

مقاله پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

دوره نهم، شماره چهارم، زمستان ۱۳۸۹، ۳۱۴-۳۰۵

اثر CCK-8 و آنتاگونیست گیرنده‌های CCK₂ بر پرش‌های ناشی از تزریق نالوکسان در موش‌های سوری وابسته به مورفین

علی روحی‌خشن^۱، حسین اسماعیلی^۲، زینب اصمی^۳، علی شمسی‌زاده^۴

ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۸۸/۱۱/۱۰ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۸۹/۶/۶ پذیرش مقاله: ۸۹/۷/۲۴ دریافت مقاله: ۸۸/۷/۵

چکیده

زمینه و هدف: داروهای مخدر از جمله مهم‌ترین داروهای ضددرد هستند که به طور وسیعی برای کنترل دردهای شدید به کار می‌روند. یکی از مشکلات استفاده از این داروها، بروز وابستگی جسمی می‌باشد. مطالعات بسیار کمی به بررسی دخالت نوروپپتید کوله‌سیستوکینین (Cholecystokinin، CCK) در بروز عالیم وابستگی به مخدرها پرداخته‌اند. به همین منظور در این مطالعه اثر CCK و آنتاگونیست آن بر تعداد پرش‌های ناشی از وابستگی به مورفین بررسی شد.

مواد و روش‌ها: در مطالعه تجربی حاضر، به ۶۴ موش سوری سفید نژاد balb سه روز متوالی و با فواصل سه ساعته به ترتیب مقدار ۰، ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم مورفین به صورت زیرجلدی تزریق شد. روز چهارم نیز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مورفین به تمام موش‌ها تزریق گردید. تزریق نالوکسان (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در روز چهارم باعث بروز عالیم سندرم محرومیت از جمله پرش‌های متعدد شد. به گروه‌های مورد آزمایش مقدار ۰/۱، ۰/۳، ۰/۰ و ۰/۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم از CCK-8 و مقدار ۰/۰۵، ۰/۰ و ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم از LY225910 به همراه مورفین به صورت داخل صفاقی تزریق شد. **یافته‌ها:** تزریق CCK-8 باعث کاهش معنی‌دار پرش‌های ناشی از تزریق نالوکسان گردید ($p < 0/05$) در حالی که تزریق LY225910 هیچ اثر معنی‌داری بر این پرش‌ها نداشت.

نتیجه‌گیری: مطالعه حاضر نشان داد که کوله‌سیستوکینین توانست پرش‌های ناشی از سندرم محرومیت مورفین را در موش‌های سوری کاهش دهد و آنتاگونیست اختصاصی گیرنده‌های CCK₂ تأثیر معنی‌داری بر این پرش‌ها نداشت. بر اساس نتایج این مطالعه به نظر می‌رسد که تحریک گیرنده‌های CCK در بروز وابستگی به مورفین نقش دارد.

واژه‌های کلیدی: کوله‌سیستوکینین، مورفین، وابستگی، آگونیست کامل، آنتاگونیست رقابتی، پرش

۱- (نویسنده مسئول) استادیار فارماکولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان تلفن: ۰۳۹۱-۸۲۲۶۹۲۷، دورنگار: ۰۳۹۱-۸۲۲۰۰۷۴، پست الکترونیکی: aroohbakhsh@rums.ac.ir

۲- دانشجوی پرستاری، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

۳- دانشجوی مامایی، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

۴- استادیار گروه آموزشی فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

مقدمه

گیرنده‌های نوع CCK₂ عمدتاً در بافت مغزی وجود دارند و گیرنده‌های نوع CCK₁ گرچه تا حد زیادی در دستگاه گوارشی متتمرکز شده‌اند، اما در برخی از مناطق مغز هم یافت می‌شوند [۵]. گیرنده‌های CCK₁ در مناطق خاصی از مغز همچون هیپوکامپ، هسته سولیتاریوس، هسته آکومبنس خلفی، ناحیه تگمنتال شکمی و ماده سیاه قرار دارند، در حالی که گیرنده‌های CCK₂ به صورت گستردۀ در کلیه مناطق سیستم عصبی مرکزی پخش شده‌اند [۶-۷]. کوله‌سیستوکینین نقش مهمی در کنترل برخی فعالیت‌های فیزیولوژیک بدن از جمله اضطراب، درد، خواب، حافظه، رفتارهای جنسی، سیری و تنظیم دمای بدن دارا می‌باشد [۸-۱۰].

شاهد فراوانی وجود دارد که نشان می‌دهد CCK به عنوان یک نوروترانسミتر عمل می‌کند و نقش تنظیمی بر بسیاری از نوروترانسミترهای دیگر از جمله اپیوئیدهای درون‌زا دارد [۱۱]. مطالعات آناتومیک نشان می‌دهند که نوعی ارتباط عملکردی بین پیتیدهای مخدر و کوله‌سیستوکینین بدلیل هم‌پوشانی این پیتیدها در نواحی مختلف سیستم عصبی وجود دارد [۸]. در همین راستا، تداخل کوله‌سیستوکینین و اپیوئیدهای درون‌زا در رفتارهای اضطرابی، افسردگی، درد و حافظه مورد بررسی قرار گرفته است [۱۲] به گونه‌ای که این نوروترانسミتر به عنوان یک نوروپیتید ضد اپیوئید شناخته شده است. به عنوان مثال گزارش‌هایی مبنی بر کاهش اثر ضددرد، هیپوترمی، لرزش بدن و تحمل ناشی از مصرف مورفین توسط کوله‌سیستوکینین وجود دارد [۱۳-۱۵] و در عین حال گزارش شده است که آنتاگونیست‌های کوله‌سیستوکینین اثرات ضددردی مورفین را تشدید می‌کنند [۸]. با این حال، مطالعاتی هم نشان داده‌اند که

در حال حاضر مورفین و سایر اپیوئیدها به عنوان یکی از بهترین گروه‌های دارویی جهت کاهش دردهای شدید حاد و مزمن به طور وسیع به کار گرفته می‌شوند. اپیوئیدها با اثر بر گیرنده‌های اختصاصی (مو، دلتا، کاپا و نوسيسيپتین) در اعصاب مرکزی و بافت‌های محیطی، باعث بروز اثرات متنوع فیزیولوژیک از جمله بی‌دردی، آرامش و نشیگی (Euphoria) می‌شوند.

تجویز طولانی‌مدت اپیوئیدها باعث بروز وابستگی جسمی به این ترکیبات می‌شود، به این معنی که اگر مصرف ماده مخدر قطع شود علایم سندروم محرومیت به شکل دردهای عضلانی، اسهال، اضطراب، تحریک‌پذیری شدید عصبی و تشنج در فرد بروز می‌کند [۱]. وابستگی فیزیکی و بروز تحمل به اثرات مورفین و سایر اپیوئیدها از مهم‌ترین عواملی هستند که محدودیت‌های زیادی در استفاده بالینی آنها ایجاد کرده است. به علاوه، وابستگی به اپیوئیدها به عنوان یک مشکل اجتماعی که جامعه را به نابودی می‌کشاند، مورد بحث بوده و می‌باشد. مطالعات زیادی به بررسی عوامل دخیل در پدیده وابستگی به مواد مخدر پرداخته‌اند. نتایج این مطالعات نشان‌دهنده دخالت دوپامین، گابا، آدنوزین [۲-۴] و تعداد دیگری از نوروترانسミترها در روند وابستگی به مواد مخدر است. یکی از نوروترانسミترهایی که کمتر به نقش آن در بروز علایم وابستگی به مخدراها توجه شده است، نوروپیتید کوله‌سیستوکینین (CCK) است.

کوله‌سیستوکینین، فراوان‌ترین نوروترانسミتر پیتیدی مغز است. نوع اکتاپیتید آن (CCK-8) از طریق دو نوع گیرنده موسوم به CCK₁ و CCK₂ در بدن اثر می‌کند.

دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان صورت گرفت، ۶۴ موش سوری سفید نژاد ball/c با محدوده وزنی ۲۵-۲۵ گرم مورد استفاده قرار گرفت. حیوانات در قفسهای جداگانه (۸ گروه ۸ تایی) در دمای 2 ± 23 درجه سانتی گراد و در یک چرخه ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. غذا و آب به حد کافی در دسترس آنها بود. کلیه آزمایشات بین ساعت ۱۳ الی ۱۹ انجام گرفت.

روش ایجاد وابستگی به مورفین: کلیه موش های سوری به روش زیر و در طی چهار روز به مورفین وابسته شدند: در سه روز اول در ساعت ۱۳ و ۱۶ مقدار ۵۰ میلی گرم بر کیلو گرم و در ساعت ۱۹ مقدار ۷۵ میلی گرم بر کیلو گرم مورفین به صورت زیر جلدی به موش ها تزریق گردید. مقدار بیشتر در سومین تزریق، برای به حداقل رساندن هرگونه سندروم محرومیت در طی شب در نظر گرفته شد. در روز چهارم، مقدار ۵۰ میلی گرم بر کیلو گرم مورفین در ساعت ۱۳ و دو ساعت پس از آن، برای ایجاد سندروم محرومیت، نالوکسان به صورت داخل صفاقی با مقدار ۵ میلی گرم بر کیلو گرم تزریق گردید. بلا فاصله پس از تزریق نالوکسان، موش ها درون استوانه های شفاف (قطر ۲۵ سانتی متر و ارتفاع ۴۰ سانتی متر) قرار داده شدند و تعداد پرش آنها در طی ۳۰ دقیقه ثبت گردید [۱۷].

گروه های مورد آزمایش

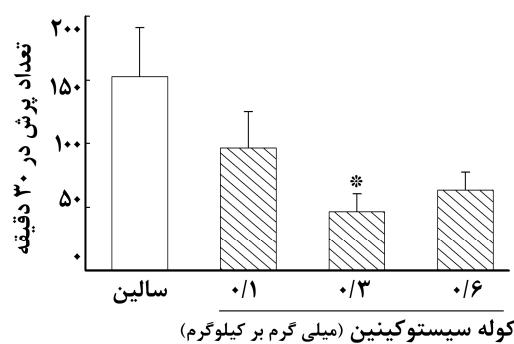
بررسی اثر تجویز CCK-8 بر پرش های ناشی از سندروم محرومیت مورفین: در این آزمایش بعد از هر نوبت تزریق مورفین، به روشنی که توضیح داده شد، مقادیر ۰/۱، ۰/۳ و ۰/۶ میلی گرم بر کیلو گرم از CCK-8 [۱۸] به سه گروه از موش ها تزریق گردید. به یک گروه از موش ها نیز به عنوان گروه کنترل، ۶ میلی لیتر بر کیلو گرم سالین تزریق شد.

برخلاف اثر ضد اپیوئید کوله سیستوکینین، این ماده در بروز اثر پاداش دهنده مخدراها دخالت دارد [۱۶]. همان طور که اشاره شد، بررسی ها نشان داده اند که آگونیست های کوله سیستوکینین قادر به جلوگیری از بروز تحمل به اثرات ضد درد مورفین می باشند. با این حال، مطالعات بسیار کمی به بررسی اثر CCK بر عالیم سندروم محرومیت ناشی از وابستگی به مورفین پرداخته اند. از این رو، با توجه به نبود مطالعه ای در خصوص ارزیابی اثر تزریق توام CCK و آنتاگونیست آن با مورفین بر شدت عالیم ناشی از سندروم محرومیت مورفین، مطالعه حاضر به بررسی اثر CCK-8 و آنتاگونیست آن (LY225910) بر پرش های ناشی از سندروم مذکور در موش های سوری پرداخته است.

مواد و روش ها

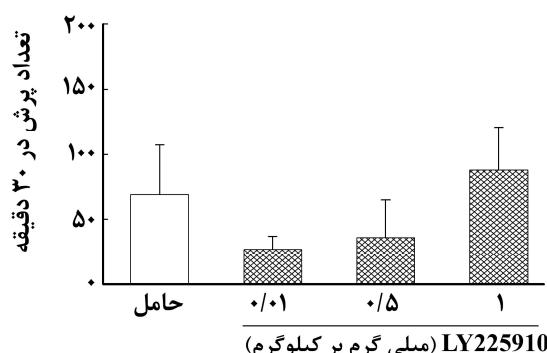
مواد: مواد مورد استفاده در این مطالعه، مورفین سولفات (شرکت تماد، ایران)، CCK-8 (آگونیست گیرنده های CCK₁ و CCK₂، شرکت تاکریس، انگلستان)، LY225910 (آنتاگونیست اختصاصی گیرنده های CCK₂، شرکت تاکریس، انگلستان) و نالوکسان هیدروکلراید (دارو پیش، ایران) می باشند. برای حل کردن کوله سیستوکینین از محلول نرمال سالین (۰/۹٪) و برای حل کردن آنتاگونیست کوله سیستوکینین، از محلول نرمال سالین حاوی (۰/۱۶٪ DMSO + ۰/۱۶٪ توئین) استفاده شد. مورفین به صورت زیر جلدی و نالوکسان، LY225910 و CCK-8 در مقدار مورد نظر به صورت داخل صفاقی با حجم ۶ میلی لیتر بر کیلو گرم به حیوانات تزریق شدند.

حیوانات مورد مطالعه: در این مطالعه تجربی که در آزمایشگاه تحقیقاتی گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی



نمودار ۱- اثر کوله سیستوکینین بر پرش های ناشی از سندروم محرومیت مورفین. نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار می باشند. $*p < 0.05$ در مقایسه با گروه سالین ($n=8$).

بررسی اثر تجویز LY225910 بر پرش های ناشی از سندروم محرومیت مورفین: نمودار ۲ نشان می دهد که تزریق LY225910 به همراه مورفین، تغییر معنی داری در تعداد پرش های موش های وابسته به مورفین در مقایسه با موش هایی که مورفین و حلال دارو دریافت کرده بودند، ایجاد نکرد ($F(3,24) = 0.44, p > 0.05$). این یافته نشان دهنده این نکته است که در حضور LY225910 تعداد پرش های ناشی از سندروم محرومیت مورفین تغییری نیافته است.



نمودار ۲- اثر LY225910 بر پرش های ناشی از سندروم محرومیت مورفین. نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار می باشند ($n=8$).

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تزریق CCK-8 به همراه مورفین باعث کاهش تعداد پرش های ناشی از

بررسی اثر تجویز LY225910 بر پرش های ناشی از سندروم محرومیت مورفین: در این آزمایش بعد از هر نوبت تزریق مورفین، به روشنی که توضیح داده شد، مقدار ۱ میلی گرم بر کیلوگرم از LY225910 [۱۹] به سه گروه از موش ها تزریق گردید. به یک گروه از موش ها نیز به عنوان گروه کنترل ۶ میلی لیتر بر کیلوگرم حلال دارو تزریق گردید.

روش تجزیه و تحلیل داده ها: به دلیل توزیع نرمال داده ها، نتایج ثبت شده از طریق آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و در صورت معنی دار بودن نتایج، متعاقب آن برای مقایسه گروه ها از آزمون Tukey استفاده گردید. $p < 0.05$ بین گروه های مورد آزمون از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شد.

نتایج

بررسی اثر تجویز CCK-8 بر پرش های ناشی از سندروم محرومیت مورفین: نتایج این مطالعه نشان داد که تزریق CCK-8 به همراه مورفین، باعث کاهش تعداد پرش های موش های وابسته به مورفین در مقایسه با موش هایی که مورفین و سالین دریافت کرده بودند، گردید ($F(3,24) = 3/23, p < 0.05$). آزمون Tukey نشان داد که این کاهش به صورت معنی داری در مقدار ۰/۳ میلی گرم بر کیلوگرم رخ داده است. نتایج در نمودار ۱ ارایه شده اند.

نوکلئوس اکومبنس و ماده خاکستری دورقناتی (Periaqueductal gray) باعث کاهش اثر ضددرد مورفین می‌شود [۲۲، ۱۳]. مطالعه دیگری نیز نشان داد که تزریق سرولئین بخوبی توانست پرش‌های ناشی از تزریق نالوکسان به موش‌های وابسته به مورفین را مهار نماید [۲۳]. بنابراین یافته‌ها، اثر مذکور عمدتاً از طریق تحریک گیرنده‌های CCK_1 و نه CCK_2 بروز کرده است. در مطالعه همین محققان، تزریق آنتاگونیست CCK_2 (LY288513) قادر به مهار سندروم محرومیت ناشی از نالوکسان نبوده است. این یافته مؤید یافته مطالعه حاضر می‌باشد که در آن تزریق آنتاگونیست CCK_2 بر بروز سندروم محرومیت در موش‌ها بی‌تأثیر بود. لذا به نظر می‌رسد که تحریک گیرنده‌های CCK_1 مسئول بروز اثرات کاهنده پرش $CCK-8$ بوده است. با توجه به این که گیرنده‌های CCK_1 عمدتاً در محیط و نواحی محدودی از مغز وجود دارند، یا تحریک محیطی این گیرنده‌ها مسئول بروز کاهش پرش‌های موش‌ها در طی سندروم محرومیت است و یا احتمالاً نقش مهم‌تری برای گیرنده‌های CCK_1 مغزی در روند وابستگی به ترکیبات اوپیوئیدی باشیست قائل شد. در تأیید این یافته، گزارش شده است که تزریق آنتاگونیست‌های کوله‌سیستوکینین، پروگلوماید و بنزوتریپ، قادر به دخالت در وابستگی به مورفین نبوده‌اند [۲۴].

یکی از نکاتی که در این مطالعه مطرح شده است اثر قابل توجه ضدسندروم محرومیت ناشی از تزریق حامل LY225910 در مقایسه با حامل کوله‌سیستوکینین است. این اثر را می‌توان بخاطر استفاده گریزناپذیر از ماده دی‌متیل‌سولفوکساید دانست. در یک مطالعه جدید نشان داده شده است که دی‌متیل‌سولفوکساید قادر به دخالت در

سندروم محرومیت مورفین متعاقب تزریق نالوکسان گردید. در حالی که تزریق LY225910 (آنتاگونیست اختصاصی گیرنده‌های CCK_2) و مورفین، هیچ اثر معنی‌داری بر تعداد پرش‌های ناشی از این سندروم محرومیت نداشت. در مطالعه مشابه دیگری نیز همین نتیجه گزارش شده است [۲۰]. در مطالعه مذکور که توسط Rezayat و همکاران انجام شده، گزارش شده است که تزریق $CCK-8$ و سرولئین (آگونیست گیرنده‌های CCK_1 و CCK_2) درست قبل از تزریق نالوکسان، باعث کاهش پرش‌های ناشی از سندروم محرومیت مورفین می‌شود. به عبارتی، در مطالعه مذکور نشان داده شد که تزریق $CCK-8$ باعث کاهش پرش موش‌ها در انتهای وابستگی به مورفین (Expression) گردید در حالی که مطالعه حاضر نشان داد که تزریق $CCK-8$ به همراه مورفین، در طی روند ایجاد وابستگی (Development)، باعث کاهش تعداد پرش‌های موش‌ها که از شاخص‌ترین علایم سندروم ترک است، می‌شود. در مطالعه حاضر اثر $CCK-8$ در مقادیر بالا یعنی در مقدار 0.6 میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با مقدار 0.3 میلی‌گرم بر کیلوگرم کاهش یافت. این نتیجه کاملاً منطبق بر نمودار دوز-پاسخ پیتیدها است که در آن اثربخشی پیتیدها در مقادیر بالا به خاطر اثر غیراختصاصی آنها کاهش می‌یابد [۲۱]. علت اثربخشی $CCK-8$ و عدم اثر بخشی آنتاگونیست آن را می‌توان این‌گونه توصیف کرد که در مقادیر کم یا به عبارتی مقادیر از CCK که در بدن ترشح می‌شوند، این ماده قادر به دخالت در روند بروز وابستگی نیست در حالی که در مقادیر بالاتر، CCK می‌تواند اثرات ضدمورفین داشته باشد. این اثر ضدمورفین CCK در مطالعات دیگری نیز گزارش شده است. به عنوان مثال گزارش شده است که تزریق کوله‌سیستوکینین در

CCK اثر ضدتشنج مورفین را افزایش می‌دهد [۳۲] و یا بروز اثر پاداش‌دهنده مخدراها وابسته به CCK است [۱۶]. البته در مواردی هم تداخلی بین CCK و سیستم اوپیوئیدی گزارش نشده است. مثلاً CCK نتوانسته است که کاتالپسی ناشی از بتالدورفین را مهار نماید [۳۳] و یا مورفین اثری بر فعالیت ضداشتهای CCK نداشته است [۳۴]. عدم وجود تداخل بین سیستم اوپیوئیدی و CCK در برخی فرآیندهای فیزیولوژیک وجود تداخل بین این دو سیستم در برخی دیگر از فرآیندها، احتمالاً نشان‌دهنده وابستگی تداخل به نوع فرآیندی است که ارزیابی می‌شود. اگرچه مطالعات زیادی تاکنون انجام شده‌اند اما اساس تداخل موجود بین CCK و مخدراها هنوز به خوبی مشخص نشده است.

نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر نشان داد که تزریق CCK به همراه مورفین، باعث کاهش تعداد پرش‌های ناشی از سندروم محرومیت مورفین متعاقب تزریق نالوکسان گردید، در حالی که تزریق همزمان آنتاگونیست انتخابی گیرنده CCK₂ تأثیری بر این پرش‌ها نداشت. از این‌رو بمنظور می‌رسد که تحریک گیرنده‌های CCK₁ نقش مهمی در بروز علایم وابستگی به اوپیوئیدها دارد و در روند وابستگی به مخدراها کوله‌سیستوکینین یکی از عواملی است که نقش آن بایستی در نظر گرفته شود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از معاونت آموزشی و پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان که هزینه‌های این طرح را پرداخت کردند، تشکر و قدردانی می‌شود.

پاسخ‌های ضددرد مورفین می‌باشد [۲۵] و این ماده با تأثیر بر امواج مغزی موش‌ها، می‌تواند بر خواب آنها تأثیر گذارد [۲۶] از این‌رو، بحث اثر دی‌متیل‌سولفوکساید بر روند وابستگی به مورفین می‌تواند موضوع تحقیق دیگری قرار گیرد. یافته‌های این مطالعه مؤید این نکته است که سیستم اوپیوئیدی بدن تحت تأثیر نوروپتید کوله‌سیستوکینین است. این نکته با توجه به این که توزیع CCK با توزیع آنکفالین‌ها در مناطقی از مغز، چون هسته دور قنات خاکستری، هسته اینترالامینار تalamوس، لایه‌های I و II آلوکورتکس و بخش بولیایی همپوشانی بسیار قوی دارد [۲۷] چندان دور از ذهن هم نیست. در همین راستا، مطالعاتی هم نشان داده‌اند که اثر ضددرد CCK با تجویز نالوکسان از بین رفته است [۲۸]. این اثر ضداوپیوئیدی CCK در مطالعات دیگری هم نشان داده شده است، به عنوان مثال گزارش شده است که CCK-8 قادر است از افزایش و کاهش فعالیت حرکتی ناشی از مورفین در موش‌ها بکاهد [۲۹]. این ترکیب حتی توانسته است از بروز اختلالات رفتاری مادرانه موش‌ها مانند اختلال در تماس با نوزادان، فراخوان، جمع کردن و تیمار آنها در اثر مصرف مورفین جلوگیری کند [۳۰]. برخی مطالعات نیز مدعی هستند که محرک‌های بیرونی با تأثیر بر آزادسازی CCK در روند کنترل درد و تحمل به مخدراها دخالت دارند [۳۱]. از طرفی گزارش شده است که اتصال کوله‌سیستوکینین به گیرنده‌های CCK₂ باعث کاهش میل ترکیبی لیگاندهای مورفینی می‌شود [۸]. با این حال، گزارشاتی وجود دارد مبنی بر این که در مواردی اثر مورفین را افزایش داده است که این برخلاف CCK-8 گزارشات قبلی است. به عنوان مثال گزارش شده است که

References

- [1] Katzung B. Basic and Clinical Pharmacology. 10th ed. New York: McGraw Hill. 2007; pp: 489-502.
- [2] Zarrindast MR, Habibi M, Borzabadi S, Fazli-Tabaei S, Hossein Yahyavi S, Rostamin P. The effects of dopamine receptor agents on naloxone-induced jumping behaviour in morphine-dependent mice. *Eur J Pharmacol* 2002; 451(3): 287-93.
- [3] Zarrindast MR, Mousa-Ahmadi E. Effects of GABAergic system on naloxone-induced jumping in morphine-dependent mice. *Eur J Pharmacol* 1999; 381(2-3): 129-33.
- [4] Zarrindast MR, Naghipour B, Roushan-zamir F, Shafaghi B. Effects of adenosine receptor agents on the expression of morphine withdrawal in mice. *Eur J Pharmacol* 1999; 369(1): 17-22.
- [5] Noble F, Wank SA, Crawley JN, Bradwejn J, Seroogy KB, Hamon M, et al. International Union of Pharmacology XXI. Structure, distribution, and functions of cholecystokinin receptors. *Pharmacol Rev* 1999; 51(4): 745-81.
- [6] Hill DR, Campbell NJ, Shaw TM, Woodruff GN. Autoradiographic localization and biochemical characterization of peripheral type CCK receptors in rat CNS using highly selective nonpeptide CCK antagonists. *J Neurosci* 1987; 7(9): 2967-76.
- [7] Hill DR, Shaw TN, Graham W, Woodruff GN. Autoradiographical detection of Cholecystokinin-A receptors in primate brain using ¹²⁵I-Bolton Hunter CCK-8 and ³H-MK 329. *J Neurosci* 1990; 10(4): 1070-81.
- [8] Xanthos DN, Kumar N, Theodorsson E, Coderre TJ. The roles of nerve growth factor and cholecystokinin in the enhancement of morphine analgesia in a rodent model of central nervous system inflammation. *Neuropharmacology* 2009; 56(3): 684-91.
- [9] Beinfeld MC. An introduction to neuronal cholecystokinin. *Peptides* 2001; 22(8): 1197-200.
- [10] Szelnyi Z, Szekely M, Hummel Z, Balasko M, Romanovsky AA, Petervari E. Cholecystokinin: possible mediator of fever and hypothermia. *Front Biosci* 2004; 9: 301-8.

- [11] Bradwejn J, Vasar E. *Cholecystokinin and anxiety: From neuron to behavior*. Austin, Springer-Verlag. 1995; pp: 151-7.
- [12] Hebb AL, Poulin JF, Roach SP, Zacharko RM, Drolet G. Cholecystokinin and endogenous opioid peptides: interactive influence on pain, cognition, and emotion. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2005; 29(8): 1225-38.
- [13] Xiong W, Yu LC. Involvement of endogenous cholecystokinin in tolerance to morphine antinociception in the nucleus accumbens of rats. *Behav Brain Res* 2006; 173(1): 116-21.
- [14] Kapas L, Benedek G, Penke B. Cholecystokinin interferes with the thermoregulatory effect of exogenous and endogenous opioids. *Neuropeptides* 1989; 14(2): 85-92.
- [15] Itoh S, Katsuura G. Effects of beta-endorphin, thyrotropin-releasing hormone and cholecystokinin on body shaking behavior in rats. *Jpn J Physiol* 1982; 32(4): 667-75.
- [16] Mitchell JM, Bergren LJ, Chen KS, Fields HL. Cholecystokinin is necessary for the expression of morphine conditioned place preference. *Pharmacol Biochem Behav* 2006; 85(4): 787-95.
- [17] Zarrindast MR, Farzin D. Nicotine attenuates naloxone-induced jumping behaviour in morphine-dependent mice. *Eur J Pharmacol* 1996; 298(1):1-6.
- [18] Rezayat M, Ravandeh N, Zarrindast MR. Cholecystokinin and morphine-induced hypothermia. *Eur Neuropsychopharmacol* 1999; 9(3): 219-25.
- [19] Farook JM, Zhu YZ, Wang Q, Moochhala SM, Lee L, Wong PT. Analysis of strain difference in behavior to Cholecystokinin (CCK) receptor mediated drugs in PVG hooded and Sprague-Dawley rats using elevated plus-maze test apparatus. *Neurosci Lett* 2004; 358(3): 215-9.
- [20] Rezayat M, Azizi N, Zarrindast MR. On the mechanism(s) of cholecystokinin (CCK): receptor stimulation attenuates morphine dependence in mice. *Pharmacol Toxicol* 1997; 81(3): 124-9.
- [21] Elgjo K, Reichelt KI. Chalones from aqueous extracts to oligopeptides. *Cell Cycle* 2004; 3: 1208-11.
- [22] Li Y, Han JS. Cholecystokinin-octapeptide antagonizes morphine analgesia in periaqueductal gray of the rat. *Brain Res* 1989; 480(1-2): 105-10.

- [23] Bourin M, Malinge M, Colombel MC, Vasar E. Cholecystokinin receptor agonists block the jumping behaviour precipitated in morphine-dependent mice by naloxone. *Eur Neuropsychopharmacol* 1999; 9(1-2): 37-43.
- [24] Panerai AE, Rovati LC, Cocco E, Sacerdote P, Mantegazza P. Dissociation of tolerance and dependence to morphine: a possible role for cholecystokinin. *Brain Res* 1987; 410(1): 52-60.
- [25] Fossum EN, Lisowski MJ, Macey TA, Ingram SL, Morgan MM. Microinjection of the vehicle dimethyl sulfoxide (DMSO) into the periaqueductal gray modulates morphine antinociception. *Brain Res* 2008; 1204: 53-8.
- [26] Cavas M, Beltrán D, Navarro JF. Behavioural effects of dimethyl sulfoxide (DMSO): changes in sleep architecture in rats. *Toxicol Lett* 2005; 157(3): 221-32.
- [27] Gall C, Lauterborn J, Burks D, Seroogy K. Co-localization of enkephalin and cholecystokinin in discrete areas of rat brain. *Brain Res* 1987; 403(2): 403-8.
- [28] Zetler G. Analgesia and ptosis caused by caerulein and cholecystokinin octapeptide (CCK-8). *Neuropharmacology* 1980; 19(5): 415-22.
- [29] Schnur P, Raigoza VP, Sanchez MR, Kulkosky PJ. Cholecystokinin antagonizes morphine induced hypoactivity and hyperactivity in hamsters. *Pharmacol Biochem Behav* 1986; 25(5): 1067-70.
- [30] Miranda-Paiva CM, Canteras NS, Sukikara MH, Nasello AG, Mackowiak II, Felicio LF. Periaqueductal gray cholecystokinin infusions block morphine-induced disruption of maternal behavior. *Peptides* 2007; 28(3): 657-62.
- [31] Wiertelak EP, Maier SF, Watkins LR. Cholecystokinin antianalgesia: safety cues abolish morphine analgesia. *Science* 1992; 256(5058): 830-3.
- [32] Legido A, Adler MW, Karkanias C, Geller EB, Bradley E, Greenstein JI, et al. Cholecystokinin potentiates morphine anticonvulsant action through both CCK-A and CCK-B receptors. *Neuropeptides* 1995; 28(2): 107-13.
- [33] Itoh S, Katsuura G. Suppressive effect of cholecystokinin and its related peptides on beta-endorphin-induced catalepsy in rats. *Eur J Pharmacol* 1981; 74(4): 381-4.
- [34] Wilson MC, Denson D, Bedford JA, Hunsinger RN. Pharmacological manipulation of sinalide (CCK-8)-induced suppression of feeding. *Peptides* 1983; 4(3): 351-7.

The Effects of CCK-8 and CCK2 Receptor Antagonists on Naloxone-induced Jumping in Morphine Dependent Mice

A. Roohbakhsh¹, H. Esmaeli², Z. Asami³, A. Shamsizadeh⁴

Received: 27/09/09

Sent for Revision: 30/01/10

Received Revised Manuscript: 28/08/10

Accepted: 16/10/10

Background and Objectives: Opioids are an important group of analgesics that are used extensively to control sever pains. Physical dependence to these drugs is a major problem. There are a few studies regarding the involvement of cholecystokinin (CCK) in the withdrawal syndromes of opioids. In the present study, the effects of CCK agonist and antagonist on the number of jumping of morphine dependent mice were evaluated.

Materials and Methods: In this experimental study, the effects of CCK-8 and LY225910 (selective CCK2 receptor antagonist) on jumpings of mice after morphine dependence were evaluated. Mice were injected with morphine three times a day (50, 50 and 75 mg/kg) for three days; at the forth day they received 50 mg/kg morphine. Injection of naloxone (5 mg/kg) induced withdrawal signs such as jumping. The experimental groups received different doses of CCK-8 (0.1, 0.3 and 0.6 mg/kg) and LY225910 (0.01, 0.5 and 1 mg/kg) with each injection of morphine.

Results: Injection of CCK-8 significantly decreased the naloxone-induced jumpings, while LY225910 did not have any significant effects on these jumpings.

Conclusions: Based on the results of the present study, activation of CCK1 receptors probably is involved in morphine dependence. The results also confirm that injection of CCK but not CCK₂ selective antagonist probably decreases the jumpings of mice following withdrawal syndrome of morphine.

Key words: Cholecystokinin, Morphine, Dependence, Pure agonist, Competitive antagonist, Jumpings

Funding: This research was funded by Rafsanjan University of Medical Sciences.

Conflict of interest: None declared.

Ethical approval: The Ethics committee of Rafsanjan University of Medical Sciences approved the study.

1- Assistant Prof., Physiology and Pharmacology Research Center, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran

Corresponding autor, Tel: (0391) 8226927, Fax: (0391) 8220074, Email: aroohbakhsh@rums.ac.ir

2- BSc Student of Nursing, School of Nursing & Midwifery, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran

3- BSc Student of Midwifery, School of Nursing & Midwifery, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran

4- Assistant Prof., Dept. of Physiology and Pharmacology, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran