Salmon-Calcitonin의 진통효과 및 Morphine과의 상호작용

울산대학교 의과대학 마취과학 교실

임 정 길

= Abstract =

Salmon-Calcitonin; Analgesic Effect and Influence on the Morphine Induced Analgesia

Jeong Gill Leem, M.D.

Department of Anesthesiology, College of Medicine, University of Ulsan, Korea

Calcitonin is a peptide hormone involved primarily in the regulation of calcium homeostasis. However, clinical observations have shown that calcitonin does in fact possess an analgesic effect in a variety of painful disorders. So I studied the analgesic effect of intracerebroventricularly(i.c.v.) administered salmon calcitonin(s-CT) using the hot plate test and writhing test. The influence on the analgesia induced by morphine and naloxone reversibility was also studied. When s-CT was administered i.c.v., analgesia was observed in both tests, although it was greater in the writhing test than in the hot plate test. The analgesic effect of s-CT was partially but significantly reversed by naloxone. Thus, these results provide information about the antinociceptive effect of s-CT via interaction with both opiate and non-opiate mechanisms.

Key Words : salmon-Calcitonin, Morphine, Analgesia.

서 론

Calcitonin은 갑상선의 C-세포에서 생성되어 골로부터 칼슘의 유출을 억제함으로써 주로 칼슘대사에 관여하는 것으로 알려져 왔으나 이후의 임상적용결과 각종 골관절질환에서 소염 및 진통작용이 있고¹⁾ 진행된 암성통에도 제통효과가 있다²⁾는 것이 밝혀졌다.

토끼나 쥐 등을 소재로 하여 뇌실질 뇌실(intracerebroventricular; 이하 i.c.v.라 함)³⁾, 뇌내(intracerebral)⁴⁾, 지주막하강내(intrathecal)⁵⁾ 등과 같이 중추신경계내로 salmon calcitonin(이하 s-CT라 함)을 주입하였을 때는 유해수용 차단 효과(antinociceptive effect)가 있다고 하나 말초로 투여하였을 경우에는 그 진통효과가 의심스럽다고 한다. s-CT이 진통작용을 나타내는 기전에 대해서 Braga 등⁶⁾은 반복투여시 내성이 없다는 점 등을 들어 opioid와 관련이 없다고 하였고,

Collin 등⁷⁾은 calcitonin이 내인성 opioid유리를 증가시키는 점을 들어 opioid관련설을 주장하고 있으며, 마약길항제인 naloxone으로 진통효과가 길항되는지에 대해서도 논란이 있어 왔다.

이에 저자는, s-CT의 유해수용 차단 효과를 입증하고 morphine과 병용시 두 약제간의 상호작용 및 naloxone에 의한 길항효과를 알아보기 위해 본 연구를 시행하였다.

대상 및 방법

대상은 주령 5-6주의 체중 20-25 gm인 건강한 Balb-C 생쥐를 암수 구별없이 사용하였다. 사료와 물은 자유롭게 먹을 수 있도록 하고 사육실 및 실험실의 실내온도는 23℃로 유지하였으며 12/12시간으로 밤 낮을 구분하게 조명을 해 주었다.

각 군은 10마리씩 각각 다른 개체를 사용하였으며

약물 투여 후 열판실험(hot plate test)과 초산을 사용한 신전반응검사를 시행하여 유해수용 차단효과를 검증하였다.

뇌실질 뇌실내 주입(i.c.v. injection)은 27-G 굵기의 주사침이 달린 Hemilton microsyringe를 사용하여 두피에서 3 mm 깊이에 5 μ l의 약물을 5-10초에 걸쳐 서서히 주입하였다.

열판실험의 유해자극으로는 $55 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 를 유지하는 구리판을 사용하였고 앞발을 비비거나 핏는 반응을 유해수용(nociception)의 지표로 하였다. 약물을 투여하기 전에 반응지연시간(latency)을 측정하여 대조치로 하고, 약물 투여 80분 후 반응지연시간을 측정하여 실험치로 하였으며, 이 때 반응지연시간의 상한점(cut off time)은 12초로 제한하였다. 열판실험 후 체중 10 gm 당 0.1 ml의 1.5 % 초산을 복강내 투여하고 5분 후 10분 동안 통증으로 유발되는 복근수축 및 사지 신전반응(writhing reaction)의 횟수를 측정하였는데, 이는 Hayashi와 Takemori 가⁸⁾ 고안한 방법을 따른 것이며, 각 개체는 소음이 없는 장소에서 격리시켜 관찰하되 복근수축과 동시에 사지를 신전하는 동작이 있는 경우를 양성으로 하였다.

실험군의 설정, 투약, 실험시기 등은 Table 1과 같다.

열판실험에서 반복 실험으로 인한 학습효과를 배제하기 위해 반응지연 시간(latency)은 투약 전, 투약 80분 후 2회만 측정하였고 열판실험 후 정해진 양의 초산을 복강내로 투여한 후 신전반응을 관찰하였다. 약물투여로 인한 뇌압상승효과나 뇌손상을 배제하기 위하여 투약군과 동일한 용적의 생리식염수를 투여한 대조군을 설정하였다. s-CT는 i.c.v.로 1, 2, 4, 6, 12 IU/kg를, morphine은 복강내(intraperitoneal;i.p.)로 0.5, 1, 2, 4, 8 mg/kg를 투여하였으며 s-CT와 morphine의 상호작용을 알아보기 위해 먼저 i.c.v.로 2 IU/kg의 s-CT를 투여한 30분 후 복강내로 0.5, 1, 2, 4 mg/kg의 morphine을 투여하고 열판검사 및 신전반응검사를 시행하였고, naloxone에 의한 길항작용을 보기 위하여 s-CT는 6 μ g/kg를 i.c.v.로, morphine은 4 mg/kg를 복강내로 투여하였으며, 상호작용시의 길항효과를 위해서는 4 IU/kg의 s-CT를 i.c.v로 투여한 후 30분에 복강내로 2 mg/kg의 morphine을 투여하였으며, 그 후 30분이 지난 후 1

mg/kg의 naloxone을 역시 복강내로 주입한 뒤 정해진 시간에 따라 열판검사 및 신전반응검사를 시행하였다.

열판검사의 반응지연시간과 신전반응 횟수를 측정하여 각군의 평균과 표준편차를 구하고 oneway anova를 적용하여 $P < 0.05$ 이하인 경우에 군 간의 유의성이 있는 것으로 하였다.

유해수용 차단효과의 정도는 %MPE(maximal possible effect)⁹⁾로 나타내게 되는데 열판검사는

$$\%MPE = \frac{\text{test latency} - \text{control latency}}{\text{cut off time} - \text{control latency}} \times 100$$

Writhing test에서는

$$\%MPE = \frac{\text{No. of stretches}(\text{total control group}) - \text{No. of stretches}(\text{total test group})}{\text{No. of stretches}(\text{total control group})} \times 100$$

으로 계산하였고 평균 유효용량(ED_{50})은 실험형 용량반응 곡선(quantal dose response curve)¹⁰⁾을 적용하였다.

실험에 사용한 salmon calcitonin은 Miacalcic 50 (Sandoz, Basle, Swizerland)을, naloxone hydrochloride는 naloxone(삼진, 서울)을, morphine은 morphine HCL(대원, 대구)을 각각 사용하였다.

Table 1. Hot plate and Writhing Test: Groups and Treatments.

	Time				
	T0	T25	T50	T80	T90
Control	•			•	*
s-CT(i.c.v)	• S			•	*
	• CT			•	*
	• s-CT Nx			•	*
M(i.p)	• S			•	*
	• M			•	*
	• M Nx			•	*
s-CT(i.c.v)+SS(i.p)	• S+S			•	*
	• s-CT M			•	*
	• s-CT M Nx			•	*

The letters show when the drugs were administered: S, saline; s-CT, salmon calcitonin; M, morphine; Nx, naloxone. Symbol '•' and '*' show when the hot plate and acetic acid writhing test took place respectively.

결과

복강이나 i.c.v.로 투여한 생리식염수는 열판검사에서 반응지연시간의 연장이나 초산을 사용한 신전반응검사에서 유해수용 역치(antinociceptive threshold)에 영향을 미치지 않았으나(Table 2), i.c.v.로 투여한 s-CT는 4 IU/kg이상에서 반응지연시간과 신전반응횟수가 각각 6.5 ± 1.3 초, 8.3 ± 2.7 회로서 대조군에 비해 유의한($P < 0.05$)차이를 보이고 있다(Table 2, Fig. 1).

복강내로 투여한 morphine도 용량이 증가함에 따라 2 mg/kg 이상에서 유의한 진통효과가 있었다. 2 IU/kg의 s-CT를 전처치한 후 morphine을 투여하였을 때는, 0.5, 1 mg/kg로 투여한 군에서 morphine 단독 투여군보다 유해수용 역치가 증가하였으나 통계적 유의성은 없었고, 2 mg/kg로 투여하였을 때는

Table 2. Hot plate and Writhing Tests

Group		Latency(sec)	No. of stretches	MPE(%)
Control		4.9 ± 1.2	14.5 ± 5.9	
Saline		5.1 ± 1.2	14.1 ± 5.5	
s-CT	1 IU/kg	5.2 ± 1.0	13.4 ± 5.4	7.6
	2 IU/kg	5.8 ± 1.1	12.8 ± 4.0	11.7
	4 IU/kg	6.5 ± 1.3^a	8.3 ± 2.7^a	22.8
	6 IU/kg	8.6 ± 1.4^b	6.4 ± 3.2^b	55.9
	12 IU/kg	9.3 ± 1.6^b	2.5 ± 2.0^b	83.8
M	0.5 mg/kg	5.0 ± 1.0	12.6 ± 3.4	13.0
	1 mg/kg	5.6 ± 1.1	9.5 ± 3.3	34.5
	2 mg/kg	6.0 ± 1.3^a	8.1 ± 4.3^a	44.0
	4 mg/kg	8.0 ± 1.7^b	4.9 ± 3.2^b	67.6
	8 mg/kg	10.5 ± 1.2^b	1.8 ± 2.3^b	87.6
s-CT+M	0.5 mg/kg	5.9 ± 1.2	12.0 ± 3.8	17.0
	1 mg/kg	6.2 ± 1.5	8.5 ± 2.7^a	41.0
	2 mg/kg	8.9 ± 1.8^b	4.7 ± 1.8^b	67.6
	4 mg/kg	10.5 ± 1.6^a	3.4 ± 1.7^b	77.0

Values are Mean $\pm$ SD.

s-CT: i.c.v. administered salmon calcitonin.

M: i.p. administered morphine.

s-CT+M: i.p. administered morphine after s-CT pretreated.

MPE: maximum possible effect(writhing test).

^a: $P < 0.05$, ^b: $P < 0.01$, difference statistically significant when compared with control group

열판검사의 반응지연시간이 단독투여군에 비해 각각 6.0 ± 1.3 에서 8.9 ± 1.8 초로 증가하고, 신전반응의 횟수가 8.1 ± 4.3 에서 4.7 ± 1.8 회로 감소하여 유의한($P < 0.01$) 차이를 보여 주고 있다. 그러나 4 mg/kg에서는 열판검사 반응지연시간 만이 단독 투여군에 비해 8.0 ± 1.7 에서 10.5 ± 1.6 초로 증가하여 유의성이 있었을 뿐, 신전반응검사에서 반응횟수가 3.4 ± 1.7 회로 감소하기는 하였으나 통계적 유의성은 없었다(Table 2, Fig. 2).

6 IU/kg의 i.c.v.로 투여한 s-CT나 4 mg/kg로 복강내로 투여한 morphine으로 초래되는 진통효과에 대한 naloxone의 길항효과에 있어서 morphine은 열판검사의 반응지연시간과 신전반응검사의 반응횟수가 모두 복강내로 투여한 1 mg/kg의 naloxone에 의해 길항되어 대조군과 차이가 없었다. 그러나 6 IU/kg의 s-CT를 i.c.v.로 단독 투여하거나, 4 IU/kg의 s-CT를 i.c.v.로 투여하여 전처치한 후 복강내로 2 mg/kg의 morphine을 투여했을 때는 naloxone 투여 전후의 열판검사 반응지연 시간이 naloxone 투여 전 9.0 ± 1.8 , 11.0 ± 1.6 초에서 naloxone 투여 후 6.1 ± 1.4 , 6.2 ± 1.8 초로 연장되어 길항효과가 유의하였으나($P < 0.01$) 대조군의 반응지연시간보다는 연장되어 있었다. 또한 신전반응의 횟수도 naloxone 투여 전 6.4 ± 3.2 , 2.1 ± 2.6 회에서 naloxone 투여 후 11.5 ± 5.2 ,

Fig. 1. Antinociceptive effect of i.c.v. administered s-CT on the hot plate and writhing tests. C: control, S: saline treated.

9.2±3.6 회로 증가되어 길항효과가 유의하였으나 ($P<0.01$) 대조군보다는 신진반응의 횟수가 많았다. 따라서 s-CT의 단독투여 혹은 s-CT와 morphine의 혼합투여로 유도되는 진통작용은 naloxone으로 완전히 길항되지 않는 것으로 나타났다(Table 3).

morphine 단독투여군과 s-CT 전처치 후에 투여한 morphine의 평균 유효용량(ED_{50})은 Table 4와 같다.

고 찰

calcitonin은 갑상선의 C-세포에서 기원하며 부갑상선 호르몬과 길항하여 골로부터 칼슘의 유출을 억제하고 신장으로부터 칼슘의 배설을 촉진시킴으로써 혈중칼슘 농도를 낮추는 32개의 아미노산으로 구성된 polypeptide이다.

갑상선의 C-세포는 그 발생학적인 기원이 신경조직이므로 calcitonin이 혈중칼슘 농도를 조절하는 기능 외에 체온이나 유해수용 역치를 올리고 활동성(locomotor activity)이나 식이섭취를 줄이는 등의 신경조절(neuromodulation)에도 관여하며 중뇌수두주위 회백질(periaqueductal grey), 중뇌의 세망형성(mesencephalic reticular formation), 치밀부(pars com-

pacta), 흑색질(substantia nigra), 청반(locus ceruleus), 연수의 정중핵(raphe nuclei) 등에 calcitonin수용체가 분포하고 있는 것으로 알려져 있다^{11, 12)}.

칼슘은 morphine의 진통효과에 길항하고¹³⁾ Ca^{++} chelator인 EDTA (ethylene-diaminetetraacetic acid)는 morphine의 진통효과를 강화시키며¹⁴⁾ naloxone은 morphine투여후 감소된 뇌내의 Ca^{++} 을 증가시키는 작용이 있고¹⁵⁾, 또 칼슘통로 차단제인 nifedipine을 경막내에 투여하여 진통효과를 얻었다¹⁶⁾고 하는 점으로 미루어 칼슘이 유해자극의 전달이나 수용에 중요한 역할을 한다고 할 수 있다.

salmon calcitonin의 진통효과에 대해서는 생쥐¹⁷⁾, 토끼^{3, 6)}등의 동물실험이나 환실험¹⁸⁾, 암성통 등의 임

Table 3. Antagonizing Property of Naloxone against the Analgesia induced by s-CT, M and s-CT with Morphine.

Hot plate latency(sec)	Control	After s-CT treated	After naloxone treated
s-CT	4.9±1.3	9.0±1.8	6.1±1.4
M	5.0±1.2	8.1±1.7	5.1±1.1
s-CT+M	5.0±1.2	11.0±1.6	6.2±1.8 ^a
No. of stretches			
s-CT	14.5±5.9	6.4±3.2	11.5±5.2
M	14.5±5.9	4.7±2.0	12.4±6.1
s-CT+M	14.5±5.9	2.1±2.6	9.2±3.6 ^{ab}

Values are Mean±SD.

s-CT: 6 IU/kg of i.c.v. administered salmon calcitonin.

M: 4 mg/kg of i.p. administered morphine.

s-CT+M: 2 mg/kg of i.p. administered morphine after s-CT pretreated.

^a: $P<0.05$, difference statistically significant when compared with naloxone untreated group

^b: $P<0.01$, difference statistically significant when compared with control group

Table 4. ED_{50} values of morphine for control group and calcitonin pretreated group.

	Hot plate test		Writhing test	
	ED_{50} (mg/kg)	CL	ED_{50} (mg/kg)	CL
M	4.18	3.56~4.92	2.01	1.64~2.46
s-CT+M	1.96	1.06~3.66	1.40	1.19~1.66

M: morphine.

s-CT: 2 IU/kg of i.c.v. pretreated-salmon calcitonin.

CL: 95% confidence limit.

Fig. 2. Effect of i.c.v. administered s-CT on the analgesia induced by morphine. Bars show the mean number of stretches and line show %MPE of stretch inhibition.

상연구에서 확인된 바 있으며, 진통효과를 나타내는 기전에 대해서는, 반복투여시 내성이 생기지 않고 [^3H]dihydromorphine과 뇌내 결합에서 경쟁하지 않는 점 등으로 opiod와 관련이 없다는 주장도 있으나, 최근연구에서는 morphine과 상호작용하고 내인성 opiod 유리를 증가시키는 등 opiod 및 비 opiod 계로에 모두 작용한다는 설이 유력시 되고 있다^{7, 19)}.

진통효과를 평가함에 있어서 열판검사나 신전반응 검사는 supraspinal process를 주로 관찰하기 위해 사용되며, opiod 계로의 평가에서는 열판검사가 신전 반응검사에 비해 특이적이고 민감한 것으로 알려져 있으나, 생쥐의 경우 morphine으로 유도되는 진통효과에서 신전반응검사에도 잘 반응하며 따라서 신전 반응검사가 비 opiod계로를 잘 반영할 수 있는 것으로 알려져 있다²⁰⁾. 본 연구에서 열판검사에서는 s-CT나 morphine투여후 반응시간의 상한치인 12초 이상을 견디는 무통상태를 거의 관찰할 수 없었으나, 초산의 자극으로 유발된 복통으로 인한 신전반응의 횟수에 있어서는 10분간 관찰하는 동안 무통상태인 0에 가깝게 되는 개체수가 많은 것으로 보아 생쥐들이 신전반응 검사에 더 민감하게 반응한다는 것을 알 수 있다. 또 생쥐에서 morphine으로 유도된 진통효과를 길항함에 있어서 naloxone은 열판검사나 신전반응검사에 대한 PA_2 (수용체에 대한 상경역제제의 친화도)가 동일하다고 하는데²¹⁾ 본 실험에서 morphine 투여 후 진통효과는 naloxone 투여로 완전히 길항되었다. 그러나, s-CT를 단독투여한 후 naloxone으로 길항시킨 경우에는 열판검사나 신전반응검사 모두 부분적으로 길항되었으나 대조군과는 차이가 없었다. s-CT 및 morphine을 혼합투여한 후 naloxone으로 길항시킨 경우에도 열판검사 및 신전반응검사 모두 부분적으로 밖에 길항되지 않았으며 신전반응에서는 naloxone으로 길항시킨 후에도 대조군과 유의한 ($P<0.05$) 차이가 있었다. 따라서 s-CT는 opiod 및 비 opiod계로를 통해 진통효과를 나타낸다고 볼 수 있다.

s-CT의 진통효과가 naloxone으로 완전히 길항되지 않는 이유로서 Martin 등¹⁹⁾은 s-CT의 중추성 진통효과는 opiod계로와 비 opiod계로 양자를 통해 일어나며, s-CT의 진통효과는 μ -수용체 이외의 opiod 수용체를 통해 일어나므로 μ -수용체를 주로 차단하

는 naloxone에 의해서는 그 진통효과가 완전히 차단되지 않을 것이며, s-CT와 opiod와의 상호작용이 opiod 수용체에 직접작용한다기보다 다른 계로를 통해 일어날 것이라는 점을 들었다. 또 s-CT와 morphine의 상호작용이 serotonergic system을 통해 중추신경계 내에서 유해정보전달과정을 변형시키거나²²⁾ 다른 opiod 수용체와 마찬가지로 s-CT가 수용체에 결합한 후 G-protein과 연결되어 adenylate cyclase의 활성을 변화시킨다는 연구결과도 있다^{23, 24)}.

본 연구에서 s-CT는 유해자극의 인식을 차단하는 효과가 있고 morphine과 상호작용하여 morphine의 평균 유효용량이 감소되었으나 그 상호작용이 morphine의 진통효과를 강화(potentiation)시키지는 못한 것으로 사료된다.

결 론

지자는 Balb-C 생쥐에 s-CT, morphine 및 이들을 혼합투여한 후 열판검사와 초산을 사용한 신전반응검사로 진통효과를 평가하고, 마약길항제인 naloxone을 투여한 후 동일한 검사로 진통효과를 재평가하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 뇌 내로 투여한 s-CT는 4 IU/kg이상 투여시 유의한 진통작용이 있었다($P<0.05$).

2. s-CT를 단독 혹은 morphine과 혼합투여 후 나타나는 진통효과는 naloxone으로 완전히 길항되지 않았다.

3. s-CT와 morphine을 혼합투여시 s-CT의 뇌 내 전처치는, 유해수용차단을 목적으로 복강내로 투여하는 morphine의 평균 유효용량을 줄일 수 있다.

참 고 문 헌

1. Alan E. Calcitonin in the treatment of intractable pain from advanced malignancy. *Pharmatherapy* 1983; 3: 432. IN; Martin MI, Goicoechea C, Colado MI, Alfaro MJ. Analgesic effect of salmon-calcitonin administered by two routes. *Effect on morphine analgesia Eur J Pharmacol* 1992; 224: 77-82.
2. Gennari C, Agnusdei D. Calcitonin in bone pain management. *Curr Ther Res* 1988; 44: 712. IN;

- Martin MI, Goicoechea C, Colado MI, Alfaro MJ. Analgesic effect of salmon-calcitonin administered by two routes. Effect on morphine analgesia. *Eur J Pharmacol* 1992; 224: 77-82.
3. Pecile A, Ferri S, Braga P, Oliatti VR. Effect of intracerebroventricular calcitonin in the conscious rabbit. *Experientia(Basel)* 1975; 31: 332.
 4. Welch SP, Cooper CW, Dewey WL. Antinociceptive activity of salmon calcitonin injected intraventricularly in mice: Modulation of morphine antinociception. *J Pharmacol Exp Ther* 1986; 237: 54-8.
 5. Spampinato S, Candelletti S, Cavicchini E, Romualdi P, Speroni E, Ferri S. Antinociceptive activity of salmon calcitonin injected intrathecally in the rat. *Neurosci Lett* 1984; 45: 135-9.
 6. Braga P, Ferri S, Santagostino A, Oliatti V, Pecile A. Lack of opiate receptor involvement in centrally induced calcitonin analgesia. *Life science* 1978; 22: 971-8.
 7. Collin E, Bourgoin S, Gorce P, Hamon M, Cesselin F. Intrathecal porcine calcitonin enhances the release of [Met⁵] enkephalin-like material from spinal cord. *Eur J Pharmacol* 1989; 168: 201-8.
 8. Hayashi G, Takemori AE. The type of analgesic receptor interaction involved in certain analgesic assays. *Eur J Pharmacol* 1971; 16: 63-6.
 9. Harris LS, Piersin AK. Some narcotic antagonists in the benzomorphan series. *J Pharmacol Exp Ther* 1964; 143: 141-8.
 10. Thallarida RJ, Murray RB. *Manual of pharmacological calculation with computer programs. Version 4.* New York: Springer-Verlag. 1987: 31-35.
 11. Fabbri A, Fraioli F, Pert BC. Calcitonin receptors in the rat mesencephalon mediate its analgesic actions: autoradiographic and behavioral analysis. *Brain research* 1985; 343: 205-15.
 12. Sellami S, Beaupaire R. Medial diencephalic sites involved in calcitonin-induced hyperthermia and analgesia. *Brain research* 1993; 616: 307-10.
 13. Kakunaga T, Kaneto H, Hano K. Pharmacological studies of analgesics VII. Significance of the calcium ion in morphine analgesia. *J Pharmacol Exp Ther* 1966; 153: 134-41.
 14. Harris RA, Loh HH, Way EL. Effect of divalent cations, cation chelators and an ionophore on morphine analgesia and tolerance. *J Pharmacol Exp Ther* 1975; 195: 488-98.
 15. Cardenas HL, Ross DH. Morphine induced calcium depletion in discrete regions of rat brain. *J Neurochem* 1975; 24: 487-93.
 16. Wong CH, Dey P, Yarmush J, Wu W, Zbuzek VK. Nifedipine-induced analgesia after epidural injection in rats. *Anesth Anal* 1994; 79: 303-6.
 17. Bates RFL, Buckley GA, Eglen RM, Strettle RJ. Interaction of calcium ions and salmon calcitonin in the production of analgesia in the mouse. *Br J Pharmacol* 1981; 72: 575.
 18. Jaeger H, Maeier C. Calcitonin in phantom limb pain: a double blind study. *Pain* 1992; 48: 21-7.
 19. Martin MI, Goicoechea M, Colado M, Alfaro MJ. Analgesic effect of salmon-calcitonin administered by two routes. Effect on morphine analgesia. *Eur J Pharmacol* 1992; 224: 77-82.
 20. Pear J, Aceto MD, Harris LS. Prevention of writhing and other effects of narcotics and narcotic antagonists in mice. *J Pharmacol Exp Ther* 1968; 160: 217-30.
 21. Martin WR. Pharmacology of opioids. *Pharmacol Rev* 1984; 35: 285-323.
 22. Bourgoin S, Phol M, Hirsh M, Mauborgne A, Cesselin F, Hamon M. Direct stimulatory effects of calcitonin on [³H] 5-hydroxytryptamine release from the rat spinal cord. *Eur J Pharmacol* 1988; 156: 13-23.
 23. Childers SR. Opioid receptor-coupled second messenger systems. *Life science* 1991; 48: 1991-2003.
 24. Chakraborty M, Chattejee D, Kellokumpu S, Rassmussen H, Baron R. Cell cycle dependent coupling of the calcitonin receptor to different G-proteins. *Science* 1991; 251: 1078-82.