Amitriptyline과 Desipramine, Paroxetine은 백서의 Schwann 세포 일차배양에서 산화질소의 생성을 억제한다

서울대학교 의과대학 마취과학교실 및 *임상의학연구소
†성균관대학교 의과대학 삼성서울병원 마취과학교실
‡강원대학교 의과대학 마취과학교실

임영진 · 김현정* · 박학수 · 김선희 · 이상철
함병문 · 김용철† · 정일영‡

= Abstract =

Amitriptyline, Desipramine, and Paroxetine Inhibit Nitric Oxide Production in Primary Schwann Cell Cultures of Rats

Young-Jin Lim, M.D., Hyun Jeong Kim,* Haek Soo Park, M.D.
Sun Hee Kim, M.D., Sang Chul Lee, M.D., Byung Moon Ham, M.D.
Yong Chul Kim, M.D.†, and Il-Young Cheong, M.D.‡

Department of Anesthesiology and *Clinical Research Institute, Seoul National University Hospital, Seoul

†Department of Anesthesiology, Samsung Medical Center, Seoul and

‡Department of Anesthesiology, Kangwon National University Hospital, Chuncheon, Korea

Background: Antidepressants are being used as supplemental therapy in neuropathic and inflammatory pain. The mechanism of their inhibitory effect on experimental animal inflammation is not clear. Studies during the past few years clearly indicate an important role for nitric oxide (NO) in the inflammation and pain-processing system. We evaluated the effects of amitriptyline, desipramine and paroxetine on NO production in primary Schwann cell cultures.

Methods: Primary cultures of the Schwann cell were prepared from dorsal root ganglia of 1- to 3-day old Sprague-Dawley rats. Schwann cells were cultured in the presence or absence of interferon- γ (500 ng/ml) plus tumor necrosis factor- α (500 ng/ml), amitriptyline, desipramine or paroxetine. Production of NO was determined in the supernatant of the culture media.

Results: Amitriptyline (10 μ g/ml), desipramine (10 μ g/ml) and paroxetine (10 μ g/ml) inhibited NO release by 29.8%, 51.4%, and 66.8%, respectively. No drug had a toxic effect on cultured cells, which was determined by an LDH assay.

Conclusions: Inhibition of NO production by Schwann cells may be a mechanism by which some antidepressant medications affect inflammatory and neuropathic pain. (*Korean J Anesthesiol* 2002; 42: 221~227)

Key Words: Amitriptyline; desipramine; nitric oxide; paroxetine; Schwann cells.

논문접수일 : 2002년 1월 9일

책임저자 : 임영진, 서울시 종로구 연건동 28번지, 서울대학교 의과대학 마취과학교실, 우편번호: 110-744

Tel: 02-760-3539, Fax: 02-747-5639, E-mail: limyjin@snu.ac.kr

서 론

Amitriptyline 등을 비롯한 항우울제는 신경병증성 통증 환자에게 널리 사용되고 있으며, 만성두통, 편두통, 안면통, 당뇨병성 신경병증, 대상포진 후 신경통, 유방절제술 후 통증을 포함한 광범위한 통증 치료에 사용되고 있다. 최근 항우울제가 중추신경뿐 아니라 말초신경에도 작용하여 염증억제 작용을 나타내며, 염증억제 작용과 통증억제 효과와의 관련성이 제시되고 있다.¹⁻⁵⁾

산화질소(nitric oxide, NO)는 확산성의 분자로서 체내의 많은 생물학적 과정에서 중요한 역할을 하며, 혈관내피, 분비조직, 신경조직 등 신체의 여러 조직에 존재한다. 염증부위에서 면역세포나 거식세포(macrophage)로부터 생성된 NO는 혈관확장, 혈소판 응집억제, 염증반응, 신경전달, 면역조절 등에 관여한다.⁶⁾ 또한 NO는 통증에도 관여하며, 최근 신경병증성 통증을 유발시킨 쥐의 후근신경절(dorsal root ganglion) 및 말초신경과 Schwann 세포에서 NO의 합성에 관여하는 산화질소합성효소(nitric oxide synthase, NOS) 발현이 증가함이 보고되었다.⁷⁻⁹⁾

Schwann 세포는 말초신경계에서 수초의 형성과 구조, 기능을 유지하는 신경교세포로서, 신경손상 후 발생하는 Wallerian 변성과 뒤이어 일어나는 신경재생과정에 중요한 역할을 담당한다.¹⁰⁾ Schwann 세포에 interleukin-1 α (IL-1 α)나 tumor necrosis factor- α (TNF- α), interferon- γ (IFN- γ)를 가하면 NO 및 interleukin-6 (IL-6)가 분비됨이 증명되었으며,^{10,11)} Wallerian 변성 및 NO의 국소적 증가가 신경병증성 통증의 발생과 밀접한 관계가 있음이 최근 연구에서 밝혀지고 있다.¹²⁾

이에 이 연구에서는 신생 쥐의 후근신경절로부터 일차배양한 Schwann 세포에 proinflammatory cytokine 인 IFN- γ 와 TNF- α 를 처리하여 NO 생성을 유발시킨 후, 서로 다른 작용기전의 항우울제인 amitriptyline과 desipramine, paroxetine이 NO 생성 억제에 미치는 영향을 알아보고자 하였다.

대상 및 방법

태어난 지 3일 이내의 Sprague Dawley 백서를 암

수 구별 없이 사용하였다. 배양액은 Minimum Essential Medium [MEM] (Gibco, Grand Island, USA)에 열처리한 5% horse serum과 0.5% D-(+)-glucose (Sigma, St. Louis, USA)를 첨가하여 사용하였으며 배양용기 (Falcon, Becton Dickinson, Lincoln Park, USA)는 polyethyleneimine (Sigma, St. Louis, USA)으로 coating하여 이용하였다. 항생제와 trypsin-EDTA, cholera toxin 등의 세포배양에 필요한 성분은 Gibco (Grand Island, USA)에서 구입하였으며 collagenase, cytosine arabinofuranoside, glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF), IFN- γ 와 TNF- α 및 amitriptyline, desipramine, hydrocortisone은 Sigma사(St. Louis, USA) 제품을 사용하였다. Paroxetine은 Smith Kline Beecham사에서 기증 받아 사용하였다.

Sprague Dawley계 백서를 -20°C 냉장고에서 10분간 방치하여 냉마취를 한 후 70% 알코올이 담긴 비이커에 담가서 멸균 소독하였다. 백서를 단두한 후 입체현미경을 사용하여 척수의 후근신경절을 척출하였다. 분리한 후근신경절 조직을 Ca^{2+} 과 Mg^{2+} 이 없는 Hank's balanced salt solution (CMF-HBSS)에 넣어 세척한 후, 37°C 배양기에서 0.15% collagenase 1 ml에 90분간, 0.125% trypsin-EDTA용액에서 10분간 방치하였다. Trypsin에 의해 용해된 백서의 후근신경절 조직에 5% horse serum과 0.5% D-(+)-glucose, 항생제가 포함된 MEM 3 ml를 가한 후 파스퇴르 피펫으로 20회 pipetting하고 얻어진 상층액을 $70\mu\text{m}$ cell strainer로 여과시킨 후 다시 medium 5 ml를 첨가하여 10회 pipetting을 한 후 상층액을 여과시켰다. 여과된 용액을 1,000 rpm으로 5분간 원심분리하여 침전세포만을 모은 후 상층액을 버리고 배양액(5% horse serum, 0.5% glucose, MEM)으로 현탁시킨 후에 polyethyleneimine으로 coating된 dish로 옮겨 37°C , 5% CO_2 배양기에서 3일간 배양하였다. 배양 4일째에 배양액에 DNA 합성저해제인 cytosine arabinofuranoside $5\mu\text{M}$ 을 처리하고 2일 후에 cholera toxin $1\mu\text{g/ml}$, GDNF $0.2\mu\text{g/ml}$ 을 배양액 5 ml에 처리하였다. 2일 후에 cholera toxin $1\mu\text{g/ml}$ 가 첨가된 새 배양액으로 갈아준 후에 분열이 멈출 때까지 배양액을 갈아주면서 2주일간 배양한 후 순수한 Schwann 세포를 얻었다. 이들 세포를 4% paraformaldehyde 용액으로 고정하고 S-100 항체로 염색한 후 광학현미경 상으로 Schwann 세포가 95% 이상임을 확인하였다.

혈구계산판을 이용하여 Schwann 세포수를 계산하여 1×10^5 cells/well 농도로 polyethyleneimine으로 coating된 96 well plate에 분주하고 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 24시간 동안 배양하였다. Amitriptyline 10 µg/ml, desipramine 10 µg/ml, paroxetine 10 µg/ml, hydrocortisone 10 µg/ml를 배양액에 첨가하고 30분 후에 IFN- γ 500 ng/ml와 TNF- α 500 ng/ml를 첨가하였으며, 배양 5일 후 세포생존율을 평가하고 산화질소를 측정하여 대조치와 비교하였다. 이때 IFN- γ 와 TNF- α 농도 및 배양시간은 선행실험을 통하여 결정하였다(Fig. 1). 세포배양액내의 산화질소는 세포배양액을 microcon centrifugal filter device (Millipore, USA)로 여과시킨 후 total nitric oxide assay kit (R&D System, USA)를 이용하여 nitrite (NO₂⁻)와 nitrate (NO₃⁻)의 총량을 구하였으며, 민감도는 1.35 µmol/L이었다. 대부분의 NO는 NO₂⁻와 NO₃⁻로 산화되기 때문에 이러한 음이온의 농도는 NO 생성량을 측정하는데 이용할 수 있다. Nitrate reductase를 첨가하여 NO₃⁻를 NO₂⁻로 전환한 후에 Griess 반응을 이용하여 생성된 chromophoric azo- derivative를 540 nm에서 spectrophotometer로 측정함으로써 NO₂⁻를 정량하였다. 실험결과는 대조군 측정치를 기준으로 백분율로 표시하였다. 세포생존율은 세포가 용해될 때 분비되는 세포질 효소인 lactate dehydrogenase (LDH)

Fig. 1. Time- and dose-dependent increase of nitrite production in cytokine-treated rat Schwann cells. Pre-treatment with a combination of TNF- α and IFN- γ (500 ng/ml) as indicated on the x-axis was performed for 3 or 5 days. Values are given as means $\pm$ SD of two experiments performed in triplicated each.

를 정량화하여 측정하였다.¹³⁾

표시된 결과는 3번 이상의 독립적인 실험결과이며 이들의 평균과 표준편차를 산출하여 표시하였다. 결과에 대한 통계처리는 paired t-test를 이용하였으며 $P < 0.05$ 를 유의수준으로 하였다.

결 과

후근신경절에서 배양한 Schwann 세포 일차배양액에서 IFN- γ 와 TNF- α 를 투여하였을 때 용량에 비례하여 NO 생성이 증가하였으며, 500 ng/ml에서 최고치에 도달하여 더 이상 NO 생성이 증가하지 않았다(Fig. 1). IFN- γ 와 TNF- α 투여 후 배양시간에 비례하여 NO 생성이 증가하였으며, 3일보다 5일 측정치에서 NO가 높게 측정되었다(Fig. 1).

Schwann 세포에 IFN- γ 와 TNF- α 를 500 ng/ml씩 투여한 후 5일째 배양액에서 항우울제에 의한 NO 농도 변화를 측정하였다. IFN- γ 와 TNF- α 에 의해

Fig. 2. Effect of amitriptyline, desipramine, and paroxetine on the release of nitric oxide (NO) in the media of rat Schwann cell cultures stimulated by TNF- α (500 ng/ml) plus IFN- γ (500 ng/ml). Incubation time with different drugs was 5 days. Bars show the mean and SD of 3-separate experiments performed in duplicated each. The mean $\pm$ SD level of NO in control cultures was 13.0 ± 1.2 µmol/L and that in TNF- α plus IFN- γ stimulated cultures was 32.9 ± 8.1 µmol/L. *: $P < 0.05$ vs TI (TNF- α + IFN- γ).

Fig. 3. Effect of amitriptyline, desipramine, and paroxetine on the release of lactate dehydrogenase (LDH) in the media of rat Schwann cell cultures stimulated by TNF- α (500 ng/ml) plus IFN- γ (500 ng/ml). Incubation time with different drugs was 5 days. LDH release was expressed as a percentage of the control samples. Values are given as means $\pm$ SD.

증가된 NO가 amitriptyline 또는 desipramine, paroxetine에 의해 유의하게 감소하였으며, NO의 생성을 amitriptyline은 29.8%, desipramine은 51.4%, paroxetine은 66.8% 감소시켰다(Fig. 2). Hydrocortisone도 IFN- γ 와 TNF- α 에 의한 NO 증가를 억제시켰다. Amitriptyline과 desipramine, paroxetine은 IFN- γ 와 TNF- α 를 투여하지 않은 Schwann 세포에서 NO 생성에 미치는 영향이 없었다(Fig. 2). LDH 분석상 amitriptyline과 desipramine, paroxetine 및 IFN- γ 와 TNF- α 는 Schwann 세포 생존율에 영향을 주지 않았다(Fig. 3).

고 찰

Amitriptyline과 desipramine, paroxetine은 일차배양한 Schwann 세포에서 NO의 생성을 억제하였다. 이 결과는 염증성 및 신경병증성 통증에 있어서 항우울제의 진통효과가 말초신경 손상 후 Schwann 세포에서 발생하는 NO 생성 억제와 관련이 있을 가능성을 제시하고 있다.

NO는 화학적으로는 간단하지만 다양한 기능을 수행하는 세포간의 전달물질이다. 말초신경 손상은 국

소적인 염증반응과 신경병증성 통증을 동반하게 된다. 국소적인 염증반응은 신경병증성 통증의 발생에 있어서 중요한 역할을 하며,¹⁴⁾ 말초신경 손상 후 발생하는 염증반응에 관여하는 중요한 요소 중의 하나로 NO를 들 수 있다. 말초조직에서 formalin 및 carrageenan 등에 의해 유도된 염증성 통증에 NO가 척수의 통증전달과정에 중요한 역할을 담당하며 국소적으로도 작용하여 통각을 항진시킨다.¹⁵⁻¹⁷⁾ 좌골신경 만성결찰(chronic constriction injury, CCI) 쥐에서 신경병증성 통증의 발생시 국소적인 NOS 활성 증가가 중요한 역할을 함이 보고되었는데, 말초신경 손상시 iNOS가 국소적인 염증반응과 더불어 증가하며 N^G-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME)를 투여하였을 때 염증의 감소와 함께 allodynia가 감소함이 증명되었다.^{8,9,18)} CCI 후 손상된 좌골신경 내에서 국소적으로 분비된 NO는 부분적으로 손상받은 말초신경의 재생이나 국소적인 염증반응 과정에 영향을 주어 직접 또는 간접적으로 통각과민 및 이질통의 발생에 기여하며, NO의 독성 대사산물인 peroxynitrite (ONOO⁻)가 간접적으로 Wallerian 변성에 참여하여 통각에 영향을 미칠 가능성도 있다. 또한 실험적으로 NO가 말초신경 손상 후 발생하는 신경의 과흥분성을 유발하며,¹⁵⁾ NO를 국소적으로 투여하면 통증이 유발된다.¹⁹⁾

Schwann 세포는 말초신경계에서 수초의 형성과 구조, 기능을 유지하는 신경교세포로서 Schwann 세포는 실험적으로 유발시킨 신경염에서 체액성 인자를 분비하여 국소적인 면역반응을 조절하는 기능을 지니고 있다. 말초신경 손상 후 발생하는 전형적인 Wallerian 변성은 축삭의 변성이 일어나고 Schwann 세포 및 주위로부터 모여든 거식세포가 수초조직 과편을 청소하는 것으로, 거식세포와 Schwann 세포는 Wallerian 변성과 뒤이어 일어나는 신경재생과정에 중요한 역할을 담당하고 있다. Wallerian 변성은 신경병증성 통증의 발생과 밀접한 관련이 있으며,^{12,19,20)} Wallerian 변성에 의해 생성되는 여러 통각물질 및 TNF- α 과 같은 cytokine, growth factor들이 이 과정에 관여할 수 있다.²¹⁾ 신경병증성 통증 유발 3-5일 후 Schwann 세포와 거식세포에서 TNF- α 가 국소적으로 분비되며,^{21,22)} TNF- α 를 말초 신경주위에 투여하면 기계적 이질통 및 열성 통각과민을 직접 유발시킬 수 있음이 보고되었다.²³⁾ Schwann 세포에 IFN- γ 와

TNF- α 를 처리하였을 때 iNOS-선택적인 mRNA가 12 시간 내에 발현되어 nitrite 분비가 시간과 용량에 비례하여 증가하여 3일 후 최고에 이르며, nitrite 분비가 N^G-monomethyl L-arginine (NMMA)에 의해 억제된 것으로 보아 Schwann 세포는 cytokine에 의해 유발되는 NOS 기능을 지니고 있다고 하였다.¹⁰⁾ 또한 이질통의 발생에 부분적으로 iNOS에 의해 매개되는 국소적인 염증반응이 관련되어 있는바,¹⁴⁾ CCI 쥐의 거식세포와 Schwann 세포에서 iNOS가 국소적으로 발현되고 그 결과 NO 생성이 증가함이 증명되었다.⁹⁾ 이와 같이 Wallerian 변성 및 국소적으로 증가한 NO가 신경병증성 및 염증성 통증에 관여할 수 있기 때문에 Schwann 세포에서 NO의 생성에 관여하는 요인들이 말초신경 손상 후 유발되는 신경병증성 또는 염증성 통증에 영향을 줄 수 있을 것이다.^{12,15-20)} 최근, 배양한 Schwann 세포에 adrenergic 및 serotonin 수용체가 발현됨이 증명되었다.^{24,25)}

항우울제는 비교적 선택적인 monoamine 재흡수 억제제로 중추신경의 norepinephrine과 serotonin계를 활성화하여 진통작용이 발생한다고 알려져 있지만 norepinephrine과 serotonin이 항우울제의 진통작용에 기여하는 정도는 명확하게 밝혀지지 않았다.²⁶⁾ 항우울제는 우울증과 상관없이 신경병증성 통증을 경감시키고 만성 류마티스 관절염, 섬유 근육통 등에서 항염증작용과 진통작용이 있다.²⁶⁾ 동물실험에서 항우울제가 중추신경뿐만 아니라 말초에도 작용함이 밝혀졌으며, 염증반응 억제효과와 진통작용과의 관련성이 제시되었지만¹⁻⁵⁾ 아직까지 명확한 작용기전은 밝혀지지 않고 있다.²⁷⁾

Amitriptyline은 serotonin과 norepinephrine 재흡수 억제제로 쥐의 복강 및 척수강, 말초로 투여하였을 때 기계적 및 열성 이질통의 역치를 감소시킨다.^{5,28,29)} Eisenach와 Gebhart는³⁰⁾ 염증성 통각과민 쥐의 척수에서 amitriptyline이 N-methyl-D-aspartate (NMDA) 수용체에 길항효과를 나타냄으로써 진통효과가 발생한다고 하였으며, Fromm 등은³¹⁾ 신경병증성 통증에서 amitriptyline의 치료효과가 척수에서 wide dynamic range (WDR) 뉴런의 억제가 항진되는 것과 관련이 있다고 하였다. Amitriptyline의 통각과민 완화 효과가 naloxone에 의해 차단되는 것으로 보아 일부는 내인성 opioid계를 통하여 발현된다고 하였다.²⁸⁾ Seltzer 등은³²⁾ 쥐의 자율성(autonomy) 행동을 amitriptyline이 억제하

였으며 이것은 신경중에 직접 amitriptyline이 작용하거나 국소적으로 염증세포를 억제하기 때문이라고 하였다.

상대적으로 선택적인 norepinephrine 재흡수 억제제인 desipramine 및 선택적인 serotonin 재흡수 억제제인 fenfluramine이 formalin 유발 염증성 통증 또는 척수신경 절단 쥐에서 말초 신경병증성 통증을 억제함이 보고되었으나, 효과가 없다는 상반된 결과의 보고도 있다.^{27,33-35)} 한편 chlomipramine과 fluoxetine은 용량에 비례하여 쥐에서 피하 carrageenin에 의해 유발된 염증을 억제하며,²⁾ serotonin 재흡수 억제제인 paroxetine은 허혈성 심질환 환자에게 투여하였을 때 NOS 억제제로 작용하여 혈장 nitrite와 nitrate 치를 유의하게 감소시킨다고 보고되었다.³⁶⁾

결론적으로 이 연구는 서로 다른 기전의 항우울제인 amitriptyline과 desipramine, paroxetine이 cytokine을 처리한 일차 배양 Schwann 세포에서 NO 생성을 억제함을 밝혔는데 의의가 있으며, 항우울제의 진통작용과 말초신경에서 NO 생성 억제와의 연관성에 관하여서 향후 더 많은 연구가 필요할 것이다.

참 고 문 헌

1. Martelli EA, Toth E, Segre AD, Corsico N: Mechanism of inhibition of experimental inflammation by antidepressant drugs. *Eur J Pharmacol* 1967; 2: 229-33.
2. Bianchi M, Rossoni G, Sacerdote P, Panerai AE, Berti F: Effects of chlomipramine and fluoxetine on subcutaneous carrageenin-induced inflammation in the rat. *Inflamm Res* 1995; 44: 466-9.
3. Bianchi M, Panerai AE: Antidepressant drugs and experimental inflammation. *Pharmacol Res* 1996; 33: 235-8.
4. Yaron I, Shirazi I, Judovich R, Levartovsky D, Caspi D, Yaron M: Fluoxetine and amitriptyline inhibit nitric oxide, prostaglandin E2, and hyaluronic acid production in human synovial cells and synovial tissue cultures. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 2561-8.
5. Abdi S, Lee DH, Chung JM: The anti-allodynic effects of amitriptyline, gabapentin, and lidocaine in a rat model of neuropathic pain. *Anesth Analg* 1998; 87: 1360-6.
6. Nathan C, Xie QW: Nitric oxide synthase: roles, tolls, and controls. *Cell* 1994; 78: 915-28.

7. Choi Y, Raja SN, Moore LC, Tobin JR: Neuropathic pain in rats is associated with altered nitric oxide synthase activity in neural tissue. *J Neurol Sci* 1996; 138: 14-20.
8. Levy D, Zochodne DW: Local nitric oxide synthase activity in a model of neuropathic pain. *Eur J Neurosci* 1998; 10: 1846-55.
9. Levy D, Hoke A, Zochodne DW: Local expression of inducible nitric oxide synthase in an animal model of neuropathic pain. *Neurosci Lett* 1999; 260: 207-9.
10. Gold R, Zielasek J, Kiefer R, Toyka KV, Hartung HP: Secretion of nitrite by Schwann cells and its effect on T-cell activation *in vitro*. *Cell Immunol* 1996; 168: 69-77.
11. Bolin LM, Verity AN, Silver JE, Shooter EM, Abrams JS: Interleukin-6 production by Schwann cells and induction in sciatic nerve injury. *J Neurochem* 1995; 64: 850-8.
12. Ramer MS, French GD, Bisby MA: Wallerian degeneration is required for both neuropathic pain and sympathetic sprouting into the DRG. *Pain* 1997; 72: 71-8.
13. Park YH, Lee SS: Nitric oxide mediates capsaicin-induced cytotoxicity in cultured dorsal root ganglion neurons. *Arch Pharm Res* 1999; 22: 432-4.
14. Clatworthy AL, Illich PA, Castro GA, Walters ET: Role of peri-axonal inflammation in the development of thermal hyperalgesia and guarding behavior in a rat model of neuropathic pain. *Neurosci Lett* 1995; 184: 5-8.
15. Aley KO, McCarter G, Levine JD: Nitric oxide signaling in pain and nociceptor sensitization in the rat. *J Neurosci* 1998; 18: 7008-14.
16. Osborne MG,Coderre TJ: Effects of intrathecal administration of nitric oxide synthase inhibitors on carrageenan-induced thermal hyperalgesia. *Br J Pharmacol* 1999; 126: 1840-6.
17. Budzinski M, Misterek K, Gumulka W, Dorociak A: Inhibition of inducible nitric oxide synthase in persistent pain. *Life Sci* 2000; 66: 301-5.
18. Inoue T, Mashimo T, Shibata M, Shibata S, Yoshiya I: Rapid development of nitric oxide-induced hyperalgesia depends on an alternate to the cGMP-mediated pathway in the rat neuropathic pain model. *Brain Res* 1998; 263-70.
19. Holthusen H, Arndt JO: Nitric oxide evokes pain at nociceptors of the paravascular tissue and veins in humans. *J Physiol* 1995; 487: 253-8.
20. Myers RR, Heckman HM, Rodriguez M: Reduced hyperalgesia in nerve-injured WLD mice: relationship to nerve fiber phagocytosis, axonal degeneration and regeneration in normal mice. *Exp Neurol* 1996; 141: 94-101.
21. Wagner R, Myers RR: Schwann cells produce tumor necrosis factor alpha: expression in injured and non-injured nerves. *Neuroscience* 1996; 73: 625-9.
22. Xie QW, Cho HJ, Calaycay J, Mumford RA, Swiderek KM, Lee TD, et al: Cloning and characterization of inducible nitric oxide synthase from mouse macrophages. *Science* 1992; 256: 225-8.
23. Wagner R, Myers RR: Endoneurial injection of TNF-alpha produces neuropathic pain behaviors. *Neuroreport* 1996; 7: 2897-901.
24. Yoder EJ, Lee B, Ellisman MH: The expression of serotonin receptors by cultured rat Schwann cells is a function of their differentiation: correlation with a quiescent myelinating phenotype. *Mol Cell Neurosci* 1997; 8: 303-10.
25. Fink T, Davey DF, Ansellin AD: Glutaminergic and adrenergic receptors expressed on adult guinea pig Schwann cells *in vitro*. *Can J Physiol Pharmacol* 1999; 77: 204-10.
26. Sindrup SH: Antidepressants as analgesics. *Anesthesia: Biologic foundations* Edited by Yaksh TL. Philadelphia, Lippincott-Raven Publishers. 1997, pp 987-97.
27. Sawynok J, Reid A: Antinociception by tricyclic antidepressants in the rat formalin test: differential effects on different behaviours following systemic and spinal administration. *Pain* 2001; 93: 51-9.
28. Ardid D, Guilbaud G: Antinociceptive effects of acute and 'chronic' injections of tricyclic antidepressant drugs in a new model of mononeuropathy in rats. *Pain* 1992; 49: 279-87.
29. Esser MJ, Sawynok J: Acute amitriptyline in a rat model of neuropathic pain: differential symptom and route effects. *Pain* 1999; 80: 643-53.
30. Eisenach JC, Gebhart GF: Intrathecal amitriptyline acts as an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist in the presence of inflammatory hyperalgesia in rats. *Anesthesiology* 1995; 83: 1046-54.
31. Fromm GH, Nakata M, Kondo T: Differential action of amitriptyline on neurons in the trigeminal nucleus. *Neurology* 1991; 41: 1932-6.
32. Seltzer Z, Tal M, Sharav Y: Autotomy behavior in rats following peripheral deafferentation is suppressed by daily injections of amitriptyline, diazepam and saline. *Pain* 1989; 37: 245-50.

33. Jett MF, McGuirk J, Waligora D, Hunter JC: The effects of mexiletine, desipramine and fluoxetine in rat models involving central sensitization. *Pain* 1997; 69: 161-9.
 34. Sawynok J, Esser MJ, Reid AR: Peripheral antinociceptive actions of desipramine and fluoxetine in an inflammatory and neuropathic pain test in the rat. *Pain* 1999; 82: 149-58.
 35. Wang YX, Bowersox SS, Pettus M, Gao D: Antinociceptive properties of fenfluramine, a serotonin reuptake inhibitor, in a rat model of neuropathy. *J Pharmacol Exp Ther* 1999; 291: 1008-16.
 36. Finkel MS, Laghrissi TF, Pollock BG, Rong J: Paroxetine is a novel nitric oxide synthase inhibitor. *Psychopharmacol Bull* 1996; 32: 653-8.
-