

흰쥐의 대동맥 이완반응에 대한 재수축효과

김진학 · 신창열 · 박조영 · 민영실 · 최경범 · 염지현 · 이남인 · 김학림 · 손의등* · 허인회
중앙대학교 약학대학 약물학교실

The Reversible Contraction on Relaxation of Isolated Rat Aorta

Jin Hak KIM, Chang Yell SHIN, Jo Young PARK, Young Sil MIN, Kyeong Bum CHOI, Ji Hyoun YOUM,
Nam In LEE, Hak Rim KIM, Uy Dong SOHN* and In Hoi HUH

Dept of Pharmacology, College of Pharmacy, Chung Ang University, Seoul 156-756, Korea

(Received February 1, 2000; accepted April 8, 2000)

Abstract – TEA, glibenclamide, L-NAME and SKF 525A-induced reversible contraction were investigated using acetylcholine, sodium nitroprusside (SNP) and pinacidil in rat abdominal and thoracic aorta. Acetylcholine, SNP or pinacidil produced in a dose dependent manner relaxation on phenylephrine-induced contraction in rat aorta. TEA, SKF 525A, and L-NAME produced reversible contractions on acetylcholine-induced relaxation, but not on SNP- or pinacidil-induced relaxation. Glibenclamide significantly produced reversible contraction on pinacidil-induced relaxation. The reversible effect of TEA on the acetylcholine-induced relaxation was reduced by SKF 525A. These results indicate that the acetylcholine-induced relaxation may be mediated by NO, cytochrome P₄₅₀-dependent epoxygenase pathway, or Ca²⁺ activated K⁺ channel, and the pinacidil-induced relaxation may be mediated by ATP-sensitive K⁺ channel.

Key words □ SKF 525A, TEA, SNP, pinacidil, glibenclamide, L-NAME, EETs

혈관 이완 작용을 나타내며 내피에서 유리되는 것으로는 nitric oxide(NO) (Kelly와 Smith, 1996)와 prostaglandin I₂ (PGI₂) 및 endothelium derived hyperpolarizing factor (EDHF)가 있으며, 수축작용을 나타내는 주 물질로는 Thromboxane A₂(TXA₂), endothelin 등이 있다. 유리된 NO와 sodium nitroprusside 등의 혈관확장제는 혈관 평활근 내에 존재하는 soluble guanylate cyclase를 활성화시키며 (Rapoport, 1986), atrial natriuretic factor(ANF) 및 adenosine은 세포표면의 receptor를 경유하는 guanylate cyclase의 particulate form을 활성화시켜 GTP를 cGMP로 변형시키며, 이는 cGMP dependent kinase를 활성화시킨다. cGMP dependent protein kinase는 여러 단백질을 인산화시키는데, 그 중에도 특히 평활근 이완을 담당하는 myosin light chain kinase(MLCK)을 인산화 하거나, 세포내의 Ca²⁺ 농도를 낮추는 기전을 통한 이완작용을 하는 것으로 알려져 있다(Williams 등, 1988).

또한 내피세포내의 세포질 Ca²⁺농도 증가에 의한 cNOS의 활성화 및 cPLA₂가 활성화되어 arachidonic acid(AA)의 생성을 증가시키기도 한다(Makita 등, 1996). 생성된 AA는 여러 경로를 통해 prostaglandin(PG), throm-

boxane(TX), epoxyeicosatrienoic acid(EET), leuko-triene(LT), lipoxin(LX), hydroperoxy acid(HPETE)로 대사된다(Cornwell와 Lincoln, 1989; Mombouli 등, 1997).

NO는 흰쥐의 장간막 동맥에서 과분극을 유발하고(Weintraub 등, 1995), 이는 glibenclamide에 의해 억제되므로, K_{ATP} channel이 관여한다고 보고 되었다. 또한 돼지(Nagao와 Vanhoutte, 1992; Mombouli 등, 1996), 개(Pfister 등, 1996), 흰쥐(Chen와 Suzuki, 1989; Zygmunt 등, 1995) 혈관에서 K⁺ channel에 활성을 보이며(Rb⁺, K⁺ efflux), 과분극을 유발시키는 물질로, arachidonic acid가 cytochrome P₄₅₀ dependent epoxygenase(monooxygenase)에 의해 대사되어 생성되는 epoxyeicosatrienoic acids가 주목되고 있다(Campbell 등, 1996). Epoxygenase는 NADPH와 O₂를 필요로 하며, 대사물인 EETs는 4가지 구조 이성질체가 존재하는데, 각각이 5, 6-EET, 8, 9-EET, 11, 12-EET, 14, 15-EET이다. 4가지 이성질체 중에서도 흰쥐의 신장의 경우 microsomal arachi-donic acid epoxygenase에 의한 생산은 특히 11,12-EET를 주 대사물로 한다(Archer 등, 1996; Zygmunt 등, 1996).

NO와 EETs가 K⁺ channel에 관여한다는 사실을 토대로 하여, 본 연구에서는, Ca²⁺ activated K⁺ channel blocker인 TEA(tetraethylammonium chloride)와 ATP sensitive K⁺ channel blocker인 glibenclamide를 사용하여 간접적으

*To whom correspondence should be addressed.

로 Acetylcholine-, SNP-, and pinacidil-induced relaxations에 대한 K^+ channel연관 여부를 혈관 이완 반응의 변화를 통해 알아본다. 즉 phenylephrine으로 수축시킨 후, 이완제로 acetylcholine, SNP, pinacidil을 가하였고 이완이 되었을 시 SKF 525A, TEA, glibenclamide, L-NAME을 처리하여 재수축에 미치는 영향을 검토하였다.

실험방법

복부대동맥 및 흉곽대동맥 적출

실험동물은 Sprague-Dawley계 흰쥐를 사용하였다. 항온 항습 ($20 \pm 1^\circ\text{C}$, $55 \pm 3\%$)의 조건 하에서 사육하였으며, 물과 사료는 제한하지 않았다. 실험 시 흰쥐의 체중은 200-300 g이었다. 흰쥐를 thiopental 마취 하에 개복하여 오른쪽 신장 뒤에 보이는 복부대동맥을 찾은 후 적출하기 쉽게 주위조직을 제거하고, 개흉하여 대정맥을 절단하여 사혈시킨 후 즉시 복부대동맥을 적출하였다. 흉곽대동맥은 하대정맥 절단으로 사혈 시키고, 즉시 개흉하여 심장과 함께 흉곽 대동맥을 절단하였다.

적출한 혈관은 37°C 로 유지된 Krebs용액 속에서 산소를 공급하며, 지방 조직과 결합 조직을 제거하여 길이 2-4 mm 정도의 ring으로 절단하였다. 이 ring을 28G needle hook에 걸어 organ bath내의 Krebs용액(단위 mM: NaCl 118, KCl 4.8, CaCl_2 2.5, MgSO_4 1.2, NaHCO_3 24, KH_2PO_4 1.2, glucose 11)에서 hook에 걸어 organ bath내의 Krebs 용액 속에서 hook holder와 force displacement transducer의 고리사이에 현수하고 organ bath내에서는 Krebs용액을 15 ml씩 채운다. Organ bath 외벽의 water jacket을 통해 circulator로 37°C 를 유지시켰으며, medical oxygen ($95\% \text{O}_2 + 5\% \text{CO}_2$)을 공급 시켰다.

수축, 이완 측정

Arterial ring에 2 g의 resting tension이 주어지도록 baseline을 조정하고, 2 cm/1 g tension으로 반응하도록 sensitivity를 조정한다. 다음, 15분마다 Krebs용액으로 세척하면서 60분 동안 평형 시켰다. 평형을 이룬 ring을 10^{-7} M phenylephrine으로 수축시킨 후, 이완제로 acetylcholine, SNP, pinacidil을 가하였다. 이완이 되었을 시 SKF 525A, TEA, glibenclamide, L-NAME을 처리하였고, 실험 결과는 force displacement transducer를 low-level D.C. pre-amplifier에 연결하여 isometric tension의 변화를 poly-graph로 기록하여 혈관의 수축, 이완 반응을 기록하였다.

시약

Acetylcholine·HCl은 (Merck, Rahway, USA)에서 제공되었으며, (R)-(-)-phenylephrine hydrochloride은 Aldrich

(St. Paul, USA)에서 제공되었다. 또한 sodium nitro-prusside, SKF 525A(proadifen), pinacidil, glibenclamide, tetraethylammonium chloride, N^G -nitro-L-arginine methyl ester 등은 Sigma(St. Louis, USA)에서 제공되었다.

통계처리

모든 실험결과는 평균치와 표준오차를 계산하였고, 각 군간의 차이는 Student *t*-test를 사용하여 *P*값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의성이 있다고 판정하였다.

실험결과

흰쥐의 복부 및 흉곽대동맥에서 SNP, Acetylcholine과 pinacidil의 이완 반응

예비실험결과 적출한 복부대동맥과 흉곽대동맥에서 phenylephrine수축에 의한 SNP, acetylcholine이나 pinacidil의 이완반응에 차이가 없었다. 이는 이미 보고된 기존의 결과를 재확인할 수 있었다. 적출한 복부대동맥이나 흉곽대동맥에 phenylephrine(10^{-7} M)으로 수축시켜 평행에 도달한 후 SNP(10^{-10} to 10^{-5} M), acetylcholine(10^{-10} to 10^{-5} M) 및 pinacidil(10^{-10} to 10^{-5} M)을 투여하여, Fig. 1와 같은 결과를 얻었다. SNP는 10^{-7} M, acetylcholine은 10^{-6} M 그리고 pinacidil은 10^{-5} M 농도에서 95%이상의 이완반응을 나타내었다.

Acetylcholine유도 이완반응에 대한 TEA, Glibenclamide, SKF 525A, L-NAME 후 처리의 영향

내피에서 유리되는 혈관이완 인자들의 생성 억제 및 그 작용부위에서의 억제를 통한 재수축 효과를 보고자

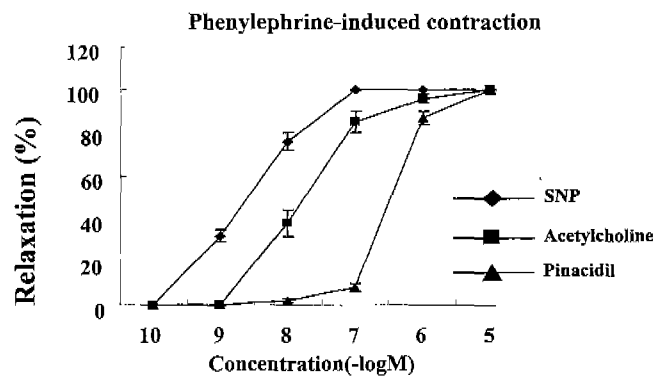


Fig. 1. Concentration-relaxation curve for SNP, acetylcholine and pinacidil on aorta. After being contracted with phenylephrine (10^{-7} M), rings were relaxed with SNP (10^{-10} to 10^{-5} M), acetylcholine (10^{-10} to 10^{-5} M) and pinacidil (10^{-10} to 10^{-5} M). Result is expressed as percentage of the phenylephrine induced-contraction. Each point represents the mean and vertical lines show SEM (n=6).

acetylcholine(10^{-6} M)을 투여한 후, 이완 반응이 안정된 후 TEA, glibenclamide, SKF 525A를 10분 이내에 가하였다. 그 뒤에 TEA(10^{-3} M), glibenclamide(10^{-5} M), SKF 525A(10^{-5} M) 및 L-NAME(3×10^{-5} M)을 가하여 재수축 반응을 관찰하였다(Fig. 2). TEA, SKF 525A, L-NAME는 유의성 있는 재수축 반응을 보였지만 glibenclamide는 영향을 주지 못했다.

SNP이완에 대한 TEA, Glibenclamide, SKF 525A, L-NAME 후 처치의 영향

Phenylephrine(10^{-7} M)로 수축시킨 후 SNP(10^{-7} M)로

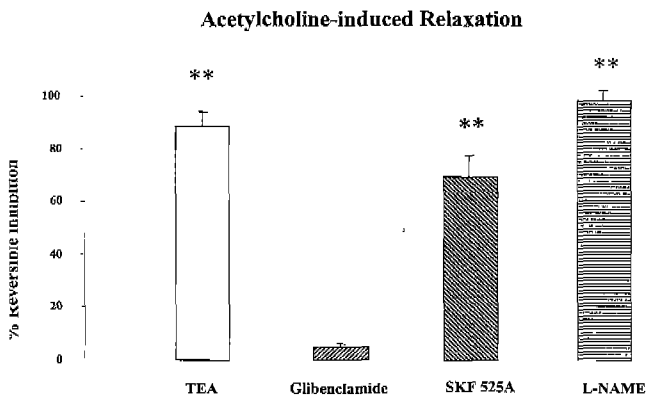


Fig. 2. Reversible inhibitory effects of TEA, glibenclamide, SKF 525A and L-NAME on the acetylcholine (10^{-6} M) induced relaxation. After being contracted with phenylephrine (10^{-7} M), rings were relaxed by acetylcholine and treated with Ca^{2+} activated K^+ channel blocker TEA (10^{-3} M), ATP sensitive K^+ channel blocker glibenclamide (10^{-5} M), epoxygenase inhibitor SKF 525A (10^{-5} M), NOS inhibitor L-NAME (3×10^{-5} M). Result is expressed as mean \pm SEM. ****** $P < 0.01$ vs. control (n=6).

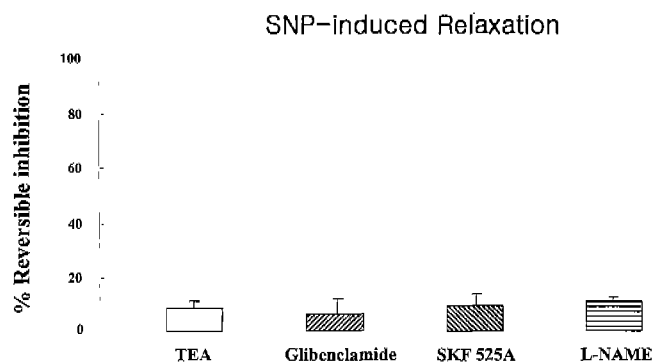


Fig. 3. Reversible inhibitory effects of TEA, glibenclamide, SKF 525A and L-NAME on the SNP (10^{-7} M) induced relaxation. After being contracted with phenylephrine (10^{-7} M), rings were relaxed with SNP and treated with Ca^{2+} activated K^+ channel blocker TEA (10^{-3} M), ATP sensitive K^+ channel blocker glibenclamide (10^{-5} M), epoxygenase inhibitor SKF 525A (10^{-5} M), NOS inhibitor L-NAME (3×10^{-5} M). Result is expressed as mean \pm SEM (n=6).

다시 이완시킨 후에, TEA(10^{-3} M), glibenclamide(10^{-5} M), SKF 525A(10^{-5} M) 및 L-NAME(3×10^{-5} M)을 가하여 재수축 반응이 나타나는 지를 관찰하였다. 그러나, 각 억제제는 SNP로 유발시킨 이완반응을 억제하지 못하였다(Fig. 3).

Pinacidil이완에 TEA, Glibenclamide, SKF 525A, L-NAME 후 처치가 유발한 재수축 반응

Phenylephrine (10^{-7} M)로 전 수축시킨 후 pinacidil (10^{-5} M)로 이완시켜서 재수축 반응의 유무를 관찰하였다(Fig. 4). Glibenclamide에 의해 거의 100% 재수축되었다. 반면 TEA, glibenclamide, SKF 525A 및 L-NAME에 의해서는 재수축반응이 나타나지 않았다.

K^+ channel blocker로 일으킨 재수축 반응에 대한 SKF 525A의 영향

Acetylcholine 및 pinacidil으로 이완시킨 혈관에서, K^+ channel blocker로 일으킨 재수축 반응에 cytochrome P_{450} dependent epoxygenase blocker인 SKF 525A가 어떠한 영향을 주는지를 관찰하였다(Fig. 5). 이완제로 acetylcholine을 사용한 경우 재수축 반응은 TEA경우 $86.03 \pm 4.51\%$ 에서 SKF 525A 전처리 후 $9.40 \pm 4.68\%$ 로 유의성 있는 감소를 보였다. 그러나 glibenclamide이 경우는 $1.3 \pm 0.65\%$ 에서 SKF 525A 전처리 후 $0.8 \pm 0.68\%$ 로 유의성이 없었다. Pinacidil로 이완시킨 경우는 TEA 및 glibenclamide이 각각 $0.1 \pm 0.09\%$, $100 \pm 2.78\%$ 에서, SKF 525A 전처리 후에 $0.02 \pm 1.03\%$, $85.25 \pm 4.16\%$ 으로 유의성이 없었다.

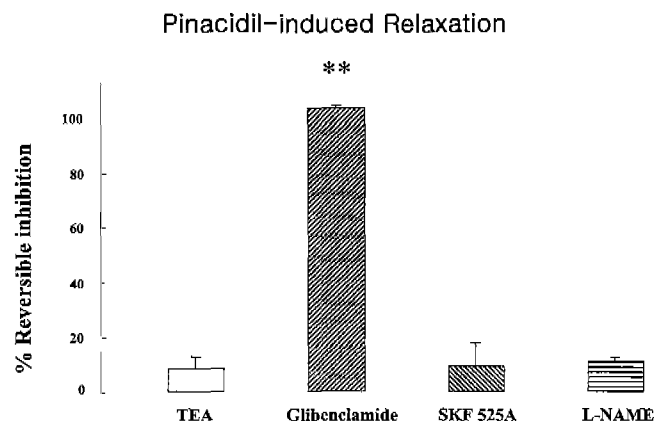


Fig. 4. Reversible inhibitory effects of TEA, glibenclamide, SKF 525A and L-NAME on the pinacidil (10^{-5} M) induced relaxation. After being contracted with phenylephrine (10^{-7} M), rings were relaxed with pinacidil and treated with Ca^{2+} activated K^+ channel blocker TEA (10^{-3} M), ATP sensitive K^+ channel blocker glibenclamide (10^{-5} M), epoxygenase inhibitor SKF 525A (10^{-5} M), NOS inhibitor L-NAME (3×10^{-5} M). Result is expressed as mean \pm SEM. ****** $P < 0.01$ vs. Control (n=6).

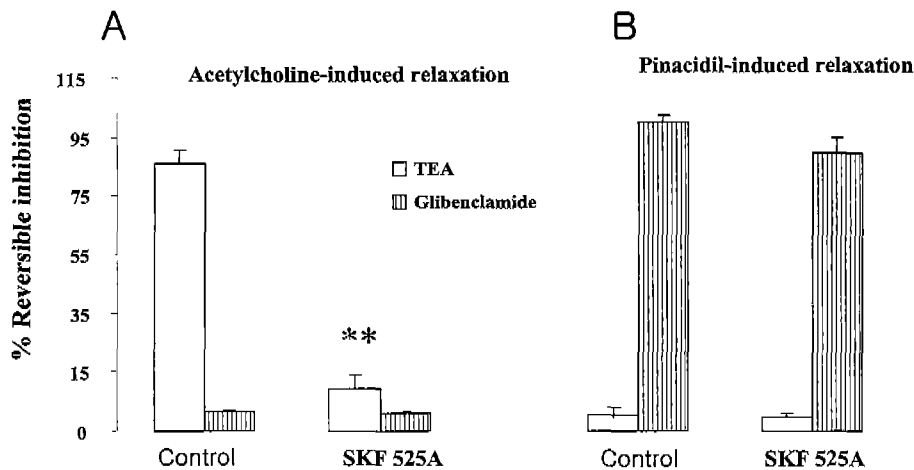


Fig. 5. Effects of SKF 525A on TEA and glibenclamide-induced reversible inhibition. Open column-TEA (10^{-3} M) induced reversible contraction. Solid column-glibenclamide (10^{-5} M) induced reversible contraction. After being contracted with phenylephrine (10^{-7} M), rings were relaxed acetylcholine and pinacidil (10^{-5} M). In presence of SKF 525A (10^{-7} M), being contracted with phenylephrine (10^{-7} M), rings were relaxed acetylcholine and pinacidil (10^{-5} M). Result is expressed as mean \pm SEM. ** $P < 0.01$ vs. open column of acetylcholine ($n=6$).

고 찰

Arachidonic acid에서 생성된 prostacyclin은 혈관 평활근의 수용체에 작용하여 adenylate cyclase를 활성화시키며, 그로 인해 cAMP생성을 증가 시킨다. 생성된 cAMP는 cAMP-dependent protein kinase를 매개로 하여 평활근 이완에 작용한다(Martin등, 1985; Graier등, 1996). NO와 prostacyclin이외에 물질로 EDHF가 연구되고 있는데 이는 전기 생리학적 연구(microelectrode, patch-clamp method)에 의하면 cholinomimetics를 처리한 경우, 세포막에서 과분극을 유발함으로써, EDRF와는 다른 factor 즉, endothelium derived hyperpolarizing factor(EDHF)라고 명명하였다(Martin등, 1985). Endothelium에서는 EDRF, prostaglandin I_2 이외의 물질로서 평활근의 막 전위에 관여하는 EDHF 물질이 존재하며, acetylcholine으로 유도된 hyperpolarization은 K^+ channel의 opening에 관여하는 것으로 보고되었다(Bray와 Quest, 1991).

Phenylephrine(10^{-7} M)으로 수축시킨 복부 및 흉곽대동맥에 SNP(10^{-10} to 10^{-5} M), acetylcholine(10^{-10} to 10^{-5} M) 및 pinacidil(10^{-10} to 10^{-5} M)을 투여한 결과 농도 의존적인 반응곡선을 얻을 수 있었으며, 각 대동맥 혈관 반응에서의 유의성 있는 차이는 없었다.

Acetylcholine이완에 대하여 TEA, glibenclamide, SKF 525A, L-NAME등의 후 처리가 미치는 영향을 관찰한 결과, TEA, SKF 525A, L-NAME는 유의성 있는 재수축 반응을 나타내었지만 glibenclamide는 유의적인 영향을 미치지 않은 것으로 나타났다. 이는 acetylcholine으로 유발시킨 이완 반응이 NO 및 Ca^{2+} -activated K^+ channel을

경유하며, ATP-sensitive K^+ channel과는 무관하게 나타남을 시사한다. 또한 cytochrome P_{450} dependent epoxygenase에 의해 생성되는 EETs가 acetylcholine유도 혈관이완반응에 관여함을 알 수 있는데, EETs는 patch clamp를 이용한 실험에 의하면 돼지, 개, 토끼, 흰쥐 등의 일부 평활근에서 막 전압을 낮추는 것으로 보고되었다(Zygmunt등, 1996). EETs가 막 전압에 관여하는 것 이외에도, cytochrome P_{450} 대사체는 쥐의 신장에 있어서 이온 수송에 주요한 역할을 하고 있음이 알려졌으며(Kelly와 Smith, 1996) 이 물질은 고혈압 쥐의 실험모델에서 체액량과 항상성에 중요한 역할을 하는 것으로 밝혀졌다(Archer등, 1996).

SNP로 유발시킨 이완반응에 각 inhibitors를 가했지만, SNP로 유발시킨 이완반응을 억제하지 못하였다. 이는 SNP에 의해 유발된 이완반응은 K^+ channel을 경유하지 않음을 가리키며, 또한 EETs 및 NO와는 다른 경로를 경유함을 암시한다. Pinacidil(10^{-5} M)에 의한 이완반응에서 glibenclamide는 거의 100% 재수축을 유발하는데, 이는 pinacidil에 의해 유발되는 이완반응은 ATP sensitive K^+ channel을 경유함을 암시한다. 그리고 TEA, glibenclamide, SKF 525A 및 L-NAME에 의해서는 재수축반응이 나타나지 않은 결과로부터 SNP에 의한 이완반응은 Ca^{2+} -sensitive K^+ channel 및 cytochrome P_{450} dependent epoxygenase pathway을 경유하지 않음을 알 수 있었다.

Acetylcholine에 의한 이완이 TEA에 의해 재수축되는 것은 Ca^{2+} activated K^+ channel를 활성화하는 vasodilator가 acetylcholine에 의해 생성되며, EETs inhibitor인 SKF 525A를 전 처리한 경우 TEA에 의해 재수축이 유의

성 있게 감소되므로, EETs생성 억제제 Ca^{2+} activated K^+ channel활성에 의한 이완 mechanism이 차단되어 TEA에 의한 재수축이 일어나지 않았다고 추정할 수 있다. 따라서 이는 간접적으로나마 EETs가 Ca^{2+} activated K^+ channel활성에 관여함과 동시에 acetylcholine에 의해 생성되고, 혈관이 탈분극 되어 수축한 후 재분극 시 활성화되는 Ca^{2+} activated K^+ channel과 연관되어 있음을 보여주고 있다. Acetylcholine에 의해 내피에서 생성 가능한 NO를 L-NAME로 전 처리하여 생성을 억제하고, TEA를 후 처리하였을 때 재수축된 것으로 보아서, acetylcholine에 의해 내피에서 생성되는 vasodilators중에는 NO이외의 물질이 K^+ channel에 관여하여 TEA에 의해 재수축 반응이 나타난 것으로 추정된다.

위의 실험들로 미루어 보아 acetylcholine에 의해 생성된 EETs가 일부 관여함을 보여주고 이완시 K^+ channel 중에 특히 Ca^{2+} activated K^+ channel을 활성화한다.

결 론

흰쥐의 복부 및 흉곽대동맥에서의 acetylcholine, SNP와 pinacidil에 대한 혈관 이완 반응과 K^+ channel blocker인 TEA, glibenclamide 및 L-NAME와 cytochrome P₄₅₀ dependent epoxygenase inhibitor인 SKF 525A등의 후 처리에 대한 재수축 반응을 본 실험에서 얻은 결론은 다음과 같다.

1. Acetylcholine에 의해 유발시킨 이완반응상태에서, TEA, SKF 525A 및 L-NAME등은 유의성 있는 재수축반응을 유발하였다.

2. SNP에 의해 유발시킨 이완반응에 대하여, TEA, SKF 525A 및 L-NAME등은 아무런 영향을 미치지 않았다.

3. Pinacidil로 유발시킨 이완반응상태에서 glibenclamide는 유의성 있는 재수축반응을 일으켰다.

4. Acetylcholine으로 이완 시 Ca^{2+} activated K^+ channel blocker인 TEA에 의한 재수축 반응이 SKF 525A를 전 처리 하였을 경우는 나타나지 않았다.

이상의 결과로 acetylcholine에 의한 이완반응은 생성된 EETs가 일부 관여하고, 이완 시 K^+ channel 중에 특히 Ca^{2+} activated K^+ channel을 활성화함을 보여준다.

참고문헌

Archer S. L., Huang J. M., Reeve H. L., Hampl V., Tolarova S., Michelakis E., Weir E. K. (1996) Differential distribution of electrophysiologically distinct myocytes in conduit and resistance arteries determines their response to nitric oxide and hypoxia. *Circ. Res.* **78**, 431-442.

Bray K., Quest U. (1991) Difference in the K^+ channels opened by cromakalim, acetylcholine and substance P in rat

aorta and porcine coronary artery. *Br. J. Pharmacol.* **102**, 585-594.

Campbell W. B., Gebremedhin D., Pratt P. F., Harder D. R. (1996) Identification of epoxyeicosatrienoic acids as endothelium-derived hyperpolarizing factors. *Circ. Res.* **78**, 415-423.

Chen G., Suzuki H. (1989) Some electrical properties of the endothelium-dependent hyperpolarization recorded from rat arterial smooth muscle cells. *J. Physiol.* **410**, 91-106.

Cornwell T. L., Lincolon T. M. (1989) Regulation of intracellular Ca^{2+} levels in cultured vascular smooth muscle cells. *J. Biol. Chem.* **264**, 1146-1155.

Graier W.F., Holzmann S., Hoebel B. G., Kukovertz W. R., Kontner G. M. (1996) Mechanisms of L-NG nitroarginine/indomethacin-resistant relaxation in bovine and porcine coronary arteries. *Br. J. Pharmacol.* **119**, 1177-1186.

Kelly R. A., Smith T. W. (1996) Nitric oxide and nitrovasodilators : similarities, differences and interactions. *Am. J. Cardiol.* **77**, 2C-7C.

Makita K., Falck J. R., Caplevila J. H. (1996) Cytochrome P450, the arachidonic acid cascade and hypertension : New sistas for an old enzyme system. *FASEB. J.* **10**, 1456-1463.

Martin W., Villani G. M., Jothianandan D., Furchaott R. F. (1985) Selective blockade of endothelium-dependent and glyceryl trinitrate-induced relaxation by hemoglobin and by methylene blue in the rabbit aorta. *J. Pharmacol.* **232**, 708-716.

Mombouli J. V., Nakushima M., Hamra M., Vanboutte P. M. (1996) Endothelium-dependent relaxation and hyperpolarization evoked by bradykinin in canine coronary arteries: enhancement by exercise-training. *Br. J. Pharmacol.* **117**, 413-418.

Mombouli J. V., Vanhoutte P. M. (1997) Endothelium-derived hyperpolarizing factor(s):updating the unknown. *TIPS-July*. **18**, 252-255.

Nagao T., Vanhoutte P. M. (1992) Characterization of endothelium-dependent relaxations resistant to nitro-L-arginine in the porcine coronary artery. *Br. J. Pharmacol.* **107**, 1102-1107.

Pfister S.L., Spitzbarth N., Edgemont W., Campbell W. B. (1996) Vasorelaxation by an endothelium-derived metabolite of arachidonic acid. *Am. J. Physiol.* **270**, H1021-H1031.

Rapoport R. M. (1986) Cyclic guanosine monophosphate inhibition of contraction may be mediated through inhibition of phosphatidyl inositol hydrolysis in rat aorta. *Circ. Res.* **58**, 407-410.

Weintraub N. L., Stephenson A. H., Sprague R. S., McMurdo L., Lonigro A. J. (1995) Relationship of arachidonic acid release to porcine coronary artery relaxation. *Hypertension*. **26**, 684-690.

Williams D. C., Kate G. M., Roy-Contancin L., Reuben J. P. (1988) Guanosine 5(monophosphate modulates gating of high-conductance Ca^{2+} -activated K^+ channels in vascular smooth muscle cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **85**, 9360-

- 9364.
- Zygmunt P. M., Edwards G., Weston A. H., Davis S. C., Hogestantt E. D. (1996) Effects of cytochrome P₄₅₀ inhibitors on EDHF-mediated relaxation in the rat hepatic artery. *Br. J. Pharmacol.* **118**, 1147-1152.
- Zygmunt, P. M., Ryman T., Hogestatt E. D. (1995) Regional differences in endothelium-dependent relaxation in the rat ; contraction of nitric oxide and nitric oxide independent mechanisms. *Acta. Physiol. Scand.* **155**, 257-266.