

L-NAME에 의한 쥐의 발바닥에서 Freund's Complete Adjuvant에 의해 유발된 통증 억제

울산대학교 의과대학 마취과학교실, ¹연세대학교 의과대학 생리학고실

²Department of Anesthesiology/Critical Care Medicine, Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, U.S.A.

이 청·최 윤·송명희·임중우¹
이동명·Srinivasa N. Raja.²

= Abstract =

L-NAME Inhibits Hyperalgesia Induced by Freund's Complete Adjuvant in Rat Paw

Cheong Lee, M.D., Yoon Choi, M.D., Myung Hee Song, M.D.
Joong Woo Leem, M.D.¹, Dong Myung Lee, M.D.
and Srinivasa N. Raja, M.D.²

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

¹Department of Physiology, University of Yonsei College of Medicine, Seoul, Korea.

²Department of Anesthesiology/Critical Care Medicine,
Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, U.S.A.

Background: Effect of nitric oxide on the hyperalgesia induced by inflammation is controversial. We attempted to find out the peripheral effects of nitric oxide (NO) on hyperalgesia induced by Freund's complete adjuvant (FCA) induced inflammation.

Methods: Male Sprague Dawley rats were divided into three groups; control, low dose NG-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME, 500 ug), high dose L-NAME (5 mg). Inflammation was induced by injecting 0.1 ml of FCA intraplantarly, which shows typical hyperalgesia within twelve hours after injection and maintained for about one week. Drugs were injected 2 hours before, just before, and 3, 6, 9, 12 hours after the injection of FCA. Effect of L-NAME on hyperalgesia was assessed by measuring mechanical hyperalgesia and spontaneous pain for 3 days.

Results: When injected at the site of inflammation, L-NAME caused dose dependent reduction of spontaneous hyperalgesia. Mechanical hyperalgesia was also reduced by high dose L-NAME ($p < 0.05$). After systemic injection of high dose L-NAME in the back, no significant difference was noticed.

Conclusions: This suggest that L-NAME reduces FCA induced hyperalgesia via peripheral action.

Key Words: L-NAME. Nitric oxide. Pain: hyperalgesia.

서 론

염증은 혈관확장, 혈액삼출, 염증세포의 이동, 통

*본 연구는 아산 생명과학연구소 연구비에 의해 이루어 졌음.

각 수용체의 감각 등에 의하여 발적, 부종, 열감, 통증 등을 수반하는 일련의 증후군이다. 사람에게 있어서는 류마치스성 관절염, 세균감염 및 그밖의 염증 질환이 만성적인 통증의 발현에 영향을 미친다. 만성통증이 있을 경우 환자는 통증 자체에 의한 고통뿐 아니라 정신적 및 사회적 고통도 함께 동반되기

때문에 즉각적이고 적극적으로 치료되어야 함에도 불구하고 이 질병에 대한 효과적인 치료법이나 치료약제의 결핍으로 치료에 어려움을 겪고 있는 실정이다.

염증이 생기면 염증 유도물질(예컨대, interleukin-1, tumor necrosis factor, lipopolysaccharide 등)이 유리되고 이는 L-arginine을 기질로 사용하여 nitric oxide (NO)를 생성하는 nitric oxide synthase(NOS)라는 효소의 발현을 촉진시켜 결과적으로 NO의 생성을 증가시킨다.¹⁻³⁾ 체내에서 생성된 NO는 혈관확장, 신경전달체계 및 염증세포기능 등에서 여러 가지 생리현상에 관여하는데,¹⁾ 최근에는 통각에도 관여할 수 있음이 밝혀졌다.⁴⁻⁷⁾ 즉 NOS 길항제를 투여하여 NO 생성을 억제시킬 경우 염증정도가 감소하고 염증에 의해 유도된 신경활동성 역시 감소함이 관찰되었는데,^{7,8)} 이는 NO가 염증 유발 뿐 아니라 통증 유발에도 관여할 것임을 시사한다. 한편 일부 연구자들은 NO가 염증발생 시 말초에서 아편양제제의 작용을 촉진시켜 제통작용에 관여할 수 있다고 주장하였다.⁴⁻⁶⁾ 따라서 말초 염증부위에서 NO의 염증성통증에 대한 효과에 대해서는 아직 논란의 대상이 되고 있다.

본 연구는 쥐의 발바닥에 Freund's complete adjuvant(FCA)를 주입함으로써 생기는 염증 반응과 통각과민 현상을 재현해보고, 통각과민에 대한 말초에서 NO의 작용을 NO synthase inhibitor인 NG-nitro-L-arginine methyl ester(L-NAME)를 주입 한 후의 행동학적 변화를 측정함으로써 연구하고자 하였다.

대상 및 방법

1) 실험 1: 염증모델의 재현

(1) 동물모델 제작 및 실험군의 처치: 체중 100~150 gm의 숫놈 흰쥐(Sprague-Dawley) 10마리를 사용하였다. 실험에 이용될 쥐들은 검사 시작 1주일 전에 사육실에 도착하여 새 환경에 적응하게 하였다. 쥐들은 실험에 들어가기에 앞서 실험 3일 전부터 본 실험에서와 동일한 행동학적 검사를 시행하여 미리 실험 상황에 익숙하게 만들었다. FCA 주입 하루 전에 행동학적 검사를 시행하여 기저치로 삼았다. FCA는 2% halothane, O₂ 마취하에 왼쪽 뒷발의 1-2 족지간에 FCA 0.1 ml를 26G tuberculin syringe를 이용하여

주입한 후 쥐가 마취에서 자연적으로 깨게 하였다. 이럴 경우 쥐들은 대개 30분 이내에 완전한 회복을 보였다. FCA 주입 12시간, 24시간, 2, 3, 7일 후 행동학적 검사를 실시하여 통각과민의 재현 여부를 확인 하였다.

(2) 행동학적 검사: 기계적 자극에 대한 통각과민을 측정하기위하여, 쥐들을 철망위에 놓인 투명한 플라스틱 용기(8×8×18 cm)내에 위치 시키고 von Frey filament를 이용하여 철망을 통하여 쥐 발바닥을 자극하였다. 쥐 발바닥의 일정한 지점(염증생긴 발에서 기계적 자극에 가장 민감한 부위인 2-3, 3-4, 4-5 발가락 사이)을 선정하여 von Frey filament를 낮은 것부터 순차적으로 적용하여 기계적 자극에 대한 쥐 발의 회피 역치를 조사하였다. 각 발에 대하여 1초 간격으로 3회 자극하였을 때 2회 이상 발의 회피 반응을 보일 때의 von Frey filament의 압력(bar)을 그 시기의 회피 역치로 삼고, 각 발에 대하여는 같은 방법으로 3회 반복하여 그 평균을 기계적 자극에 대한 회피 반응의 역치로 삼았다. 자발성 통각과민은 섭씨 30도로 유지되는 동판위에 위치된 플라스틱 용기내에 쥐를 위치시킨 후 보이는 회피반응을 측정함으로써 조사하였다. 동판은 바닥에 동판을 부착하여 일정한 온도의 액체가 관류되어 동판의 온도가 일정하게 유지되도록 제작되었으며 섭씨 30도로 유지시켜 관찰자가 만졌을때 따스하면서 불쾌감을 느끼지 않았다. 쥐는 검사 시작 전 5분간 동판 위의 플라스틱 용기 내에 위치시켜 환경에 적응시킨 후, 다음 5분간의 회피반응을 보이는 시간을 측정함으로써 그 시기의 자발성 통각 과민의 정도로 삼았다.

2) 실험 2: 염증 부위에 주사된 L-NAME의 통각과민에 대한 효과

(1) 동물모델 제작 및 실험군의 처치: 실험군은 low dose L-NAME(500 ug; n=9, LL), high dose L-NAME (5 mg; n=9, LH), control(normal saline, pH 7.4; n=18, NS)으로 나누고 약의 준비는 주입, 검사자가 아닌 다른 사람에 의하여된 후 기록되어 맹검적인 실험이 되도록 하였다. 모든 약제는 대조군으로 사용된 것과 동일한 것을 용매로 사용하였다. 실험 전, 쥐들은 번호가 매겨지고 각 쥐마다 다른 약들이 같은 횟수로 투여 될 수 있도록 미리 표를 만든 후 다른 실험자에 의하여 약이 투여됨으로써 맹검적인 실험이 되도록

록 하였다. 기저검사(baseline test)는 FCA 주사 하루 전에 시행되었다. FCA 주입 4시간 및 2시간 전, 주입 직전, 주입 3, 6, 9, 12시간 후에 계획된 약제가 반복 주입되었다. 모든 약제의 주사는 마취 유도용기 내에서 2% halothane, O₂로 가볍게 마취한 후 쥐가 움직이지 않을 때 꺼내어 좌측 2,3 족지 간에 FCA는 100 μ l를, 다른 모든 실험 약제는 50 μ l를 26G 주사침으로 주사한 다음 쥐가 마취에서 자연적으로 깨게 하였다. 이럴 경우 쥐들은 대개 30분 이내에 완전한 회복을 보였다. 이 실험에서 사용된 약물의 용량이나 투여간격은 이전의 유사한 실험들의 결과를 토대로 결정되었다.^{4,7)}

(2) 행동학적 검사: 행동학적 검사는 FCA 주사 24시간전 및 12, 24, 48, 72시간 후에 시행되었다. 기계적 자극에 대한 통각 과민은 앞의 실험과 동일하게 시행 하였고, 자발성 통각 과민은 실험 1에서와는 달리 쥐가 아파하는 정도도 실험 결과에 반영 시키기 위하여 약간의 수정을 하였다. 자발성 통각과민을 측정하는 점수는 Coderre와 Melzack⁹⁾의 방법을 참고하여 정하였으며, 쥐가 아픈발을 털거나 핥을 경우 3점, 아픈발을 바닥에 대지 않고 공중에 들고 있을 경우 2점, 발의 일부만 대거나 아픈 발에 몸무게를 신지 않으려 할 경우 1점, 아픈 발바닥을 바닥에 고루 접촉하고 몸무게를 신고 있을 경우는 0점으로 하였다. 5분의 측정 기간 중 아픈 발을 들고있는 시간에 발을 드는 형태에 따른 점수를 곱하여 그 합을 구한 후 5분으로 나눈 평균점수를 채택하였다(Average Score = $\sum(\text{Elevation time} \times \text{score}) / 300 \text{ sec}$).

3) 실험 3: 약제의 전신적 효과의 판정

L-NAME의 전신적인 효과를 보기위해 실험군을 L-NAME(5 mg, 10마리), Control(normal saline, 8마리)로 나누어, 실험 약제를 FCA induced inflammation이 있는 쥐의 발바닥 대신 쥐 등의 피하에 주입한 후 실험 2와 같은 방법으로 실험하였다.

(1) 통계처리: 약제를 준 군들간의 비교는 분산 분석후 Duncan의 다중 비교법을 이용하였고, p값이 0.05 미만일 경우 유의한 것으로 간주하였다. 모든 data는 평균 +/- 표준오차로 나타내었다.

결 과

1) FCA에 의해 유발된 염증에 동반된 통각과민의 재현

자발성 통증에 의한 뒷발 거상 시간은 FCA 주입 12시간 후에 59.9±98.9초로 점차 증가하여 72시간 후에 165.2±128.8초까지 증가하다 7일 이후 15.5±24.68초로 감소하였다(Fig. 1-A). 기계적 자극에 대한 회피 역치는 FCA 주입 전 13.6±1.95에서 주입후 12시간, 1, 3, 7일 후에 각각 11.6±1.88, 10.1±1.11, 8.43±1.38, 8.03±0.87로 감소하였다(Fig. 1-B). 이상으로 FCA에 의해 쥐발바닥에 염증을 유발하여 자발성 통증에 대한 회피반응과 기계적 자극에 대한 회피 역치를 검사한 결과 통각과민을 재현할 수 있었다.

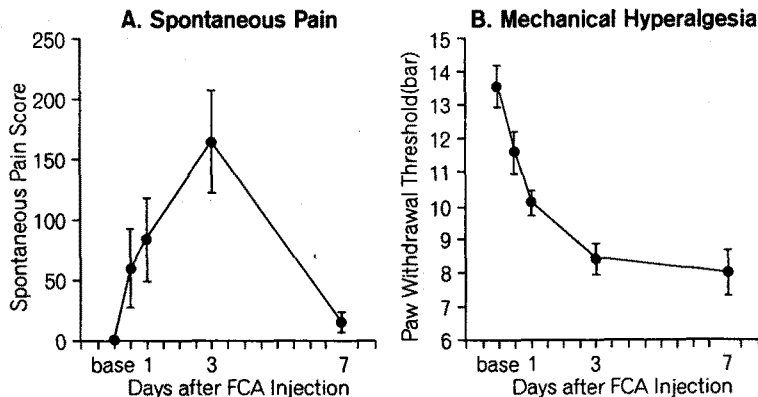


Fig. 1. Reproduction of hyperalgesia in FCA induced inflammation model.

2) 염증 부위에 주입된 L-NAME의 통각과민에 대한 효과

염증 유발전, 염증 유발 후 12, 24, 48, 72시간 후 행동학적 반응을 측정된 결과, 자발성 통증은 NS군에서 각각 0, 0.86+/-0.11, 1.61+/-0.62, 0.61+/-0.12, 0.67+0.11, LL군은 0, 0.57+/-0.17, 0.07+/-0.03, 0.42+/-0.10, 0.26+/-0.10, LH군은 0, 0.08+/-0.07, 0.01+/-0.0, 0.01+/-0.0, 0.13+/-0.08의 측정치를 보였으며, 기계적 자극에 의한 회피역치는 NS군에서 12.9+/-0.62; 4.34+/-0.72; 3.69+/-0.53; 3.46+/-0.21; 3.10+/-0.17, LL군은 12.3+/-0.63; 3.27+/-0.12; 3.86+/-0.50; 3.33+/-0.35; 2.85+/-0.21 LH군은 11.6+/-0.90; 4.82+/-0.64; 4.72+/-0.73; 3.80+/-0.58; 3.25+/-0.28의 측정치를 보였

다. 각 시간에 따른 통계 처리 결과, 자발성 통증에 대한 회피반응 시간은 FCA주입후 12, 48, 72시간에 NS군과 LL군에 비해 LH군이 유의한 감소를 보였으며 기계적 자극에 대한 회피 역치는 염증 유발 12 시간 후에는 LL군에 비해 LH군이 유의하게 증가되었고, 염증 유발 24시간 후에는 NS군에 비해 LH군이 유의하게 증가되었음을 알 수 있었다(Fig. 2). 이 상에서 FCA에 의해 염증이 유발된 쥐 발바닥에 L-NAME을 주입한 후 행동학적 검사를 한 결과 자발성 통증에 대한 회피 반응은 유의하게 감소 했으며 기계적 통각과민의 역치도 유의하게 증가하였다.

3) 전신적으로 투여된 L-NAME의 염증에 의해 유발된 통각과민에 대한 효과

염증 유발전, 염증 유발 후 12, 24, 48, 72시간 후

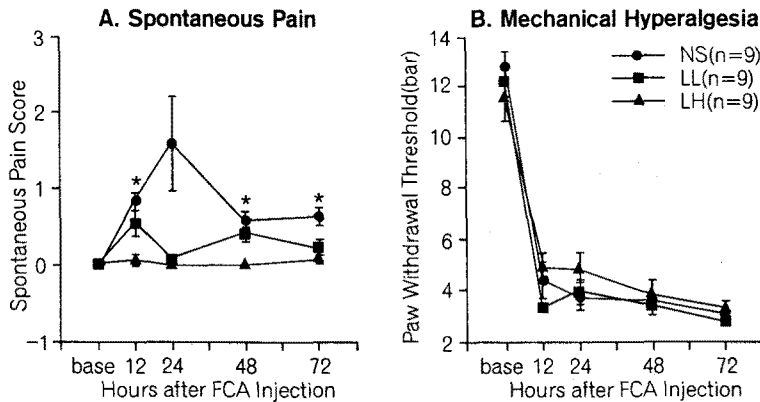


Fig. 2. Peripheral effect of L-NAME on hyperalgesia in FCA induced inflammatory model.

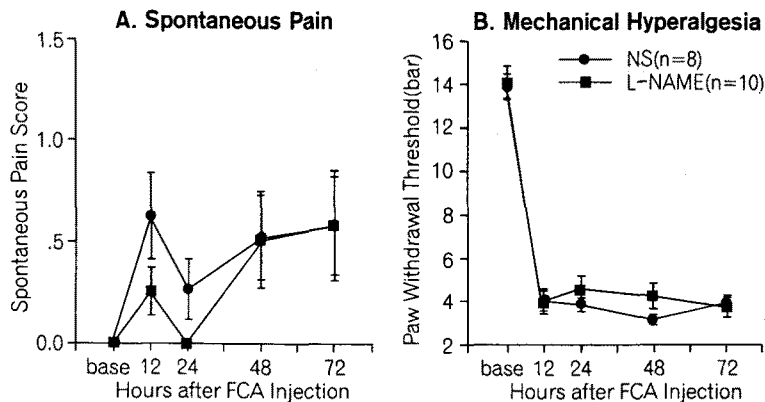


Fig. 3. Systemic effect of L-NAME on hyperalgesia in the FCA induced inflammation model.

행동학적 반응을 측정할 결과, 자발성 통증은 각각 NS군에서 0, 0.63+/-0.21, 0.27+/-0.15, 0.53+0.21, 0.59+/-0.24, L-NAME군은 0, 0.26+/-0.12, 0.0+/-0.0, 0.52+/-0.24, 0.59+/-0.27의 측정치를 보였으며, 기계적 자극에 의한 회피역치는 NS군에서 13.9+/-0.59; 4.1+/-0.51; 3.9+/-0.32; 3.2+/-0.23; 4.0+/-0.37, L-NAME군은 14.1+/-0.73; 4.0+/-0.51; 4.6+/-0.63; 4.3+/-0.56; 3.8+/-0.48의 측정치를 보였다. 각 시간에 따른 통계 처리 결과, 자발성 통증에 대한 회피반응 시간이나 기계적 통각과민의 역치는 군간에 유의한 차이를 보이지 않았다(Fig. 3). 이 상에서 L-NAME은 실험용량에서 전신적으로 유의한 제통작용을 보이지 못함을 알 수 있었다.

고 찰

염증은 발적, 부종, 통증, 열 등으로 특징지어진다. 통증은 염증의 중요한 동반 증상 중 하나이며, 특히 만성 통증에 동반될 시 환자에게 심각한 신체적, 정신적, 사회적 제약을 초래하게 된다.

최근 NO가 신체의 여러 조직에 존재함이 밝혀졌다.¹⁾ 통각과민은 주된 염증 증상의 하나이며, NO는 통증에 대하여도 중요한 역할을 함이 밝혀졌다.^{4-7,10)} Nitric oxide는 염증 발생시 혈관 내피세포, 면역세포, 감각된 통각신경 말단 등과 같이 여러 경로를 통하여 발생될 수 있다.

염증이 생기면 염증 유도물질(에켄데, interleukin-1, tumor necrosis factor, lipopolysaccharide 등)이 유리되고 이는 L-arginine을 기질로 사용하여 NO를 생성하는 NOS라는 효소의 발현을 촉진시켜 결과적으로 NO의 생성을 증가시킨다.¹⁻³⁾ 염증 부위에서 생성된 NO는 혈관확장, 신경전달체계 및 염증세포기능 등에서 여러 가지 생리현상에 관여한다.¹⁾ NO는 bradykinine,¹¹⁾ histamine¹²⁾ 등의 염증 유발 물질에 의하여 혈관 내피에서 분비되며, 이는 혈관 확장을 일으킬 수 있다. Endotoxin, cytokine, leukotrieneB₄, interferon gamma, lipopolysaccharide나 tumor necrosis factor 등과 같은 chemotactic factor는 면역세포, 거식세포들을 유인할 수 있고, NOS를 유도함으로써 NO를 증가시킬 수 있다.²⁾ 말초 조직에서 NO-cGMP 경로가 Bradykinin, substance P, phosphase A₂, carrageenin 등에 의해 유도된 염증성 부종의 형성에 관여 한다는 보고도

있으며,⁸⁻¹³⁾ NO가 관절염의 주된 병태생리에 관여함이 제시된 바도 있다.²⁾ 최근에는 NO가 통각에도 관여할 수 있음이 밝혀졌다.⁴⁻⁷⁾ 즉 NOS 길항제를 투여하여 NO 생성을 억제시킬 경우 염증 정도가 감소하고 염증에 의해 유도된 신경 활동성 역시 감소함이 관찰되었는데,^{7,8)} 이는 NO가 염증 유발 뿐 아니라 통증 유발에도 관여함을 시사한다. Nakamura등¹⁴⁾도 NO-cGMP 경로가 bradykinin 유도의 통각과민에 관여하며 말초에서 유도된 기계적 통각과민에 중요한 역할을 한다고 했다. 한편 일부 연구자들은 NO가 염증 발생시 말초에서 arginine-NO-cGMP 경로가 침해수용체를 길항하거나 아편양체제의 작용을 촉진시켜 제통 작용에 관여할 수 있다고 주장하였다.⁴⁻⁶⁾ 따라서 말초 염증 부위에서 NO의 염증성 통증에 대한 효과에 대해서는 아직 논란의 대상이 되고 있다.

염증성 통증의 발병 원인에 대한 연구를 위하여 여러가지 염증 유발 물질을 피하여 주입하여 통증을 유발시킨 동물 모델을 대상으로 진행되어 왔다. 특히 FCA는 다른 염증 유발 물질(에켄데, formalin, carageenin, mustard oil 등)에 비하여 주입 부위에 주로 한정되어 발적, 부종, 통각과민 등의 염증반응이 유발되는 특징이 있다. 또한 FCA를 쥐 발바닥에 주입할 시, 염증반응에 수반하여 통각행동이 유도되며 이 염증성 통증행동은 장기적으로 지속됨이 관찰되었다.¹⁵⁾ 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. 더욱이 본 실험에서 사용한 FCA는 T-cell mediated delayed type의 과감작반응을 유발하며¹⁶⁾ 다수의 면역 및 거식 세포가 활성화되어 NOS를 유도하여 NO를 생성시킬 수 있어 염증에 의해 유발된 통각과민에서 NO의 역할을 연구하는데 좋은 모델이 될 수 있다.

Stein등은 염증반응이 FCA 주입후 12시간에 걸쳐 생김을 보고한 바,¹⁵⁾ 염증에 동반된 NO의 발생도 처음 12시간 동안 유의하게 증가할 것임을 시사했다. 그렇다면 염증 유도 후 첫 12시간 동안 억제제를 주입할 경우 염증 유도기간 동안의 NO의 생성은 효과적으로 억제 될 것이며 NO에 의한 통각의 변화 현상도 더욱 두드러지게 나타날 것이므로 본실험에서는

FCA 주입 후 첫 12시간을 NO가 생성되는 중요한 시기로 잡고 이 기간동안의 NO 생성을 억제시키는데 중점을 두었다.

본 연구 결과에 의하면 NO 생성 억제제인 L-NAME을 염증부위에 국소적으로 투여한 결과 유의하게 통각과민이 억제되었으며, 전신적 투여시 통각과민이 억제되는 경향은 보였으나 통계적으로 유의한 차이를 보이지는 못하는 것으로 보아 NO는 염증에 의한 말초의 통각과민의 기전에 관여하여 통증을 강화시키는 역할을 하는 것으로 보인다.

L-NAME에 의한 통각과민의 완화 기전은 이론상 여러 가지로 생각할 수 있다.

첫째, vasoconstriction¹⁷⁾에 의하여 용적을 감소시켜 침해수용체의 recruitment¹⁸⁾를 감소시켰을 수도 있고, 둘째, 화학중개물질을 줄여 침해수용체의 감작을 감소시켰을 수도 있으며,¹⁹⁾ 셋째, 중추성 감작을 감소⁷⁾시켰을 것 등으로 설명될 수 있고 NO가 직접적으로 침해수용체에 작용하여 통각과민을 일으키는 것을 방지하였을 가능성도 배제할 수는 없으나 정확한 원인의 규명을 위하여는 좀 더 체계적인 연구가 필요하겠다.

이상에서, 본 연구에서는 FCA에 의한 염증 유발 후 L-NAME을 염증 부위에 투여하였을 때는 유의하게 통각과민이 억제 되었으나, L-NAME을 전신적으로 투여하였을 때는 통각과민이 억제되지 않는 것으로 보아, L-NAME은 실험 용량에서 염증에 의해 유도된 통각과민시 말초에서 통각과민을 억제하는 작용이 있다고 말할 수 있다.

참 고 문 헌

- 1) Bredt DS, Snyder SH: Nitric oxide, a novel neuronal messenger. *Neuron* 1992; 8: 3-11.
- 2) Stefanovic-racic M, Stadler J, Evans CH: Nitric oxide and arthritis. *Arthritis and Rheumatism* 1993; 36(8): 1036-44.
- 3) Lowenstein CJ, Dinerman JL, Snyder SH: Nitric Oxide: a physiologic messenger. *Ann Intern Med* 1994; 120: 227-37.
- 4) Duarte IDG, Lorenzetti BB, Ferreira SH: Peripheral analgesia and activation of nitric oxide-cyclic GMP pathway. *E J Pharmacol* 1990; 186: 289-93.
- 5) Ferreira SH, Duarte IDG, Lorenzetti BB: The molecular mechanism of peripheral morphine analgesia: stimulation of cGMP system via nitric oxide release. *E J Pharmacol* 1991; 201: 121-2.
- 6) Duarte IDG, Santos IR, Lorenzetti BB, Ferreira SH: Analgesia by direct antagonism of nociceptor sensitization involves the arginine-nitric oxide-cGMP pathway. *E J Pharmacol* 1992; 217: 225-7.
- 7) Haley JE, Dickenson AH, Schachter M: Electrophysiological evidence for a role of nitric oxide in prolonged chemical nociception in the rat. *Neuropharmacology* 1992; 31(3): 251-8.
- 8) Talenti A, Ianaro A, Moncada S, DiRosa M: Modulation of acute inflammation by endogenous nitric oxide. *E J Pharmacol* 1992; 211: 177-82.
- 9) 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(9): 3665-70.
- 10) Meller ST, Gebhart GF: Nitric oxide and nociceptive processing in the spinal cord. *Pain* 1993; 52: 127-36.
- 11) Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S: Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987; 327: 524-6.
- 12) 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.
- 13) Ferreira SH: Inflammatory pain: the role of cytokines and its control by drugs which release nitric oxide. *Annali Dell Istituto Superiore Di Sanita* 1993; 29(3): 367-73.
- 14) Nakamura A, Fujita M, Shiomi H: Involvement of endogenous nitric oxide in the mechanism of bradykinin-induced peripheral hyperalgesia. *Br J Pharmacol* 1996; 117(3): 407-12.
- 15) 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.
- 16) Stoerk HD, Bienlinski TC, Budzelovich T: Chronic polyarthritis in rats injected with spleen in adjuvants. *Am J Pathol* 1954; 30: 616.
- 17) Gardiner SM, Compton AM, Kemp PA, Bennett T: Regional and cardiac haemodynamic effects of N(g)-nitro-L-arginine methyl ester in conscious, Long Evans rats. *Br J Pharmacol* 1990; 101: 625-31.
- 18) Cooper B: Contribution of edema to the sensitization

of high-threshold mechanoreceptors of goat palatal mucosa. *J Neurophysiol* 1993; 70(2): 512-21.

- 19) Inoue T, Fukuo K, Morimoto S, Koh E, Ogihara T: Nitric oxide mediates interleukin-1-induced prosta-

glandin E2 production by vascular smooth muscle cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1993; 194(1): 420-4.