

نقش گیرنده فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز بر سطح اضطراب پس از تجویز حاد مورفین در موش‌های صحرایی

معصومه خلیل خلیلی^۱ (M.Sc)، شهربانو قدرتی جلدباخان^۱ (M.Sc)، علی رشیدی پور^۱ (Ph.D)، احمدرضا بندگی^۲ (Ph.D)، بهپور یوسفی^۳ (Ph.D)، حسین میلادی گرجی^{۱*} (Ph.D)

۱- مرکز تحقیقات و گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

۲- بخش بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

۳- بخش آناتومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

چکیده

سابقه و هدف: با توجه به اثرات ضد اضطرابی مورفین حاد، هدف این مطالعه بررسی نقش گیرنده فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز (Brain-derived neurotrophic factor, BDNF) در این اثرات بود.

مواد و روش‌ها: ۴۸ راس موش‌های بزرگ صحرایی نر با نژاد ویستار به طور تصادفی به ۶ گروه تقسیم شدند. ابتدا یک دوز مورفین به میزان ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت زیر جلدی و بعد از ۲ ساعت، ANA12 (مهارگر گیرنده BDNF/TrkB) به میزان ۰/۲۵ و ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی تزریق گردید. سپس ۴ ساعت بعد موش‌ها در ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع جهت سطح اضطراب مورد ارزیابی قرار گرفتند. موش‌های گروه کنترل به طور مشابه سالیین دریافت نمودند.

یافته‌ها: یافته‌ها نشان دادند ANA12 با هر دو دوز در موش‌هایی که یک دوز سالیین دریافت نمودند موجب افزایش مدت زمان ماندن در بازوی باز گردید و در موش‌هایی که یک دوز مورفین گرفتند موجب کاهش یا افزایش تعداد ورود به بازوی باز و بسته (به ترتیب) گردید.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که گیرنده BDNF/TrkB می‌تواند نقش تنظیمی بر تعدیل اثرات ضد اضطرابی مورفین حاد داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: مورفین حاد، آنتاگونیست گیرنده BDNF (ANA12)، اضطراب.

مقدمه

تجویز حاد و مزمن مورفین اثرات مختلفی بر فرآیند اضطراب دارد [۱]. مطالعات قبلی نشان داد که با تجویز سیستمیک یا مرکزی آگونیست گیرنده اویپویدی μ (مورفین) [۲، ۳] و هم‌چنین آگونیست رسپتور κ اویپویدی [۴] باعث ایجاد اثرات ضد اضطرابی در ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع (EPM) می‌شود، که این اثر توسط آنتاگونیست گیرنده

اویپویدی نالوکسان برگشت داده می‌شود. در مطالعات اخیر نشان داده شد که تزریق مورفین به بخش شکمی هیپوکمپ و یا هسته اکومبنس پاسخ‌های ضد اضطرابی ایجاد می‌کند که این اثر نیز توسط نالوکسان مهار می‌گردد [۵]. بنابراین مورفین به صورت حاد اثرات ضد اضطرابی در EPM دارد اما مصرف مزمن آن موجب بروز رفتارهای شبه اضطرابی می‌نماید [۶]. اما مکانیسم‌های ضد اضطرابی مورفین حاد کاملاً مشخص

مواد و روش‌ها

حیوانات. ۴۸ سر موش صحرانی جنس نر با محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم از نژاد Wistar که از مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی تهیه گردید. حیوانات در یک اتاق با درجه حرارت ثابت 24 ± 2 سانتی‌گراد و با شرایط مناسب از نظر نور (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) نگهداری شدند و آب و غذای کافی در اختیارشان قرار گرفت. آنتاگونیست BDNF، آنتاگونیست گیرنده اختصاصی BDNF (ANA12) قابل حل در سرم فیزیولوژیک از شرکت SIGMA خریداری شد و تزریق آن به میزان ۰/۲۵ و ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی انجام گرفت [۱۲].

روش ارزیابی اضطراب. دستگاه ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع (Elevated Plus Maze Test) جهت موش‌های سفید آزمایشگاهی، یک مدل استاندارد جهت ارزیابی سطح اضطراب در جوندگان است. این مدل تجربی سنجش اضطراب غیر شرطی بوده و نیازی به آموزش و یادگیری حیوان ندارد. این دستگاه از چوب ساخته شده است و شامل دو بازوی باز (هر یک 50×10 سانتی‌متر هم‌راه با یک لبه ۵ میلی‌متری) و دو بازوی بسته (هر یک $50 \times 10 \times 40$ سانتی‌متر) و یک کفه مرکزی (10×10 سانتی‌متر) به طوری که بازوهای باز روبه‌روی یکدیگر قرار دارند و حدود ۷۰ سانتی‌متر از کف اتاق بالاتر قرار می‌گیرد.

روش ارزیابی اضطراب. در صبح روز آزمون هر موش به طور جداگانه، ۵ دقیقه قبل از آزمایش در جعبه‌ای با دیواره‌های مشکی از جنس پلکسی‌گلاس به ابعاد $30 \times 40 \times 10$ سانتی‌متر قرار گرفتند (به منظور افزایش فعالیت جستجوگرانه حیوان). سپس برای سنجش سطح اضطراب، حیوان در ماز بعلاوه‌ای مرتفع به مدت ۵ دقیقه قرار داده شد و شاخص‌های استاندارد ارزیابی اضطراب از طریق مشاهده آن‌ها بررسی و فعالیت‌های جستجوگرانه با دوربین ثبت گردید. افزایش ورود به بازوی باز و افزایش مدت زمان سپری شده در بازوی باز و یا بالعکس آن در بازوی بسته کاهش

نیست. نقش فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF) در پلاستیسیته نورونی در فرایند اعتیاد و درد به وضوح مشخص گردید. چنان‌که در مطالعه اخیر نقش BDNF مزولیمبیک در خصوصیات پاداشی مورفین نشان داده شد [۷]. از طرفی نشان داده شد که TrkB (گیرنده تیروزین کینازی B) که گیرنده اختصاصی BDNF می‌باشد کنترل‌کننده بی‌دردی ناشی از مورفین است بدون این‌که بر پاسخ‌های پایه درد اثری داشته باشند [۸]. مطالعات قبلی نشان داد که انفوزیون BDNF به‌داخل هیپوکمپ موجب بهبود پارامترهای رفتار هیجانی مثل افسردگی گردید. در مطالعه‌ای بیان بیش از حد BDNF در ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع رفتار شبه ضد اضطرابی ایجاد نکرد [۹]. در حالی‌که موش‌هایی که ترشح BDNF در آن‌ها کاهش داشت یا حاوی ایزوفرم ناقص گیرنده ترجیحی TrkB به خصوص در نورن‌های تازه بودند افزایش سطح اضطراب را نشان داد [۱۰]. بنابراین پیشنهاد گردید که سیگنالینگ BDNF/TrkB برای ضد اضطرابی ضروری است [۹]. ANA12 یک پپتید کوچک قوی‌ال‌اثر به عنوان آنتاگونیست گیرنده BDNF بعد از تزریق سیستمیک از سد خونی مغزی عبور کرده و گیرنده‌های TrkB را مهار می‌کند. هم‌چنین مقدار موثر این ماده از نیم ساعت بعد از تزریق تا مدت ۶ ساعت در مغز عمل می‌کند و بیش‌ترین مهار گیرنده را ابتدا در مدت ۲ ساعت در استریاتوم، هیپوکمپ و قشر مغز و در مدت ۴ ساعت بعد از تزریق در سرتاسر مغز داشته است [۱۱-۱۳]. مطالعات آزمایشگاهی نشان می‌دهد که این ترکیب یک آنتاگونیست بسیار قوی و انتخابی برای TrkB است [۱۲]. مهار TrkB می‌تواند اثرات مفید و مهمی بر مدل‌های اضطرابی، افسردگی داشته باشد [۱۴]. در مطالعه Cazorla و همکاران نشان داده شد استفاده از دوز کم ANA12 تغییر رفتاری (ضد اضطراب و ضد افسردگی) ایجاد می‌کند [۱۲]. از طرفی نقش BDNF برای ضد اضطرابی مورفین حاد مشخص نیست. لذا در این مطالعه به اثرات ضد اضطرابی مورفین حاد و نقش آنتاگونیست گیرنده BDNF/TrkB بر آن مورد بررسی قرار گرفت.

سالینی که ANA_{0.25} دریافت کردند (Sal/ANA_{0.25}) و گروه سالینی که سالیین دریافت نمودند (Sal/Sal) تفاوت معنی دار بوده ($P=0/0001$). هم‌چنین در مقایسه بین دو گروه موش‌های مورفینی دریافت‌کننده ANA_{0.25} (Morph/ANA) و گروه سالینی دریافت‌کننده ANA_{0.25} (Sal/ANA_{0.25}) تفاوت معنی دار مشاهده شده است ($P=0/0001$). هم‌چنین آنالیز واریانس یک‌طرفه برای بازوی بسته نشان‌دهنده اثر معنی داری گروه‌ها ($F_{5,42}=15/91$, $P=0/0001$) بوده و آنالیز متعاقب نشان داده که بین دو گروه موش‌های مورفینی دریافت‌کننده ANA_{0.25} (Morph/ANA_{0.25}) و گروه سالینی دریافت‌کننده ANA_{0.25} (Sal/ANA_{0.25}) تفاوت معنی دار مشاهده گردید ($P=0/0001$). هم‌چنین بین دو گروه موش‌های مورفینی دریافت‌کننده ANA_{0.5} (Morph/ANA) و گروه مورفینی دریافت‌کننده سالیین (Morph/Sal) تفاوت معنی دار مشاهده گردید ($P=0/031$). نتایج آنالیز واریانس یک‌طرفه برای تعداد کل ورود به هر دو بازو نیز بیانگر اثر معنی داری می‌باشد ($F_{5,42}=20/5$, $P=0/0001$) و آزمون متعاقب نشان داد که بین گروه سالینی که ANA_{0.25} دریافت کردند (Sal/ANA_{0.25}) و گروه سالینی که سالیین دریافت نمودند (Sal/Sal) تفاوت معنی دار بوده. ($P=0/0001$) هم‌چنین مقایسه بین دو گروه موش‌های مورفینی دریافت‌کننده ANA_{0.25} (Morph/ANA_{0.25}) و گروه سالینی دریافت‌کننده ANA_{0.25} (Sal/ANA_{0.25}) نشان‌دهنده تفاوت معنی دار می‌باشد ($P=0/0001$).

درصد مدت زمان سپری شده در بازوهای باز و بسته. شکل ۲ نشان‌دهنده درصد زمان سپری شده در بازوی باز و بازوی بسته می‌باشد که بیانگر اثر معنی داری بین گروه‌ها است. آنالیز واریانس یک‌طرفه برای بازوی باز حاکی از اثر معنی داری گروه‌ها ($F_{5,42}=5/76$, $P=0/0001$) بوده و آنالیز متعاقب توکی در بازوی باز نشان داد که بین دو گروه مورفینی که سالیین دریافت کرده بودند (Morph/Sal) و گروه سالینی که سالیین دریافت نموده (Sal/Sal) تفاوت معنی دار است ($P=0/004$). هم‌چنین در بازوی باز مقایسه بین گروه سالینی

سطح اضطراب موش تلقی گردید. هم‌چنین قضاوت در مورد اختلاف معنی داری سطح اضطراب به این صورت است که اگر هم زمان هر دو شاخص (ورود به بازوی باز و بسته مدت سپری شده در آن‌ها) در یک راستا افزایش یا کاهش یابد و حداقل یکی از آن‌ها تفاوت معنی داری با گروه کنترل داشته باشد، به عنوان تغییر معنی داری سطح اضطراب تلقی شد [۶]. گروه‌های آزمایشی. ابتدا به موش‌های سالم مورفین (10 mg/kg) یا سالیین تک دوز به صورت زیر جلدی تزریق شده و بعد از ۲ ساعت ANA12 (دو دوز 25 mg/kg و $0/5$) به صورت داخل صفاقی تزریق گردیده و ۴ ساعت بعد از آن میزان رفتارهای شبه اضطرابی مورد ارزیابی قرار گرفتند (با توجه به مدت عمل مهاری آنتاگونیست در سرتاسر مغز) [۱۲].

گروه اول: سالیین - سالیین

گروه دوم: مورفین - سالیین

گروه سوم: سالیین - ANA12 (25 mg/kg)

گروه چهارم: سالیین - ANA12 ($0/5\text{ mg/kg}$)

گروه پنجم: مورفین - ANA12 (25 mg/kg)

گروه ششم: مورفین - ANA12 ($0/5\text{ mg/kg}$)

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها. در تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون‌های آنالیز واریانس یک طرفه استفاده گردید و آزمون توکی برای مقایسه دو به دو گروه‌ها انجام شد. اطلاعات به صورت میانگین \pm میانگین خطای معیار برای هر گروه ارائه شده و سطح معنی دار $P<0/05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج در ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع (EPM) در شکل ۱ نشان داده شده است. نتایج حاصل از آنالیز واریانس یک طرفه برای بازوی باز حاکی از اثر معنی داری گروه‌ها ($F_{5,42}=14/21$, $P=0/0001$) بوده و آنالیز متعاقب توکی نشان داد که بین دو گروه مورفینی که سالیین دریافت کرده (Morph/Sal) و گروه سالینی که سالیین دریافت نموده بودند (Sal/Sal) تفاوت معنی دار است ($P=0/002$). بین گروه

بیانگر اثر معنی‌داری بین گروه‌ها است ($F_{5,42}=2/84$ ، $P=0/027$) و آنالیز متعاقب توکی نشان داد که بین دو گروه مورفینی که سالین دریافت کرده بودند (Morph/Sal) و گروه سالینی که سالین دریافت نموده (Sal/Sal) تفاوت معنی‌دار است ($P=0/05$).

که ANA12_{0.25} دریافت نمودند (Sal/ANA_{0.25}) و گروه سالینی که سالین دریافت نمودند (Sal/Sal) تفاوت معنی‌دار بود ($P=0/0001$). آنالیز داده‌ها در بازوی باز بین دو گروه سالینی که ANA_{0.5} دریافت نمودند (Sal/ANA_{0.5}) و گروه سالینی که سالین دریافت کرده بودند (Sal/Sal) نیز تفاوت معنی‌دار بوده است ($P=0/005$). این آنالیز در بازوی بسته نیز

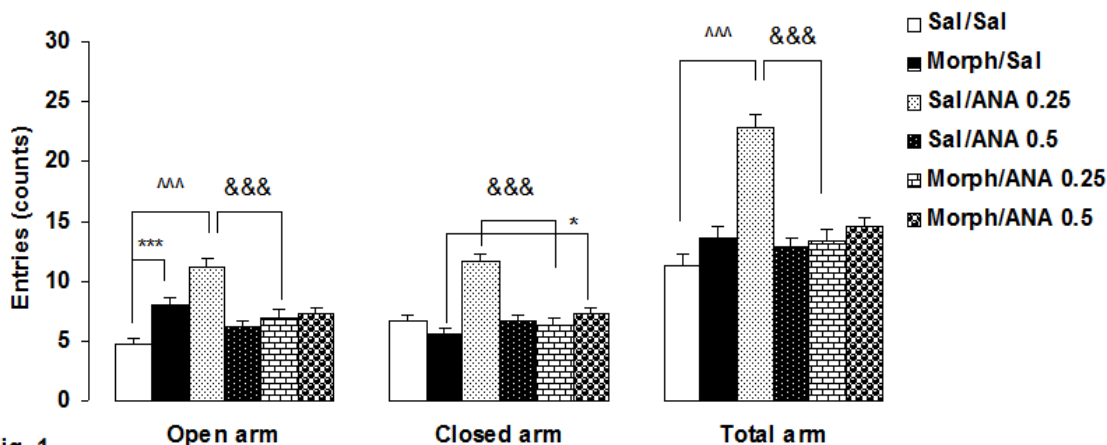


Fig. 1

شکل ۱. اثر ANA12 بر سطح اضطراب در موش‌های دریافت‌کننده مورفین حاد در بازوهای باز و بسته را نشان می‌دهد. نمودار نشان‌دهنده اثر اضطرابی زایی ANA12 در گروه‌هایی که به صورت حاد مورفین دریافت نمودند می‌باشد.

In Open arms: Sal/Sal vs Morph/Sal; $P=0.002$, Sal/Sal vs Sal/ANA_{0.25}; $P=0.0001$, Sal/ANA_{0.25} vs Morph/ANA_{0.25}; $P=0.0001$.

In Closed arms: Sal/ANA_{0.25} vs Morph/ANA_{0.25}; $P=0.0001$, Morph/Sal vs Morph/ANA_{0.5}; $P=0.031$.

In Total arms: Sal/Sal vs Sal/ANA_{0.25}; $P=0.0001$, Sal/ANA_{0.25} vs Morph/ANA_{0.25}; $P=0.0001$

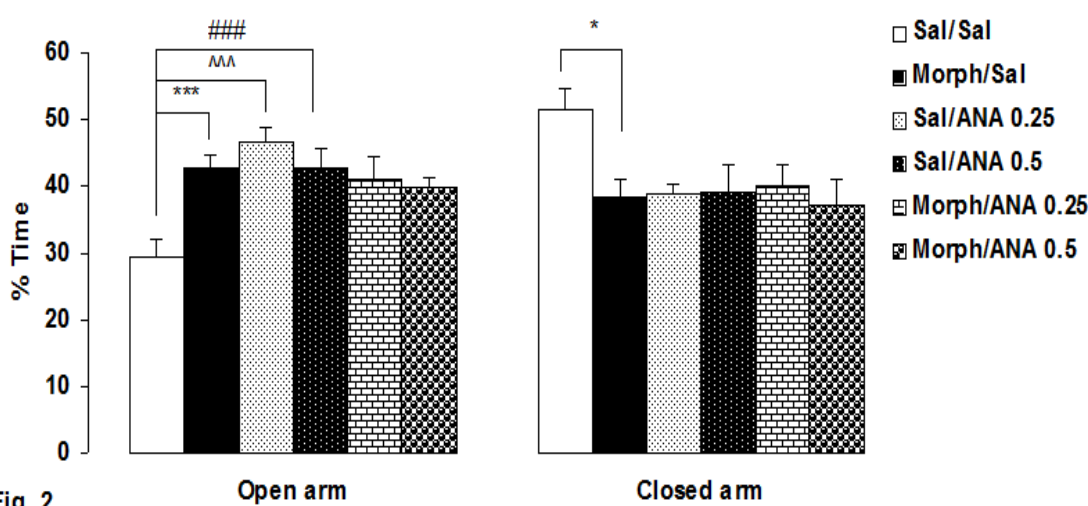


Fig. 2

شکل ۲. اثر ANA12 بر سطح اضطراب در موش‌های دریافت‌کننده مورفین حاد در بازوهای باز و بسته را نشان می‌دهد. این شکل نشان‌دهنده اثر ضد اضطرابی ANA12 در هر دو دوز در گروه سالینی می‌باشد. درحالیکه ANA12 تأثیری بر موش‌های دریافت‌کننده مورفین حاد بر مدت زمان سپری شده در بازوی باز و بسته نداشت.

In Open arms: Sal/Sal vs Morph/Sal; $P=0.004$, Sal/Sal vs Sal/ANA_{0.25}; $P=0.0001$, Sal/Sal vs Sal/ANA_{0.5}; $P=0.005$.

In Closed arms: Sal/Sal vs Morph/Sal; $P=0.05$

بحث و نتیجه گیری

همان‌طور که در نتایج مشاهده شد میزان ورود و مدت زمان ماندن در بازوی باز در گروه‌هایی که به صورت حاد مورفین دریافت نمودند بالاتر بوده است در حالی که مدت زمان ماندن در بازوی بسته کاهش داشت که نمایانگر اثر ضد اضطرابی مورفین حاد است و این یافته در راستای یافته‌های قبلی می‌باشد [۳]. هم‌چنین ANA12 با دوز ۰/۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم با کاهش تعداد ورود به بازوی باز و با دوز ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم با افزایش تعداد ورود به بازوی بسته در موش‌های دریافت‌کننده مورفین حاد نمایانگر افزایش سطح اضطراب با دو دوز ANA12 به دنبال مورفین حاد می‌باشد.

در حالی که تزریق سیستمیک هر دو دوز ۰/۲۵ و ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم ANA12 با افزایش مدت زمان سپری شده در بازوی باز موجب کاهش سطح اضطراب در موش‌های گروه کنترل سالینی گردید. هم‌چنین ANA12 با دوز ۰/۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم در گروه دریافت‌کننده سالین موجب افزایش تعداد ورود به بازوی باز و بسته گردید که نشان‌دهنده افزایش فعالیت حرکتی در گروه کنترل سالینی می‌باشد. در صورتی که ANA12 با دوز ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم تأثیری بر فعالیت حرکتی در گروه کنترل سالینی نداشته است.

به نظر می‌رسد که ANA12 با مهار گیرنده تیروزین کینازی BDNF در موش‌های دریافت‌کننده سالین (کنترل) و مورفین حاد اثرات متضادی بر سطح اضطراب دارد.

نتایج به دست آمده در تحقیقات قبلی نشان داده که تعامل بین دو سیستم مغزی کنترل اضطراب و در پی آن افسردگی بر عهده دو مسیر مختلف می‌باشد: (۱) مسیر HPA که شامل اجزای عملکردی برای یادگیری و حافظه می‌باشد و تنظیم منفی این سیستم واسطه ایجاد استرس می‌باشد و (۲) سیستم پاداش شامل ناحیه تگمنتوم شکمی - هسته اکومینس (-VTA) و ناحیه تگمنتوم شکمی - قشر پیش پیشانی (-VTA) (PFC) که این مسیر نقش مهمی در ایجاد انگیزه و پاداش دارد. شواهد تجربی نشان‌دهنده اثرات متفاوت BDNF در این دو سیستم می‌باشند. در بعضی از مطالعات نشان داده شد تزریق

درون هیپوکمپ BDNF اثرات ضد افسردگی دارد [۱۶، ۱۵]. اما در مطالعات دیگری نشان داده شده که BDNF در سیستم پاداشی نقش prodepressive داشته و اثر آن به صورت نشانه‌های اضطرابی بروز می‌کند [۱۸، ۱۷]. چنان‌که با مهار سیگنالینگ BDNF/TrkB در هسته اکومینس یک اثر قوی ضد افسردگی [۱۷] و ضد اضطرابی داشته است [۱۹]. بنابراین بر خلاف اثرات ضد افسردگی BDNF در هیپوکمپ و مسیر HPA، افزایش BDNF موجب تغییرات درازمدتی در مدار پاداشی مغز چونندگان می‌شود که بیانگر تسهیل افسردگی و اضطراب ناشی از استرس در انسان می‌باشد.

بنابراین به نظر می‌رسد مورفین حاد با افزایش سطح BDNF در سیستم غیر پاداشی مغز از طریق گیرنده تیروزین کینازی اثر ضد اضطرابی خود را اعمال می‌کند. چنان‌که در مطالعه‌ای بعد از ۳ ساعت از تجویز حاد یک آگونیست اوبیویدی دلتا با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم موجب افزایش بیان mRNA پروتئین BDNF در قشر فرونتال، هیپوکمپ، هسته قاعده‌ای جانبی آمیگدال، هسته اندوپیرفورم و قشر بویایی اولیه گردید. در حالی که با آنتاگونیست اوبیویدی دلتا این اثر بلوک گردید. بنابراین تصور می‌شود افزایش سطوح BDNF و TrkB برای اثرات درمانی اوبیویدها مهم می‌باشد [۲۰]. چنان‌که در مطالعات قبلی هم نشان داده شد افزایش BDNF در هسته پارابراکیال تعدیل‌کننده مسیر پارابراکیو- آمیگدال در ضد دردی ناشی از مورفین می‌باشد. حیواناتی که در آن‌ها BDNF حذف شده بود و یا با تزریق داخل آمیگدال مرکزی حذف‌کننده BDNF درون‌زاد در موش‌های کنترل موجب کاهش ضد دردی ناشی از مورفین گردید. بنابراین TrkB کنترل‌کننده بی‌دردی ناشی از مورفین است [۸].

هم‌چنین در این مطالعه مشاهده شد که تزریق سیستمیک هر دو دوز ANA12 موجب کاهش سطح اضطراب در موش‌های گروه کنترل سالینی گردید. به نظر می‌رسد میزان نرمال سطح BDNF در شرایط فیزیولوژیک (بدون تزریق یک دوز مورفین) در موش‌های گروه کنترل از طریق مدار پاداش مغز موجب افزایش رفتار وابسته به اضطراب می‌شود که

- [3] Zarrindast MR, Rostami P, Zarei M, Roohbakhsh A. Intracerebroventricular effects of histaminergic agents on morphine-induced anxiolysis in the elevated plus-maze in rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2005; 97: 276-281.
- [4] Privette T, Terrian D. Kappa opioid agonists produce anxiolytic-like behavior on the elevated plus-maze. *Psychopharmacology* 1995; 118: 444-450.
- [5] Zarrindast M-R, Babapoor-Farrokhran S, Babapoor-Farrokhran S, Rezaeifard A. Involvement of opioidergic system of the ventral hippocampus, the nucleus accumbens or the central amygdala in anxiety-related behavior. *Life Sci* 2008; 82: 1175-1181.
- [6] Miladi-Gorji H, Rashidy-Pour A, Fathollahi Y. Anxiety profile in morphine-dependent and withdrawn rats: effect of voluntary exercise. *Physiol Behav* 2012; 105: 195-202.
- [7] Koo JW, Mazei-Robison MS, Chaudhury D, Juarez B, LaPlant Q, Ferguson D, et al. BDNF is a negative modulator of morphine action. *Science* 2012; 338: 124-128.
- [8] Sarhan M, Pawlowski SA, Barthas F, Yalcin I, Kauffling J, Dardente H, et al. BDNF parabrachio-amygdaloid pathway in morphine-induced analgesia. *Int J Neuropsychopharmacol* 2013; 16: 1649-1660.
- [9] Quesseveur G, David D, Gaillard M, Pla P, Wu M, Nguyen H, et al. BDNF overexpression in mouse hippocampal astrocytes promotes local neurogenesis and elicits anxiolytic-like activities. *Translat Psychiatry* 2013; 3: e253.
- [10] Bergami M, Rimondini R, Santi S, Blum R, Götz M, Canossa M. Deletion of TrkB in adult progenitors alters newborn neuron integration into hippocampal circuits and increases anxiety-like behavior. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 15570-15575.
- [11] Cazorla M, Jouvenceau A, Rose C, Guilloux J-P, Pilon C, Dranovsky A, Prémont J. Cyclothiazin-B, the first highly potent and selective TrkB inhibitor, has anxiolytic properties in mice. *PLoS One* 2010; 5: e9777.
- [12] Cazorla M, Prémont J, Mann A, Girard N, Kellendonk C, Rognan D. Identification of a low-molecular weight TrkB antagonist with anxiolytic and antidepressant activity in mice. *J Clin Invest* 2011; 121: 1846-1857.
- [13] Kase H, Iwahashi K, Nakanishi S, Matsuda Y, Yamada K, Takahashi M, et al. K-252 compounds, novel and potent inhibitors of protein kinase C and cyclic nucleotide-dependent protein kinases. *Biochem Biophys Res Commun* 1987; 142: 436-440.
- [14] Boule F, Kenis G, Cazorla M, Hamon M, Steinbusch HW, Lanfumey L, van den Hove DL. TrkB inhibition as a therapeutic target for CNS-related disorders. *Prog Neurobiol* 2012; 98: 197-206.
- [15] Shirayama Y, Chen AC-H, Nakagawa S, Russell DS, Duman RS. Brain-derived neurotrophic factor produces antidepressant effects in behavioral models of depression. *J Neurosci* 2002; 22: 3251-3261.
- [16] Siuciak JA, Lewis DR, Wiegand SJ, Lindsay RM. Antidepressant-like effect of brain-derived neurotrophic factor (BDNF). *Pharmacol Biochem Behav* 1997; 56: 131-137.
- [17] Eisch AJ, Bolanos CA, de Wit J, Simonak RD, Pudiak CM, Barrot M, et al. Brain-derived neurotrophic factor in the ventral midbrain-nucleus accumbens pathway: a role in depression. *Biol Psychiatry* 2003; 54: 994-1005.
- [18] Lu H, Cheng P-I, Lim BK, Khoshnevisrad N, Poo M-m. Elevated BDNF after cocaine withdrawal facilitates LTP in medial prefrontal cortex by suppressing GABA inhibition. *Neuron* 2010; 67: 821-833.
- [19] Berton O, McClung CA, DiLeone RJ, Krishnan V, Renthal W, Russo SJ, et al. Essential role of BDNF in the

به دنبال تجویز آنتاگونیست آن سطح اضطراب را کاهش داده است که منطبق با مطالعه قبلی [۱۲] می باشد که دوز کم ۰/۵ میلی گرم بر کیلوگرم ANA12 با مهار بیش تر فعالیت TrkB در مدار پاداشی مغز موجب اثرات ضد اضطرابی و ضد افسردگی بدون تاثیر بر فعالیت حرکتی در موش گردید. چنان که در مطالعه ما نیز فعالیت حرکتی به دنبال تجویز دوز ۰/۵ میلی گرم بر کیلوگرم ANA12 در ماز بعلاوه ای شکل مرتفع افزایش نداشته است. ولی دوز ۰/۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم آن موجب افزایش فعالیت حرکتی در گروه کنترل سالینی گردید. به نظر می رسد مطالعات پیش تری در رابطه با نقش BDNF به دنبال مورفین حاد و مزمن نیاز می باشد که در مطالعات بعدی این آزمایشگاه به آن پرداخته خواهد شد.

آنتاگونیست گیرنده BDNF با هر دو دوز موجب کاهش سطح اضطراب در موش های سالینی گردید. مورفین حاد به صورت سیستمیک اثر ضد اضطرابی داشته و آنتاگونیست گیرنده BDNF با هر دو دوز موجب افزایش سطح اضطراب در گروه مورفینی حاد گردید. لذا آنتاگونیست گیرنده BDNF با دوزهای مختلف مسیرهای مختلف مغزی را تحت تاثیر قرار می دهد.

تشکر و قدردانی

این مقاله بخشی از پایان نامه خانم معصومه خلیل خلیلی دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی می باشد. از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی سمنان بابت حمایت های مالی از این طرح و هم چنین از اعضای محترم مرکز تحقیقات فیزیولوژی در تسهیل اجرای طرح تحقیقاتی طرح تشکر و قدردانی می شود.

منابع

- [1] Bartoletti M, Gaiardi M, Gubellini C, Bacchi A, Babbini M. Morphine attenuation of a conditioned emotional response in post-dependent rats. *Eur J Pharmacol* 1990; 185: 163-167.
- [2] Motta V, Brandão ML. Aversive and antiaversive effects of morphine in the dorsal periaqueductal gray of rats submitted to the elevated plus-maze test. *Pharmacol Biochem Behav* 1993; 44: 119-125.

(+) BW373U86 regulates BDNF mRNA expression in rats.
Neuropsychopharmacology 2004; 29: 649-659.

mesolimbic dopamine pathway in social defeat stress.
Science 2006; 311: 864-868.

[20] Torregrossa MM, Isgor C, Folk JE, Rice KC, Watson SJ, Woods JH. The delta-opioid receptor agonist

Role of brain-derived neurotrophic factor receptor on the anxiety levels in rats following the acute administration of morphine

Masoumeh Khalil-Khalili (M.Sc)¹, Shahrbanoo Ghodrati-Jaldbakhan (M.Sc)¹, Ali Rashidy-Pour (Ph.D)¹, Ahmad Reza Bandegi (Ph.D)², Behpoor Yousefi (Ph.D)³, Hossein Miladi-Gorji (Ph.D)^{*1}

1 – Research Center and Department of Physiology, School of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

2 – Dept. of Biochemistry, School of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

3 – Dept. of Anatomy, School of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

(Received: 2 Feb 2016; Accepted: 8 Mar 2016)

Introduction: The aim of this study was to examine anxiolytic effects of acute morphine and the role of BDNF receptor on that effect in adult rats.

Materials and Methods: In this experiment, 48 adult male Wistar rats (200–250 g) were randomly assigned to six groups. Rats were given an acute dose of morphine (10 mg/kg, s.c.) and after 2 hours, single dose of ANA12 (BDNF receptor antagonist) was injected (0.25, 0.5 mg/kg, i.p). After 4h, rats were examined in the EPM to assess the level of their anxiety. Control rats similarly received saline.

Results: An increase was observed in the percentage of time spent in the open arm in the saline rats receiving ANA12 injection. However, the number of open or closed arm entries was less and more, respectively, in the morphine rats receiving ANA12 injection.

Conclusion: Our findings showed a modulatory role of BDNF/TrkB receptor in the anxiolytic effects of acute morphine.

Keywords: Acute Morphine, BDNF Receptor Antagonist (ANA12), Anxiety

* Corresponding author. Tel: +98 9125313069

miladi331@yahoo.com