. Reserpine 前處理 쥐의摘出心臟에서 propranolol 存在下의 clonidine은藥物用量 增大에比例한(10^{-5} - 10^{-2} M) 冠灌流量的減少 및冠狀血管抵抗의增加를招來하였으나 이러한效果는 prazosin에 의해影響을 받지 않았으며選擇的 α_2 -adrenoceptor 遮斷藥인 yohimbine에 의하여抑制되었다. 그러나大量의 clonidine(10^{-3})에 의한心搏數減少는 yohimbine에 의하여 뚜렷하게抑制되지는 않았다. 한편電氣刺戟(3-6pps, 0.5ms, 20V)下에서도 clonidine은冠狀流量減少 및冠狀血管抵抗의增加를 나타내었고 이또한 α_2 -adrenoceptor 遮斷藥인 rawoulscline에 의해抑制됨을 볼수 있었다.

以上の實驗結果로摘出心臟에서의冠狀血管收縮은 α -adrenoceptor의直接的인興奮에 의한收縮에 기인하고, post synaptic α_2 -adrenoceptor 둘다關與함을 가르킨다. 이러한成績은異型狹心症에關한病態生理學的研究 및治療藥의開發에 이模型이有用할 것으로思料된다.

REFERENCES

1. Ruibio, R. and R.M. Berne : *Regulation of coronary blood flow. Prog. Cardiovasc. Dis.* 18 : 105-122, 1975
2. Berne, R.M. : *The role of adenosine in the regulation of coronary blood flow. Circ. Res.* 47 : 807-813, 1980.
3. Shipley, R.E. and D.E. Gregg : *The cardiac response to stimulation of the stellate ganglia and cardiac nerves. Am J. Physiol.* 143 : 396-401, 1945
4. Feigl, E.O. : *Control of myocardial oxygen tension by sympathetic coronary vasoconstriction in the dog. Circ. Res.* 37 : 88-95, 1975
5. Mohrman, D.E. and E.O. Feigl : *Competition between sympathetic vasoconstriction and metabolic vasodilation in the canine coronary circulation. Circ. Res.* 42 : 79-86, 1978
6. Woollard, H.H. : *Innervation of the heart. J. Anat.* 60 : p345, 1926
7. Denn, M.J. and H.L. Stone : *Autonomic innervation of dog coronary arteries. Am. J. Physiol.* 41 : 30-35, 1976
8. Bond, R.F., E.S. Manning, N.M. Gonzalez, R. R. Gonzales and V.E. Becker : *Myocardial and skeletal muscle responses to hemorrhage and shock during alpha-adrenergic blockade. Am. J. Physiol.* 225 : 247-252, 1973
9. Carlson, E.L., S.L. Selinger, J. Utley and J.I. E. Hoffman : *Intramyocardial distribution of blood flow in hemorrhagic shock in anesthetized dogs. Am. J. Physiol.* 230 : 41-49, 1976
10. Birinyi, F., D.B. Hackel and E. Mikat : *Effects of alpha-adrenergic blockade on coronary blood flow of dogs in hemorrhagic shock. Circ. Shock* 4 : 297-303, 1977
11. Jones, C.E., T.A. Farrell and R. Ator : *Evidence that a coronary alpha-adrenergic tone limits myocardial blood flow and oxygenation in acute hemorrhagic hypotension. Circ. Shock* 11 : 7329, 1983
12. Buffington, C.W. and E.O. Feigl : *Adrenergic vasoconstriction in the presence of coronary stenosis in the dog. Circ. Res.* 48 : 416, 1981
13. Murray, P.A. and S.F. Vatner : *Alphaadrenoceptor attenuation of the coronary vascular response to severe exercise in conscious dog. Circ. Res.* 45 : 654-660, 1979
14. Kobinger, W. and L. Pichler : *alpha- and alpha-adrenoceptor subtypes: selectivity of various agonists and relative distribution of receptors as determined in rats. Eur. J. Pharmacol.* 73 : 313-321, 1981
15. Rimelè, T.J., T.W. Rooke, L.L. Aarhus and P.M. Vanhoute : *Alpha-1 adrenoceptors and calcium in isolated canine coronary arteries. J. Pharmacol. Exp. Ther.* 266 : 668-672, 1983
16. van Zwieten, P.A., J.C.A. van Meel and P.B. M.W.M. Timmermans : *Functional interaction between calcium antagonists and the vasoconstriction induced by the stimulation of postsynaptic alpha-adrenoceptors. Circ. Res.* 52(suppl 1) : 77-80, 1983
17. Pitt, B., E.C. Elliot and D.E. Gregg : *Adrenergic receptor activity in the coronary arteries of the unanesthetized dog. Circ. Res.* 21 : 75-84, 1967
18. Williams, D.O. and A.S. Most : *Responsiveness of the coronary circulation to brief sustained alpha-adrenergic stimulation. Circulation* 63 : 11-6, 1981
19. Bassenge, E. and J. Holtz : *Sympathetic control of coronary circulation, In : Catecholamines and the heart. ed. W. Delus, E. Gerlach, H. Grobecker and W. Kubler (Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York) p39, 1981*
20. Heuch, G., A. Deussen, J. Schipke and V. Thamer : *alpha- and alpha-adrenoceptor-mediated vasoconstriction of large and small canine coronary arteries in vivo. J. Cardiovas. Pharmacol.* 6 : 961-968, 1984
21. Isabella, Y.S., Liang and C.E. Jones : *alpha-adrenergic blockade increases coronary blood flow during coronary hypoperfusion. Am. J. Physiol.* 249 : 1070-1077, 1985
22. Jones, C.E., I.Y.S. Liang and M.R. Mantsby : *Isabella and M.E. Michael : Cardiac and coronary effects of prazosin and phenoxybenzamine during coronary hypotension. J. Pharma. and Exp.*, 236 : 204-212, 1986
23. Holtz, J.M. Saeed, O. Sommer and E. Bassene : *Norepinephrine constricts the canine coronary bed via postsynaptic alpha-adrenoceptors. Eur. J. Pharmacol.* 82 : 199-202, 1982

24. Seitelberger, R., B.D. Guth, G. Heusch, J.D. Lee, K. katayama and J. Ross Jr : *Intracoronary α -adrenergic receptor blockade attenuates ischemia in conscious dogs during exercise*, *Circ. Res.* 62 : 436 - 442, 1988
25. Dai X.Z., E. Sublett, P. Lindstrom, J.S. Schwartz, D.C. Homans and R.J. Bache : *Coronary flow during exercise after selective α_1 - and α_2 -adrenergic blockade*. *Heart Circ. Physiol.* 25 : 1148 - 1155, 1989
26. Chen, D.G., X. Dai, B.G. Zimmerman and R.J. Bache : *Postsynaptic α_1 - and α_2 -adrenergic mechanisms in coronary vasoconstriction*. *J. Cardiovascular Pharmacology*, 11 : 61 - 67, 1988
27. Tyers, G.F.O., E.H. Williams, H.C. Hughes and G.J. Todd : *Effects of perfusate temperature on myocardial protection from ischemia*, *J. Thorac Cardiovasc. Surg.* 73 : 66 - 77, 1977
28. 최종범, 송인기, 이재성, 최순호 : *흰쥐의 적출된 작업성 심장에서 허혈성 심정지시 국소 냉각법이 심근 보호에 미치는 영향. 대한 흉부외과학회지* 21 : 231 - 239, 1988
29. Tallarida, R.J. and R.B. Murray : *Manual of pharmacologic calculations with computer programs*. 2nd ed. Springer-Verlag, 1987
30. Snedecor, G.W. and W.G. Cochran : *Statistical Methods*. 1st ed. Little, Brown and Company Boston, 1974
31. Panum, P.L. : *Untersuchungen über einige von den Momenten, welche Einfluss auf die Herzbewegungen, auf den Stillstand und auf das Aufhören des Contraktionsvermörgens des Herzens haben*. *Schmidt's Jahrb.* 100 : 148 - 158, 1958
32. Kakihana, M., S. Ohtsuka, Y. Sughishita and I. Ito : *Significant role of alpha-2 adrenoceptors in coronary spasm*. *Jpn. Circ. J.* 49 : 108 - 118, 1985
33. Sarnoff, S.J., E. Braunwald, G.H. Welch, R. B. Case, W.N. Stainsby and R. macruz : *Hemodynamic determinants of oxygen consumption of the heart with special reference to the tension-time index*. *Am. J. Physiol.* 192 : 148 - 156, 1956
34. Clancy, R.L., T.P. Graham, Jr., W.J. Powell, Jr. and J.P. Gilmore : *Inotropic augmentation of myocardial oxygen consumption*. *Am. J. Physiol.* 212 : 1055 - 1061, 1967
35. Nutinen, R.A., C. Herrott, R. Garippa and G. Hirkaler : *Mechanisms of methacholine-induced coronary vasospasm in an experimental model of variant angina in the anesthetized rat*. *Life Sci.* 35 : 1877 - 1884, 1984
36. Hillis, L.D. and E. Braunwald : *Coronary artery spasm*. *N. Engl. J. Med.* 299 : 695 - 702, 1978
37. Maseri, A., S. Severi, M. Denes, A.L. Abbate, M. Marzilli, A. Ballestra, O. Parodi, A. Biagini, A. Distante and A. Pesola : *"Variant angina" : One aspect of a continuous spectrum of vasospastic myocardial ischemia*. *Am. J. Cardiol.* 42 : 1019 - 1028, 1978
38. Yasue, H., S. Omote, A. Takizawa and M. Nagao : *coronary arterial spasm in ischemic heart disease and its pathogenesis*. *Circ. Res.* 52(suppl. 1) : 147 - 152, 1983
39. Heusch, G., A. Deussen : *The effects of cardiac sympathetic nerve stimulation on perfusion of stenotic coronary arteries in the dog*. *Circ. Res.* 53 : 8 - 15, 1983
40. Winniford, M.D., N. Filipchuk, and D. Hillis : *alpha-adrenergic blockade for variant angina : along term, double-blind, randomized trial*, *Circulation* 67 : 1185 - 1188, 1983
41. Endo, M., K. Hirose, N. Kaneko, K. Hase, Y. Yuosue and S. Konno : *Coronary arteriogram and left ventriculogram during angina attack induced by methacholine*. *N. Engl. J. Med.* 294 : 252 - 269, 1976
42. Yasue, H.Y., N. Horio, H. Nakamura, N. Fujii, R. Imoto, K. Sonada, K. Kugiyama, Y. Obata, Morikami and T. Kimura : *Induction of coronary artery spasm by acetylcholine in patients with variant angina : possible of the parasympathetic nervous system in the pathogenesis of coronary artery spasm*. *Circulation* 74 : 955 - 963, 1986
43. Kugiyama, K., H. Yasue, Y. Horio, Y. Morikami, H. Fujii and T. Kimura : *Possible role of parasympathetic nervous system in the pathogenesis of exercise-induced coronary artery spasm*. *Am. Heart J.* September 605 - 606, 1986