Isoflurane의 최소폐포농도에 관한 척수강 칼슘통로 차단제의 효과

전남대학교 의과대학 마취통증의학교실

윤 명 하 · 최 정 일 · 정 성 욱

= Abstract =

Effects of Intrathecal Calcium Channel Blockers on the MAC of Isoflurane in Rats

Myung Ha Yoon, M.D., Jeong Il Choi, M.D., and Seong Wook Jeong, M.D.

Department of Anesthesiology and Pain Medicine, Medical School, Chonnam National University, Gwangju, Korea

Background: Much evidence suggests that the spinal cord may be an important anesthetic action site. Volatile anesthetics have been shown to inhibit neurotransmitter release by inhibition of intracellular calcium entry. Many types of calcium channels (L, N, P, Q, T) were demonstrated in the dorsal horn of the spinal cord. Therefore, the aim of this study was to determine whether intrathecal calcium channel antagonists may change the minimum alveolar concentration (MAC) of isoflurane in rats and examine the role of spinal calcium channels for anesthetic action of isoflurane.

Methods: In Sprague-Dawley rats, the MAC of isoflurane was determined by the tail-clamp technique. First, control MAC was determined and then changes of control MAC were observed after intrathecal administration of calcium channel antagonists. Change of mean arterial pressure (MAP) and general behavior were also examined following intrathecal delivery of calcium channel antagonists.

Results: Neither abnormal behavior nor change of MAP occurred after intrathecal injection of all types of calcium channel antagonists. All drugs decreased the MAC of isoflurane.

Conclusions: These results suggested that L, N, P, Q and T types of the calcium channel might play an important role in determining the MAC of isoflurane in the spinal cord. (*Korean J Anesthesiol* 2002; 43: 661~666)

Key Words: Calcium channel; isoflurane; MAC; spinal cord.

서 론

논문접수일 : 2002년 9월 25일

책임저자 : 윤명하, 광주광역시 동구 학동 8번지

전남대학교병원 마취과, 우편번호: 501-757

Tel: 062-220-6893, Fax: 062-232-629

E-mail: mhyoon@chonnam.ac.kr

이 논문은 2000년도 전남대학교 학술연구비 지원에 의하여 연구되었음.

많은 흡입마취제의 개발과 광범위한 사용에도 불구하고 흡입마취제의 작용기전 및 작용점은 아직까지 명확하게 밝혀져 있지 않다. 전통적으로 뇌를 마취제의 작용점으로 여겼으나 최근 연구들은 척수를 흡입마취제의 중요한 작용점으로 제시하였다.¹⁻³⁾ 또한 Rampil은⁴⁾ 척수를 절단하여도 마취제의 요구량이 변하지 않았다고 하였고 Ishizaki 등은⁵⁾ 척수강 내로

투여한 *N*-methyl-D-aspartate (NMDA) 수용체 길항제 혹은 neurokinin (NK)-1 수용체 길항제가 마취제 요구량을 감소시켰다고 보고하였다. 이처럼 흡입마취제의 작용점이 척수라는 연구는 최소폐포농도 (Minimum alveolar concentration, MAC)의 개념에 배경을 두고 있다. MAC이란 흡입마취제의 강도를 나타내는 것으로서 유해한 자극에 대해 실험 대상 중 50%가 움직이지 않을 때의 흡입마취제의 농도를 의미한다.⁶⁾ 따라서 마취상태란 유해한 자극에 대하여 척수에서 중재되는 운동반응이 없어지는 것이라고 정의할 수 있고 이는 흡입마취제의 작용점이 척수라는 것을 시사한다.

한편 유해자극은 척수후각에서 glutamate와 같은 흥분성 아미노산과 substance-P와 같은 펩타이드를 유리시키고 이 물질들은 각각의 수용체인 NMDA나 NK-1 수용체를 통하여 세포내 칼슘증가 등을 일으키게 되는데 이러한 반응에 의해 행동학적으로는 움직임 등의 통증반응을 나타내게 된다.⁷⁾ 이는 칼슘이 유해자극의 전달과정에 관여하고 있음을 의미한다. 따라서 유해자극에 의한 운동반응(움직임) 역시 칼슘에 의해 조절이 될 수 있을 것으로 사료된다. 이상의 소견을 종합해보면 척수에서 칼슘이 MAC의 개념에 의한 흡입마취제의 강도 결정에 영향을 미칠 수 있을 것으로 추측된다.

흡입마취제는 세포 내로 칼슘의 유입을 억제하여 신경전달 물질유리를 억제하는 것으로 알려져 있다.⁸⁾ 또한 척수에는 L, N, P, Q, 및 T형의 칼슘통로가 있다고 한다.^{9,10)} 그러나 이러한 각각의 칼슘통로와 흡입마취제인 isoflurane의 강도에 관해서 명백히 밝혀진 바는 없다.

이에 저자들은 쥐의 척수강 내로 주입한 칼슘통로 차단제가 흡입마취제인 isoflurane의 MAC에 미치는 영향을 알아봄으로써 척수 수준에서 흡입마취제 작용에 대한 칼슘통로의 역할을 알아보고자 본 실험을 시행하였다.

대상 및 방법

수컷 Sprague-Dawley (250-300 g) 쥐를 대상으로 실험하였으며 사육실에서 물과 먹이를 자유롭게 섭취할 수 있도록 하였다. 척수강내 카테터는 Yaksh와 Rudy의 방법으로 거치 하였다.¹¹⁾ Enflurane 마취 하

에서 쥐를 뇌정위고정장치에 고정하고 두개골 위에서 정중선을 따라 양귀 2 cm 하방까지 절개하여 근육과 근막을 견인하여 환추후두막을 찾은 다음 경막을 23 게이지 바늘 끝으로 절개한 후 polyethylene (PE-10) 카테터를 8 cm 하방까지 삽입하여 카테터 끝이 요추 확장 부에 위치하도록 하였다. 카테터 외부는 피하를 통하여 두개골 상부에서 고정한 후 28 게이지 철사로 막아 놓았다. 절개부위를 3-0 실크로 봉합하고 마취에서 각성시켰다. 수술 후 신경학적 손상을 보인 쥐는 실험에서 제외하고 바로 희생시켰다. 카테터 삽입 후 정상 소견을 보이는 쥐는 각각의 케이지에 넣어 관리하였다가 본 실험을 시행하였다. 실험기간동안 쥐는 한번씩만 사용하였고 실험 후에는 흡입마취제 과다투여로 희생시켰다.

MAC의 측정은 척수강내 카테터 거치 6-7일 후에 실시하였다. 실험에 사용된 약물은 nifedipine (Sigma, USA), ω -conotoxin GVIA (Tocris, UK), ω -agatoxin TK (Biomol, USA), ω -conotoxin MVIIC (Tocris, UK), flunarizine (Sigma)이었다. ω -conotoxin GVIA, ω -agatoxin TK 및 ω -conotoxin MVIIC은 증류수에 용해시켰으며 nifedipine과 flunarizine은 dimethyl sulfoxide와 0.1N HCl에 각각 용해시켜 10 μ l로 하여 기어장치 수동식 주사기에 카테터를 연결하여 척수강 내로 주입하고 카테터 내의 사강 용적을 고려하여 실험약물 주입 후 생리식염수 10 μ l를 추가로 주입하였다. 약물의 투여용량은 예비실험을 통하여 운동장애를 일으키지 않는 최대용량으로 하였다. 이는 본 실험이 전신 마취 하에 이루어져 운동장애를 평가할 수 없기 때문이었다.

MAC 측정을 위해 모든 실험쥐는 산소와 함께 3-4% enflurane으로 유리상자 안에서 마취를 한 다음 기관지절개를 시행하여 14 게이지 polyethylene 카테터를 기관 내로 거치 하고 비재호흡 회로(nonre-breathing circuit)를 이용하여 자발호흡을 시켰다. 실험기간동안 isoflurane 기화기(Isotec 3, Ohmeda, England)에 산소를 2 L/min로 지속적으로 공급하였다. 우측 경동맥에 PE-50 카테터를 삽입하여 평균동맥압을 지속적으로 측정하였으며 동맥혈 가스분석도 시행하였다. 가온 패드를 이용하여 체온을 정상 범위 내로 유지시켰다. Isoflurane의 호기말 농도와 평균동맥압은 감시장치(Datex-Ohmeda Ins., Finland)를 이용하여 측정하였다. Isoflurane의 MAC은 tail-clamp법을

이용하여 up-and-down 방식으로 측정하였다.¹²⁾ 끝 부위에 고무가 부착된 20 cm 크기의 지혈검자(hemostat forcep)로 쥐 꼬리의 중앙부위를 30초간 꼭 조인 상태로 물려놓았다가 풀어주었다. 이때 쥐가 몸통이나 하지 혹은 꼬리의 움직임과 같은 의도적인 움직임을 보이면 양성으로 하였고 쩡그리거나 뻗뻗함 등의 비의도적인 반응은 무시하였다. 그런 후 isoflurane 농도를 10%씩 증감하여 새로운 농도에서 다시 20분간 호흡시킨 후 지혈검자의 물림을 반복하였다. 지혈검자의 물림은 앞선 부위보다 상부 측으로 이동하면서 시행하였다. 일련의 준비과정이 끝나면 먼저 isoflurane 1.5% 농도로 20분간 호흡시킨 후 MAC을 측정하였다. MAC은 음성반응을 보이는 최하 농도와 양성반응을 보이는 최고 농도의 평균으로 하였다. 실험은 대조치 MAC을 구한 다음 척수강 내로 L (nifedipine, 10 μ g), N (ω -conotoxin GVIA 0.25 μ g), P (ω -agatoxin TK 0.125 μ g), Q (ω -conotoxin MVIIC, 1 μ g) 및 T (flunarizine, 100 μ g)형 칼슘통로 차단제를 투여한 후 각각의 MAC을 측정하여 대조치와 비교하였으며 이때 평균동맥압도 측정 비교하였다. 각 약물에 의한 일반행동변화를 관찰하기 위하여 운동기능, 이개(pinna) 반사 및 각막(corneal) 반사를 평가하였다. 운동기능은 righting 반사(실험쥐를 바닥에 두고 뒤집었을 때 신속하게 다시 원상태로 되돌아오는 반사)와 placing 반사(실험쥐를 테이블 가장자리에 매달리게 하면 발등을 끌어올리려는 반사)를 이용하여 평가하였다. 이개 반사란 PE-10 카테터로 실험쥐의 외이도를 자극하면 귀를 움직이는 반사이고 각막 반사는 PE-10 카테터로 눈을 가볍게 접촉하면

눈을 깜빡거리는 반사로 자극에 반응을 보이지 않는 경우는 중추신경계의 이상을 의미한다.

모든 측정값은 평균 $\pm$ 표준오차로 표시하였다. 통계학적 검증을 위해 Wilcoxon-signed rank test를 사용하였고, P값이 0.05 미만일 때를 통계적으로 유의하다고 판정하였다.

결 과

척수강 내로 투여한 칼슘통로 차단제들은 본 실험에서 사용한 용량에서 운동기능 이상을 초래하지 않았으며 이개 및 각막 반사도 모두 정상이었다. 칼슘통로 차단제 주입 후 평균동맥압은 주입전과 유의한 차이가 없었다(Table 1).

척수강 내로 nifedipine (10 μ g), ω -conotoxin GVIA (0.25 μ g), ω -agatoxin TK (0.125 μ g), ω -conotoxin MVIIC (1 μ g) 및 flunarizine (100 μ g)을 투여 한 후에 측정한 MAC은 각각 1.74 $\pm$ 0.07, 2.05 $\pm$ 0.05, 1.9 $\pm$ 0.09, 1.93 $\pm$ 0.07, 1.97 $\pm$ 0.09로써 대조치인 2.15 $\pm$ 0.08, 2.32 $\pm$ 0.03, 2.15 $\pm$ 0.09, 2.25 $\pm$ 0.03, 2.25 $\pm$ 0.15에 비해 유의하게 감소하였으며 대조치 사이에는 유의한 차이가 없었다(Table 2).

동맥혈 가스분석 소견과 체온은 모든 실험기간동안 생리적 범위를 유지하였다.

고 찰

본 실험결과 척수강 내로 투여한 L, N, P, Q 및 T형 칼슘통로 차단제는 모두 isoflurane의 MAC을 감

Table 1. Effects of Intrathecal Administered CA on Mean Arterial Pressure

Group	Control	CA
1	99 $\pm$ 5	107 $\pm$ 3
2	102 $\pm$ 2	98 $\pm$ 3
3	98 $\pm$ 2	96 $\pm$ 2
4	97 $\pm$ 2	99 $\pm$ 3
5	94 $\pm$ 4	91 $\pm$ 4

CA: calcium antagonist, Group 1, 2, 3, 4, 5: groups receiving L, N, P, Q, T types of CA, respectively. Each group, represents the mean $\pm$ SEM of 5 rats.

Table 2. Changes in Minimum Alveolar Concentration of Isoflurane after Intrathecal Administration of CA

Group	Control	CA
1	2.15 $\pm$ 0.08	1.74 $\pm$ 0.07*
2	2.32 $\pm$ 0.03	2.05 $\pm$ 0.05*
3	2.15 $\pm$ 0.09	1.9 $\pm$ 0.09*
4	2.25 $\pm$ 0.03	1.93 $\pm$ 0.07*
5	2.25 $\pm$ 0.15	1.97 $\pm$ 0.09*

CA: calcium antagonist, Group 1, 2, 3, 4, 5: groups receiving L, N, P, Q, T types of CA, respectively. Each group, represents the mean $\pm$ SEM of 5 rats. *: compared with control (P < 0.05)

소시켰다. 이는 L, N, P, Q 및 T형 칼슘통로가 isoflurane의 마취제 작용기전에 관여하며 또한 isoflurane의 작용점이 적어도 일부는 척수임을 시사하고 있다.

최근 흡입마취제가 뇌 이외의 척수와 같은 부위에 작용한다는 많은 연구가 진행되고 있는데 이는 MAC의 개념에 바탕을 두고 있다.¹⁻⁵⁾ MAC이란 흡입마취제의 강도를 나타내는 것으로서 유해한 자극에 대하여 실험 대상 중 50%가 움직이지 않을 때의 마취제의 농도를 말한다.⁶⁾ 따라서 마취상태란 유해한 자극에 대하여 척수에서 중재되는 운동반응의 의미에서 정의할 수 있고 아울러 척수가 흡입마취제의 작용점이 될 수 있음을 시사한다. 여러 연구들에^{5,12)} 의하면 척수강 내로 투여한 NMDA 수용체 길항제 혹은 NK-1 수용체 길항제는 흡입마취제의 MAC을 감소시켰다. 이러한 척수 NMDA 수용체나 NK-1 수용체는 유해한 자극에 의해 활성화되며 그 과정에서 칼슘과 밀접한 연관을 갖고 있다고 알려져 있다.⁷⁾ 따라서 흡입마취제의 작용이 척수수준에서 칼슘통로를 통하여 중재되어 질 것으로 사료된다. 또한 Rampil 등은¹⁾ 쥐를 이용한 실험에서 흡입마취제의 MAC은 대뇌피질이나 전뇌(forebrain) 구조와 독립적이라 하였고 Antognini와 Schwartz는²⁾ 선택적으로 뇌만을 마취할 경우에 MAC이 증가하였다고 하면서 흡입마취제 강도 결정에 척수 같은 피질 하(subcortical) 구조의 중요성을 강조하였는데 이러한 사실들은 흡입마취제 작용점이 척수임을 뒷받침하고 있다. 본 실험에서 사용한 tail-clamp법은 통증을 유발하는 유해한 자극이고 이에 반응해서 나타나는 의도적인 움직임은 척수중재에 의해서 나타나게 되므로 tail-clamp법 사용 하에서의 관찰된 MAC의 변화는 흡입마취제의 작용점이 척수임을 의미한다. 한편 다른 연구자들에 의하면 전신적으로 투여한 칼슘통로 차단제가 흡입마취제의 MAC을 감소시킨다고 한다.¹³⁻¹⁵⁾ 이는 흡입마취제의 작용점이 척수 이외의 부위임을 시사한다. 또한 Borges와 Antognini는¹⁶⁾ 뇌 이외의 부위가 마취제의 작용에 중요하지만 뇌도 마취제 요구량에 영향을 미친다고 하였다.

흡입마취제는 칼슘유입을 억제함으로써 신경전달물질의 유리를 억제하여 마취작용을 나타낸다고 한다.⁸⁾ 이러한 칼슘유입의 조절에 중요한 역할을 하는 통로로는 전압 활성화 칼슘통로(voltage-activated cal-

cium channel)가 있으며 척수에는 high voltage-activated calcium channel인 L, N, P, Q형 칼슘통로와 low voltage-activated calcium channel인 T형 칼슘통로가 존재한다고 한다.^{9,10)} 강력한 자극에 의한 막의 탈분극에 의해 이러한 칼슘통로가 활성화되면 칼슘유입을 일으키고 이는 2차적으로 substance-P나 glutamate같은 흥분성 신경전달 물질을 유리시켜 신경원의 흥분을 유발한다. 따라서 흡입마취제는 척수에서 전압 활성화 칼슘통로를 억제하여 마취작용을 나타낼 것으로 사료된다. Wong 등은¹⁷⁾ 경막외강 내로 투여한 L형 칼슘통로 차단제 nifedipine이 척수반사를 반영하는 tail-flick 시험에서 항침해효과를 나타냈다고 하였다. Lia와 Prado는¹⁸⁾ N형 칼슘통로 차단제 ω -conotoxin을 척수강내 투여시 tail-flick latency를 증가시켰다고 보고하였다. Diaz와 Dickenson은¹⁹⁾ P형 칼슘통로 차단제인 ω -agatoxin이 척수에서 항침해효과를 보인다고 하였다. 이러한 L, N, P형 칼슘통로 차단제의 항침해효과는 유해자극에 의해 활성화된 칼슘통로로의 칼슘 주입을 억제하여 나타나므로 이와 같은 기전에 의해 L, N, P형 칼슘통로 차단제는 tail-clamp와 같은 유해자극에 의해 척수에서 중재되어지는 움직임을 억제하여 isoflurane의 MAC을 감소시켰을 것으로 사료된다. 유해자극에 대한 Q형 칼슘통로 차단제의 반응이나 흡입마취제의 강도에 Q형 칼슘통로의 역할에 관한 보고는 없는 상태이나 P형 칼슘통로 차단제는 Q형 칼슘통로에도 작용하는 점으로 미루어 Q형 칼슘통로 역시 isoflurane의 마취작용에 기여했을 것으로 생각된다. Dogrul과 Yesilyurt는²⁰⁾ T형 칼슘통로는 척수에서 유해자극 전달과정에 관여하지 않는다고 하였다. 반면 Matthews와 Dickenson은²¹⁾ 자극전달에 관한 T형 칼슘통로의 역할을 제시하였다. 본 실험에서도 T형 칼슘통로 차단제가 isoflurane의 MAC을 감소시킨 점으로 미루어 볼 때 T형 칼슘통로도 isoflurane의 마취작용에 기여했을 것으로 생각된다. 따라서 척수에 존재하는 전압 활성화 칼슘통로인 L, N, P, Q 및 T형 칼슘통로 모두가 isoflurane의 마취작용에 관여하는 것으로 사료된다. 그러나 본 실험에서는 isoflurane의 마취작용과 칼슘통로와 관련 여부만을 평가하였으므로 어떤 형의 칼슘통로가 마취작용과 더 연관성이 있는지에 대해서는 알 수 없었다.

한편 Costa 등은²²⁾ 칼슘통로 차단제가 혈장내 β

-endorphine을 증가시킨다고 하였다. 따라서 흡입마취제의 MAC 감소효과는 opioid 수용체 기전에 의해 중재될 수 있다.

평균동맥압은 본 연구의 모든 실험에서 실험기간 동안 유의한 변화가 없었다. 따라서 본 실험에서 사용한 약물 자체에 의한 혈압 변화 때문에 MAC이 변하는 경우는 없었을 것으로 생각된다. 아울러 운동장애를 일으키지 않는 용량만을 사용하였기 때문에 운동기능 장애로 인한 MAC 측정치에 대한 오류는 배제되었다. 동맥혈 가스분석 소견과 체온 역시 실험기간동안 생리적 범위를 유지하였으므로 MAC 결정에는 영향이 없었을 것으로 사료된다.

결론적으로 척수강 내로 주입한 전압 활동성 칼슘통로 차단제는 isoflurane의 MAC을 감소시켰고 이는 L, N, P, Q 및 T형 칼슘통로가 흡입마취제 작용에 관여한다는 것을 의미하나 어떤 형태의 칼슘통로가 흡입마취제 강도 결정에 더 비중 있는 역할을 하는 것으로 구명되어야 할 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Rampil IJ, Mason P, Singh H: Anesthetic potency (MAC) is independent of forebrain structures in the rat. *Anesthesiology* 1993; 78: 707-12.
2. Antognini JF, Schwartz K: Exaggerated anesthetic requirements in the preferentially anesthetized brain. *Anesthesiology* 1993; 79: 1244-9.
3. 황재현: 척수에서의 마취작용 및 기전. *대한마취과학회지* 2002; 43: 1-9.
4. Rampil IJ: Anesthetic potency is not altered after hypothermic spinal cord transection in rats. *Anesthesiology* 1994; 80: 606-10.
5. Ishizaki K, Sasaki M, Karasawa S, Obata H, Nara T, Goto F: Intrathecal co-administration of NMDA antagonist and NK-1 antagonist reduces MAC of isoflurane in rats. *Acta Anaesthesiol Scand* 1999; 43: 753-9.
6. Eger EI II, Saidman LJ, Brandstater B: Minimum alveolar anesthetic concentration: a standard of anesthetic potency. *Anesthesiology* 1965; 26: 756-63.
7. Coderre TJ: The role of excitatory amino acid receptors and intracellular messengers in persistent nociception after tissue injury in rats. *Mol Neurobiol* 1993; 7: 229-46.
8. Xu F, Sarti P, Zhang J, Blanck TJ: Halothane and isoflurane alter calcium dynamics in rat cerebrocortical synaptosomes. *Anesth Analg* 1998; 87: 701-10.
9. Vanegas H, Schaible H: Effects of antagonists to high-threshold calcium channels upon spinal mechanisms of pain, hyperalgesia and allodynia. *Pain* 2000; 85: 9-18.
10. Talley EM, Cribbs LL, Lee JH, Daud A, Perez-Reyes E, Bayliss DA: Differential distribution of three members of a gene family encoding low voltage-activated (T-type) calcium channels. *J Neurosci* 1999; 19: 1895-911.
11. Yaksh TL, Rudy TA: Chronic catheterization of spinal subarachnoid space. *Physiol Behav* 1976; 17: 1031-6.
12. Kuroda Y, Strebel S, Rafferty C, Bullock R: Neuroprotective doses of N-methyl-D-aspartate receptor antagonists profoundly reduce the minimum alveolar anesthetic concentration (MAC) for isoflurane in rats. *Anesth Analg* 1993; 77: 795-800.
13. Maze M, Mason DM Jr, Kates RE: Verapamil decreases MAC for halothane in dogs. *Anesthesiology* 1983; 59: 327-9.
14. Schwartz AE, Maneksha FR, Backus WW, Kanchuger MS, Young WL: Nimodipine decreases the minimum alveolar concentration of isoflurane in dogs. *Can J Anaesth* 1991; 38: 239-42.
15. de Wolff MH, Leather HA, Wouters PF: Effect of clevidipine, an ultra-short acting 1,4-dihydropyridine calcium channel blocking drug, on the potency of isoflurane in rats and dogs. *Eur J Anaesthesiol* 2000; 17: 506-11.
16. Borges M, Antognini JF: Does the brain influence somatic responses to noxious stimuli during isoflurane anesthesia? *Anesthesiology* 1994; 81: 1511-5.
17. Wong CH, Dey P, Yarmush J, Wu WH, Zbuzek VK: Nifedipine-induced analgesia after epidural injection in rats. *Anesth Analg* 1994; 79: 303-6.
18. Lia EN, Prado WA: Effects of intrathecal L- and N-type calcium channel blockers on the antinociception evoked by opioid agonists in the rat tail flick test. *Acta Physiol Pharmacol Ther Latinoam* 1999; 49: 195-203.
19. Diaz A, Dickenson AH: Blockade of spinal N- and P-type, but not L-type, calcium channels inhibits the excitability of rat dorsal horn neurones produced by subcutaneous formalin inflammation. *Pain* 1997; 69: 93-100.
20. Dogrul A, Yesilyurt O: Effects of intrathecally administered aminoglycoside antibiotics, calcium-channel

- blockers, nickel and calcium on acetic acid-induced writhing test in mice. *Gen Pharmacol* 1998; 30: 613-6.
21. Matthews EA, Dickenson AH: Effects of ethosuximide, a T-type Ca (2+) channel blocker, on dorsal horn neuronal responses in rats. *Eur J Pharmacol* 2001; 415: 141-9.
22. Costa G, Saija A, Padovano I, Trimarchi GR, De Pasquale R, Caputi AP: The calcium antagonist nimodipine increases beta-endorphin release from rat hypophysis through an action on adrenal glands. An "in vivo" and "in vitro" study. *Pharmacol Res Commun* 1984; 16: 959-68.
-