

Original Article / 원저

## 桂枝芍藥知母湯이 Acetic Acid에 의한 통증에 미치는 영향

노희엽<sup>1</sup> · 김연섭<sup>1</sup> · 김도훈<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 가천대학교 한의과대학 해부경혈학교실, <sup>2</sup> 가천대학교 한의과대학 원전외과학교실

### The Effect of *Gyejakjimo-tang* on c-Fos Expression in Mice Model of Acute Pain

Hee-Youb Noh<sup>1</sup> · Youn-Sub Kim<sup>1</sup> · Do-Hoon Kim<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Anatomy-Pointology, College of Korean Medicine, Gachon University

<sup>2</sup> Department of Korean Medical Classics & History, Gachon University

#### Abstract

**Objectives** : We want to know the effect of *Gyejakjimo-tang* in mice model of acute pain.

**Methods** : We investigated writhing reflex in mice with acetic acid-induced abdominal pain using mice, we observed c-Fos protein expression by immunohistochemistry dyeing method in the paraventricular nucleus(PVN) and supraoptic nucleus(SON) of the hypothalamus.

**Results** : All of *Gyejakjimo-tang* treated group suppressed acetic acid-induced writhing response as acetic acid injection group, but in 100mg/kg *Gyejakjimo-tang* treated group and 200mg/kg *Gyejakjimo-tang* treated groups represented significance.

All of *Gyejakjimo-tang* treated groups(50, 100 and 200mg/kg *Gyejakjimo-tang*-treated group), Fos-positive cells in PVN significantly decreased as acetic acid injection group, and All of *Gyejakjimo-tang*-treated groups Fos-positive cells in SON significantly decreased as acetic acid injection group.

**Conclusions** : The present results showed that the mice pre-treated with the aqueous extract of *Gyejakjimo-tang* showed analgesic effect on acetic acid-induced abdominal pain.

---

**Key words** : *Gyejakjimo-tang*; pain; acetic acid; c-Fos

## 1. 서 론

桂枝芍藥知母湯<sup>1)</sup>은 《金匱要略·中風歷節病脈證并治》에 나오는 處方으로 '肢節疼痛, 身體尪羸, 脚腫如脫, 頭眩短氣, 溫溫欲吐' 등의 증상에 적용한다고 하였다. 몸 마디마디가 쭈시고 아프며, 몸이 마르고 약해지며, 다리가 붓고 감각이 둔해지고, 어지럽고 숨이 짧고 토하려는 병증을 치료할 때 쓰는 약으로 임상에서 빈용되는 관절 통증 적용 처방이어서 본 연구의 대상으로 삼게 되었다.

桂枝芍藥知母湯의 처방구성은 桂枝, 芍藥, 知母, 麻黃, 防風, 白朮, 附子, 甘草, 生薑이다. 이것은 관절염을 가진 환자에게 사용되어왔다<sup>1,2)</sup>.

통증은 가장 일반적 증상으로, 아편과 비스테로이드성 항염제(NSAIDs)와 같은 현재의 진통제는 부작용 때문에 유용하지 않다. 그러므로 부작용이 없으면서 진통 효능이 뛰어난 약을 찾는 것이 필수적이다.

아세트산의 복부 내 주입은 염증성과 내장통증의 연구를 위한 동물모델로 잘 알려져 있다<sup>3)</sup>. 복부 내장 통증은 복부의 수축으로 나타나기 때문에 진통약물 선별에 유용하다.

아세트산의 복강 내 주입에 의한 복부의 유해 자극은 위장운동의 신경조절을 외부에서 억제하는 활동에 의해 소화계의 폐색을 야기한다<sup>4)</sup>. CRF(Corticotrophin-releasing factor) 경로들은 CRF 길항제인 a-helical-CRF9-41의 중추신경 주입이 복막의 자극에 의한 장폐색을 제한하기 때문에 대부분 원심성 신경 가지에 포함된다<sup>5)</sup>. 41-residue neuropeptide인 CRF는 지속적인 스트레스로 야기되는 광범위하고 다양한 생리적인 반응들을 조정한다<sup>6,9)</sup>. 시상하부(PVN)는 쥐 뇌에 있어 CRF의 주된 근원이다<sup>10)</sup>.

신경활동의 지표인 c-Fos는 CRF를 포함한 펩티드

중추 또는 말초 주입뿐만 아니라 체피 혹은 내장 각각 자극들에 의하여 중추 신경계 신경들에서 신속하면서 순간적으로 발현된다<sup>11-17)</sup>. 아세트산의 복강 내 주입으로 시상하부의 실방핵(PVN, paraventricular nucleus)과 시삭상핵(SON, supraoptic nucleus)에서 발현되는 c-Fos는 면역세포화학적 방법에 의해 시각화 할 수 있다<sup>18)</sup>.

이에 저자는 桂枝芍藥知母湯의 진통 작용을 연구하기 위해, 생쥐의 복강에 아세트산을 주입하여 복통 유도하여 몸부림 반사를 조사하였고 시상하부의 실방핵과 시삭상핵에서 c-Fos 단백질 발현을 면역조직화학적 염색 방법으로 관찰한 바 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## II. 실험

### 1. 실험 동물

28-30g 무게의 수컷 ICR 생쥐들이 실험을 위해서 사용하였다. 실험의 진행들은 NIH(the National Institute of Health)와 Korea Academy of Medical Sciences의 동물 관리 지침을 따라서 이행했다.

동물들은 온도(섭씨 20 ± 2°C)와 낮밤주기(낮조건 아침 7-19시)가 유지되는 실험식조건 아래에서 길러졌으며, 음식과 물은 자유롭게 먹을 수 있게 하였다.

### 2. 약제 구성 및 검액 조제

桂枝芍藥知母湯의 구성 내용과 1첩의 용량은 아래와 같다(Table 1).

桂枝芍藥知母湯 물 추출물을 얻기 위해, 180g의 桂枝芍藥知母湯에 증류수를 넣고 2시간동안 90도의 열로 가해서 달인 다음 회전증발기(Eyela, Tokyo, Japan)와 건조기(Eyela, Tokyo, Japen)로 24시간 농축 건조하였다. 최종 32.5g(수분을 18.06%)는 고압 살균된 증류수로 필요한 농도로 희석하고, 사용 전 0.45µm 필터를 통과시켜 여과하였다.

Corresponding author : Do-Hoon Kim, College of Korean Medicine, Gachon University, 1342 Seongnamdaero, Sujeong-gu, Seongnam-si, Gyeonggi-do, South Korea.  
(Tel: +82-31-750-5422, E-mail: chulian71@gmail.com)

• Recieved 2016/7/1 • Revised 2016/8/9 • Accepted 2016/8/16

Table 1. The Composition and Dose of Gyejakjimo-tang

Herbal name	Scientific name	Dose(g)
桂枝	<i>Cinnamomi Ramulus</i>	8
芍藥	<i>Paeoniae Radix</i>	6
知母	<i>Anemarrhenae Rhizoma</i>	8
麻黃	<i>Ephedrae Herba</i>	4
防風	<i>Ledebouriella Radix</i>	8
白朮	<i>Atractylodis Rhizome Alba</i>	10
附子	<i>Aconiti Tuber</i>	4
生薑	<i>Zingiberis Rhizoma</i>	8
甘草	<i>Glycyrrhizae Radix</i>	4
Total		60

### 3. 복통 유발 및 몸부림 반응

동물은 다섯 군으로 나뉘었다. 대조군(control group), 아세트산 주입군(acetic acid-injection group), 50mg/kg 桂枝芍藥知母湯 선처리군(acetic acid-injection and 50mg/kg Gyejakjimo-tang-treated group), 100mg/kg 桂枝芍藥知母湯 선처리군(acetic acid-injection and 100mg/kg Gyejakjimo-tang-treated group), 200mg/kg 桂枝芍藥知母湯 선처리군(acetic acid-injection and 200mg/kg Gyejakjimo-tang-treated group). 각 군당 n=10). 桂枝芍藥知母湯과 대조용액은 아세트산 주입 한 시간 전에 경구 투여하였다. 아세트산 주입군들의 생쥐들에게는 1.0%의 아세트산 0.15ml을 복강 내로 주입하고 몸부림 반응을 관찰을 위해 개개의 플라스틱 용기(20× 30× 12cm 높이)에 놓았다. 몸부림 반사는 아세트산 주입이후에 30분마다 계산하였다.

### 4. 조직 절편 준비

뇌조직 절편 준비를 위해, Zoletil 50<sup>®</sup>(10mg/kg, i.p.: Vibac Laboratories, Carros, France)으로 충분히 마취시키고, 50mM phosphate-buffered saline(PBS)을 심장으로 주입하여, 4% paraformaldehyde(PFA)이 들어있는 신선한 100 mM 인삼염 완충액(PB, pH 7.4)로 고정하였다. 그 후 뇌를 제거하고, 밤새 같은 고정액 안에 고정하였으며, 동결방지를 위해 30%

sucrose 용액으로 옮겼다. 동결절편기(Leica, Nussloch, Germany)로 40µm 두께의 시상 절편들을 만들었다.

### 5. c-Fos 면역조직화학적 염색

각 뇌 실방핵(PVN)과 시삭상핵(SON) 내 c-Fos의 면역조직화학적 염색을 위해, 관련 연구에서 사용된 방법<sup>19)</sup>을 사용하여 c-Fos 면역조직화학적 염색을 하였다. 자유부유 절편들은 1:1000으로 희석한 rabbit anti-Fos antibody(Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA)로 밤새 배양하였다.

그리고 그 절편들을 biotinylated anti-rabbit secondary antibody(Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA)로 한 시간 동안 배양되었다. 또 avidin-biotin-peroxidase complex(Vector Laboratories)로 상온에 한 시간 동안 배양하였다.

면역 반응은 50 mM Tris-buffer(pH 7.6) 내에 0.05% 3,3-diaminobenzidine(DAB)와 0.01% H2O2로 구성된 용액으로 절편들을 3분 동안 배양하여 시각화하였다. 절편들은 세 번 PBS로 세척하고, 젤라틴으로 코팅된 슬라이드에 놓았다. 절편들은 상온에서 밤새도록 공기건조하고, coverslips은 Permount<sup>®</sup>을 사용하였다.

### 6. 통계적 분석

실방핵과 시삭상핵의 선택된 영역의 면적은 Image-Pro Plus software(Media Cybernetics, Silver Spring, MD, USA)을 이용하여 측정하였다. 20개의 연속 절편의 시상하부 실방핵과 시삭상핵 내 선택된 영역의 c-Fos 양성세포의 수를 세었다. 통계적 분석은 Duncan post-hoc test를 따르는 one-way ANOVA를 사용하여 행했다. 그 결과들은 평균 ±표준오차(SEM)로 표시했다. P < 0.05를 통계적 유의성이 있는 것으로 간주하였다.

### III. 결 과

#### 1. 몸부림 반응에 대한 桂枝芍藥知母湯의 효과

몸부림 반응의 횟수는 대조군에서  $00.00 \pm 0.00$ 회이고, 아세트 산 주입군의 몸부림 반응은  $39.50 \pm 5.41$ 회였다.

50mg/kg 桂枝芍藥知母湯 선처리군에서 몸부림 반응은  $30.13 \pm 4.28$ 회였고, 100mg/kg 桂枝芍藥知母湯 선처리군은  $21.57 \pm 3.33$ 회, 200mg/kg 桂枝芍藥知母湯 선처리군은  $17.00 \pm 2.37$ 회로 세군 모두 아세트산 주입군에 비해 몸부림 반응 수가 감소하였으나 100 및 200mg/kg 桂枝芍藥知母湯 선처리군에서 유의성을 나타내었다.

위의 결과로 보아, 桂枝芍藥知母湯은 아세트산의 주입으로 인한 몸부림 반응을 용량 의존적으로 억제 하였다(Fig. 1).

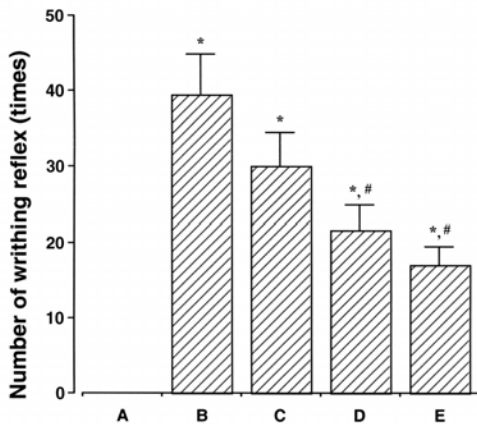


Fig. 1. Effect of Gyejakjimo-tang on the number of writhing reflex.

(A)Control group, (B)acetic acid-injection group, (C)acetic acid-injection and 50mg/kg Gyejakjimo-tang-treated group, (D)acetic acid-injection and 100 mg/kg Gyejakjimo-tang-treated group, (E)acetic acid-injection and 200mg/kg Gyejakjimo-tang-treated group. \* represents  $P < 0.05$  compared to the control group. # represents  $P < 0.05$  compared to the acetic acid-injection group.

#### 2. 시상하부 실방핵의 c-Fos 발현에 대한 桂枝芍藥知母湯의 효과

실방핵에서 c-Fos 양성세포의 수는 대조군에서는  $37.00 \pm 6.22$  per section이고, 아세트 산 주입군에서는  $393.18 \pm 30.99$  per section이었다.

50mg/kg 桂枝芍藥知母湯 선 처리군에서는  $260.85 \pm 34.24$  per section이었고, 100mg/kg 桂枝芍藥知母湯 선 처리군은  $237.67 \pm 33.12$  per section, 200mg/kg 桂枝芍藥知母湯 선 처리군은  $176.47 \pm 13.63$  per section로 세군 모두아세트산 주입군에 비해 c-Fos 양성세포의 수의 비율이 유의하게 감소되었다(Fig. 2, 3).

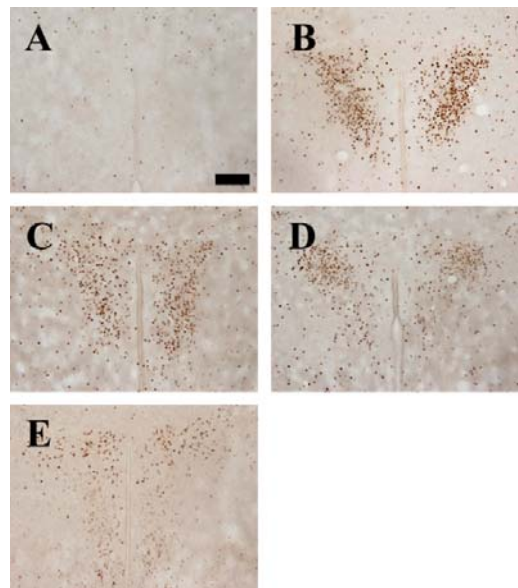


Fig. 2. Effect of Gyejakjimo-tang on c-Fos Expression in the paraventricular nucleus(PVN) of the hypothalamus.

(A)Control group, (B)acetic acid-injection group, (C)acetic acid-injection and 50mg/kg Gyejakjimo-tang-treated group, (D)acetic acid-injection and 100mg/kg Gyejakjimo-tang-treated group, (E)acetic acid-injection and 200mg/kg Gyejakjimo-tang-treated group. The sections were stained for c-Fos(brown dots are c-Fos-positive cell). The scale bar represents 100  $\mu$ m.

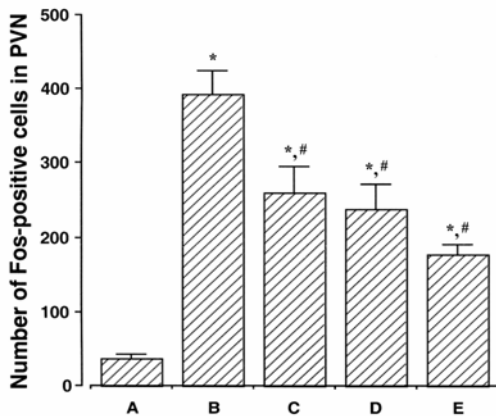


Fig. 3. Mean number of c-Fos-positive cells per section in the paraventricular nucleus(PVN) of the hypothalamus.

(A)Control group, (B)acetic acid-injection group, (C)acetic acid-injection and 50mg/kg Gyejakjimo-tang-treated group, (D)acetic acid-injection and 100mg/kg Gyejakjimo-tang-treated group, (E)acetic acid-injection and 200mg/kg Gyejakjimo-tang-treated group. \* represents P(0,05

### 3. 시상하부 시상상핵의 c-Fos 발현에 대한 桂枝芍藥知母湯의 효과

시상상핵안에서의 Fos-양성 세포의 수는 대조군에서는  $25.54 \pm 4.09$  per section이고, 아세트산 주입군에서는  $99.91 \pm 3.85$  per section이었다.

50mg/kg 桂枝芍藥知母湯 선처리군에서는  $74.27 \pm 5.00$  per section이고, 100 mg/kg 桂枝芍藥知母湯 선처리군은  $63.44 \pm 2.81$  per section, 200mg/kg 桂枝芍藥知母湯 선처리군은  $43.71 \pm 3.08$  per section로 세군 모두아세트산 주입군에 비해 c-Fos 양성세포의 수의 비율이 유의하게 감소되었다(Fig. 4, 5).

## IV. 고 찰

본 연구에서 桂枝芍藥知母湯의 진통 효과는 아세트산 주입에 의한 몸부림 반응을 이용하여 평가하였다. 복부의 아세트산 주입으로 인한 몸부림 반사는 동물들의 내장통 모델이다. 아세트산 주입은 cyclooxygenase

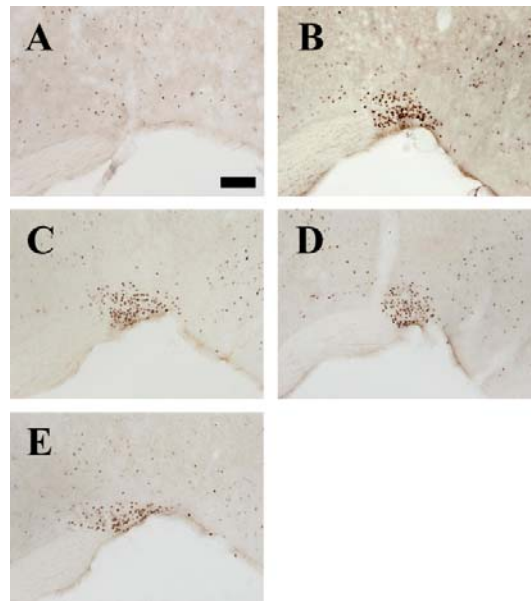


Fig. 4. Effect of Gyejakjimo-tang on c-Fos expression in the supraoptic nucleus(SON) of the hypothalamus.

(A)Control group, (B)acetic acid-injection group, (C)acetic acid-injection and 50mg/kg Gyejakjimo-tang-treated group, (D)acetic acid-injection and 100mg/kg Gyejakjimo-tang-treated group, (E)acetic acid-injection and 200mg/kg Gyejakjimo-tang-treated group. The sections were stained for c-Fos(brown dots are c-Fos-positive cell). The scale bar represents 100  $\mu$ m.

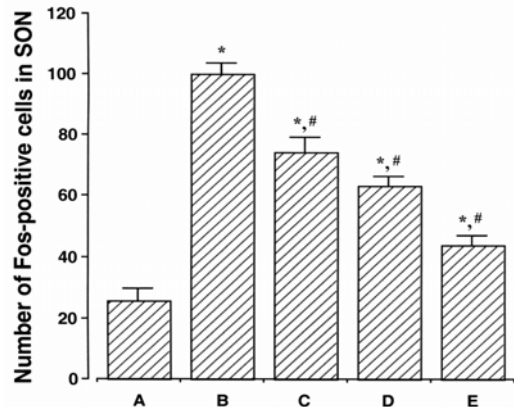


Fig. 5. Mean number of Fos-positive cells per section in the supraoptic nucleus(SON) of the hypothalamus.

(A)Control group, (B)acetic acid-injection group, (C)acetic acid-injection and 50mg/kg Gyejakjimo-tang-treated group, (D)acetic acid-injection and 100mg/kg Gyejakjimo-tang-treated group, (E)acetic acid-injection and 200mg/kg Gyejakjimo-tang-treated group. \* represents P(0,05 compared to the control group, # represents P(0,05 compared to the acetic acid-injection group.

(COX)를 경유한 arachidonic 산을 분비한다. 결과로 생기는 prostaglandins(PGs) 생합성은 자극 메카니즘에서 통증 유발 역할을 한다<sup>20</sup>.

실험의 결과들은 桂枝芍藥知母湯으로 선처리한 생쥐들은 아세트산 주입에 의한 몸부림 반응에 진통 효과를 보여주었고, 이런 桂枝芍藥知母湯의 효과는 arachidonic산 대사 산물의 합성 억제에 의한 것 같다.

막지질에 축적된 arachidonic산은 화학적 혹은 물리적 자극에 의해 인지질들로부터 선택적으로 분비되고, 결과적으로 두 개의 효소 COX-1과 COX-2<sup>21</sup>에 의해 PGs로 전환되어질 수 있다. COX-2는 염증에서 첫 번째로 반응하여 PGs를 생산하는데, COX-1은 PGs에 대한 정상적 항상성에 속한다. 본 평가에서 COX-2는 기낭에서 상승 조절되고, 많은 양의 prostaglandin E<sub>2</sub>(PGE<sub>2</sub>) 생산을 촉진시켰다<sup>22</sup>. COX-2의 상승조절로 인한 PGE<sub>2</sub> 증가는 아세트산 주입에 의한 몸부림 반응과 carrageenan 주입으로 인한 염증에서 주된 현상이다. 반대로, PGE<sub>2</sub>의 감소는 TNF- $\alpha$  분비 억제로 유도 되는 것 같다. interleukon-1(IL-1)와 TNF- $\alpha$  같은 cytokines로 대식세포, 단핵세포, 섬유유세포 및 상피세포 등을 자극하면 PGE<sub>2</sub>의 생산을 유도한다<sup>21</sup>고 하므로, 향후 이에 대한 연구가 필요하다고 판단된다.

본 실험 결과, 아세트산의 복강 내 주입으로 유도된 체질-내장 통증은 통증에 대한 자율신경계와 행동 및 신경내분비 반응을 나타내는 뇌영역에서 c-Fos를 발현시킨다. 실방핵<sup>23,24</sup>과 고립도핵(NTS)<sup>25</sup>으로 대표되는 이들 핵의 일부는 소화 운동을 조절한다. 실방핵에서의 CRF 경로들은 이 모델에서 활성화되는 것으로 알려져 왔다. 이런 자료들은 아세트산으로 유도된 복막 과민 이후 관찰된 소화기 폐색<sup>5</sup>과 이런 폐색에서 CRF 길항제의 예방작용<sup>26</sup>을 설명한다.

본 연구에서 사용한 체-내장통 모델은, Koster 등(1959)<sup>27</sup>에 의해 발전된 진통제 예비조사를 위한 테스트와 관련되며 몸부림 실험으로 설명된다.

아세트산의 복강 내 주입은 흰 쥐 중추신경계에서 c-Fos를 발현시킨다<sup>18</sup>. Bonaz 등은(1994)<sup>12</sup> 신경 활성의 지표로 Fos 단백질을 사용하였는데, 본 연구에 선 실방핵과 시삭상핵에서 c-Fos 발현에 초점을 맞추었다.

c-Fos 전사는 외측중격핵, 내측시상전영역, 분계층의 침상핵, 내측과 중심 편도핵체, cingulate cortex 같은 시상하부(실방핵)-뇌하수체 축의 조절에 영향을 주는 몇몇의 뇌영역과 뇌간 카테콜라민 세포군(A1-2/C1-2)에서 관찰된다. 이런 모든 영역들은 인체 내부 환경으로부터 구심적 정보를 받는 중추 자율신경망의 일부이다<sup>28</sup>. 실방핵에서 c-Fos는 신경내분비 CRF perikarya을 함유한 것으로 알려진 parvocellular division에 존재한다<sup>10</sup>. 이 모델에서, c-fos mRNA와 c-Fos 전사를 발현하는 magnocellular PVN의 몇몇 신경들은 같은 구심성 신경을 받는 시삭상핵에서 실방핵보다 많이 관찰된다<sup>29</sup>. 소화계의 다른 모델인 복부 수술은 PVN과 SON같은 특정한 시상하부 핵에서 Fos 발현을 유도할 수 있다<sup>30</sup>.

본 연구는 면역조직화학적 방법으로 CRF perikarya가 즉시 초기 유전자를 발현시키는 것을 보여줌으로써 CRF 경로들이 이런 모델에서 활성화된다는 것을 보여주었다. CRF를 함유한 신경들은 스트레스 환경에서 활성화되었다<sup>6,31</sup>. 그렇지만, 桂枝芍藥知母湯을 선 처리한 생쥐들은 실방핵과 시삭상핵에서 c-Fos 발현에 대한 용량 의존적 억제 효과를 나타내었다.

위의 결과로 보아 桂枝芍藥知母湯의 진통에 대한 약리학적 효과가 확인되었지만 진통 기전에 대한 연구가 더 있어야 할 것으로 사료된다.

## V. 결 론

桂枝芍藥知母湯의 진통 작용을 연구하기 위해, 생쥐의 복강에 아세트산을 주입하여 복부 통증 유도하여 몸부림 반사를 조사하였고 시상하부의 실방핵과

시삭상핵에서 c-Fos 단백질 발현을 면역조직화학적 염색 방법으로 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 50, 100 및 200mg/kg 桂枝芍藥知母湯 선 처리군 세 군 모두 아세트산 주입군에 비해 몸부림 반응 수가 감소하였으나 100 및 200mg/kg 桂枝芍藥知母湯 선 처리군에서만 유의성을 나타내었다.
2. 50, 100 및 200mg/kg 桂枝芍藥知母湯 선 처리군 세 군 모두 아세트산 주입군에 비해 실험실에서 c-Fos 양성세포의 수의 비율이 유의하게 감소되었다.
3. 50, 100 및 200mg/kg 桂枝芍藥知母湯 선 처리군 세 군 모두 아세트산 주입군에 비해 시삭상핵에서 c-Fos 양성세포의 수의 비율이 유의하게 감소되었다.

이런 결론으로 桂枝芍藥知母湯의 물 추출물은 아세트산 주입으로 유도된 복통에 확실한 진통 효과가 있음으로 판단된다.

## References

1. Chae IS. Sanghannonyeokjeon, 5th ed. Seoul: Gomunsa, 1987:306-7.
2. Yumoto KS, Ju GJ. Hwanghanuihak, 2nd ed. Seoul:Gyechukmunhwasa, 1982:343-6.
3. Kim SS, Kim HK, Choi JW, Lee JK. Antiinflammatory, Analgesic and Antihyperuricemic Effects of 'Gyejakjimo - Tang' in Rats. Kor J Pharmacogn, 1995;26(1):66-73.
4. Livingston EH, Passaro EP. Postoperative ileus. Dig Dis Sci, 1990;35:121-32.
5. Rivière PJM, Pascaud X, Chevalier E, Le Gallou B, Junien JL. Fedotozine reverses ileus induced by surgery and peritonitis: action at peripheral  $\kappa$ -opioid receptors. Gastroenterology, 1993;104:724-31.
6. Bonaz B, Rivest S. Effect of a chronic immobilization stress on CRF neuronal activity and expression of its type 1 receptor in the rat brain. Am J Physiol(Regul Integr Physiol), 1998;275:R1438-49.
7. Dunn AJ, Berridge CW. Physiological and behavioral responses to corticotropin-releasing factor administration: Is CRF a mediator of anxiety of stress responses? Brain Res Rev, 1990;15:71-100.
8. Koob GF, Bloom FE. Corticotropin-releasing factor and behavior. Fed Proc, 1985;44:259-63.
9. Nemeroff CB, Owens MG, Bissette G, Andorn AC, Stanley M. Reduced corticotropin-releasing factor receptor binding sites in the frontal cortex of suicidal victims. Arch Gen Psychiatry, 1988;45:557-79.
10. Sawchenko PE, Swanson LW. Organization of CRF immunoreactive cells and fibers in the rat brain: immunohistochemical studies. In:DeSouza E, Nemeroff C. Corticotropin-releasing factor: basic and clinical studies of a neuropeptide. FL:CRC Press, Boca Raton, 1990:29-51.
11. Arnold FJ, De Lucas Bueno M, Shiers H, Hancock DC, Evans GI, Herbert J. Expression of c-fos in regions of the basal limbic forebrain following intracerebroventricular corticotropin-releasing factor in unstressed or stressed male rats. Neuroscience, 1992;51:377-90.
12. Bonaz B, Plourde V, Taché Y. Abdominal surgery induces fos immunoreactivity in the rat brain. J Comp Neurol, 1994;349:212-22.

13. Clark M, Weiss SR, Post RM. Expression of c-fos mRNA in rat brain after intracerebroventricular administration of corticotropin-releasing hormone. *Neurosci Lett*. 1991;132:235-8.
14. Dragunow M, Faull R. The use of c-fos as a metabolic marker in neuronal pathways tracing. *J Neurosci Methods*. 1989;29:261-5.
15. Lanté ri-Minet M, Isnardon P, De Pommery J, Menétrey D. Spinal and hindbrain structure involved in viscerception and visceronoception as revealed by the expression of Fos, Jun and Krox-24 proteins. *Neuroscience*. 1993;55:737-53.
16. Mené trey D, Gannon A, Levine JD, Basbaum AI. Expression of c-fos protein in interneurons and projection neurons of the rat spinal cord in response to noxious somatic, articular, and visceral stimulation. *J Comp Neurol*. 1989;285:177-95.
17. Morgan JI, Curran T. Inducible proto-oncogenes of the nervous system: their contribution to transcription factors and neuroplasticity. *Prog Brain Res*. 1990;86:287-94.
18. Bonaz B, Rivière PJM, Sinniger V, Pascaud X, Junien JL, Fournet J, et al. Fedotozine, a kappa-opioid agonist, prevents spinal and supra-spinal Fos expression induced by a noxious visceral stimulus in the rat. *Neurogastroenterology and Motility*. 2000;12:135-48.
19. Lee MH, Kim H, Lim BV, Chang HK, Lee TH, Jang MH, et al. Naloxone potentiates treadmill running-induced increase in c-Fos expression in rat hippocampus. *Life Sci*. 2003;73:3139-47.
20. Franzotti EM, Santos CV, Rodrigues HM, Mourao RH, Andrade MR, Antonioli AR. Anti-inflammatory, analgesic activity and acute toxicity of *Sida cordifolia* L. (Malva-branca). *J Ethnopharmacol*. 2000;72(1-2):273-7.
21. Griffiths RJ. Prostaglandins and inflammation. In: Gallin JI, Snyderman R Editors, *Inflammation. Basic Principle and Clinical Correlates*. 3rd ed. Philadelphia:Lippincott Williams and Wilkins Press. 1999:349-60.
22. Masferrer JL, Zweifel BS, Manning PT, Hauser SD, Leahy KM, Smith WG, et al. Selective inhibition of inducible cyclooxygenase 2 in vivo is anti-inflammatory and nonulcerogenic. *Proceedings of National Academy of Science of the United States of America*. 1994;91:3228-32.
23. Bonaz B, Martin L, Beurriand E, Hostein J, Feuerstein C. Involvement of hypothalamic noradrenergic systems in the modulation of MMCpatterns in rats. *Brain Res*. 1992;583:332-5.
24. Sakaguchi T, Ohtake M. Inhibition of gastric motility induced by activation of the hypothalamic paraventricular nucleus. *Brain Res*. 1985;335:365-7.
25. Gillis RA, Quest JA, Pagani FD, Norman WP. Control centers in the central nervous system for regulating gastrointestinal motility. In: Wood JD, editor. *Handbook of physiology*. Bethesda, MD:American Physiological Society. 1988.
26. Rivest S, Rivier C. Stress and interleukin-1-induced activation of c-fos, NGFI-B and



- CRFgene expression in the hypothalamic PVN: comparison between Sprague-Dawley, Fisher-344 and Lewis rats. *J Neuroendocrinology*, 1994;6:101-17.
27. Koster R, Anderson M, de Beer EJ. Acetic acid for analgesic screening. *Fed Proc*, 1959;18:412.
28. Loewy AD. Central autonomic pathways. In: Loewy AD, Spyer KM, Central regulation of autonomic functions. Oxford:Oxford University Press, 1990:88-103.
29. Cunningham Jr. ET, Sawchenko PE. Anatomical specificity of noradrenergic inputs to the paraventricular and supraoptic nuclei of the rat hypothalamus. *J Comp Neurol*, 1988;274:60-76.
30. Taché Y, Barquist E, Stephens RL, Rivier J. Abdominal surgery- and trephination-induced delay in gastric emptying is prevented by intracisternal injection of CRF antagonist in the rat. *J Gastrointest Motil*, 1991;3:19-25.
31. Rivière PJM, Pascaud X, Chevalier E, Le Gallou B, Junien JL. Fedotozine reverses ileus induced by surgery and peritonitis: action at peripheral  $\kappa$ -opioid receptors. *Gastroenterology*, 1993;104:724-31.