Original Articles Korean Circulation J 2000;30(3):326-333

Nitric Oxide 합성억제제가 칼슘의 중추 감압반응에 미치는 영향

조선대학교 의과대학 생리학교실
염철호 · 문인근 · 전제열 · 이정회 · 전규배 · 조철희 · 윤평진

Effects of Endogenous Nitric Oxide Synthesis Inhibition on the Depressor Response to Intracerebroventricular Calcium

Cheol-Ho Yeum, PhD, In-Keun Moon, MD, Jae-Yeoul Jun, MD, Jeong-Hoe Liee, MD, Kyu-Bae Cheon, MD, Cheol-Hee Cho, MD and Pyung-Jin Yoon, PhD
Department of Physiology, College of Medicine, Chosun University, Kwangju, Korea

ABSTRACT

Background : Aside from its well known peripheral antihypertensive effects, calcium also lowers blood pressure, when administered into the cerebral ventricle. The present study was aimed to determine whether the central depressor response to calcium is mediated by a stimulation of endogenous L-argininenitric oxide (NO) pathway. **Methods** : Mean arterial pressure (MAP) and heart rate (HR) were continuously recorded from the femoral artery in anesthetized rats. Administration of calcium was performed into the right lateral cerebral ventricle. The effects of N^G-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) on the cardiovascular response to calcium were examined. **Results** : Intracerebroventricular (ICV) injection of calcium consistently produced a decrease in MAP and HR. The depressor and bradycardiac responses to calcium showed a dose-dependent fashion. Pretreatment with a calcium channel blocker, diltiazem (1 μmol, ICV), attenuated cardiovascular responses to calcium. ICV infusion (1 μl/min) of L-NAME (200 μg/kg and 20 μg/kg/min for 60 min) increased MAP without significant changes in HR. Chronic ingestion of L-NAME (5 mg/100 ml in drinking water, 4 weeks) also increased the systolic blood pressure as compared with control. The depressor effect of ICV calcium was significantly diminished in acute or chronic L-NAME treated rats. **Conclusion** : These findings suggest that the central depressor response to calcium, at least in part, is NO-dependent. **(Korean Circulation J 2000;30(3):326-333)**

KEY WORDS : Calcium · Intracerebroventricular · Depressor response · Nitric oxide.

서 론

칼슘대사의 불균형이나[1)2)] 혈장내 이온화 칼슘농도의 감소[3)] 및 부갑상선 호르몬분비의 증가[2)] 등에 의한 체내 칼슘농도의 변화가 고혈압의 유발과 관련됨이 실험동물에서나 임상적으로 검토되었으며 실제로 칼슘의 식이섭취가 고혈압환자[4)]나 고혈압동물[5)]의 혈압을 하강시킴이 알려져 있다. 이러한 말초 항고혈압효과와는 달리 칼슘을 중추신경계내 직접 투여시에도 감압효과[6)7)] 및 말초혈관 확장[8)]을 야기시킴이 시사됨으로써 중추적으로도 혈압조절에 관여함이 제시되었다.

한편 혈관내피세포층에 이완을 일으키는 물질이 존

논문접수일 : 1999년 8월 26일
심사완료일 : 2000년 2월 17일
교신저자 : 윤평진, 501 - 759 광주광역시 동구 서석동 375
조선대학교 의과대학 생리학교실
전화 : (062) 220 - 3667 · 전송 : (062) 232 - 4943
E - mail : PJYUN@mail.chosun.ac.kr

재함이 Furchgott와 Zawadzki[9]에 의해 처음으로 보고된 후 이를 endothelium-derived relaxing factor (EDRF)라 명명하게 되었으며[10] 또한 그 물질의 본체가 체내 아미노산인 L-arginine으로부터 합성되는 nitric oxide(NO)임이 밝혀지게 됨으로써[11] 이 물질의 생물학적 중요성이 인식되기 시작했다. L-arginine의 질소원자를 안정된 유기 radical로 치환시킨 N^G-monomethyl-L-arginine(L-NMMA), N^G-methyl-L-arginine(L-NMA), N^G-nitro-L-arginine(L-NNA) 및 N^G-nitro-L-arginine methyl ester(L-NAME)와 같은 NO 합성억제제가 개발됨으로써[12] 심혈관기능의 조절에 있어 NO의 역할을 구명하는데 널리 사용되고 있다.

NO는 NO synthase(NOS)에 의해 합성되며 지금까지 세가지 isoform의 NOS가 존재한다고 알려졌으나 기능적으로는 constitutive form과 inducible form으로 구분된다.[13] 특히 중추신경계 내에 존재하는[14] constitutive form은 Ca^{2+}/calmodulin 의존성으로 이 효소가 세포질내 칼슘 증가에 의해 자극된다. 실제로 대뇌 여러 부위에서 NO가 유리됨이 확인되었으며[15] 중추적으로 교감신경활성을 억제시킴으로써 혈압을 하강시킴이 시사되어 있다.[16] 나아가서 Itoh 등[7]은 칼슘 중추투여에 의한 감압반응에 혈장 norepinephrine의 감소가 수반됨을 보고한 바 있다. 따라서 칼슘에 의한 중추감압효과가 내원성 L-arginine-NO계를 경유할 가능성을 배제할 수 없을 듯하다.

본 연구는 칼슘 중추투여시 혈압에 미치는 영향을 확인하고 칼슘의 중추감압효과에 NO계가 관여하는지 구명하고자 NO 합성억제제인 L-NAME 처치하에서 칼슘에 의한 혈압변화를 조사하였다.

재료 및 방법

실험동물

일정한 조건하에서 사육된 체중 250 300 g의 흰쥐(Sprague-Dawley)를 암수 구별없이 사용하였다.

혈압 및 심박수 측정

Thiopental(50 mg/kg)을 복강내에 주입하여 마취시킨 후 호흡이 용이하도록 기도에 cannula를 장치하고 우측 대퇴동맥에 heparin(300 IU/ml)으로 채워진 polyethylene tube(PE 60)를 삽입하여 pressure transducer(Gould, P23Db)를 통해 polygraph(Beckman, R511A)상에 기록하였으며 심박수는 cardiotachometer (SND, 820)를 통해 20초간 3회 측정하여 그 평균치를 1분으로 환산하였다. 평균혈압(mean arterial pressure, MAP)은 공식(diastolic pressure+pulse pressure/3)에 의거하여 산출하였다. 한편 L-NAME 섭취군에서 수축기혈압(systolic blood pressure, SBP)은 꼬리동맥을 통해 간접법(Narco, 7211)으로 측정하였으며 측정당일 교감신경활동이 최대한 억제되어 있다고 여겨지는 일정한 시간을 정하여 3회 측정한 후 그 평균치를 구하였다.

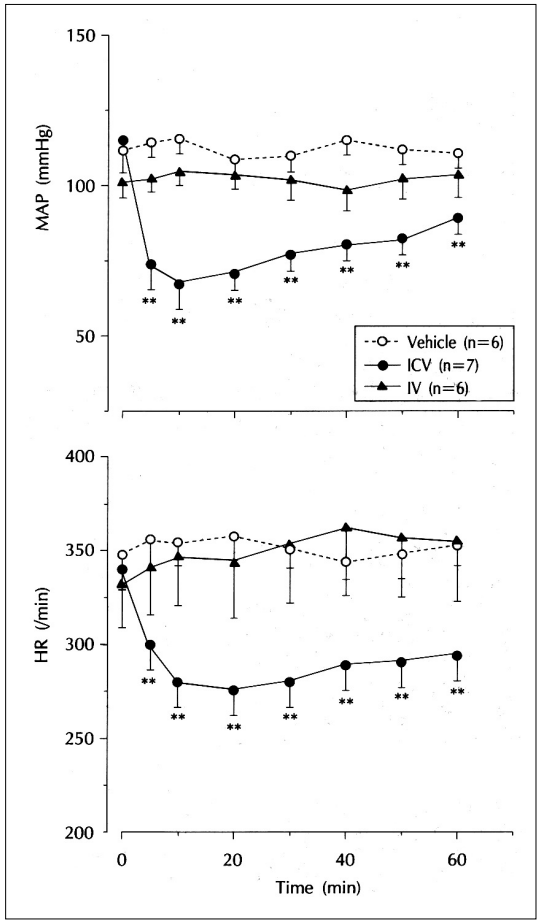

Fig. 1. Mean arterial pressure (MAP) and heart rate (HR) in rats injected with intracerebroventricular (ICV) vehicle or $CaCl_2$ (1 μmol). The results obtained by intravenous (IV) injection of the same dose of calcium are also shown. Each point represents mean±SE. **p< 0.01, compared with the 0 time value in each group. n=number of animals.

칼슘의 중추투여

수술이 끝나고 혈압이 안정된 후 CaCl 2(Sigma, 0.5 1.5 μmol)를 우측 측뇌실을 통해 10 μl의 용량을 서서히 투여하였다. 즉 두개피부를 절개하여 bregma로부터 우측으로 1.5 mm 뒤쪽으로 0.6 mm 되는 지점에 깊이 4.5 mm 만큼 cannula를 삽입하여 투여하였으며 매번 실험이 끝난 후 파란색 염료를 주입하여 뇌실내 주입여부를 확인하였다. 한편 우측 대퇴정맥에 PE tube를 삽입하여 정맥투여에 사용하였다. 칼슘 channel 차단제인 diltiazem(1 μmol/10 μl)은 칼슘(1 μmol) 투여 10분전에 뇌실 내에 전처치하였다.

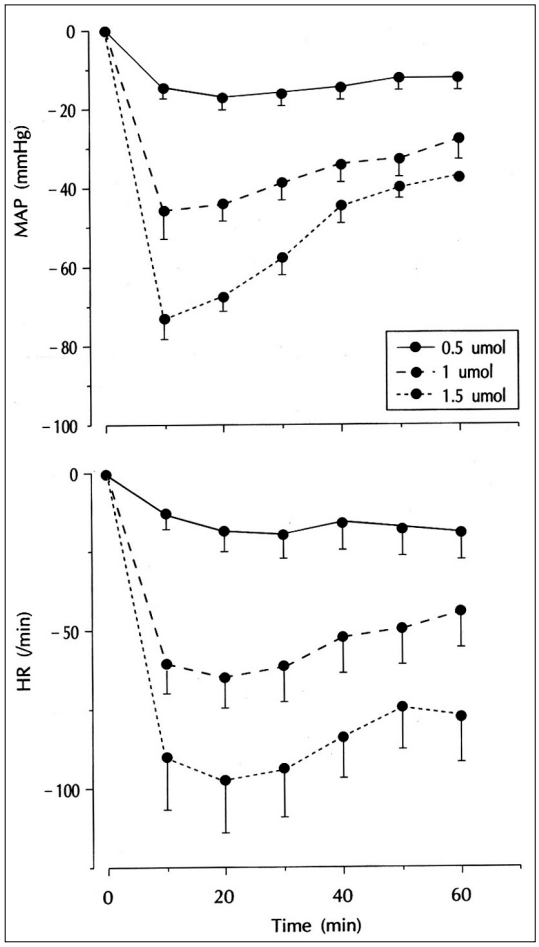

Fig. 2. Dose responses in mean arterial pressure (MAP) and heart rate (HR) to intracerebroventricular injections of $CaCl_2$. Each point represents the mean of 5 - 10 experiments in each dose.

L-NAME 처치

한 군은 L-NAME(Sigma, 200 μg/kg 일시주입 및 20 μg/kg/min 지속주입)를 측뇌실을 통해 1 μl/min의 속도로 1시간동안 주입하였으며 다른 군은 L arginine(Sigma, L-NAME 용량의 10배)과 L-NAME를 병용투여 하였다. 이때 양 군에서 칼슘(1 μmol)은 약물이 주입되는 동안 각각 30분째에 투여하였다. 한편 L-NAME 만성처치군은 L-NAME(5 mg/100 ml 음수)를 4주간 섭취시켰다.

통 계

모든 실험성적은 평균±표준오차로 표시하였다. 한 군에서 평균의 차는 Student's t-test를 통해 검정하였고 각 군간의 차이는 ANOVA with Bonferroni test를 이용하였으며 유의수준은 $p<0.05$로 하였다.

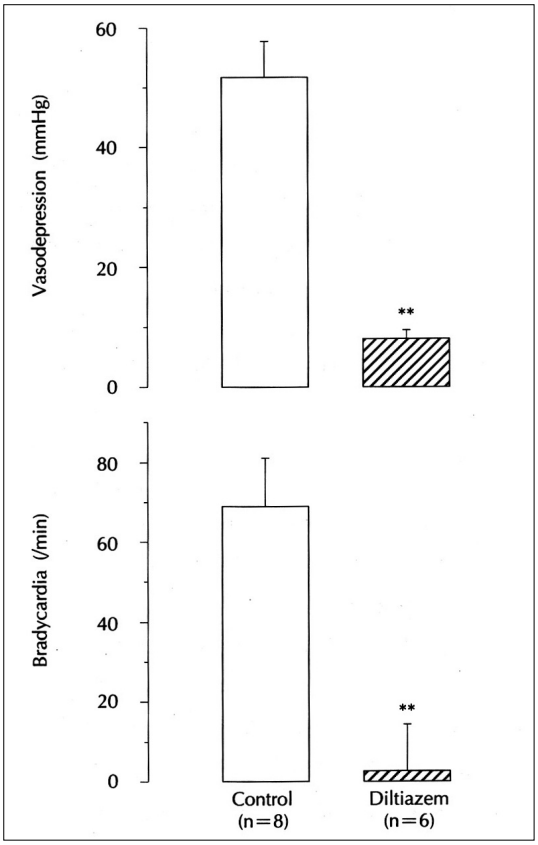

Fig. 3. Effects of diltiazem on the depressor and bradycardiac responses to intracerebroventricular injections of $CaCl_2$ (1 μmol). **p<0.01, compared with the control value.

결 과

측뇌실내 칼슘이 혈압에 미치는 효과

뇌실내 칼슘(1 μmol) 투여후 혈압은 5분째부터 유의하게 하강(114±4.7에서 74±9.7 mmHg, $p<0.01$)하여 10분째 최대감압(67±9.3 mmHg)을 보였으며 유의한 감압효과는 1시간째까지 지속되었다. Vehicle (인산완충액, 10 μl) 중추투여시에나 동량의 칼슘을 말초정맥내 투여시에는 혈압변화가 없었다. 혈압과 동시에 측정한 심박수는 칼슘중추투여시 감압효과가 유지되는 동안 서맥을 보였다(Fig. 1). 중추감압 및 서맥반응은 칼슘의 양(0.5 μmol 1.5 μmol)이 증가됨에 따라 용량의존성을 보였다(Fig. 2). 한편 칼슘에 의한 감압 및 서맥효과는 뇌실내 diltiazem 처치시 약화(52±6.4에서 8.2±1.3 mmHg, $p<0.01$)되거나 거의 소실(68±13.5에서 3±9.6/min, $p<0.01$)되었다(Fig. 3).

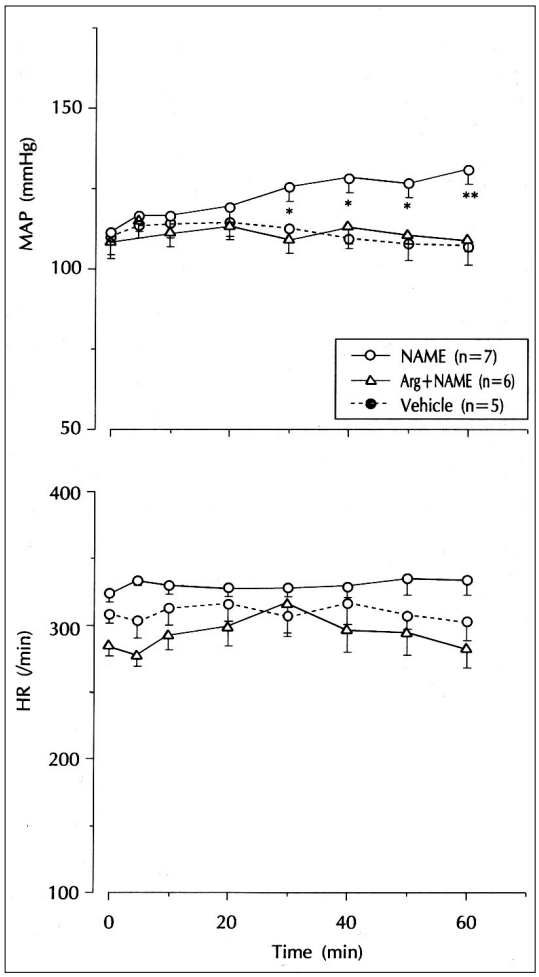

Fig. 4. Mean arterial pressure (MAP) and heart rate (HR) during intracerebroventricular infusion of L-NAME. L-NAME was infused from 0 to 60 min. 〔Arg+NAME〕 depicts the group infused with L-arginine and L-NAME simultaneously. *$p<0.05$, **$p<0.01$, compared with the 0 time value in each group.

L-NAME 주입이 혈압에 미치는 효과

L-NAME를 뇌실내에 지속적으로 주입시 혈압은 서서히 상승하여 30분째부터 유의한 승압효과(110±5.0에서 126±4.6 mmHg, $p<0.05$)를 보였으며 주입이 끝난 1시간째까지 유지되었다. L-NAME에 의한 중추승압효과는 L-arginine과 병용투여시 소실(108±4.5에서 110±3.5 mmHg)되었으며 동량의 saline 주입은 혈압에 영향을 미치지 않았다. 이때 심박수는 어느 경우에나 유의한 변화가 없었다(Fig. 4). 한편 L-NAME 섭취군에서 간접법으로 측정한 수축기혈압은 1주째부터 대조군(tap water 섭취군)에 비해 유의하게 상승(130 ±4.8 및 163±3.6 mmHg, $p<0.01$)되었으며 유의한 차이는 섭취가 끝난 4주째까지 지속(128±3.3 및 167 ±8.5 mmHg, $p<0.01$)되었다(Fig. 5).

칼슘의 감압효과에 미치는 L-NAME의 영향

칼슘에 의한 감압반응은 L-NAME 처치하에서도 유지되었으나 그 크기는 약화되는 경향을 보임으로써

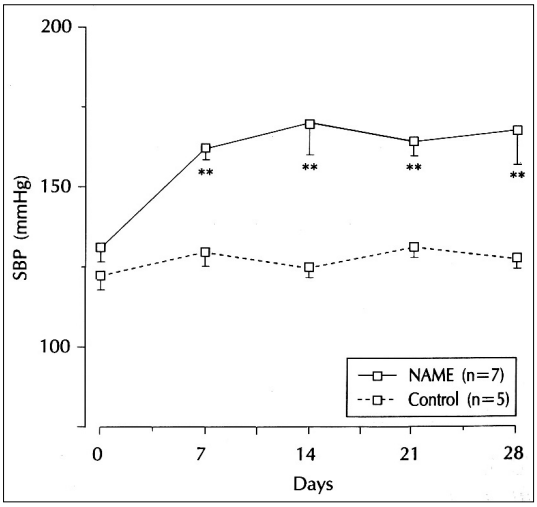

Fig. 5. Effects of L-NAME ingestion on systolic blood pressure (SBP). Control group was administered tap water. *$p<0.01$, compared with the control value.

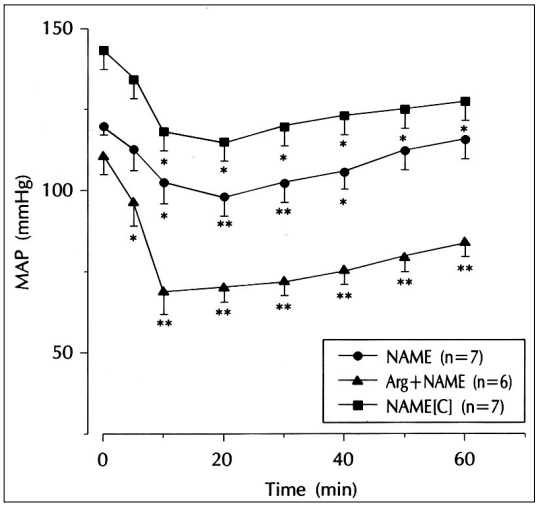

Fig. 6. Mean arterial pressure (MAP) in L-NAME-reated rats injected with intracerebroventricular $CaCl_2$ (1 μmol). NAME and NAME 〔C〕 represent acute and chronic L-NAME-treated groups, respectively. 〔Arg+NAME〕 depicts the group infused with L-arginine and L-NAME simultaneously. *p<0.05, **p<0.01, compared with the 0 time value in each group.

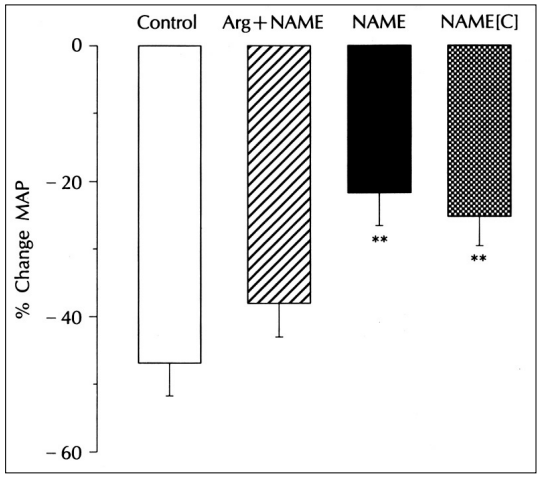

Fig. 7. Percent changes in maximal depressor responses to intracerebroventricular $CaCl_2$ (1 μmol) in L-NAME treated rats. **p<0.01, compared with the control value. Other legends as in Fig. 6.

투여후 1시간째에는 정상으로 회복되었다. 그러나 L-arginine과 L-NAME를 병용처치한 경우에는 L-NAME의 영향을 볼 수 없었다. 한편 L-NAME 섭취군에서도 칼슘에 의한 감압효과는 약화되는 경향을 보였다(Fig. 6). 칼슘에 의한 최대혈압 변동치는 L-arginine과 L-NAME 병용처치군에서는 -37.5±5.0%로서 대조군(-46.8±5.1%)과 유사하였으나 L-NAME 급성(-21.9±4.2%, $p<0.01$) 및 만성처치군(-24.8±4.5%, $p<0.01$)의 경우 대조군에 비해 각각 유의하게 약화되었다(Fig. 7).

고 찰

칼슘 중추투여에 의한 감압반응은 여러 연구자들에 의해 확인된 바 있으며[6)7)17)] 본 실험에서도 뇌실내 투여한 칼슘은 심박수의 감소와 더불어 혈압을 하강시켰다. 동량을 정맥내 투여시 또는 vehicle의 경우 혈압과 심박수에 변화를 보이지 않음은 중추투여한 칼슘의 감압효과가 중추적인 경로를 통해 나타났음을 의미한다. 더불어 칼슘은 그 자체가 삼투질 농도를 증가시키며 고삼투용액은 중추적으로 vasopressin 유리를 야기시킨다는 보고가 있으나[18)] 칼슘용액과 동일한 삼투용액의 뇌실내 주입이 혈압에 영향을 미치지 않음이 확인된 바 있다.[7)] 한편 Kusano 등[19)]은 칼슘 중추투여시 고혈압 동물의 경우 혈압을 하강시키나 정상혈압쥐에서는 영향받지 않음을 보고함으로써 본 실험의 결과와 차이를 보이나 용량이 본 실험에 비해 적은 양(0.1 μmol)임으로 이러한 차이는 용량의 차에 기인할 것으로 추측된다. 실제로 본 실험에서 칼슘의 양을 증량시켜 투여하였을 때 감압반응이 용량의존성을 보였다.

뇌실내 투여된 칼슘에 의해 뇌척수액내 칼슘농도는 2배 이상 증가되며[7)] 세포밖 칼슘농도의 증가는 세포막을 통한 칼슘유입을 촉진시킬 수 있다. 즉 세포밖 칼슘은 막전압 의존(voltage-dependent), 수용체활성화(receptor-operated) 및 신전에 의해 활성화되는(stretchactivated) 흥분성 칼슘 channel 등을 통해 세포내로 이동함으로써 세포내 칼슘농도를 조절한다.[19)] 칼슘에 의한 중추감압효과나 서맥현상이 칼슘 channel 차단제인 diltiazem이나 nisoldipine에 의해 약화되거나 소실됨이 밝혀짐으로써[7)19)] 중추신경계내 칼슘농도의 증가가 세포내외의 농도경사를 증가시켜 칼슘의 세포내 유입을 촉진시킴으로써 심맥관계에 영향을 미침이 시사되어 있으며 이는 본 실험에서도 확인되었다. 따라서 칼슘투여에 의한 중추신경계내 칼슘농도의 변화는 검토되지 않았으나 칼슘에 의한 감압효과는 세포내 칼슘농도의 변화와 관련될 것으로 추측된다. 나아가서 중추에서 칼슘의 작용부위는 아직 명확히 밝혀져 있지 않

으나 측뇌실과 근접한 전복측의 제3뇌실(anteroventral third ventricle, AV3V)일 가능성이 제시되어 있다.[20)21)]

EDRF의 본체로 알려진 NO는 여러가지 생리적 자극에 의해 L-arginine으로부터 합성된다.[11)22)] 많은 연구자들이 순환계에 미치는 NO의 생리적 기능에 관심을 갖고 NO 합성억제제인 L-NMA 투여시 여러 실험동물의 종에서 지속적으로 혈압이 상승됨을 확인함으로써[23-25)] 기초상태에서 말초 저항혈관으로부터 NO가 유리되어 지속적인 혈관확장을 야기시켜 혈압조절에 관여함을 시사하였다. 한편 Garthwaite 등[26)]은 쥐의 소뇌세포에서 유리된 NO가 NMDA(N-methyl-D-aspartate) 수용체를 활성화시켜 세포내 cyclic GMP를 증가시킴을 확인하고 NO가 중추적으로도 생리적 기능에 관여할 수 있음을 제시하였다. 이어서 NO가 중추신경계 내에서도 합성됨이 확인되었으며[27)] NO 합성효소인 NOS가 중추에 존재함이 면역화학적 방법에 의해 입증되었다.[28)]

본 실험에서도 뇌실내 L-NAME 주입시 혈압이 10분째 이후 지속적으로 상승됨으로써 중추신경계 내에서 혈관확장성 NO가 정상혈압을 유지하는데 기여하고 있음을 의미하며 NO 전구물질인 L-arginine과 병용투여시 승압효과가 소실되는 것으로 보아 L-NAME가 L-arginine-NO계를 선택적으로 억제시켜 혈압에 영향을 미쳤을 것으로 추측된다. 이와 관련되어 Shapoval 등[29)]은 sodium nitroprusside 중추투여시 NO 농도의 증가에 기인하여 말초 교감신경활성이 억제됨을 확인하고 중추적으로 NO가 교감신경활성에 영향을 미침으로써 혈압조절에 관여함을 처음으로 시사하였으며 실제로 NO 합성억제제의 중추투여시 교감신경활성이 증가되거나[29)] hexamethonium에 의해 승압효과가 억제됨이[16)] 관찰됨으로써 NO 합성억제제에 의한 혈압상승이 교감신경활성의 항진과 관련됨이 확인되었다.[30)] 따라서 기초상태에서 교감신경활성을 억제시킬 정도의 NO를 합성할 수 있도록 NOS의 긴장성 활성이 중추적으로 유지되고 있음을 의미한다.

한편 L-NAME 주입에 의한 혈압변화에 심박수의 변화가 수반되지 않음으로써 이는 주로 말초혈관 저항의 증가가 승압효과에 기여함을 의미하며 그러한 결과는 다른 연구자들에 의해서도 확인된 바 있다.[30)31)] 더불어 El Karib 등[32)]은 L-NNA를 측뇌실내 주입시 혈압을 상승시키나 동량을 말초정맥내 투여시 혈압에 영향을 미치지 않음을 확인하고 NO 합성억제제가 직접적으로 중추신경계를 경유하여 작용함을 시사하였으며 또한 L-NAME 중추투여시 심박수의 변화를 보이지 않는 반면에 말초투여시에는 심박수의 감소가 수반됨이 보고된 바[30)31)] NO 합성억제제에 의한 중추효과는 말초와는 별개로 해석할 수 있을 듯하다. 지금까지 알려진 NO의 중추작용부위는 교감신경흥분성 뉴론이 내재되어 있는 연수의 복외측(rostal ventrolatereal medulla),[29)] NMDA 수용체가 많이 분포되어 있는 고속핵(nucleus tractus solitarius)[33)] 및 실방핵(paraventricular nucleus)[34)] 등이 제시되어 있다. 나아가서 L-NAME의 만성적 섭취도 혈압을 상승시킨다고 하며[35)36)] 본 연구에서도 L-NAME를 4주동안 섭취시켰을때 1주후부터 대조군에 비해 유의한 혈압상승을 보임으로써 NO가 장기적 혈압조절에도 관여하고 있음을 시사한다.

본 실험에서 관심이 집중되는 부분은 뇌실내 칼슘 투여에 의한 감압효과가 L-NAME 처치하에서 대조군에 비해 약화되었다는 것이다. 이는 칼슘의 중추감압효과가 부분적으로 NO계를 경유함을 의미하며 L-arginine과 병용처치시 감압반응이 대조군과 유사함을 보임으로써 L-arginine-NO계와 관련됨을 더욱 시사하고 있다. 칼슘의 감압효과는 세포내로의 칼슘의 이동과 관련되며[7)19)] 이는 본 실험에서도 확인된 바 뇌실내 투여한 칼슘에 의해 중추신경계내에서 세포내 칼슘농도의 증가를 야기시킴으로써 칼슘 의존성인 NOS가 자극되어 감압효과를 초래할 것으로 추측된다. 더구나 NO의 중추효과와 마찬가지로 칼슘의 감압효과는 교감신경활성의 억제와 관계되므로[7)] 칼슘과 NO계의 순환계에 대한 작용에 있어 중추적 최종공통로가 동일할 가능성이 있다. 그러나 칼슘의 중추적 작용부위로 제시되어 있는 AV3V 영역[20)21)]에 대한 손상이 NO에 의한 혈압변화나 NOS의 활성에 영향을 미치지 않음이 보고된 바[37)] 칼슘과 NO의 구체적인 중추적 작용경로는 추후 구명되어져야 할 것으로 사료된다. 나아가서 L-NAME 만성처치군에서 중추신경계내 NO 함량의 변화는 검토되지 않았으나 칼슘의 감압효과가 역시 대조군에 비해 약화됨을 보임으로써 이 경우에도 NO계가 매개함을 시사하고 있다.

이상의 실험결과를 요약하면 뇌실내 칼슘은 혈압을

하강시키며 NO는 중추적으로도 혈압조절에 관여함이 시사되었다. 또한 칼슘의 중추감압효과는 부분적으로 L - arginine - NO계를 경유할 것으로 사료된다.

요 약

연구배경 :

칼슘은 중추투여시 혈압을 하강시킴이 시사되어 있으며 중추신경계내에 존재하는 NO 합성효소는 칼슘 의존성임이 알려져 있다. 칼슘의 중추투여가 혈압에 미치는 영향을 확인하고 칼슘에 의한 혈압변화가 L - arginine - NO계를 경유하는지 구명하고자 본 연구를 시행하였다.

방 법 :

마취 흰쥐의 혈압과 심박수를 기록하면서 칼슘을 우측 측뇌실을 통해 투여하였으며 NO 합성억제제인 L - NAME를 전처치(급성 및 만성)하여 칼슘에 의한 혈압변화에 미치는 영향을 대조군과 비교 검토하였다.

결 과 :

1) 뇌실내 칼슘은 심박수의 감소와 더불어 혈압을 하강시켰으며 감압 및 서맥효과는 용량의존성을 보였다.

2) 칼슘의 감압반응 및 서맥현상은 diltiazem 처치시 약화되거나 소실되었다.

3) 뇌실내 L - NAME 주입은 심박수의 변동없이 혈압을 상승시켰으며 승압효과는 L - arginine과 병용투여시 소실되었다.

4) L - NAME를 4주간 섭취시켰을 경우 혈압은 1주째부터 대조군에 비해 유의한 상승을 보였다.

5) 칼슘의 중추 감압효과는 L - NAME 급성 및 만성 처치군에서 대조군에 비해 유의하게 약화되었다.

결 론 :

이상의 실험결과로 보아 칼슘의 중추 감압효과는 부분적으로 L - arginine - NO계를 매개함이 시사되었다.

중심 단어 : 칼슘 · 중추투여 · 감압반응 · Nitric oxide.

이 논문은 1998년도 조선대학교 학술연구비의 지원을 받아 연구되었음.

REFERENCES

1) Ayachi S. *Increased dietary calcium lowers blood pressure in the spontaneously hypertensive rat. Metabolism 1979;28:1234-8.*
2) Strazzullo P, Nunziata V, Cirillo M, Giannattasio R, Ferrara LA, Mattioli PL, *et al. Abnormalities of calcium metabolism in essential hypertension. Clin Sci 1983;65: 137-41.*
3) Resnick LM, Laragh JH, Sealey JE, Alderman MH. *Divalent cations in essential hypertension. Relations between serum ionized calcium, magnesium, and plasma renin activity. N Engl J Med 1983;309:888-91.*
4) Tabuchi Y, Ogihara T, Hashizume K, Saito H, Kumahara Y. *Hypotensive effect of long-term oral calcium supplementation in elderly patients with essential hypertension. J Clin Hypertens 1986;3:254-62.*
5) Wyss JM, Chen YF, Meng Q, Jin H, Jirikulsomchok S, Oparil S. *Dietary Ca^{2+} prevents NaCl-induced exacerbation of hypertension and increases hypothalamic norepinephrine turnover in spontaneously hypertensive rats. J Hypertens 1989;7:711-9.*
6) Borowitz JL, Stebbins G, Isom G. *Studies of the hypotensive effect of calcium injected into lateral brain ventricles. Res Commun Chem Pathol Pharmacol 1987;55: 67-74.*
7) Itoh H, Takeda K, Tanaka M, Hirata M, Kawasaki S, Hayashi J, *et al. Calcium suppress central angiotensin Ⅱ pressor response less in SHR. Clin Exp Hypertens 1992; 14:1017-35.*
8) Myers RD, Veale WL, Yaksh TL. *Changes in body temperature of the unanesthetized monkey produced by sodium and calcium ions perfused through the cerebral ventricles. J Physiol 1971;217:381-92.*
9) Furchgott RF, Zawadzki JV. *The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. Nature 1980;288:373-6.*
10) Cherry PD, Furchgott RF, Zawadzki JV, Jothianandan. *The role of endothelial cells in the relaxation of isolated arteries by bradykinin. Proc Natl Acad Sci USA 1982;79: 2105-10.*
11) Palmer RMJ, Ashton DS, Moncada S. *Vascular endothelial cells synthesis nitric oxide from L-arginine. Nature 1988;333:664-6.*
12) Rees DD, Palmer RMJ, Schulz R, Hodson HF, Moncada S. *Characterization of three inhibitors of nitric oxide synthase in vitro and in vivo. Br J Pharmacol 1990;101: 746-52.*
13) Forstermann U, Pollock JS, Schmidt HH, Heller M, Murad F. *Calmodulin-dependent endothelium-derived relaxing factor/nitric oxide synthase activity is present in the particulate and cytosolic fractions of bovine aortic endothelial cells. Proc Natl Acad Sci USA 1991;88:1788-92.*
14) Bredt DS, Hwang PM, Snyder SH. *Localization of nitric oxide synthase indicating a neural role for nitric oxide. Nature 1990;347:768-70.*
15) Vincent SR, Hope BT. *Neurons that say NO. Trends Neurosci 1992;15:108-13.*
16) Togashi H, Sakuma I, Yoshioka M, Kobayashi T, Yasuda H, Kitabatake A, *et al. A central nervous system action of nitric oxide in blood pressure regulation. J Pharmacol Exp Ther 1992;262:343-7.*
17) Sutoo D, Matsukura T, Akiyama K. *Effect of intraventricular administration of calcium and calmodulin antagonist on the blood pressure in the rat. Neurosci Lett 1987;82:*

297-302.

18) Leaf A, Coggins CH. *The neurohypophysis. In R.H. Williams (Ed.), Textbook of endocrinology, W.B. Saunders Co. Philadelphia;1974. p.80-94.*
19) Kusano S, Seto S, Akahoshi M, Kitamura S, Nagao S, Ozeki S, *et al. Depressor effect of intraventricular administration of calcium on spontaneously hypertensive rats. Brain Res 1993;618:63-70.*
20) Magiapane ML, Simson JB. *Subfornical organ: forebrain site of pressor effect of systemic angiotensin Ⅱ. Neuroendocrinol 1980;31:380-6.*
21) Marson O, Chernicky CL, Barnes KL, Averill DB, Ferrario CM. *What is the role of the AV3V region in the production of the neurogenic actions of angiotensin Ⅱ in the dog? Clin Exp Hypertens 1984;6:1927-32.*
22) Schmidt HH, Nau H, Wittfoht W, Gerlach J, Prescher KE, Klein MM, *et al. Arginine is a physiological precursor of endothelium-derived nitric oxide. Eur J Pharmacol 1988;154:213-6.*
23) Aisaka K, Gross SS, Griffith OW, Levi R. *N^G-methyl arginine, an inhibitor of endothelium-derived nitric oxide synthesis, is a potent pressor agent in the guinea pig: Does nitric oxide regulate blood pressure in vivo? Biochem Biophys Res Commun 1989;160:881-6.*
24) Whittle BJR, Lopez-Belmonte J, Rees DD. *Modulation of the vasodepressor actions of acetylcholine, bradykinin, substance P and endothelin in the rat by a specific inhibitor of nitric oxide formation. Br J Pharmacol 1989;98: 646-52*.
25) Kilbourn RG, Gross SS, Jubran A, Adams J, *Griffith OW, Levi R, et al. N^G-methyl-L-arginine inhibits tumor necrosis factor-induced hypotension: Implications for the involvement of nitric oxide. Proc Natl Acad Sci USA 1990; 87:3629-32.*
26) Garthwaite J, Charles SL, Chess-Williams R. *Endothelium-derived relaxing factor release on activation of NMDA receptors suggests role as intercellular messenger in the brain. Nature (Lond.)1988;336:385-8.*
27) Knowles RG, Palacios M, Palmer RMJ, Moncada S. *Formation of nitric oxide from L-arginine in the central nervous system: A transduction mechanism for stimulation of the soluble guanylate cyclase. Proc Natl Acad Sci USA 1989;86:5159-62*.
28) Bredt DS, Hwang PM, Glatt CE, Lowenstein C, Reed RR, Snyder SH. *Cloned and expressed nitric oxide synthase structurally resembles cytochrome P-450 reductase. Nature (Lond.) 1991;351:714-8.*
29) Shapoval L, Sagach V, Pobegailo L. *Nitric oxide influences ventrolateral medullary mechanisms of vasomotor control in the cat. Neurosci Lett 1991;132:47-50.*
30) Johnson RA, Freeman RH. *Pressure natriuresis in rats during blockade of the L-arginine/nitric oxide pathway. Hypertens 1992;19:333-8.*
31) Du ZY, Dusting GJ, Woodman OL. *Baroreceptor reflexes and vascular reactivity during inhibition of nitric oxide synthesis in conscious rabbits. Eur J Pharmacol 1992;214:21-6*.
32) El Karib AO, Sheng J, Betz AL, Malvin RL. *The central effects of a nitric oxide synthase inhibitor (N^G-nitro-L-arginine) on blood pressure and plasma renin. Clin Exp Hypertens 1993;15:819-32.*
33) Tagawa T, Imaizumi T, Harada S, Endo T, Shiramoto M, Hirooka Y, *et al. Nitric oxide influences neuronal activity in the nucleus tractus solitarius of rat brainstem slices. Circ Res 1994;75:70-6*.
34) Horn T, Smith PM, Mclaughlin BE, Bauce L, Marks, GS, Pittman QJ, *et al. Nitric oxide actions in paraventricular nucleus: Cardiovascular and neurochemical implications. Am J Physiol 1994;266:R306-R313*.
35) Gardiner SM, Compton AM, Bennett T, Palmer RMJ, Moncada S. *Regional hemodynamic changes during oral ingestion of N^G-monomethyl-L-arginine or N^G-nitro-L-arginine methyl ester in Brattleboro rats. Br J Pharmacol 1990;101:10-2*.
36) Baylis C, Mitruka B, Deng A. *Chronic blockade of nitric oxide synthesis in the rat produces systemic hypertension and glomerular damage. J Clin Invest 1992;90:278-81.*
37) Cabrera CL, Bealer SL, Bohr DF. *Central depressor action of nitric oxide is deficient in genetic hypertension. Am J Hypertens 1996;9:237-41*.