

Endotoxin에 의해 생성된 혈관의 nitric oxide가 교감신경계에 미치는 영향

박 관 하

군산대학교 해양산업대학 수족병리학과

Role of Nitric Oxide Produced During Endotoxic Shock in Sympathetic Nervous Function

Kwan Ha Park

Department of Fish Pathology, College of Ocean Sciences & Technology,
Kunsan National University, 1044-2 Soryongdong, Kunsan City, Chonbuk, Korea
(Received August 12, 1996)
(Accepted August 24, 1996)

ABSTRACT : Endotoxic shock causes death in humans and animals via extreme hypoperfusion of peripheral organs. A massive production of nitric oxide (NO) both from the endothelial cells and smooth muscle cells has been proposed as a possible mechanism in this process. Since NO attenuated the contractility to vasoconstricting agents such as norepinephrine (NE) by directly acting on the smooth muscle cells, this mechanism was considered mainly as a postsynaptic mechanism. In this research it was investigated whether NO, thus released, also participates in the presynaptic events for the regulation of vascular tone in endotoxic shock. The role of NO was studied by adding NO donors or NO synthase inhibitor N^o-methyl-L-arginine (NMA) in stimulated sympathetic nerves of the mesenteric vascular bed and the Langendorff heart of rats. Sodium nitroprusside (SNP), an NO donor, reduced the pressor responses of isolated mesenteric artery either to electrical stimulation or exogenously administered phenylephrine (PE). In this mesentery, although neither agent influenced NE release, in the presence of the adrenergic α_2 -receptor antagonist yohimbine, electrical stimulation-evoked NE release was augmented by SNP. In the heart SNP facilitated the NE release induced by electrical stimulation, while NMA had no effect. From these results it is proposed that there exists a local reflex phenomenon in the junction between the sympathetic nerve terminals and the smooth muscle of resistance blood vessels; by which sympathetic responses are reduced by NO at the postjunctional level while NO facilitates NE release contributing to augmentation of sympathetic tone. All these facts suggest that NO produced during endotoxic shock has dual effects: whereas NO blunts the vasoconstrictive activity of NE at the postsynaptic level, NO presynaptically facilitates the release of NE from sympathetic nerve terminals.

Key Words : Nitric oxide, Sympathetic tone, NE, Endotoxic shock

I. 서 론

Endotoxin에 의한 shock이 일어나면 혈압의 현저한 하강과 그에 따른 말초장기에로의 혈류감소 때문에 상당히 높은 치사율을 유발하게된다(50-77%, Petros *et al.*, 1991). 임상적으로 이 증상을 치료하기 위해서는 혈압을 정상수준으로 높이는 것이 필요하기 때문에 각종의 혈압상승제를 사용하여 왔으나, 대부분의 혈압상승제들은 예상하였던 정도의 혈압상승작용을 유발하는데 실패하여서 원하는 수준까지 혈압을 회복시킬 수 없었다. 혈압상승제 이외에도 스테로이드성 항염증제로도

부분적인 성공만을 거두었으며(Altura and Altura, 1974), 비스테로이드계 항염증제도 미약한 효과만 있었다(Parratt and Sturgess, 1975).

Endotoxic shock이 일어난 동물에서는 교감신경계 전달물질인 norepinephrine(NE)의 혈중농도가 급증하는 것이 알려져 있다(McKechnie *et al.*, 1985). 이 현저한 증가는 baroreceptor의 자극에 의한 심순환기 reflex에 의한 것으로 설명되고 있다. 즉 endotoxin은 어떤 기전인가에 의해 혈압을 낮추게 되고, 심혈관계는 이를 보상하기 위한 반사작용으로 중추신경계로부터의 교감신경을 흥분시킴으로써 저하된 혈압을

NE으로 올려보려고 노력한다고 하는 가설이다. 이 기전이 정상적으로 작용하기 위해서는 순환기반사 loop 및 중추신경계의 관여가 필수적이다. 그러나 혈중 NE의 증가에도 불구하고 혈압이 현저히 낮다는 것은 어떤 기전인가가 또 다시 관여하여 NE의 혈관 평활근 수축작용을 억제하는 결과로 보인다. 한편 NO가 유발하는 혈관이완 작용은 혈관평활근 세포에서 cyclic guanosine monophosphate(cGMP)의 생성을 유발하기 때문이라고 하는 사실이 규명되었다(Moncada *et al.*, 1991).

일부의 연구결과에 의하면 NO는 중추신경계 및 교감신경절에서 신경전달 물질의 유리를 촉진시키기 때문에(Stevens, 1991; Briggs, 1992), NO는 교감신경계의 기능을 향진시킬 가능성을 시사하고 있다. 본실험에서는 endotoxin이 생성한 NO가 말초신경인 교감신경 말단에 어떠한 영향을 미치며, 그 효과가 endotoxin의 병리학적 현상에 어떠한 의미를 부여하는가를 검토하였다.

II. 재료 및 방법

1. 동 물

본 실험에 사용된 동물은 웅성 Sprague-Dawley rat (250-300 g)으로 삼육동물에서 구입하여 사용하였다.

2. Pithed rat

중추신경계의 심혈관계에 대한 영향을 제거하기 위하여 ether 마취하에 좌안으로 뇌척수 제거봉을 삽입하여 pithed rat을 만들었다(Shibly and Tilden, 1947). 기관지를 cannulation하여 실험실의 공기를 1 ml/100 g의 용적, 60 strokes/min의 율로 공급하여 호흡을 유지하였다. 혈압의 변화는 우측 경동맥에 관을 삽입하고 Statham pressure transducer(P23AA)를 이용하여 측정하고 그 변화는 Polygraph 2006(Letica, Barcelona, Spain)을 이용하여 기록하였다. 약물의 투여는 오른쪽 경정맥을 통하여 이루어졌다.

3. Thoracic aorta culture

Rat 흉대동맥을 무균상태로 분리하여(4.0-6.5 mg) RPMI medium(10% bovine calf serum 포함)가 포함된 96-well microplate에 넣고 37°C에서 24시간 배양하였다. NO의 농도는 분해산물인 NO₂의 medium중 농도를 ELISA reader(Dynatech MR-250, Denckendorf, West

Germany)를 사용하여 550 nm에서 측정하였다(Green *et al.*, 1982).

4. Mesenteric arterial bed

Mesenteric artery의 적출은 기본적으로 McGregor (1965)가 기술한 방법에 따랐다. 동물을 ether로 마취시킨 후 경추탈구하여 희생시키고 복강을 열어 상부장간막 동맥을 노출시켰다. 장간막 동맥으로 cannula를 삽입하여 2,000 unit의 heparin이 든 Krebs-Henseleit 용액(조성: NaCl 118 mM, KCl 4.7 mM, MgSO₄ 1.17 mM, CaCl₂ 2.5 mM, KH₂PO 1.2 mM, NaHCO₃ 24.9 mM, glucose 11.0 mM) 50 ml로 장간막혈관계에 함유된 혈액을 제거하였다. 장간막은 말단모세혈관이 손상되지 않도록 유지하면서 장관으로 부터 분리하였다. Arterial bed의 적출 후 37°C로 유지시킨 50 ml의 장기 bath에 넣고 Krebs-Henseleit 완충액을 5 ml/min의 속도로 peristaltic pump를 이용하여 관류하였다. 이 관류 용액에는 NE의 파괴를 방지하기 위해 desipramine(10 nM)과 hydrocortisone(10 μM)을 추가하였다. NE의 유리를 유도하기 위하여 동맥혈관 주위의 교감신경에 백금으로 제작한 ring electrode를 접촉하고 60 V, 2 msec pulse duration, 4 Hz로 30초간 전기적으로 자극하였다(Grass stimulator). 관류압의 변화는 관류 cannula에 분지로 연결한 Statham pressure transducer로 측정하였다. 전기적으로 자극한 전·후의 유출관류액은 1분 간격으로 plastic tube에 모아서 NE의 농도를 측정하였다.

5. Langendorff heart

Rat의 ether마취하에서 심장을 적출하고(Park *et al.*, 1992) 좌우 양측의 교감신경을 백금 ring electrode에 삽입하여 12 V, 2 msec pulse duration, 4 Hz으로 10초간 자극하였다. 상행대동맥에 stainless steel cannula를 삽입하고 Krebs-Henseleit완충액을 6 ml/min의 속도로 관류하였다(37°C). NE의 분해를 방지하기 위하여 Krebs-Henseleit 완충액중에는 desipramine 10 nM 및 hydrocortisone 10 M을 각각 첨가하였다. 관류압은 대동맥에 T-자형분지를 만들어 Statham pressure transducer로 측정하였다. 맥박수의 변화를 관찰하기 위하여 백금전극을 우심방 및 좌심실의 표면에 접촉하고 심전도를 측정하였다. 전기적으로 자극한 전·후의 유출관류액은 15초 간격으로 plastic tube에 모아서 NE의 농도를 측정하였다.

6. NE의 분석

Krebs-Henseleit 완충액중의 NE의 농도는 high performance liquid chromatography-electrochemical detection(HPLC-ECD)방법을 사용하였다(Park *et al.*, 1990). 과염소산 0.01 N, EDTA 0.025%를 포함한 관류 유출물은 분석시까지 -70°C 에 보관하였다. 약 1 ml의 유출물을 acid-washed alumina 50 mg과 1 M의 Tris buffer(pH 8.6) 0.5 ml이 든 tube에서 격렬하게 흔들어서 alumina에 NE를 흡착시킨 후 60 mM의 perchloric acid로 유출하였다. 이 유출물을 100 μl 의 용적으로 Rheodyne manual injector를 사용하여 column내로 주입하였다. HPLC column은 3 μm ODS reverse-phase를 사용하였으며 0.65 V에서 electrochemical detector (BAS)를 사용하여 검출하였다.

7. Drugs

Endotoxin(*E. coli*, O111B4), phenylephrine hydrochloride, yohimbine hydrochloride, sodium nitroprusside(SNP)는 Sigma(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. N^o-methyl-L-arginine acetate(NMA) 및 S-nitroso-N-acetylpenicillamine(SNAP)은 RBI(Natick, MA, USA), 3-morpholinsydnoneimine chloride(SIN-1)은 Tocris Cookson(Bristol, UK)에서 각각 구입하였다.

8. Data의 표현 및 통계분석

모든 data는 평균 \pm S.E.M.으로 표현하였으며 통계학적 유의성은 ANOVA 및 Newman-Keuls test 또는 Student's t-test를 사용하였다. P값이 0.05보다 작을 때에 평균값의 차이에 통계학적 유의성이 있다고 판정하였다.

III. 결 과

중추신경계가 제거된 pithed rat은 정상동물에서 일어나는 순환기 반사작용(baroreceptor reflex: 혈압이 저하하면 이를 만회하기 위하여 맥박이 증가하고 반대로 혈압이 증가하면 맥박이 감소하는 현상)이 완전히 차단되어 있기 때문에 순수한 혈관계의 반응을 검토하기 위한 수단으로 많이 이용되고 있다. 이런 pithed rat에서 endotoxin(15 mg/kg, i.p.)은 투여 6시간째에 정맥으로 투여한 α_1 -receptor agonist인 phenylephrine (PE)에 의한 혈압상승 효과를 현저하게 감소시켰다(Figure 1). 이 감소된 반응성은 NO합성 저해제인 NMA에 의해

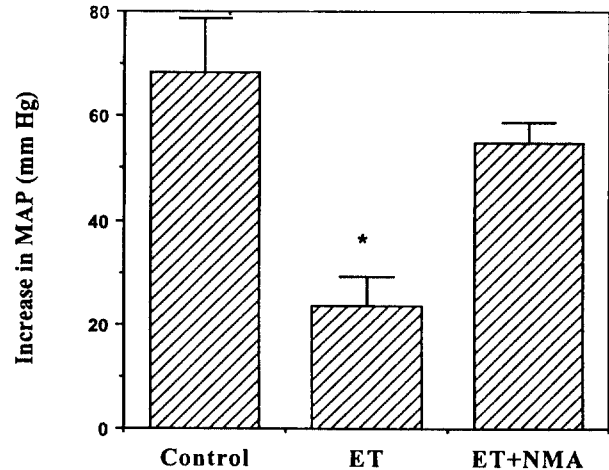


Fig. 1. Attenuation of pressor responses to phenylephrine (PE) by endotoxin (ET, 15 mg/kg, ip) in pithed rats. At 6 hr following ET pressor responses to PE of 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$, iv, were tested. N=6. *Significantly different from control at $p<0.05$.

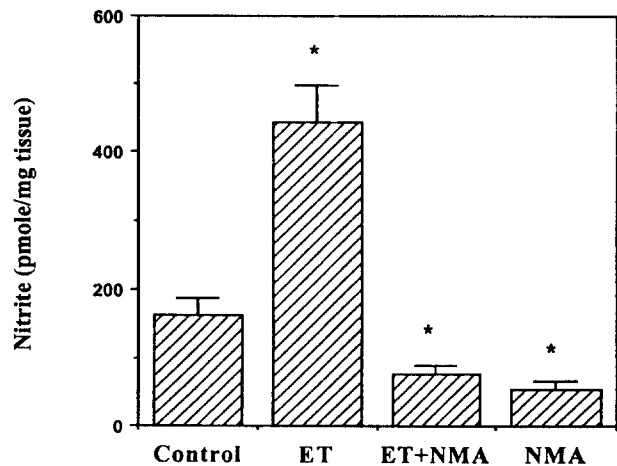


Fig. 2. NO producing effect of endotoxin (ET) in cultured rat thoracic aorta. Thoracic aortae were cultured in RPMI medium for 24 hr at 37°C and nitrite concentration in medium was measured. ET (15 mg/kg, ip) was administered 6 hr prior to isolation of the aorta. NMA, 300 μM ; N=6 * Significantly different from control at $p<0.05$.

정상수준으로 회복되었다. 이러한 endotoxin에 의한 반응들이 NO에 의해서 야기되는 것을 증명하기 위하여 정상 rat과 endotoxin을 투여한 동물을 6시간째에 대동맥을 무균적으로 적출하여 조직배양하면서 NO의 생성정도를 비교하였다. 조직배양된 rat aorta로부터 정상동물의 경우에도 NO의 파괴산물인 NO_2 가 소량 생성되며 그 생성정도가 endotoxin 전처리에 의해 증폭됨을 알 수가 있다(Figure 2). 또한 그 증폭현상은 NMA로 억제할 수 있음을 볼 수가 있다.

정상적인 동물이나 인간에서 혈압을 유지하는데 가장 중요한 역할을 하는 생리활성 물질은 NE으로

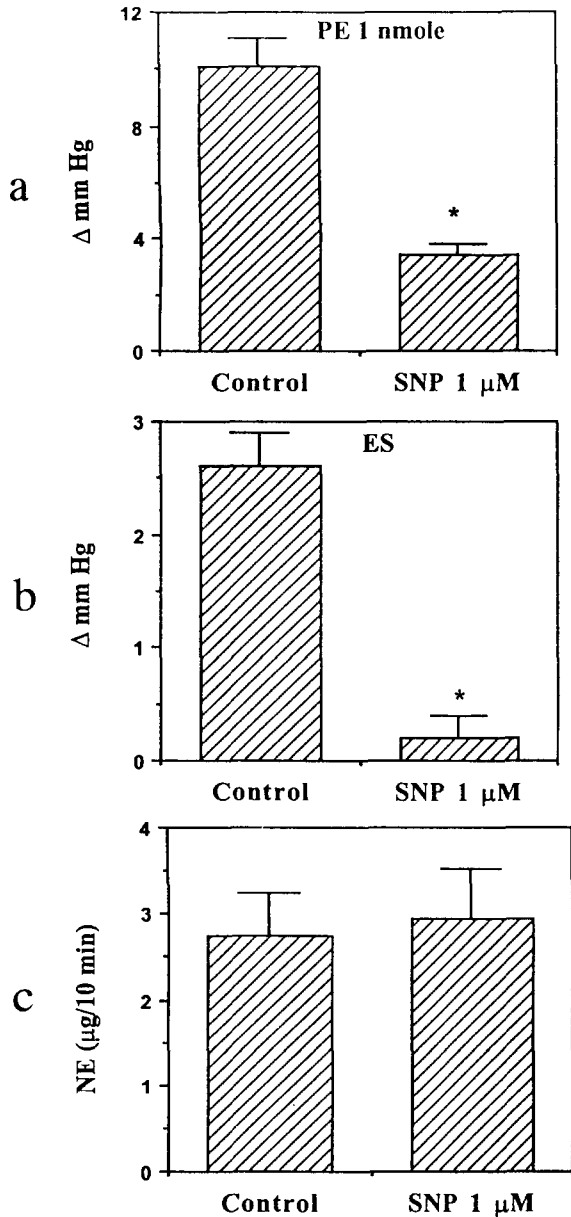


Fig. 3. Effect of a NO donor, SNP, on perfusion pressure and NE release to electrical stimulation and on PE-induced response in isolated rat mesenteric arterial bed. Periarterial sympathetic nerves were stimulated for 30 sec at 4 Hz and NE concentration in the 10-min effluent was measured. SNP was infused for 15 min before the commencement of electrical stimulation. PE was injected bolus to the preparation. N=7; ES, electrical stimulation *Significantly different from control at p<0.05.

알려져 있다. 그러므로 endotoxin에 의해 대량의 NO 생산이 일어나고 있는 경우에 그 NO이 NE의 유리에도 어떠한 영향을 미칠 가능성을 지니고 있다. 따라서 위의 실험결과를 근거로 하여 endotoxin이 대량으로 생산하는 것으로 생각되는 NO가 혈관에서의 NE 유리에도 어떠한 영향을 미치는가를 NO를 생성하는

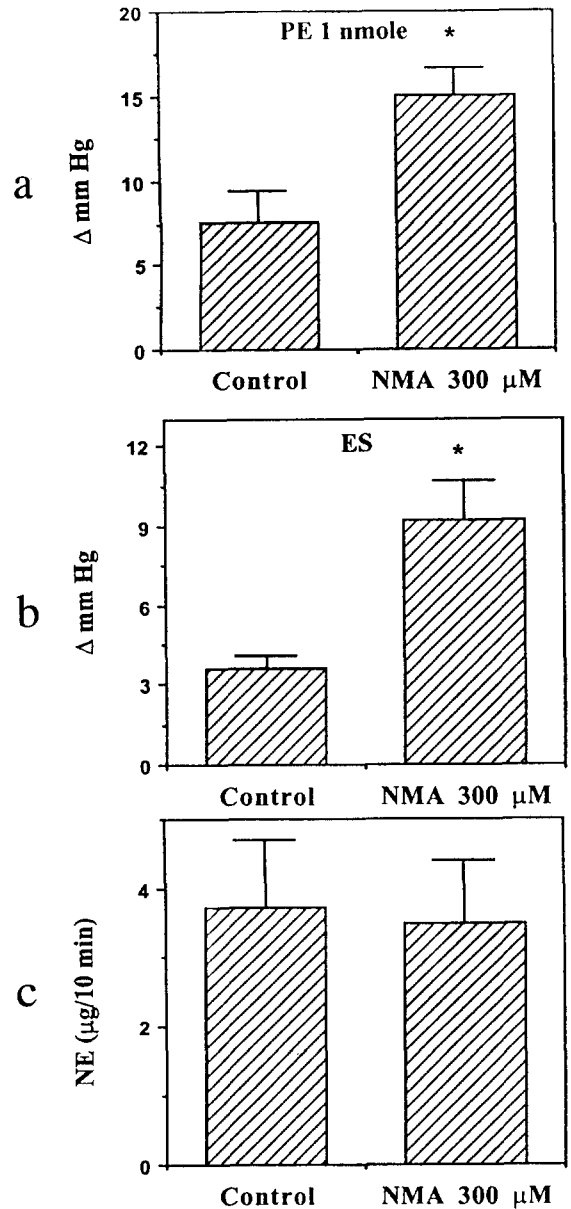


Fig. 4. Effect of a NO synthase inhibitor, NMA, on perfusion pressure and NE release to electrical stimulation and on PE-induced response in isolated rat mesenteric arterial bed. Periarterial sympathetic nerves were stimulated for 30 sec at 4 Hz and NE concentration in the 10-min effluent was measured. NMA (300 μM) was infused for 15 min before the commencement of electrical stimulation. PE was injected bolus to the preparation. N=7; ES, electrical stimulation *Significantly different from control at p<0.05.

물질인 SNP를 적출혈관으로 직접 투입하면서 전기적 자극에 의해 유발된 NE의 유리변화를 검토하였다. 이 실험에서는 우선 대표적인 저항혈관을 함유하는 종합적인 혈관계로서 교감신경 말단이 다량 존재하는 rat mesenteric arterial bed를 사용하였다. Mesenteric artery주위에 분포한 교감신경을 전기적으로 자

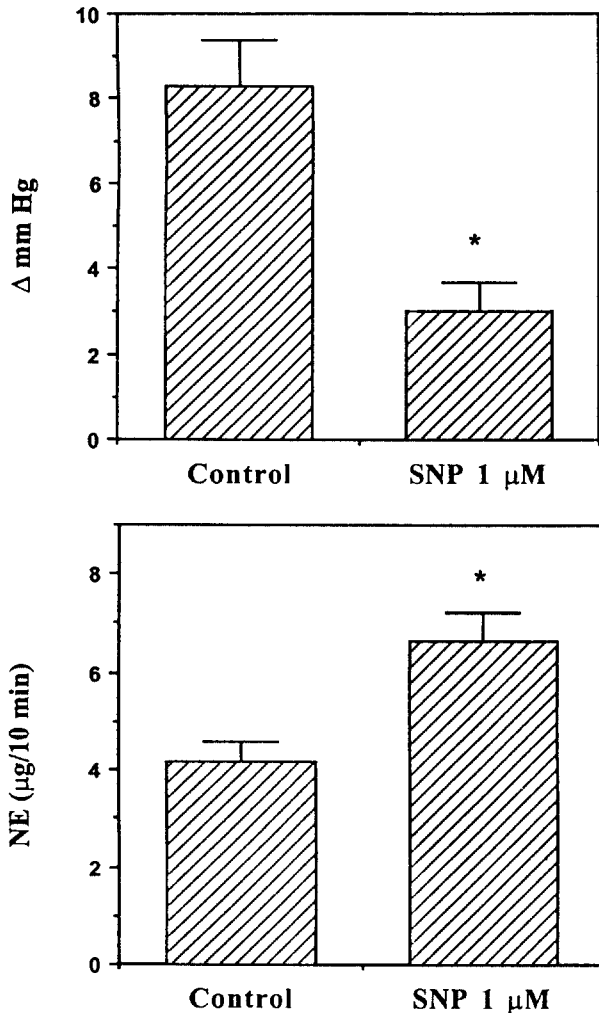


Fig. 5. Effect of SNP on perfusion pressure and NE release to electrical stimulation in the presence of α_2 -receptor antagonist yohimbine in isolated rat mesenteric arterial bed. Periarterial sympathetic nerves were stimulated for 30 sec at 4 Hz and NE concentration in the 10-min effluent was measured. SNP was infused for 15 min before the commencement of electrical stimulation. N=6. *Significantly different from control at $p < 0.05$.

극하면(NE의 유리로 인한) 관류압의 상승이 일어나는 것을 볼 수가 있다(Figure 3b). 이 상승된 관류압은 NO donor인 SNP에 의해 현저히 감소되지만, 이때 유리되는 NE은 SNP에 의해 영향을 받지 아니하였다(Figure 3c). 외부에서 투여한 PE에 의한 관류압 상승도 SNP에 의해서 저해가 되며 그 저해 정도는 전기적 자극의 경우와 유사하다(Figure 3a). 한편 NO합성 효소의 저해제인 NMA는 PE에 의한 관류압 상승 및 전기적 자극에 의한 관류압 상승을 공히 증폭시켰다(Figure 4a 및 b). 하지만 NE의 유리는 NMA에 의해서 전혀 영향을 받지 아니하였다(Figure 4c).

Endotoxin이 혈관의 α_2 -adrenoceptor를 저해 또는 소실시킨다는 보고가 있고(Auclair *et al.*, 1986), α_2 -receptor는 교감신경계 NE의 유리 조절에 중추적 역할을 하는 것이 알려져 있기 때문에, 어떤 특수한 조건 특히 α_2 -receptor의 기능이 억제된 경우에만 NO의 NE 유리에 대한 영향이 unmasking될 가능성이 있다. 따라서 mesenteric artery에서 α_2 -receptor 길항 물질인 yohimbine($1 \mu\text{M}$) 존재하에 SNP의 전기적 자극에 따른 NO의 영향을 시험하였다. Figure 5에서 보는 바와 같이 yohimbine을 전처리하면 전기적 자극에 의한 관류압 상승은 여전히 NO에 의해 저해되지만, NE의 유리는 NO에 의해 증가하는 것이 관찰되었다.

Rat 적출심장에서는 NO donor들이 NE의 유리를 촉진시키는 것이 관찰되었다(Table 1). 이 촉진현상은 mesenteric artery의 경우에서와는 달리 α_2 -receptor를 저해하지 않더라도 나타났으며 최고 약 40% 정도까지 촉진되었다. 그러나 NE의 증가시 예상되는 맥박수의 증가는 보이지 않았다.

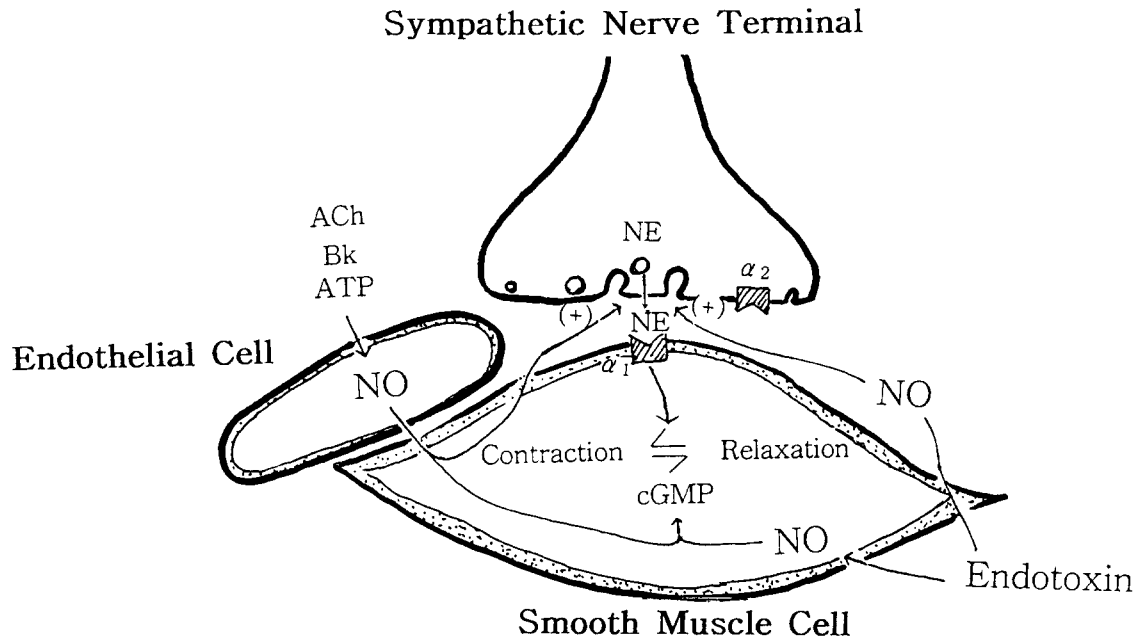
IV. 고 찰

Greenberg 등(1990)은 NO가 교감신경 말단에서 [^3H]-NE의 유리를 억제한다고 보고하였다. 최초로 본 실험을 구상하였을 때에는 Greenberg가 관찰한 NE 유리억제 현상이 외부에서 첨가하여 교감신경말단으로 uptake된 것으로 추정되는 [^3H]-NE 뿐만이 아니라 endogenous NE의 경우에도 과연 유효한 기전인가를 검토하기 위하여 실시하였다. 만약 이와 같은 현상이 실제로 *in vivo*에서 일어난다면, NO의 혈중 농도가 급증하는 endotoxic shock의 경우 대량으로 생성된 NO는 혈관평활근의 혈관수축 작용을 postsynapse(혈관평활근 세포)에서 직접적으로 억제하는 이외에도, 교감신경 말단에서 NE의 유리를 억제함으로써 이중의 혈압하강 효과를 유발한다고 볼 수가 있다. 하지만 본 실험의 결과를 종합 고찰해 보면 NO가 endogenous NE의 유리를 억제한다는 어떠한 증거도 발견되지 않았다. 반대로 NO는 혈관의 종류에 따라 다르기는 하나, 또 특수한 조건에 따라, 예를 들면 α_2 -receptor가 불활성화 되거나 그 기능이 미미한 경우, NE의 유리를 오히려 촉진시키는 것으로 보인다. 이 특수 조건의 필요성은 각 장기에 분포한 혈관의 종류에 따라서 다르기 때문에 mesenteric artery에서는 yohimbine 존재하에서만 NE의 유리 촉진효과가 나타났으나, 심장에서는 yohimbine이 없이도 관찰되었다. 실제로 endotoxin이 α_2 -receptor를

Table 1. Effect of NO donors and NO synthase inhibitor on heart rate change and NE release to electrical stimulation in rat Langendorff hearts

Drug	Basal heart rate (beats/min)	Heart rate increase (beats/min)	NE release (pg/3 min)
Control	249.7±19.5	61.9±3.3	543.1±31.6
SNP, 0.1 μM	275.0±35.1	51.3±5.8	619.9±50.1
SNP, 1 μM	277.3±36.1	60.9±7.8	899.4±86.6*
SNAP, 10 μM	287.4±32.2	56.6±9.6	667.8±74.1*
SIN-1, 10 μM	274.4±26.4	46.0±5.9	908.6±124.5*
NMA, 300 μM	218.0±37.0	55.4±6.9	518.0±37.0

Sympathetic nerves of both the left and right sides were electrically stimulated for 10 sec at 4 Hz and NE released in the effluent for 3 min was measured. Drugs were infused for 15 min before the commencement of electrical stimulation, N=5-7. *Significantly different from control at $p<0.05$.

**Fig. 6.** A proposed mechanism for the regulation of sympathetic tone by NO produced during endotoxin shock. ACh, acetylcholine; Bk, bradykinin; ATP, adenosine-triphosphate; (+), positive control; ET, endotoxin.

desensitization시키는 것이 보고되어 있으므로(Auclair *et al.*, 1986), endotoxic shock의 조건하에서 NO이 NE의 유리를 촉진시킬 가능성은 높다고 볼 수 있다. 한편 적출심장의 전기적 자극시 NE의 유리촉진에 수반된 맥박수의 유의성 있는 증가는 관찰되지 아니하였는데 아마도 NO donor들이 이미 기초 맥박수를 다소 증가시켰기 때문이거나, 유리된 NE이 맥박수의 증가를 야기시킬 수 있는 심장의 node에 도달하지 못하고 혈관에서 그대로 배출되지 않았나 생각된다.

Endotoxin이 *in vivo*에서 혈중 NE의 농도를 증가시키는 것이 보고되어 있다(McKechnie *et al.*, 1985). 그 증가된 NE이 baroreflex 현상에 의한 것으로 생각되어 왔으나, 본 실험의 결과에 의하면 그 증가된 NE은 baroreflex 뿐 아니라(중추신경계의 참여), 혈관에 분포한 교감신경 말단에서의 국소적(말초적) 작용에 의한

NE 유리촉진현상도 기여하는 것으로 보인다. 어떤 기전에 의해 presynaptic site에서 NO가 NE의 유리를 촉진시키는 가는 아직 알수가 없지만, 아마도 cGMP 생성에 의한 tyrosine hydroxylase 효소의 활성화(Roskoski and Roskoski, 1987; Feelisch *et al.*, 1992)가 아닌가 사료된다. 따라서 NO가 postsynapse(smooth muscle)에서는 cGMP생성에 의해 NE에 대한 혈관수축을 억제하나, presynapse에서는 NE의 유리를 촉진시키는 결과를 초래하게 될 것이다.

NO 합성저해제인 NMA를 말기 endotoxic shock 환자에 투여하여 혈압을 정상화 시키고 생명을 구할 수 있다는 결과가 극소수의 환자를 대상으로한 임상실험에서 확인되었다(Petros *et al.*, 1991). 아마도 NMA가 혈관평활근에서의 NE에 의한 혈관수축 효과를 정상화 시키고, 교감신경 말단에서의 과도한 NE 유리현상도

정상화시킨 결과가 아닌가 생각된다.

결론적으로, endotoxin에 의해 생성된 NO는 혈관평활근에서의 NE 수축작용을 저해하는 작용과 더불어, 교감신경 말단에서의 NE 유리를 증폭시키는 일종의 “국소적 반사작용” 현상을 일으키는 것으로 보인다. 이 가상적인 현상을 Figure 6에 나타내었다.

참고문헌

- Altura, B.M. and Altura, B.T. (1974): Peripheral vascular actions of glucocorticoids and their relationship to protection in circulatory shock. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **190**, 300-315.
- Auclair, M.C., Svinareff, P. and Schmitt, H. (1986): Vascular alpha-adrenoceptor blockade by *E. coli* endotoxin in the rat. *Eur. J. Pharmacol.* **127**, 121-124.
- Briggs, C.A. (1992): Potentiation of nicotinic transmission in the rat superior cervical sympathetic ganglion: effect of cGMP and nitric oxide generators. *Brain Res.* **573**, 139-146.
- Feelisch, M., Bloch, W., Reinhardt, M. and Addicks, K. (1992): Nitric oxide modulates peripheral sympathetic activity in the myocardium, 2nd Symposium on Endothelium-derived Vasoactive Factor (abstract), Basel, Switzerland.
- Green, L.C., Wagner, D.A., Glogowski, J., Skipper, P. L., Winshnok, J.S. and Tannenbaum, S.R. (1982): Analysis of nitrate, nitrite and [¹⁵N]nitrate in biological fluids. *Anal. Chem.* **126**, 131-138.
- Greenberg, S.S., Diecke, F.R.J., Cantor, E., Peevy, K. and Tanaka, T.P. (1990): Inhibition of sympathetic neurotransmitter release by modulators of cyclic GMP in canine vascular smooth muscle. *Eur. J. Pharmacol.* **187**, 409-423.
- McGregor, D.D. (1965): The effect of sympathetic nerve stimulation on vasoconstrictor responses in perfused mesenteric blood vessels of the rats. *J. Physiol. (London)* **177**, 21-30.
- McKechnie, K., Dean, H.G., Furman, B.L. and Parratt, J.R. (1985): Plasma catecholamines during endotoxin infusion in conscious unstrained rats: effect of adrenal demedulation and/or guanethidine treatment. *Cir. Shock* **17**, 85-94.
- Moncada, S., Palmer, R.M.J. and Higgs, E.A. (1991): Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol. Rev.* **43**, 109-142.
- Park, K.H., Long, J.P. and Cannon, J.G. (1990): Frequency-selective compounds and inhibition of cardiovascular reflexes. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **255**, 240-247.
- Park, K.H., Rubin, L.E., Gross, S.S. and Levi, R. (1992): Nitric oxide is a mediator of hypoxic coronary vasodilatation: relationship to adenosine and cyclooxygenase-derived metabolites. *Cir. Res.* **71**, 992-1001.
- Parratt, J.R. and Sturgess, R.M. (1975): *E. coli* endotoxin shock in the cat: treatment with indomethacin. *Br. J. Pharmacol.* **53**, 485-488.
- Petros, A., Bennett, D. and Vallance, P. (1991): Effect of nitric oxide synthase inhibitors on hypotension in patients with septic shock. *Lancet* **338**, 1557-1558.
- Roskoski, R., Jr. and Roskoski, L.M. (1987): Activation of tyrosine hydroxylase in PC12 cells by the cyclic GMP and cyclic AMP second messenger systems. *J. Neurochem.* **48**, 236-242.
- Shipley, R.E. and Tilden, J.R. (1947): A pithed rat preparation suitable for assay of pressor substances. *Proc. Soc. Exp. Med.* **65**, 453-455.
- Stevens, C. (1991): Is nitric oxide the retrograde messenger? *Science* **254**, 1296-1297.