

토끼 음경 해면체 평활근에서 Atropine의 약리작용과 기전

연세대학교 의과대학 비뇨기과학교실,
이화여자대학교 의과대학 비뇨기과학교실, 생리학교실*

최영득 · 정우식* · 하종식** · 권성원*

=Abstract=

The Action Mechanism of Relaxation Effect of Atropine on the Isolated Rabbit Corpus Cavernosum

Young Deuk Choi, Woo Sik Chung*, Jong Sik Ha** and Sung Won Kwon*

From the Department of Urology, Yonsei University College of Medicine,
Department of Urology* and Physiology**, Ewha Womans University College of Medicine, Seoul, Korea

Atropine is the classic antimuscarinic anticholinergic drug that has been used to block cholinergic neurotransmission in basic research and received recent interest clinically in the intracavernous pharmacotherapy of erectile dysfunction. It has been suggested that at low dose(10^{-8} M), atropine blocks muscarinic receptors, thereby reducing both cholinergic of the adrenergic and cholinergic excitation of the NANC neuroeffector systems, on the other hand, at large pharmacologic dose(10^{-3} M), induces the release of EDRF which recently has been identified as nitric oxide(NO) or NO like substance. Therefore, we tried to confirm the action of atropine in the cavernosal tissue and define its mechanism.

Strips of rabbit corpus cavernosum were isolated and mounted in 10 ml organ chambers to measure isometric tension. Muscle strips submaximally precontracted with phenylephrine(5×10^{-6} M) and treated with increasing concentrations of atropine(10^{-11} M to 10^{-3} M) showed tension increase upto 10^{-8} M of atropine, and thereafter, relaxed concentration-dependently(10^{-7} M: 43.7%, 10^{-6} M: 63.0%, 10^{-5} M: 86.2%, 10^{-4} M: 93.6%, 10^{-3} M: 100%). Relaxations to atropine(5×10^{-6} M) were not inhibited even partially by endothelial disruption or by pretreatment with methylene blue or pyrogallol. Pretreatment of muscle strips with atropine(5×10^{-6} M) caused concentration-related inhibition of a phenylephrine induced contraction, and in calcium-free high potassium depolarizing solution, decreased basal tension as well as inhibited contraction induced by CaCl_2 . However, atropine did not produce reduction of responses to depolarizing medium(20, 40, 80mM KCl).

With these results we can confirm the relaxation effect of atropine at a larger dose($>10^{-7}$ M) on the cavernosal smooth muscle and suggest that its action is mediated by increasing intracellular calcium sequestration, not by hyperpolarization or EDRF.

Key Words: Atropine, Cavernosal Smooth Muscle, Relaxation, Rabbit.

서 론

음경 해면체 평활근은 발기에 중요한 구조물

접수일자: 1995년 3월 14일

로서 이의 이완이 곧 발기를 일으키는 주된 현상이다¹. 이러한 해면체 평활근을 이완시키는 물질로는 아드레날린성 α 수용체 봉쇄제, 콜린성 약물, EDRF, 여러 peptides, prostaglandins, histamine, 칼슘통로 차단제, 칼륨통로 개방제, 혈관

확장제 등이 알려져 있다^{2,6}.

Atropine은 자율신경계의 콜린성 수용체 중에서 무스카린성 수용체를 선택적으로 봉쇄하여 acetylcholine(이하 Ach)의 작용을 봉쇄하는 약물로서 임상 및 실험에서 주로 부교감 신경의 무스카린성 작용을 억제할 목적으로 사용되어지고 있다. 따라서 음경 해면체 평활근에 대해서는 atropine이 Ach의 작용을 봉쇄하여 음경 해면체 평활근의 이완을 억제한다. 그러나 이러한 atropine이 용량에 따라 차이가 있어, 실험적 근거는 제시하지 않았으나 Hall 등은 고농도의 atropine은 내피세포로부터 EDRF(NO)의 분비를 촉진시킨다고 보고⁷하고 있고 또한 근래에는 발기부전증의 약물주사요법에 타 약제와 병용투여하여 좋은 효과가 보고되고 있다^{8,9}. 이에 저자들은 atropine의 해면체 평활근에 대한 작용을 알아보고 작용기전을 규명하고자 토끼의 음경 해면체 평활근을 분리하여 시험관내에서 atropine에 대한 반응을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물

4-6개월 된 New Zealand White rabbit 20마리를 사용하였으며 몸무게는 2.3 - 3.1Kg(평균 2.7±0.8Kg)이었다.

2. 실험방법

A. 해면체 평활근 절편 준비

토끼의 머리를 둔기로 강타하여 실신시키고 음경 전체를 조심스럽게 절제하여 95% 산소와 5% 이산화탄소의 혼합기체가 공급되는 저온의 Tyrode용액내에서 백막으로부터 해면체 평활근을 분리하여 2 x 2 x 6mm 크기의 절편을 만들고 Tyrode용액이 들어있는 10ml organ bath에 고정하였다. 절편의 한쪽 끝은 organ bath의 아래부분에 고정하고 다른 끝은 동력성 수축 기록계(Narco F-60)에 연결하여 해면체 평활근의 운동상태를 polygraph(Narco Physiograph MK-IV. ph.)에 기록하였다. 절편 준비의 모든 과정은 평활근의 내피세포가 파괴되지 않도록 주의하였다. Organ bath내의 Tyrode용액은 bath의 이중벽 사이로 보온된 물을 계속 순환시켜 37°C로 유지하고, 산소혼합기체를 계속 공급하며 pH 7.4로 유지하였다.

내피세포 제거는 해면체 평활근을 비벼 문질

렀다¹⁰. 이러한 절편은 phenylephrine($5 \times 10^{-6}M$, 이하 PHE)으로 수축을 유발시키고 Ach에 의한 이완효과의 유무로 내피세포의 존재여부를 확인하였다. 탈내피 조직후 Ach에 대한 이완 반응이 없거나 Ach에 대한 이완 반응이 탈내피 조직전의 15%이내의 이완 반응을 보이는 표본만을 골라 탈내피 평활근 절편으로 사용하였다.

B. 등장력 수축을 위한 이상적 장력 결정

초기장력을 2gm 정도로 유지시키고 Tyrode용액을 갈아주면서 안정상태에 도달되도록 유지한 후 PHE를 투여하여 수축정도를 관찰하였다. 이후 Tyrode용액으로 절편을 3회 이상 씻어 안정상태로 회복시키고 장력을 올리거나 내려 안정상태에서 다시 같은 농도의 PHE에 의한 수축정도를 관찰하였다. 이와 같은 조작을 반복하여 최대 수축을 유도하고 수축정도의 차이가 2회 연속으로 이전의 수축의 10% 이내일 때를 이상적 장력으로 정하고 이러한 이상적 장력의 안정상태에서 약물 반응을 실험하였다.

C. 해면체 평활근의 약물반응

약물 반응의 실험을 시작하기 전에 PHE과 Ach의 투여로 내피세포의 존재를 확인하고 내피세포가 완벽하게 존재하는 절편만을 실험에 사용하였으며 각각의 약물 반응을 관찰한 후 다음 실험까지는 3회 이상 Tyrode용액으로 씻고 20분 이상 안정상태를 유지한 후 진행하였다.

1) 해면체 평활근에 대한 약물반응

안정상태에 도달된 해면체 평활근에 atropine를 측정 용량으로 $10^{-14}M$ 에서 부터 10배수씩 투여하여 해면체 평활근의 긴장도 변화를 관찰하였다. 또한 PHE으로 수축된 절편에 atropine를 측정 용량으로 투여하여 긴장도 변화를 관찰하였다.

Atropine의 이완작용 기전을 알아보고자 guanylate cyclase 억제제인 methylene blue($10^{-4}M$), 산소유리기 발생제로써 nitric oxide 비활성화제인 pyrogallol($10^{-4}M$) 및 indomethacin($10^{-4}M$)을 각각 처치하고 atropine에 의한 이완상태를 관찰하였다. 또한 atropine의 이완작용과 내피세포와의 관계를 보기 위하여 탈내피 해면체 평활근을 PHE로 수축시키고 atropine을 투여하여 이완상태를 관찰하였다. Atropine를 전처치하고 PHE를 투여하여 atropine이 PHE의 수축작용에 미치는 영향을 알아보았다.

이완과 수축정도는 PHE수축에 대한 백분율

(%)로 나타내었다.

2) Atropine의 작용과 칼슘과의 관련성에 대한 실험

해면체 평활근 절편을 칼슘배제 고칼륨 탈분극 용액으로 씻어 해면체 평활근의 긴장도가 최저치로 떨어져 평형을 이루었을 때 $CaCl_2(10^{-3}M)$ 를 보충하여 해면체 평활근의 수축반응을 관찰하였고 또한 atropine을 전처치하고 $CaCl_2(10^{-3}M)$ 를 보충하여 수축반응을 관찰하였다.

3) Atropine의 작용과 칼륨과의 관련성에 대한 실험

안정상태의 해면체 평활근에서 KCl 20mM, 40mM, 80mM, 120mM에 의하여 유발되는 수축 곡선을 관찰하였고 또한 atropine을 전처치하고 같은 실험을 시행하여 수축반응을 관찰하였다.

3. 사용약물과 용액

Atropine sulfate, Phenylephrine hydrochloride, Acetylcholine chloride, Pyrogallol은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, U.S.A.)의 제품을, Methylene blue Mallinckrodt Chemical Co.(St. Louis, MO, U.S.A.)의 제품을 사용하였다.

실험에 사용된 정상 Tyrode액의 조성은 Na^+ (153.6), K^+ (5.3), Ca^{++} (3.0), Mg^{++} (1.2), Cl^- (157.2), $H_2PO_4^-$ (0.6), SO_4^{--} (1.2), HCO_3^- (7.1), glucose(11.4)이었으며 칼슘배제 고칼륨 탈분극 영양액의 조성은 Na^+ (17.0), K^+ (126.0), Mg^{++} (1.2), Cl^- (128.8), $H_2PO_4^-$ (1.2), HCO_3^- (15.4), glucose(11.4)이었다(mEq/L). KCl 20mM, 40mM, 80mM, 120mM 용액은 정상 Tyrode용액에서 나트륨 대신 칼륨으로 대체하여

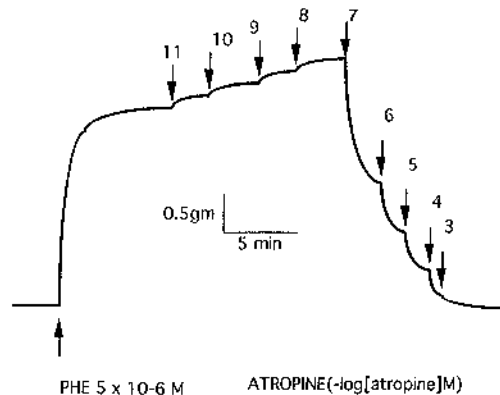


Fig. 1. Representative tracing of atropine effects on the isolated rabbit corpus cavernosum precontracted by PHE. Note that atropine has dual effects of anticholinergics at lower dose and relaxation at larger dose($>10^{-7}M$).

삼투질농도를 정상 Tyrode액과 동일하게 하였다.

4. 자료분석

개인용 컴퓨터의 Stat Works 프로그램에서 평균과 표준오차를 구하였고 각 측정군간의 의의 판정은 Mann-Whitney U test을, 약물농도별 평활근 장력의 변화는 simple regression test를 이용하여 $p < 0.05$ 일 때 의의있는 것으로 판정하였다.

결 과

1. 안정상태의 해면체 평활근에 미치는 atropine의 효과

안정상태의 해면체 평활근에서 atropine은 수축이나 이완작용은 없었으나 자발운동이 있는 경우 atropine $10^{-7}M$ 에서부터 자발운동을 억제하였다.

2. PHE에 의해 수축된 절편에서의 atropine의 효과

Atropine은 $10^{-8}M$ 까지는 농도의존적으로 긴장도를 증가시켰다. 이들 긴장도 증가의 폭은 atropine $10^{-11}M$ 에서는 $7.70 \pm 2.75\%$ 이었으며 $10^{-10}M$, $10^{-9}M$, $10^{-8}M$ 에서 각각 $14.02 \pm 4.16\%$, $19.90 \pm 9.49\%$, $24.30 \pm 5.14\%$ 으로 농도의존적으로 긴장도가 증가되었다. 그러나 atropine $10^{-7}M$ 부터는 이완작용을 보였다. 이완정도는 atropine $10^{-7}M$ 에서 $43.74 \pm 12.87\%$ 이었고 $10^{-6}M$, $10^{-5}M$, $10^{-4}M$ 에서 각각 $68.50 \pm 10.12\%$, $85.20 \pm 8.50\%$, $95.10 \pm 5.10\%$ 로 이완정도는 증가되었다.

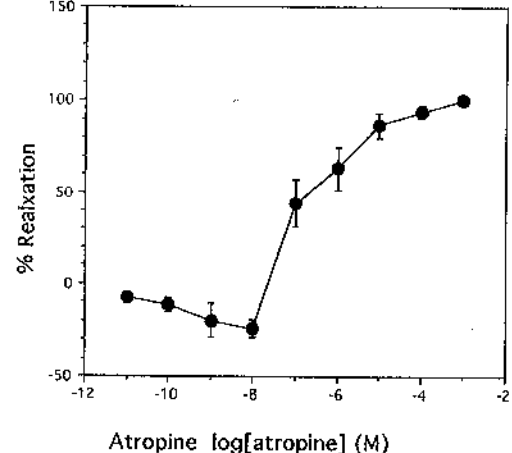


Fig. 2. Effects of atropine on the submaximally contracted muscle strips by phenylephrine ($5 \times 10^{-6}M$). Values represents mean \pm SD(n=10). Cumulative-concentration response curves of atropine shows dual effects.

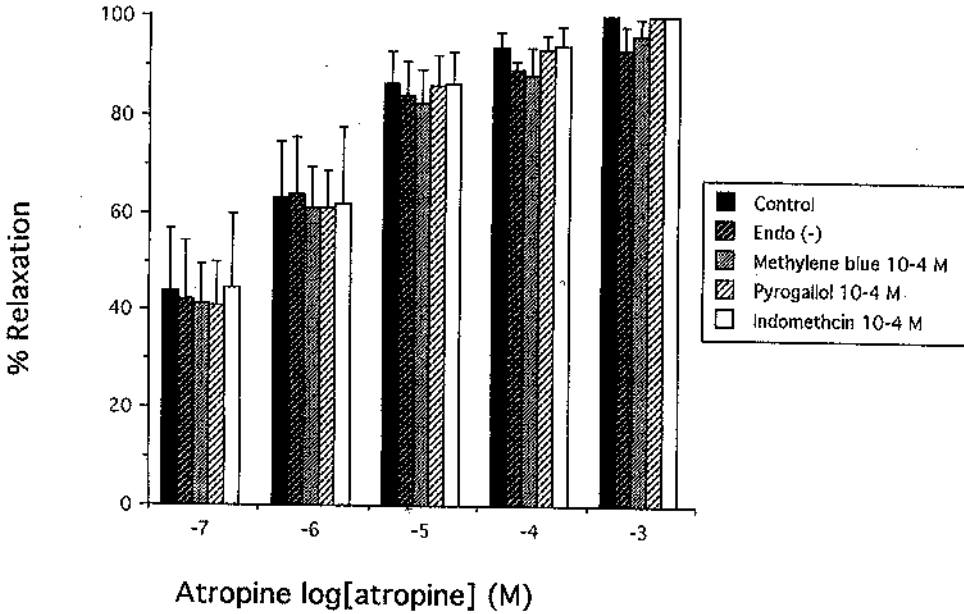


Fig. 3. Effects of various treatments on the relaxation of muscle strips by atropine. Deendothelialization (treatments by rubbing), methylene blue, pyrogallol or indomethacin do not inhibit the relaxation induced by atropine. Values represents mean \pm SD (n=6).

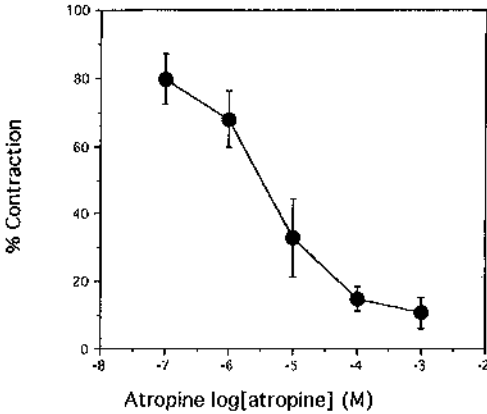


Fig. 4. Effects of atropine pretreatment on the phenylephrine induced contraction. Atropine pretreatment causes a concentration dependent inhibition of phenylephrine (5×10^{-6} M) induced contraction of muscle strip. Values represents mean \pm SD (n=6). $p < 0.001$ in simple regression test ($R = 0.93$).

4μ M에서 각각 $63.01 \pm 11.75\%$, $86.20 \pm 6.53\%$, $93.60 \pm 3.13\%$ 이었으며 10^{-3} M에서는 100% 이완을 보였다(Fig. 1, 2). 이러한 atropine 이완효과는 농도의존적으로 이루어졌으나 내피세포를 제거한 경우나, methylene blue, pyrogallol, indomethacin에는 영향을 받지 않았다($p > 0.05$) (Fig. 3).

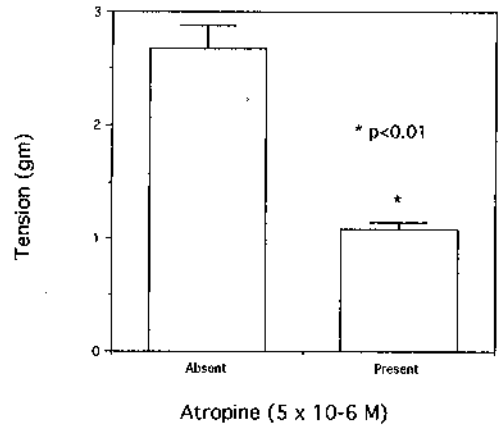


Fig. 5. Effects of atropine ofn Ca^{++} induced recovery contraction. Pretreatment with atropine inhibit the contraction of muscle strip by $CaCl_2(10^{-3}$ M) in calcium free, high potassium depolarizing media. Values represents mean \pm SD (n=5). $p < 0.01$ in student's ttest.

3. Atropine이 PHE 수축에 미치는 영향

PHE의 수축력은 atropine 10^{-7} M에서 $79.67 \pm 7.43\%$ 로 감소되었고 10^{-6} M, 10^{-5} M, 10^{-4} M, 10^{-3} M에서 각각 $68.00 \pm 8.34\%$, $33.01 \pm 11.58\%$, $15.00 \pm 3.58\%$, $10.67 \pm 4.50\%$ 로 감소되어 atropine은 10^{-7} M 부터 농도의존적으로 PHE의 수축력을 감소시켰다($p < 0.001$)(Fig. 4).

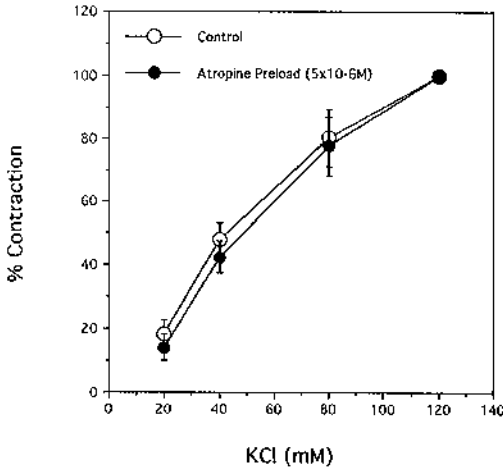


Fig. 6. Effects of atropine on K⁺ induced contraction. Pretreatment with atropine does not inhibit the contraction of muscle strips by KCl. Values represents mean ± SD (n=6).

4. 칼슘배제 고칼륨 탈분극 영양액에서 atropine의 작용

칼슘배제 고칼륨 탈분극 영양액내에서 안정상태로 평형을 유지한 해면체 평활근에서 atropine (5x10⁻⁶M)은 기저장력을 더욱 떨어뜨렸다. 칼슘배제 고칼륨 탈분극 용액에서 CaCl₂ 10⁻³M 투여시 긴장도는 2.67 ± 0.21gm이었으며 atropine(5x10⁻⁶M)에 의해 그 긴장도가 1.08 ± 0.07gm으로 감소되어 atropine이 CaCl₂(10⁻³M)에 대한 수축력을 30% 감소시켰다(p < 0.01)(Fig. 5).

5. KCl 작용에 대한 atropine의 효과

Atropine(5x10⁻⁶M)은 KCl 20mM, 40mM, 80mM, 120mM에 의한 해면체 평활근의 수축반응에 영향을 주지 않았다(p > 0.05)(Fig. 6).

고 안

해면체 평활근에서 Ach은 콜린성 수용체에 작용하여 내피의존성 이완작용을 보인다^{3,11,13}. Atropine은 이러한 Ach의 작용을 선택적으로 봉쇄하므로써 해면체 평활근에서 내피의존성 이완작용을 억제한다^{14,15}. 그러나 이러한 atropine은 용량에 따라 약리작용에 차이가 있으며 최근에는 발기부전증의 약물주사요법에서 atropine을 타 약제와 병용투여하여 좋은 효과가 있음이 보고되고 있다^{8,9}. 저자들의 경우에 PHE으로 수축된 해

면체 평활근 절편에서 저농도와 고농도의 atropine을 처치하고 Ach을 투여한 결과 atropine은 Ach의 이완작용을 억제하여 atropine이 모든 농도에서 항부스카린성 작용이 있음을 확인하였다. 그러나 atropine을 PHE으로 수축된 절편에 직접 투여시 농도에 따라 약리작용이 다르게 나타났다. 즉 atropine이 10⁻⁸M까지는 PHE으로 수축된 절편에서 긴장도를 더욱 증가시킨 바 이는 atropine이 이완작용을 하는 무스카린성 수용체를 봉쇄함으로써 상대적으로 수축이 강하게 나타난 것으로 여겨진다. 반면 atropine 10⁻⁷M부터 이완작용을 나타내었으며 이는 Hall 등의 보고⁷에서의 10⁻³M보다 훨씬 낮은 농도에서도 이완작용을 보여 주었다. 이러한 이완작용에 의해 atropine은 PHE의 수축력도 감소시켰다.

Atropine은 안정상태의 해면체 평활근에는 이완이나 수축 반응을 보이지는 않았으나 자발운동이 있는 경우 고농도의 atropine이 자발운동을 억제시켰다. 자발운동은 직접 평활근에서 기인한 것으로 대부분 신경성 약물로는 억제되지 않고 칼슘이나 칼륨 관계 약물, PG생성억제제 등에 의해 소실됨이 보고^{4,4,16,17}되고 있어 고농도의 atropine이 자발운동을 억제함으로써 보아 고농도의 atropine은 해면체 평활근에 직접 작용함을 알 수 있다.

해면체 평활근 이완에는 내피세포의존인자(EDRF)가 관여하는 것으로 알려져 있다^{2,18}. EDRF을 생성하는 물질은 내피세포의 세포막에 있는 수용체에 결합하여 내피세포내 유리 칼슘의 농도를 증가시키며 이 증가된 칼슘은 EDRF의 합성과 유리를 촉진시킨다. 유리된 EDRF가 평활근 세포내로 들어가 평활근의 guanylate cyclase를 활성화시켜 cGMP의 생성이 증가된다. 이 cGMP 증가에 의하여 평활근 이완이 일어난다^{19,21}. 이러한 내피세포의존인자와 atropine과의 관계에 대하여서 Hall 등이 고농도의 atropine이 내피세포로부터 EDRF의 분비를 촉진시켜 평활근 이완을 일으킨다고 보고하였다⁷. 그러나 본 실험에서 고농도의 atropine의 해면체 평활근 이완효과는 내피세포를 제거한 경우에도, guanylate cyclase 억제제인 methylene blue, nitric oxide 비활성제인 pyrogallol의 투여에 영향을 받지 않았다. 또한 prostaglandins에 의한 이완 작용도 관계가 없었다. 따라서 고농도의 atropine의 해면체 평활근 이완효과는 내피세포나 EDRF 및 prostanoid와 관

계가 없는 것으로 여겨진다.

평활근 수축은 평활근이 자극을 받아 흥분하거나 수축을 유발하는 약물이 수용체와 결합하면 세포질내 유리 칼슘의 양이 증가하여 나타난다. 세포질내 칼슘의 증가는 세포외액으로부터 유입되거나 근소포체(sarcoplasmic reticulum)로부터 칼슘 유리가 증가하여 나타나게 되어 칼슘의 세포질내로의 유입은 주로 막전압 의존성 칼슘통로 및 수용체 연결 칼슘통로로 거쳐서 일어날 수 있다²². 그러므로 세포질내의 유리 칼슘이 감소되는 경우 즉 칼슘의 세포질내로의 유입이 억제되거나 세포질내의 근소포체로부터 칼슘의 유리가 억제되면 평활근이 이완이 일어나게 된다. 또한 칼륨이온의 농도가 높은 영양액은 평활근 세포의 탈분극을 유발하여 막전압 의존성 칼슘통로를 열어 수축을 유발한다. 그러므로 칼륨이온의 농도가 높은 영양액은 생체의 실험에서 칼슘통로에 대한 작용을 평가하는데 유용하게 쓰일 수 있다^{6,23,25}. 즉 실험에서 칼슘이 배제된 고칼륨영양액에 절편을 노출시키면 평활근의 기저장력이 거의 없고, 여기에 칼슘을 보충하면 칼슘의 세포내 유입에 의하여 기저장력이 회복되어 수축이 일어난다. 이러한 작용은 주로 천천히 활성화 되는 막전압 의존성 칼슘통로를 통하여 일어나는 작용으로 알려져 있다²⁴. 본 실험에서는 칼슘배제 고칼륨영양액내의 기저장력이 거의 없이 안정상태에 도달된 해면체 평활근 절편에서 atropine은 해면체 평활근의 기저긴장력을 더욱 떨어뜨렸다. 이는 세포질내 칼슘의 이동에 기인한 것으로서 세포질내의 칼슘을 더욱 유출시켰거나 세포질내의 근소포체로 칼슘이 유입되어 세포질내의 유리 칼슘을 더욱 감소시켜 평활근의 기저장력을 떨어뜨린 것으로 여겨진다. 또한 atropine은 칼슘배제 고칼륨영양액내에서의 $CaCl_2$ 에 대한 수축력을 30% 감소시켰다. 이는 atropine의 작용이 천천히 활성화되는 막전압 의존성 칼슘통로를 통하여 칼슘의 세포내로의 이동을 어느 정도 억제하여 세포질내의 칼슘이 감소됨으로써 이완을 유발하는 것으로 생각할 수 있겠다.

칼슘통로개방제들은 평활근의 세포막에서 칼슘전도를 증가시킴으로써 과분극을 일으켜 막전압의존성 칼슘통로가 열리는 것을 막아 평활근 이완을 유발한다고 보고되고 있다^{5,25,26}. Cromakalim은 낮은 농도의 KCl에 의해 유발되는 긴

장도를 유효하게 봉쇄하나 높은 농도의 KCl에 의해 야기되는 수축에는 영향이 없는 것으로 알려져 있다^{6,26,27}. 이는 영양액내에 칼륨이온을 첨가하면 세포막의 전압이 새로운 칼륨평형전압으로 유도되어 낮게 형성되며 이 상태에서의 수축은 새로이 형성된 칼륨평형전압이 막전압 의존성 칼슘통로가 열리는 전압보다 음전압이 적게 될때 수축이 유발된다. 이러한 전압의 기준은 약 -40에서 -50mV로 보고 되고 있으며 따라서 칼슘통로개방제의 특징은 낮은 농도의 KCl에 의한 수축은 봉쇄하나 높은 농도의 KCl에 의한 수축에는 효과가 없는 것으로 알려져 있다^{6,26,27}. 본 실험에서 atropine은 농도별 KCl의 반응에 영향을 주지 않는다. 따라서 해면체 평활근에서 atropine은 칼슘통로와는 관계가 없음을 알 수 있다.

결론적으로 고농도의 atropine의 이완작용은 내피세포나 EDRF, 칼슘통로와는 관계가 없으나 자발운동을 억제하는 것으로 보아 평활근에 직접 작용함을 알 수 있고, 칼슘배제 고칼륨 탈분극 영양액에서 해면체 평활근의 기저긴장력을 더욱 떨어뜨리고 $CaCl_2$ 에 대한 수축력을 감소시키는 것으로 보아 세포막 안정화에 따른 막전압 의존성 칼슘통로의 차단 및 근소포체로부터 칼슘유리가 감소됨으로써 이완을 유발하는 것으로 여겨진다.

결 론

토끼의 음경 해면체 평활근에서 atropine은 저농도에서는 항무스카린성 작용이 있으나 고농도에서는 항무스카린성 작용뿐 아니라 직접 평활근에 작용하는 이완작용을 보여 주었다. 이러한 이완작용은 내피세포나 EDRF, 과분극과는 관계가 없으며 직접 음경 해면체 평활근에 작용하여 세포질내의 Ca^{++} 농도를 감소시킴으로써 평활근의 이완이 이루어지는 비특이성 평활근 확장 효과로 여겨진다.

참 고 문 헌

1. Lue TF, Tanagho EA. Physiology of erection and pharmacological management of impotence. J Urol 1987; 137: 829-39.
2. Tejada IS, Blanco R, Goldstein I, Azadzi K, Morenas A, Krane RJ, et al. Cholinergic neu-

- rotransmission in human corpus cavernosum. I. Responses of isolated tissue. *Am J Physiol* 1988; 254: H459-67.
3. Tejada IS, Kim N, Lagan I, Krane R, Goldstein I. Regulation of adrenergic activity in penile corpus cavernosum. *J Urol* 1989; 142: 1117-21.
 4. Andersson K-E, Holmquist F. Mechanisms for contraction and relaxation of human penile smooth muscle. *Int J Impotence Res* 1990; 2: 209-25.
 5. Holmquist F, Andersson K-E, Hedlund H. Effects of pinacidil on isolated human corpus cavernosum penis. *Acta Physiol Scand* 1990; 138: 463-9.
 6. Hamilton TC, Weston AH. Cromakalim, nicorandil and pinacidil: Novel drugs which open potassium channels in smooth muscle. *Gen Pharmacol* 1989; 20: 1-9.
 7. Hall S, Honig SC, Payton TR, Krane RJ, Goldstein I. Use of atropine sulfate in pharmacologic erections: Initial experience with one year follow-up in the United States. *J Urol* 1992; 147: 265A.
 8. Virag R, Shoukry K, Floresco J, Nollet F, Greco E. Intracavernous self-injection of vasoactive drugs in the treatment of impotence: 8-year experience with 615 cases. *J Urol* 1991; 145: 287-93.
 9. Montorsi F, Guazzoni G, Bergamaschi F, Orlandini A, Da Pozzo L, Barbieri L, et al. Intracavernous vasoactive pharmacotherapy: The impact of a new self-injection device. *J Urol* 1993; 150(6): 1829-32.
 10. Kim N, Azadzi KM, Goldstein I, Tejada IS. A nitric oxide-like factor mediates nonadrenergic-noncholinergic neurogenic relaxation of penile corpus cavernosum smooth muscle. *J Clin Invest* 1991; 88: 112-8.
 11. Traish AM, Charson MP, Kim N, Goldstein I, Tejada IS. Characterization of muscarinic acetylcholine receptors in human penile corpus cavernosum: Studies on whole tissue and cultured endothelium. *J Urol* 1990; 1036-40.
 12. Furchgott RF. The role of endothelium in the responses of vascular smooth muscle to drugs. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 1984; 24: 175-97.
 13. Stief C, Bernard F, Bosch R, Aboseif S, Nunes L, Lue TF, et al. Acetylcholine as a possible neurotransmitter in penile erection. *J Urol* 1989; 141(6): 1444-8.
 14. Knipel HH, Goessel C, Beckmann R. Basal and acetylcholine-stimulated nitric oxide formation mediates relaxation of rabbit cavernous smooth muscle. *J Urol* 1991; 146: 1429-33.
 15. Munch PA. Endothelium-mediated and direct actions of acetylcholine on rabbit aortic baroreceptors. *Circ Res* 1994; 74(3): 422-33.
 16. Fovaeus M, Andersson K-E, Hedlund H. Effects of some calcium channel blockers on isolated human penile erectile tissue. *J Urol* 1987; 138: 1267-72.
 17. Christ GJ, Maayani S, Valcic M, Melman A. Pharmacological studies of human erectile tissue: Characteristics of spontaneous contractions and alterations in alpha-adrenoceptor responsiveness with age and disease in isolated tissues. *Br J Pharmacol* 1990; 101: 375-81.
 18. Tejada IS, Goldstein I, Azadzi K, Krane RJ, Cohen RA. Impaired neurogenic and endothelium-mediated relaxation of penile smooth muscle from diabetic men with impotence. *N Engl J Med* 1989; 320: 1025-30.
 19. Rapoport RM, Draznin MB, Murad F. Endothelium-dependent relaxation in rat aorta may be mediated through cyclic GMP-dependent protein phosphorylation. *Nature* 1983; 306: 174-6.
 20. Andersson K-E, Holmquist E. Mechanisms for contraction and relaxation of human penile smooth muscle. *Int J Impotence Res* 1990; 2: 209-25.
 21. Spedding M, Schini V, Schoeffter P, Miller RC. Calcium channel activation does not increase release of endothelial derived relaxant factors (EDRF) in rat aorta although tonic release of EDRF may modulate calcium channel activity in smooth muscle. *J Cardiovasc Pharmacol* 1986; 8: 1130-9.
 22. Karaki H, Weiss GB. Minireview: Calcium release in smooth muscle. *Life Sci* 1988; 42:

- 111-22.
23. Hof RP, Vuorela HJ. Assessing calcium antagonism on vascular smooth muscle: A comparison of three methods. *J Pharmacol Methods* 1983; 9: 41-52.
24. Edman KAP, Schild HO. Calcium and the stimulant and inhibitory effects of adrenaline in depolarized smooth muscle. *J Physiol* 1963; 169: 404-11.
25. Cook NS. The pharmacology of potassium channels and their therapeutic potentials. *Trends Pharmacol Sci* 1988; 9: 21-8.
26. Hamilton TC, Wein SW, Weston AH. Comparison of the effects of BRL 34915 and verapamil on electrical and mechanical activity in rat portal vein. *Br J Pharmacol* 1986; 88: 103-11.
27. Claphan JC, Wilson C. Anti-spasmodic and spasmolytic effects of BRL 34915: A comparison with nifedipine and nicorandil. *J Auton Pharmacol* 1987; 7: 1-10.
-