

환주의 대동맥 허혈모델에서 이완정도의 변화

연세대학교 의과대학 마취과학고실

인천기독병원*

김원욱·김혜금·김진호·박영순*

=Abstract=

Modulation of Severity of Relaxation in the Isolated Rat Aortic Tissue Model of Ischemia

Won Oak Kim, M.D., Hae Keum Kil, M.D. and Jin Ho Kim, M.D. and Young Soon Park, M.D.*

Department of Anesthesiology, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

*Department of Anesthesiology, Incheon Christian Hospital, Incheon, Korea**

The purpose of this study was undertaken to test if alteration of calcium flux across the sarcolemma or sarcoplasmic reticulum change subsequent relaxation of rat aorta in tissue model of ischemia. Thoracic aorta ring segments(2-3mm wide) were studied with solution that mimicked real ischemia condition(hypoxia, acidosis, elevated lactate levels and zero substrate). During ischemic condition, the effect of treatments thought to decrease cytosolic calcium were tested. Half time($t_{1/2}$) and degree of stabilized relaxation were 2.4 ± 0.9 minutes and $17.6 \pm 12.1\%$ (NE 10^{-7} M precontraction as 100%) for verapamil(10^{-6} M), 3.3 ± 0.7 minutes, $22.2 \pm 3.9\%$ for low Ca^{2+} (0.75mM) in ischemic solution. Interventions aimed to elevating cytosolic calcium were also tested. 3.8 ± 0.9 minutes and $68.6 \pm 8.1\%$ for high (10.0 mM) Ca^{2+} in ischemic solution, 3.7 ± 0.7 minutes, $72.8 \pm 3.9\%$ for ryanodine(3×10^{-9} M). 3.8 ± 0.5 minutes, $53.4 \pm 2.6\%$ for isoproterenol. Without any treatment or agents during ischemia, half time and degree of relaxation were 4.0 ± 1.7 minutes, $74.6 \pm 13.2\%$, endothelium and time independent. These data support that treatment or agent thought to reduce influx of cytosolic calcium levels exaggerated the severity of relaxation. The mechanism of relaxation in ischemia is not completely clear, but it is suggested that a reduction of calcium influx may involved and directly related.

Key Words : Ischemia, Relaxation, Calcium, Rat, Aorta, Hypoxia, Acidosis

서 론

생명을 유지하기 위해서는 지속적인 기질(substrate)과 산소의 공급은 필수적이라고 할 수 있다. 이런 점에서 관류의 부전은 각 조직 세포의 구조와

기능에 증대한 영향을 주게 된다. 점차적인 세포기능의 상실과 대사의 혼란은 허혈 시간과 정도에 따라 달라지게 된다¹⁾. 그러므로 소생학적인 관점에서 허혈상태 초기에 큰동맥이 이완되는 실체를 규명하는 것은 임상적으로 의미가 있다고 보여진다.

흔히 허혈상태가 되면 저산소증, 산혈증, 젖산의 증가 그리고 기질(substrate)이 부족한 상황에 빠지게 된다. 세포수준에서 살펴보면 ATP생성의 감소, 젖산증, 세포 안밖의 전해질 차이의 소실, 세포막의 조절능력 감소, 세포부종 등이 생기게 된다. 특히 이때 심한 저산소증이 있으면 폐혈관, 대동맥 등에서는 혈관수축이 일어나는 것은 실험적으로 잘 알려져 있다²⁾. 그러나 대동맥에 있어서 실험조건에 따라 수축과 이완이라는 다른 결과를 보여주고 있다. 또한 혈관 굵기에 따라 수축과 이완이 나타나는 기전이 다양하고 복잡한 것으로 알려지고 있다³⁻⁶⁾.

따라서 저자들은 허혈 초기상태에서 대동맥의 이완이 생기는 기전을 알아 보고자 본 실험을 하였기에 보고하는바이다.

대상 및 방법

1. 혈관절편의 제작

몸무게 350-400g이 되는 흰쥐 17마리를 ether로 마취한 후에 즉시 복부를 절개하여 복부대동맥을 절단하여 실험이 되도록 하였다. 그리고 흉부를 절개하고 흉부 대동맥을 적출하여 곧바로 100% O₂가 포말되는 Tyrode 용액으로 옮겼다. 지방 및 결체조직을 조심스럽게 제거하고, 면도날로 넓이가 2-3mm 정도가 되게 잘라서 환형 혈관절편을 만들었다. 그리고 보온시킨 물이 바깥으로 순환되는 35ml 이중벽 구조의 조직수조(tissue bath)에 제작된 절편을 담갔다. 절편의 한쪽은 수조의 바닥에 고정된 [7] 자 모양의 stainless고리에 연결하고, 또다른 한쪽은 [L]자 모양의 stainless 고리에 걸어 장력측정기(force displacement transducer, FT 03C, Grass, Quincy, MA, USA)에 고정하였다. 수조내 온도는 37°C로 일정하게 온도를 유지하였으며, 95% O₂/5% CO₂ 혼합가스가 포말이 되도록 하였다. 허혈상태를 실험 할 때는 90% N₂/10% CO₂ 혼합가스로 대체하였다. 장력의 변화는 다중기록장치(polygraph, model 79E, Grass, USA)로 관찰하였다.

2. 생리용액

정상 Tyrode용액의 성분은 다음과 같다(mM): NaCl 129.0; NaHPO₄ 0.9; NaHCO₃ 20.0; KCl 4.0; CaCl₂ 2.5; MgSO₄ 0.5; dextrose 5.5(pH 7.4, 37°C). 허혈 Tyrode용액의 성분은 NaCl 123.0; NaHPO₄ 0.9; NaHCO₃ 6.0; KCl 4.0; CaCl₂ 2.5; MgSO₄ 0.5; sodium lactate 20.0 (pH 6.9±0.5, PO₂ 80±6mmHg, 37°C, n=4) 이었다⁷⁾. Ca²⁺ 고농도(Ca²⁺ 10.0mM)와 저농도(0.75mM) 허혈 Tyrode 용액은 CaCl₂를 가감하여 만들었다.

3. 실험절차

각 실험에서 절편은 기초장력을 1.5g으로 하여 40분 동안 안정되도록 하였다. 혈관내피(endothelium)의 제거는 가스다관 나무막대로 혈관내벽을 부드럽게 몇번 문질러 주었으며, 추후 norepinephrine (NE)으로 수축 시킨 후에 acetylcholine(ACh)으로 이완되는 것으로 보아 혈관내피 유무를 판정하였다.

혈관절편이 안정 된 후 NE 10⁻⁷M로 수축시켰다. 이때 수축이 극대화되고 안정된 시점에 허혈상태(허혈용액 및 90% N₂/10% CO₂으로 교환)를 유도하여 이완 정도를 확인후에 다시 정상용액과 95% O₂/5% CO₂ 혼합가스로 정상화 되도록 하였다. NE 10⁻⁷M로 혈관절편을 수축시킨 후에는 정상상태와 허혈상태 모두에서 항상 NE이 같은 농도가 지속되도록 하여 주었다.

(가) 혈관내피의 유무와 시간적인 경과에 따른 이완의 변화를 보기위하여 위의 같은 과정을 일회 더 반복하여 시간적인 경과에 따른 이완 정도의 차이가 있는 지를 관찰하였다.

(나) 위와 같은 과정에서 세포내로 Ca²⁺ 유입의 억제에 따른 이완의 효과를 보기위하여 L-type Ca²⁺ channel blocker인 verapamil 10⁻⁶M을 정상상태에서 투여하였고, 또한 허혈상태에서도 투여하였다.

(다) 허혈상태를 만들면서 세포의 용액으로 저농도(0.75mM) Ca²⁺ 허혈용액을 사용하여 이완정도를 관찰하였다.

(라) 근소포체(sarcoplasmic reticulum, SR)의 Ca²⁺

유리를 보기 위하여 정상상태와 허혈상태에서 3×10^{-9} M의 ryanodine(RYD)을 투여하여 관찰하였다.

(마) 허혈상태를 만들면서 세포의 용액으로 고농도(10.0 mM) Ca^{2+} 허혈용액을 사용하여 이완정도를 관찰하였다.

(바) 정상상태와 허혈상태에서 10^{-7} M의 isoproterenol(ISO)를 투여하여 이완정도를 보았다.

4. 사용 약물들

사용된 약물은 모두 시약수준으로 탈이온화된 중류수에 녹여서 사용하였으며, NE, ACh, Ryanodine (RYA), isoproterenol은 Sigma 제품(Sigma Co., St Louis, Mo, USA) 이었다.

5. 통계분석

NE에 의한 수축이 최대로 되어 안정 되었을 때의 장력을 기준(100%)으로 하여 이완이 안정될 때까지 시간($t_{1/2}$)과 이완의 정도를 측정하였다. 두군간의 비교는 Mann-Whitney U test, 그외 각군간의 비교는 Kruskal-Wallis 1-way ANOVA를 하여 차이를 검정하였으며, $p < 0.05$ 를 유의 있는 것으로 간주하였다.

결 과

(가) 혈관내피의 유무에 따른 이완의 변화

혈관내피가 있는 경우($n=12$)에 NE 10^{-7} M에 의한 수축이 안정된 후(100%), 허혈상태로 바꾸었을 때 시간의 경과에 따른 이완정도는 변화가 없었으며, 이완이 안정될 때까지 소요시간($t_{1/2}$)은 4.0 ± 1.7 분, 이완은 $74.6 \pm 13.2\%$ 로 나타났으며(그림 1), 혈관내피가 없을 때($n=6$)와 비교하여 유의한 차이가 없었다. 따라서 이후의 실험에서는 혈관내피를 그대로 둔 채 실험을 계속 하였다.

(나) 세포내로 Ca^{2+} 유입통로의 차단에 따른 이완의 효과($n=5$)

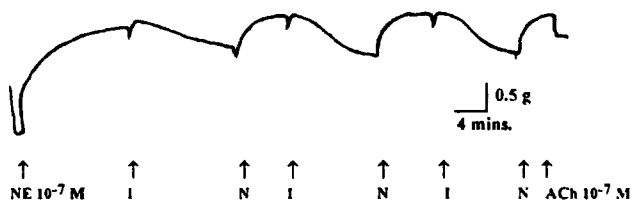


그림 1. 혈관내피가 있을 때 NE 10^{-7} M에 의한 정상 수축상태와 허혈상태 때 대동맥이 이완되는 것을 보여주는 것이다.
(N: 정상 Tyrode용액, I: 허혈 Tyrode용액)

정상용액에서 verapamil 10^{-6} M을 투여하였을 때 이완이 안정될 때까지 소요시간($t_{1/2}$)은 5.5 ± 1.2 분, 이완은 $93.4 \pm 2.2\%$ 로 나타났으며(그림 2-A), 허혈상태에서는 2.4 ± 0.9 분, $17.6 \pm 12.1\%$ 로 나타났다(그림 2-B). 허혈상태에서 verapamil이 없을 때와 있을 때를 비교하여 보면 verapamil이 있을 때가 유의하게 소요시간이 짧아지면서 이완의 정도가 심하였다($p < 0.05$). 그리고 verapamil이 있는 허혈상태와 저농도 Ca^{2+} 허혈용액때는 유의하게 고농도 Ca^{2+} 허혈용액때, ryanodine 투여때 보다 소요시간이 짧아지면서 이완의 정도가 심하였다($p < 0.05$).

(다) 세포의 저농도(0.75 mM) Ca^{2+} 허혈용액에 의한 변화($n=6$)

허혈상태를 만들면서 세포의 용액으로 저농도(0.75mM) Ca^{2+} 허혈용액을 사용하여 이완이 안정될때까지 소요시간($t_{1/2}$)은 3.3 ± 0.7 분, 이완은 $22.2 \pm 3.9\%$ 로 나타났다(그림 3).

(라) Ryanodine의 투여에 의한 반응 ($n=5$)

정상용액에서 ryanodine 3×10^{-9} M을 투여하였을 때 아무런 변화가 없었으나, 허혈상태에서 투여하였을 때 이완이 안정될때까지 소요시간($t_{1/2}$)은 3.7 ± 0.7 분, 이완은 $72.8 \pm 3.9\%$ 로 나타났다(그림 4). Ryanodine이 없을 때 허혈상태와 비교하여 이완의 시간과 정도에 있어서 유의성이 없었다.

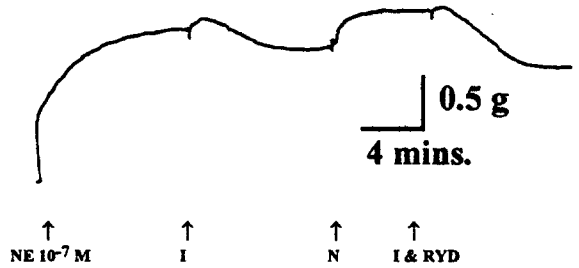
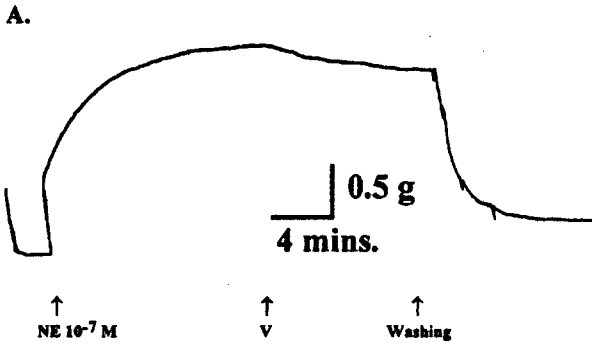


그림 4. Ryanodine($3 \times 10^{-9} M$)의 투여에 의한 이완 반응의 변화.
(N: 정상 Tyrode용액, I: 허혈 Tyrode용액, I & RYD: 허혈용액에 ryanodine투여)

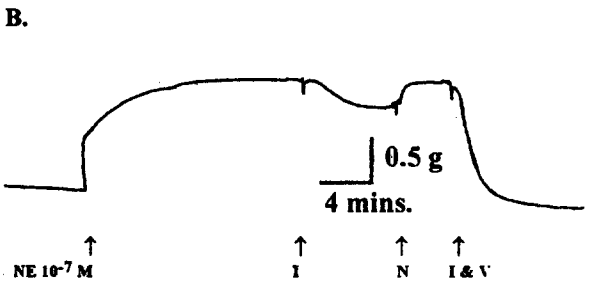


그림 2. Verapamil $10^{-6} M$ 을 투여하였을 때 이완의 변화를 보여주는 것이다.
(N: 정상 Tyrode용액, I: 허혈 Tyrode용액, I & V: 허혈용액에 verapamil투여)

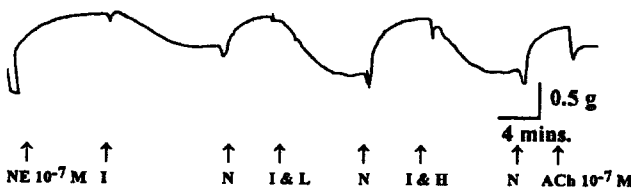


그림 3. 세포의 용액으로 저농도(0.75mM)와 고농도(10.0mM) Ca^{2+} 허혈용액에 의한 변화.
(N: 정상 Tyrode용액, I: 허혈 Tyrode용액, I & V: 허혈용액에 verapamil투여, I & L: 저농도 Ca^{2+} 허혈용액, I & H: 고농도 Ca^{2+} 허혈용액)

(마) 세포의 고농도(10.0 mM) Ca^{2+} 허혈용액에 의한 변화(n=6)

허혈상태를 만들면서 세포의 용액으로 고농도

(10.0mM) Ca^{2+} 허혈용액을 사용하여 이완이 안정 될때까지 소요시간($t_{1/2}$)은 3.8 ± 0.9 분, 이완은 $68.6 \pm 8.1\%$ 로 나타났다(그림 3). 저농도(0.75mM) Ca^{2+} 허혈용액을 사용할 때와 비교하여 소요시간은 비슷 하였지만, 저농도 Ca^{2+} 용액에서 유의하게 이완의 정도가 심하였다($p < 0.05$). 정상 Ca^{2+} 농도의 허혈용액군과는 차이가 없었지만, 저농도 및 고농도 Ca^{2+} 허혈용액군간에는 소요시간 및 이완정도에서 유의한 차이가 있었다($p < 0.05$).

(바) Isoproterenol의 투여에 의한 반응(n=4)

정상용액에서 isoproterenol $10^{-7} M$ 을 투여하였을 때 이완이 안정될 때까지 소요시간($t_{1/2}$)은 3.4 ± 0.7 분, 이완은 $56.1 \pm 5.2\%$ 로 나타났으며, 허혈상태에서는 3.8 ± 0.5 분, $53.4 \pm 2.6\%$ 로 나타났다(그림 5). 정상상태에서 isoproterenol을 주었을 때와 허혈상태때 isoproterenol을 투여하였을 때는 유의한 차이가 없었지만 isoproterenol이 없이 허혈상태가 되었을 때에 비하여 이완 소요시간과 이완정도에 있어서 유의한 차이가 있었다($p < 0.05$).

고 찰

관류의 부전은 시간의 경과와 부전의 정도에 따라 여러가지 양상으로 기관에 영향을 주게 된다. 그리고 최종적으로는 재관류에도 불구하고 돌이킬 수 없는 손상이 생기는 단계로 진행되는 것이다. 이때

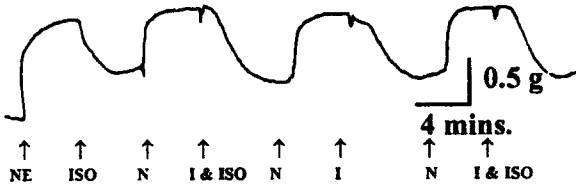


그림 5. Isoproterenol($10^{-7}M$)의 투여에 의한 이완 반응의 변화.
(N: 정상 Tyrode용액, I: 허혈 Tyrode용액, I & ISO: 허혈용액에 isoproterenol투여)

Ca^{2+} 은 중요한 역할을 하는 것으로 잘 알려져 있다. 물론 이러한 과정에는 Ca^{2+} 외에도 복잡하고 다양한 여러가지 기전이 내재하고 있다.

저자들은 관류부전에 의한 허혈상태때 특징적인 현상으로 나타나는 몇가지 실험조건을 만들어 실제와 유사한 허혈상태라고 하였다⁷⁾. 실험조건으로 용액의 산성화, 젖산의 증가, 저산소증, 기질의 부재가 그것이다. 이중에서 저산소증은 PO_2 80±6mmHg로 저산소증으로 간주하기에는 다소 문제가 있다고 볼 수 있다. 그렇지만 PO_2 가 50mmHg이하가 되는 경우에 혈관의 수축이 유발되며^{2,4)}, 허혈용액의 pH가 6.9±0.5 범위에 있으므로 심한 저산소증과 겹쳐질 경우 혈관의 수축 그리고 급격한 혈관의 이완 등으로 명확한 결과를 얻기는 힘들 것으로 생각되어 경미한 저산소증의 범위인 허혈용액의 산소압을 80mmHg 내외로 유지 하였다. 또 Coburn 등³⁾은 토끼의 흉부 대동맥에서 저산소증에 의한 혈관이완이 산소압이 60-80mmHg를 경계로 해서 cGMP의 농도 변화가 생긴다고 하였다. 그러므로 산소압을 80mmHg 내외로 유지하여 cGMP의 변화에 의한 요인을 없앨 수 있을 것으로 생각 되었다. 그 외에 실험조건상으로 혈관절편 조직이 반복적으로 허혈상태에 노출되어 이완에 영향을 미치는 지를 관찰한 결과는 통계적으로 유의한 차이를 볼 수 없었다. 또 관류부전 후에 흔히 이야기 되는 자유기(free radical)는 재관류로 인한 재산산화 때 조직의 손상에 관여 하는 것으로 생각하여 실험상에 어떠한 조치도 하지 않았다^{1,4)}.

평활근의 이완은 혈관내피에서 분비되는 혈관내

피 이완물질의 증가, 세포내로 들어가는 Ca^{2+} 의 저하 또는 세포외로 방출, SR로 Ca^{2+} 축적 증가, SR로부터 방출의 방해 그리고 그외에도 cAMP, cGMP, second messenger, 근육수축 단백질의 감수성에 미치는 요인 등 상호작용에 의해 결정 된다고 볼 수 있다.

혈관내피는 혈관의 이완에 중요한 작용을 한다. 그렇지만 본 실험에서는 혈관내피의 유무에 따른 변화를 관찰한 결과로는 아무런 차이가 없었다. 이 점은 Coburn 등³⁾에 의해 확인 된 결과와 일치하는 것으로 토끼의 흉부 대동맥, 대퇴동맥 등에서 저산소증에 의한 혈관이완은 혈관내피와 무관하다고 하였다. 그러므로 혈관내피는 허혈에 의한 대동맥의 이완에 직접적으로 영향을 주지 않는 것으로 생각할 수 있다.

다음으로 Ca^{2+} 에 의한 영향을 알아보기 위하여 세포의 Ca^{2+} 의 유입을 억제하는 verapamil을 투여하거나 허혈용액의 Ca^{2+} 농도를 낮추어 보았다. 이러한 처치는 보통의 허혈상태에 비하여 현저하게 이완이 가속되면서 이완의 정도가 심하였다(그림 1과 2의 B, 3). Verapamil은 L-type Ca^{2+} channel blocker로 정상상태에서도 약간의 이완이 있었지만(93.4%), 허혈시에는 이완이 더욱 가속되는 것을 알 수 있었고, 또한 허혈용액에 Ca^{2+} 이 낮은 경우에도 비슷한 양상을 보이는 것으로 보아 Ca^{2+} 의 세포내 유입의 방지 내지는 저농도는 이완에 주요한 영향을 미치는 것을 알 수 있었다. 반면에 Ca^{2+} 농도가 높은 허혈상태의 경우에는 이완 소요시간과 이완의 정도는 저농도때와 보통의 허혈상태 사이에 있는 정도로 이완되었다. 이것은 허혈시에 Ca^{2+} 의 유입이 이완에 영향을 미치는 것을 알 수 있는 증거가 될 수 있을 것으로 생각 된다. 그렇지만 Ca^{2+} 의 농도가 높음에도 이완되는 정도가 보통의 허혈상태 보다 더 많이 이완이 되면서 이완 소요시간도 단축 되었지만 통계적으로는 유의한 차이가 없는 것으로 보아 비록 Ca^{2+} 의 농도가 높아도 허혈상태에서 Ca^{2+} 의 세포내 유입에는 영향을 미치고 있지 않는다고 생각된다.

한편 세포내 Ca^{2+} 의 저장소로 알려진 SR이 이완

에 미치는 영향을 보기 위하여 RYD를 투여하여 보았는데, 일반적으로 RYD은 저농도에서는 SR로부터 Ca^{2+} 을 방출하고⁸⁾ 고농도에서는 SR의 Ca^{2+} 통로를 차단하는 것으로 보고 되고 있다^{9,10)}. 본 실험에서는 저농도의 RYD을 사용하여 SR에서 Ca^{2+} 의 방출을 조장하여 보았지만 보통의 허혈상태에 비하여 별다른 차이를 볼 수 없었다. 그러므로 저농도의 RYD으로 SR에서 Ca^{2+} 이 방출되는 정도는 허혈시에 이완에 영향을 줄 만큼의 Ca^{2+} 이 방출 되지 않는 것으로 보여진다.

한편 Isoproterenol은 β -adrenoceptor에 결합하여 adenylyl cyclase를 자극하여 cAMP의 증가로 평활근을 이완시키는 것으로 알려져 있다¹¹⁾. 정상상태와 허혈상태에서 isoproterenol을 투여하여 보았는데 이완 소요시간과 이완 정도는 보통의 허혈상태와 차이가 있었다. 그렇지만 허혈상태로 인한 이완이 가속되지는 않는 것으로 보아 허혈상태는 cAMP에 직접적으로 영향을 주지 못하는 것으로 보여진다.

결 론

허혈 초기상태에서 Ca^{2+} 가 대동맥의 이완에 미치는 영향과 그 기전에 대한 규명하여 보고자 실제 허혈상태와 유사한 상태에서 실험한 결과는 다음과 같다.

1. 혈관내피의 유무와 시간적인 경과에 따른 이완에는 차이가 없었다.
2. Ca^{2+} 통로 차단제로 verapamil 10^{-6} M을 허혈 용액에 투여하였을 때와 세포외 용액으로 저농도 (0.75 mM) Ca^{2+} 허혈용액이 되었을 때 이완 소요 시간($t_{1/2}$)은 유의하게 감소하였으며, 이완 정도가 현저하게 증가 하였다.
3. 세포외 용액으로 고농도(10.0 mM) Ca^{2+} 허혈 용액이 되었을 때는 이완 소요시간과 이완 정도가 보통의 허혈상태와 유의한 차이가 없었다. 그러나 저농도의 Ca^{2+} 허혈용액 때 보다는 유의하게 차이가 있었다.
4. 저농도의 ryanodine(3×10^{-6} M)을 허혈용액에 투여하였을 때는 이완 소요시간과 이완 정도가 보

통의 허혈상태 때와 차이가 없었다. 그러나 verapamil 투여때와 저농도의 Ca^{2+} 허혈용액 때 보다는 유의하게 차이가 있었다.

5. Isoproterenol(10^{-7} M)을 허혈용액에 투여하였을 때는 보통의 허혈상태와는 이완 소요시간과 이완 정도에 있어서 유의한 차이가 있었지만 정상상태에서 투여하였을 때와 허혈상태에서 투여하였을 때는 차이가 없었다.

따라서 이와같은 결과로 보면 허혈상태에서 Ca^{2+} 의 유입이 억제되면 이완이 가속되는 것으로 나타나므로, 허혈상태 초기에 생기는 이완은 Ca^{2+} 의 세포내 유입이 억제되는 것이 직접적인 관련성이 있는 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. Wineger CD, White BC. *Physiology of resuscitation. Emergency Med Clinics of North America 1983; 1: 479-99.*
2. Waldsworth RM. *Vasoconstrictor and vasodilator effects of hypoxia. Trends in Pharmacol 1994; 15: 47-53.*
3. Coburn RF, Eppinger R, Scott DP. *Oxygen-dependent tension in vascular smooth muscle. Does the endothelium play a role? Cir Res 1986; 58: 341-7.*
4. Mehta JL, Lawson DL, Yang BC, Haught WH, Hintze T. *Role of superoxide radicals in anoxia and reoxygenation-mediated vascular contraction. Life Science 1991; 49: 1739-46.*
5. Detar R. *Mechanism of physiological hypoxia-induced depression of vascular smooth muscle contraction. Am J Physiol 1980; 238: H761-9.*
6. Rubanyi G, Paul RJ. *Two distinct effects of oxygen on vascular tone in isolated porcine coronary arteries. Cir Res 1985; 56: 1-10.*
7. Lukas A, Ferrier G. *Electrophysiological effects of amrinone and milrinone in an isolated canine cardiac tissue model of ischemia and reperfusion.*

- J Pharmacol Exp Ther* 1988; 244: 348-54.
8. Rousseau E, Smith J, Meissner G. *Ryanodine modifies conductance and gating behaviour of single Ca²⁺ release channels. Am J Physiol* 1987; 253: C364-8.
9. Marban E, Wier WG. *Ryanodine as a tool to determine the contributions of calcium entry and calcium release to the calcium transient and contraction of cardiac Purkinje fibers. Circ Res* 1985; 56: 133-8.
10. Inui M, Wang S, Saito A, Fleischer S. *Characterization of junctional and longitudinal sarcoplasmic reticulum from heart muscle. J Biol Chem* 1988; 263: 10843-50.
11. Karaki H. *Ca²⁺ localization and sensitivity in vascular smooth muscle. Trends in Pharmacol* 1989; 10: 320-5.
-