

FCA에 의한 염증 유발 후 주입된 L-NAME이 기계적 통각과민에 미치는 영향

울산대학교 의과대학 마취과학교실, ¹연세대학교 의과대학 생리학교실

김민경 · 최 윤 · 공현석 · 임중우¹
임항수 · 정수진 · 이 청

= Abstract =

Effects of L-NAME on the Mechanical Hyperalgesia after the Development of Inflammation by Freund's Complete Adjuvant in Rat Paw

Min Kyung Kim, M.S., Yoon Choi, M.D., Hyun Seok Kong, B.S.
Joong Woo Leem, Ph.D.¹, Hang Soo Leem, M.D., Soo Jin Chung, M.D.
and Cheong Lee, M.D.

Department of Anesthesiology, College of Medicine, University of Ulsan, Seoul, Korea;
¹Department of Physiology, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Background: Effect of nitric oxide on the hyperalgesia induced by inflammation is controversial. From our previous experiment, NOS inhibitor, L-NAME given during the induction period decrease mechanical hyperalgesia occurred by Freund's complete adjuvant induced inflammation. In addition, we attempted to analyze the effects of L-NAME on mechanical hyperalgesia after the development of inflammation by Freund's complete adjuvant in rat paw.

Methods: Male Sprague Dawley rats were divided into four groups; control (normal saline), and three different doses of L-NAME (0.1 mg, 1 mg, 10 mg). Inflammation was induced in rats by injecting 0.15 ml of Freund's complete adjuvant (FCA) intraplantarly. Rats showed typical hyperalgesia within twelve hours after injection and maintained this for about one week. Tests were done 2 days after injection of FCA. After the baseline test either L-NAME or saline was injected under light halothane anesthesia. Effect of L-NAME on hyperalgesia was assessed by measuring mechanical hyperalgesia at 15, 30, 60, 90, 120 minutes. Same experiments were repeated on normal rats.

Results: When injected at the site of inflammation, L-NAME caused dose dependent decrease in mechanical hyperalgesia. However, normal rats also showed increased mechanical threshold after L-NAME injection.

Conclusions: Although L-NAME reduces FCA induced mechanical hyperalgesia, this result may solely be due to inhibition of nitric oxide production and need to be further determined.

Key Words: Nitric oxide. Freund's complete adjuvant. Hyperalgesia. Inflammation. L-NAME. Rat.

책임저자 : 최 윤, 서울시 송파구 풍납동 388-1, 울산대학교 의과대학 마취과학교실, 우편번호: 138-736

Tel: 2224-3868, Fax: 470-1633, E-mail: ychoi@www.amc.seoul.kr

이 논문은 1998년도 보건복지부 보건의료기술 연구개발과제(뇌의약학분야; 관리번호: HMP-98-N-2-0027)의 지원으로 이루어졌음.

서 론

1980년 Furchgott와 Zawadzki¹⁾에 의해 내피의존성 혈관이완 반응이 보고된 이후 혈관내피세포가 EDRF (endothelium-derived relaxing factor)를 생성하여 혈관 평활근을 이완시키고 이 물질은 nitric oxide (NO)나 이의 유연 물질임이 알려졌다.²⁾ 최근에는 NO가 혈관내피, 분비조직, 신경조직 등 신체의 여러 조직에서 존재하여,³⁾ 혈관 확장, 혈소판 응집 억제, 신경 전달, 면역 조절, 음경의 발기, 통증 등 다양한 생리적 과정에 관여한다고 보고되었다.⁴⁾

한편 염증은 상처나 자극에 대한 살아있는 조직의 반응으로 발적, 부종, 통증, 열감 등으로 나타난다.⁵⁾ 염증이 생기면 상처부위와 주변부위에서 염증 유도 물질(예컨대, interleukin-1, tumor necrosis factor, lipopolysaccharide, histamine, bradykinin, prostaglandin E₂)이 유리되고 이는 NO를 생성하는 NO synthase (NOS)라는 효소의 발현을 촉진시켜 결과적으로 NO의 생성을 증가시킨다.^{6~8)} 염증 부위에서 생성된 NO는 혈관확장, 신경전달체계 및 염증세포의 기능 뿐 아니라⁶⁾ 통각도 관여할 수 있음이 밝혀졌다.^{9~12)} 하지만 염증성 통증에서 NO가 통각을 유발시키는지 아니면 억제시키는 지에 대해서는 일치된 연구 결과들을 보이고 있지 못하다.^{9~11)}

본 연구실에서는 이전의 실험을 통하여 Freund's complete adjuvant (FCA)에 의해 유발된 염증유도 기간 중에 투여한 NOS억제제인 nitro^G-L-arginine methyl ester (L-NAME)이 말초에서 기계적 통각과민을 억제함을 보고하였다.¹³⁾ 이와 연계하여 이번 연구에서는 FCA를 주입하여 염증이 유발된 후 말초 주입된 L-NAME이 기계적 통각과민에 미치는 효과를 알아보는 것을 목적으로 일련의 연구를 계획하였다.

대상 및 방법

1) 실험재료 및 방법

(1) 실험 재료: 실험 동물로는 실험실 도막시 6~8 주령(200~250 g) 숫놈 백서(Sprague-Dawley)를 사용하였다. 실험에 사용될 백서는 사육실에 도착한 후 1주일 이상 새 환경에 적응하게 하였으며, 12시간 (오전 6:00~오후 6:00)의 광주기성을 유지시켰다.

쥐들은 실험에 들어가기 전 일주일 동안 본 실험과 동일한 행동학적 검사를 3번이상 실행하여 미리 실험 상황에 익숙하게 만들었다.

(2) 염증 유발: 염증 유발 시약으로는 Freund's complete adjuvant (Sigma Chemical Co., USA)를 이용하였다. 혼련시킨 백서를 30분간 실험실 환경에 적응시킨 후 2% halothane-O₂로 마취하여 쥐의 righting reflex가 소실되는 즉시 오른쪽 뒷발바닥 중간부분에 FCA 0.15 ml를 26 G tuberculin syringe를 이용하여 주입한 후 마취에서 자연적으로 깨게 하였다. 이런 경우 쥐들은 대개 5분 이내에 운동기능의 완전한 회복을 보였다.

(3) 통각 측정법: 기계적 자극에 대한 통각과민을 측정하기 위하여, 쥐의 크기에 맞게 준비된 억제물을 준비하였다. 억제물은 적당한 크기의 실내화에 쥐의 발이 빠져나올수 있도록 1×4 cm의 크기의 구멍을 내어 만들었다. 기계적 자극에 대한 통각과민은 automated Randall-Sellito algometer (Ugo Basile, Italy)를 이용하여 회피 역치를 측정하였다. 이 기계와 함께 제공된 자극용 probe는 끝이 뾰족하여 염증 발생후 부종이 생긴 발에 적용시켰을 때 염증초반에는 손으로 눌렀을 때 아파하는 쥐들에게서도 높은 회피 역치를 보여서 좀더 넓은 자극 장치가 필요한 것으로 판정되어 지름 0.8 cm 정도의 반구형으로 제작하여 측정에 이용하였다. 그 결과 염증초기에도 일정하게 통각과민을 측정할 수 있어 실험에 계속 이용하도록 하였다. 쥐의 발의 네 곳의 일정한 부위를 정하여 1) 발등, 2) 5번째 중족골 말단(distal metatarsal), 3) 3~4번째 중족골 말단, 4) 2번째 중족골 말단 부위를 자극한 후 쥐가 회피반응을 보일 때의 기계상에 표시된 수치를 당시의 회피 역치로 삼았다. 1회의 시행에서 양발을 번갈아서 시행하였으며 양발에서 4곳씩의 자극이 끝난 후 4회의 회피 역치의 평균값을 그 측정시의 해당 발의 회피 역치 값으로 삼았다. 측정 방법에 약간의 변형이 있었으므로 측정 환경에서의 기계적 통각과민의 time course를 재확인하는 것이 필요하므로 FCA주입 6시간, 1, 2, 3, 4, 7일, 2주, 4주, 8주 후에 각각 기계적 통각과민의 정도를 측정하였다.

(4) L-NAME이 염증유발 쥐의 통증에 미치는 영향: 백서 발바닥에 FCA를 주입했을때 생기는 통각과민 반응에 NO가 작용하는지 알아보기 위하여 NO

synthase inhibitor인 L-NAME (Sigma Chemical Co., USA)을 주입한 후 통각을 측정하였다. 염증발생 후 기계적 통각과민의 시간에 따른 변화를 알아본 선행 실험을 통하여 염증유도 2일에 가장 통각과민이 심한 것으로 나타났으므로, FCA주입 2일 후에 측정하는 것으로 정하였다. 마취한 상태에서 L-NAME을 용량을 달리하여(0.1 mg, 1 mg, 10 mg/0.1 ml) 염증 유발 부위의 발등과 발바닥에 각각 0.1 ml씩 주사한 15, 30, 60, 90, 120분 후 통각을 측정하였으며, 대조군은 생리식염수를 0.1 ml씩 주입하여 측정하였다. 이때 약물 주입과 측정은 실험자가 결과에 대한 영향을 주지 않도록 맹검적으로 실시하였다.

(5) L-NAME이 정상 쥐의 통증에 미치는 영향: FCA에 의해 염증이 유발된 조직에 L-NAME를 주입했을 때 생기는 진통효과가 염증에 의해 생성된 NO를 억제하여 나타난 결과인지 알아보기 위해 정상 쥐의 발바닥에 L-NAME를 주입한 후 통각을 측정하였다. 먼저 정상 쥐의 기계적 자극에 대한 회피 역치를 측정하여 기저치로 삼은 후, 마취한 상태에서 L-NAME 10 mg을 오른쪽 뒷발의 발등과 발바닥에 각각 0.1 ml씩 투여한 15, 30, 60, 90, 120분 뒤 통각을 측정하였으며, 대조군은 생리식염수를 0.1 ml씩 주입하여 측정하였다. 이때 약물 주입과 측정은 실험자가 결과에 대한 영향을 주지 않도록 역시 맹검적으로 실시하였다.

(6) 통계처리: 약물 처리한 군들간의 비교는 분산 분석 후 Duncan의 다중 비교법을 이용하였고, 정상 쥐에서 군들간의 비교는 unpaired t-test를 시행하였으며, p값이 0.05 미만일 경우 유의한 것으로 간주하였다. 모든 data는 평균±표준오차로 나타내었다.

결 과

발바닥에 FCA를 주입한지 12시간 안에 발바닥에 부종과 발적이 관찰되었다. 주사한 발바닥이 주사하지 않은 반대쪽 발바닥보다 부피가 훨씬 증가하였으며 주사한지 2일간은 염증이 유발된 발을 바닥에서 떼고 있음이 관찰되었다.

1) FCA에 의해 유발된 염증에서의 기계적 통각과민의 시간에 따른 변화

기계적 자극에 대한 회피 역치는 주입 전의 역치

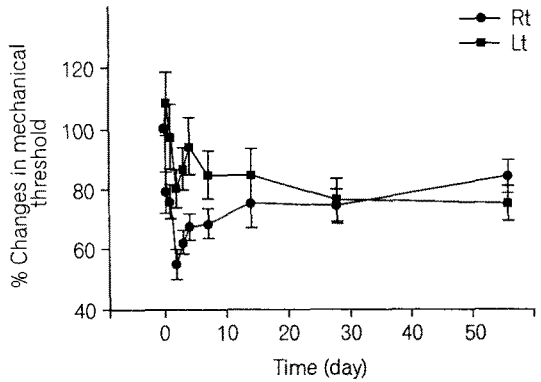


Fig. 1. Time course of mechanical hyperalgesia after FCA injection into the hindpaw of rats. Freund's complete adjuvant (FCA) was injected intraplantarly (0.15 ml) in right hindpaw (n=10). Paw withdrawal thresholds to measure mechanical hyperalgesia were measured using Randall-Sellito test at 6 hr, and 1, 2, 3, 4, 7, 14 days, and 4, 8 weeks after injection. Data are presented as '% changes in paw withdrawal threshold' of each paw, and baseline data was measured just prior to FCA injection.

값을 기저치로 삼고 FCA주입 후 측정치를 기저치에 대한 비율(%)로 표시하였다. FCA주입 후 6시간과 24시간 후는 각각 78.9 ± 6.8 , 75.9 ± 5.6 였고 2일 후에는 55.3 ± 5.0 로 역치값이 가장 낮았으며, 3, 4, 7, 14일 후에는 각각 62.5 ± 3.9 , 67.6 ± 4.4 , 68.8 ± 4.9 였으며, 4주, 8주 후에는 각각 74.5 ± 5.5 , 84.3 ± 5.5 로 통각과민 반응이 시간이 갈수록 역치값이 높아졌으나 실험 8주 동안 통증이 완전히 없어지지 않았음을 알 수 있었다(Fig. 1).

2) L-NAME이 염증유발 쥐의 통증에 미치는 영향

실험 1)의 결과에 의존하여 FCA로 염증을 만든 2일 후 통증이 극에 도달할 때 기계적 자극에 대한 회피 역치를 측정하여 그 값을 기저치로 삼고 L-NAME를 주입한 후 측정치를 기저치에 대한 비율(%)로 표시하였다. 염증 유발 쥐에 L-NAME 10 mg을 투여한 군은 15, 30, 60, 90, 120분 후 각각 160.8 ± 8.9 , 164.2 ± 11.3 , 140.5 ± 11.3 , 124.3 ± 11.0 , 119.7 ± 11.3 로 대조군의 113.6 ± 10.2 , 103.5 ± 7.4 , 114.9 ± 10.4 , 101.9 ± 8.1 , 97.2 ± 8.7 와 비교해볼 때 15, 30분에서 통각과민의 역치가 유의하게 증가하였고, 1 mg을 투여

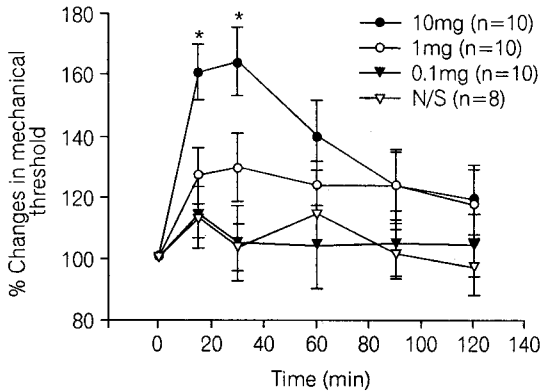


Fig. 2. Effect of nitro^G-L-arginine methyl ester (L-NAME) on the FCA induced hyperalgesia. Experiments were performed 2 days after the injection of FCA, during which time degree of mechanical hyperalgesia is at its peak. Thirty-eight rats were divided into four groups. Rats in control group received normal saline (0.1 ml) intraplantarly. Three different doses of L-NAME were injected to the remaining three groups (0.1, 1, 10 mg/0.1 ml) intraplantarly. Drugs were given after the measurement of baseline data. Data are presented as '% changes in paw withdrawal threshold' of each paw. Mechanical hyperalgesias were measured at 15, 30, 60, 90, 120 minutes after injection. *: significantly different from N/S group (P<0.05).

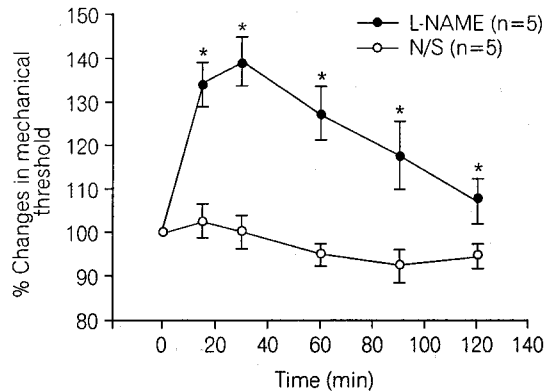


Fig. 3. Effect of L-NAME on the normal rat. Ten rats were divided into two groups. Rats in control group received normal saline (0.1 ml) intraplantarly. Rats in L-NAME (10 mg/0.1 ml) intraplantarly. Drugs were given after the measurement of baseline data. Data are presented as '% changes in paw withdrawal threshold' of each paw. Mechanical hyperalgesias were measured at 15, 30, 60, 90, 120 minutes after injection. Data are Mean ± SEM. *: significantly different from N/S group (P<0.05).

한 군은 각각 127.1±9.1, 129.8±11.2, 124.3±8.0, 123.9±12.0, 118.1±11.5로 모든 시간대에서 대조군에 비해 통각과민역의 역치가 증가하는 경향을 보였으나 통계학적으로 유의한 차이를 보이지는 않았다. 또한 0.1 mg을 투여한 군도 115.3±8.2, 105.0±12.2, 103.9±13.5, 105.3±10.7, 104.9±10.3로 모든 시간대에서 대조군과 유의한 차이가 없었다(Fig. 2).

3) L-NAME이 정상 쥐의 통증에 미치는 영향

정상 쥐에 L-NAME 10 mg를 주사한 후 15, 30, 60, 90, 120분 뒤 기계적 통각과민을 측정 한 결과 각각 133.8±5.0, 139.1±5.6, 127.2±6.2, 117.6±7.8, 107.1±5.1로, 대조군 102.6±3.9, 100.2±3.8, 94.9±2.5, 92.3±2.9, 94.5±2.8과 비교할 때 모든 시간대에서 통각과민역의 역치가 유의하게 증가하였다(Fig. 3).

고 찰

염증성 통증 연구를 위해 여러 종류의 염증유발 물질을 피하여 주입하여 통증을 유발시킨 동물 모델을 만들었는데 특히 FCA는 formalin, carageenin, mustard oil 등과 같은 염증 유발 물질에 비해 주입 부위에 주로 한정되어 발적, 부종, 통각과민 등의 염증 반응이 유발되는 특징이 있다. 또한 FCA를 쥐 발바닥에 주입할 시 염증반응에 수반하여 통각행동이 유도되며 이 염증성 통증행동은 장기적으로 지속됨이 관찰되었다.¹⁴⁾ 이러한 모델 쥐에서 관찰된 통증행동의 유도 및 진전 상황은 염증질환성 만성통증 환자의 경우와 흡사한데, 이는 FCA에 의한 염증모델이 다른 염증모델에 비하여 만성 염증성 통증의 유발 기전을 연구하는데 있어서 특히 좋은 모델임을 시사한다. 본 실험에서 사용한 FCA는 T-cell mediated delayed type의 과감작을 유발하며¹⁵⁾ 다수의 면역 및 거식세포가 활성화되어 NOS를 유도하여 NO를 생성시킬 수 있어 염증에 의해 유발된 통각과민에서 NO의 역할을 연구하는데 좋은 모델이 될 수 있다.

본 연구에서 염증에 의한 통각반응에 NO가 관여하는지를 NOS억제제인 L-NAME을 이용하여 2가지로 실험하였다. 먼저 FCA를 주입하여 염증을 유발시킨 후 L-NAME을 염증유발 부위에 주입하여 통각을 실험하였다. 그 결과 Fig. 2에서 보는 바와 같이 고농도의 L-NAME주입시 대조군과 유의하게 역치값이 증가함을 보였다. 두번째 실험은 L-NAME의 진통작용이 염증조직에서만 나타나는 현상인지 알아보기 위해서 정상 쥐에서 같은 실험을 한 결과 Fig. 3에서 보는 바와 같이 진통작용을 나타내었다. 두 실험의 결과를 종합하여 볼 때 염증이 유발된 조직에서 L-NAME의 진통효과가 염증유발 조직에서 NO의 생성을 차단시킨 결과라고 단정하기는 어려움을 알 수 있었다.

NO는 bradykinin,¹⁶⁾ histamine¹⁷⁾ 등의 염증 유발 물질에 의하여 혈관 내피에서 분비된다. Endotoxin, cytokine, leukotriene B₄, interferon gamma, lipopolysaccharide나 tumor necrosis factor 등과 같은 chemotactic factor는 면역세포, 거식세포들을 유인할 수 있고, NOS를 유도함으로써 NO를 증가시킬 수 있다.⁷⁾ 말초 조직에서 NO-cGMP경로가 bradykinin, substance P, phosphase A₂, carrageenin 등에 의해 유도된 염증성 부종의 형성에 관여한다는 보고도 있으며,¹⁶⁻²¹⁾ NO가 관절염의 주된 병태생리에 관여함도 제시된 바 있다.⁷⁾

최근에는 염증 발생시 NO가 통각에도 관여할 수 있음이 밝혀졌다.⁹⁻¹²⁾ 즉, NOS길항제를 투여하여 NO의 생성을 억제시킬 경우 염증 정도가 감소하고 염증에 의해 유도된 신경 활동성 역시 감소함이 관찰되었는데^{12,18)} 이는 NO가 염증유발 뿐만 아니라 통증유발에도 관여함을 나타낸다. Nakamura^등²²⁾도 NO-cGMP경로가 bradykinin유도의 통각과민에 관여하며 말초에서 유도된 기계적 통각과민에 중요한 역할을 한다고 하였다. 한편 일부 연구자들은 NO가 염증 발생시 말초에서 arginine-NO-cGMP경로가 침해 수용체를 길항하거나 아편양제제의 작용을 촉진시켜 제통작용에 관여할 수 있다고 주장하여⁹⁻¹¹⁾ 말초 부위에서 NO의 염증성 통증에 대한 효과에 대해서는 아직 논란의 대상이 되고 있다.

본 연구실에서도 FCA를 이용하여 염증을 유발시킨 쥐로 통증에 관한 실험을 진행해 왔으며, 이전 실험에서는 염증유도 시기 동안 NOS의 억제가 기계

적 통각과민을 억제하는지에 대하여 알아 본 바 있다. 이 실험을 통하여 FCA 주입 4시간 및 2시간 전, 주입 직전, 주입 3, 6, 9, 12시간 후 NOS생성 억제제인 L-NAME을 국소적으로 투여하였을 때 통각과민을 억제하였고, L-NAME을 전신적으로 투여했을 시는 통각과민이 억제되지 않은 것으로 보아 염증유도 시기에 주입된 L-NAME이 말초에서 기계적 통각과민을 억제하는 작용이 있음을 알았다.¹³⁾

본 연구는 FCA를 주입하여 염증이 유발된 후 말초에 주입된 L-NAME이 기계적 통각과민에 미치는 효과를 알아보고자 시행되었다. FCA주사 2일 후 L-NAME을 염증부위에 투여한 결과 고농도(10 mg)에서 대조군과 유의하게 통각과민이 억제됨을 알 수 있었다. 하지만 정상 조직에 동량의 L-NAME을 투여하여 통각과민을 측정된 결과 역시 진통효과를 보였다. 두 실험 결과를 비교하였을 때 염증 유발 조직에서의 L-NAME의 진통작용의 정도가 정상조직에서보다 컸지만 유의한 차이를 보이지는 않았다. 이것은 여러 가지로 생각할 수 있다. 첫째, 정상조직에서도 NO가 생성되기 때문이다. 하지만 이것이 통증유발에 관여하는지는 확실치 않다. 둘째, 적은 정도지만 주사에 의한 염증반응에 의한 NO의 생성과 이에 의한 통각과민을 L-NAME이 억제했을 가능성이 있을 수 있다. Fig. 2와 3에서 보는 바와 같이 염증유발 조직에서 L-NAME의 진통작용이 약간 컸지만 유사한 양상을 볼 수 있다. 셋째, 국소마취 작용 등과 같은 L-NAME의 감각신경에 대한 비특이적인 작용 가능성이 있을 수 있다. 그러므로 정확한 원인의 규명을 위해서 보완 연구가 필요하겠다.

이상의 결과로부터 FCA로 염증을 유발시킨 후 NOS억제제인 L-NAME을 염증 유발 부위에 주입했을 시 진통효과를 나타냄을 확인하였다. 그러나 이러한 진통효과의 기전이 NO의 생성 억제에 국한된 것인지를 명백히 규명하기 위하여는 다른 일련의 연구가 필요한 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

- 1) Furchgott RF, Zawadzki JV: The obligatory role of endothelial cells in the relaxing of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980; 288: 373-6.
- 2) Shepherd JT, Katusic ZC: Endothelium-derived vaso-

- active factors: Endothelium-dependent relaxation. Hypertension 1991; 18(5 Suppl): III76-85.
- 3) Brecht DS, Hwang DM, Snyder SH: Localization of nitric oxide synthase indicating a neural role for nitric oxide. Nature 1990; 347: 768-70.
 - 4) Stamler JS, Singel DJ, Localzo J: Biochemistry of nitric oxide and its redox-activated forms. Science 1992; 258: 1898-902.
 - 5) Higgs GA, Moncada S, Vane JR: Eicosanoids in inflammation. Ann Clin Res 1984; 16: 287-99.
 - 6) Brecht DS, Snyder SH: Nitric oxide, a novel neuronal messenger. Neuron 1992; 8: 3-11.
 - 7) Stefanovic-Racic M, Stadler J, Evans CH: Nitric oxide and arthritis. Arthritis Rheum 1993; 36: 1036-44.
 - 8) Lowenstein CJ, Dinerman JL, Snyder SH: Nitric oxide: a physiologic messenger. Ann Intern Med 1994; 120: 227-37.
 - 9) Duarte IDG, Lorenzetti BB, Ferreira SH: Peripheral analgesia and activation of nitric oxide-cyclic GMP pathway. Eur J Pharmacol 1990; 186: 289-93.
 - 10) Ferreira SH, Duarte IDG, Lorenzetti BB: The molecular mechanism of peripheral morphine analgesia: stimulation of cGMP system via nitric oxide release. Eur J Pharmacol 1991; 201: 121-2.
 - 11) Duarte IDG, Santos IR, Lorenzetti BB, Ferreira SH: Analgesia by direct antagonism of nociceptor sensitization involves the arginine-nitric oxide-cGMP pathway. Eur J Pharmacol 1992; 217: 225-7.
 - 12) Haley JE, Dickenson AH, Schachter M: Electrophysiological evidence for a role of nitric oxide in prolonged chemical nociception in the rat. Neuropharmacology 1992; 31: 251-8.
 - 13) Lee C, Choi Y, Song MH, Leem JW, Lee DM, Srinivasa NR: L-NAME inhibits hyperalgesia induced by Freund's complete adjuvant in rat paw. J Korean Pain Soc 1998; 11: 194-200.
 - 14) Stein C, Millan MJ, Herz A: Unilateral inflammation of the hind paw in rats model of prolonged noxious stimulation: alterations in behavior and nociceptive thresholds. Pharm Biochem & Behavior 1988; 31: 445-51.
 - 15) Stoerk HD, Bienlinski TC, Budzelovich T: Chronic polyarthritis in rats injected with spleen in adjuvants. Am J Pathol 1954; 30: 616.
 - 16) Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S: Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium derived relaxing factor. Nature 1987; 327: 524-6.
 - 17) Sakuma I, Stuehr DJ, Gross SS, Nathan C, Levi R: Identification of arginine as a precursor of endothelium derived relaxing factor. Proc Natl Acad Sci USA 1988; 85: 8664-7.
 - 18) Ialenti A, Iannaro A, Moncada S, DiRosa M: Modulation of acute inflammation by endogenous nitric oxide. Eur J Pharmacol 1992; 211: 177-82.
 - 19) Coderre TJ, Melzack R: The contribution of excitatory amino acids to central sensitization and persistent nociception after formalin induced tissue injury. J Neurosci 1992; 12: 3665-70.
 - 20) Meller ST, Gebhart GF: Nitric oxide and nociceptive processing in the spinal cord. Pain 1993; 52: 127-36.
 - 21) Ferreira SH: Inflammatory pain: the role of cytokines and its control by drugs which release nitric oxide. Annali Dell Instituto Superiore Di Sanita 1993; 29: 367-73.
 - 22) Nakamura A, Fujita M, Shiomi H: Involvement of endogenous nitric oxide in the mechanism of bradykinin-induced peripheral hyperalgesia. Br J Pharmacol 1996; 117: 407-12.