

The Effects of Chronic Administration of Hydrogen Sulfide on Anxiety and Depression-like Behaviors in Streptozotocin Rat Model of Alzheimer's Disease

Haghdost H¹, Esmaeili MH*¹, Sofiabadi M¹, Solimany P², Esmaeili S²

1. Department of Physiology, Faculty of Medicine, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

2. General Practitioner, Faculty of Medicine, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran.

* *Corresponding author.* Tel: +982833336001, Fax: +982833324971, E-mail: mesmaili@qums.ac.ir

Received: Feb 20, 2022 Accepted: May 16, 2022

ABSTRACT

Background & objectives: Alzheimer's disease (AD) patients suffer from anxiety and depression. Sodium hydrosulfide (NaHS) can remit the depressive-like and anxiety-like behaviors induced by diabetes mellitus. We aimed to investigate the effects of chronic administration of hydrogen sulfide on depressive and anxiety-like behaviors in the Streptozotocin (STZ) rat model of AD.

Methods: Animals were divided into: Control, NaHS, and Alzheimer's rats group include (STZ, STZ + Saline and STZ + NaHS groups) which were the Alzheimer's rats and received Saline and NaHS (5.6 mg/kg per d) for 21 days. For induction of AD, STZ (3 mg/kg, 10 µl/injection site) was administered into the lateral ventricles. The behavioral consequences were assessed using plus maze, forced swim and sucrose preference tests.

Results: Our results showed that intracerebroventricular (i.c.v.) injection of STZ decreased the percentage of open arm time and entries, indicating anxiety-like effects. It also increased the duration of immobility time and decreased the percentage of sucrose preference indicating depression-like effects. Sodium hydrosulfide administration in STZ-treated rats increased the percentage of open arm time and entries, indicating anxiolytic-like effects. It also decreased the duration of immobility time and increased the percentage of sucrose preference, indicating antidepressant-like effects.

Conclusion: STZ administration can induce depression- and anxiety-like symptoms in rats, and Sodium hydrosulfide treatment, decreased the depression- and anxiety-like symptoms in STZ rat Model of AD, suggests that Sodium hydrosulfide can be useful in the treatment of affective disorders in AD patients.

Keywords: Alzheimer's Disease; Sodium Hydrosulfide; Streptozotocin; Depression; Anxiety

اثر درمان طولانی مدت با هیدروژن سولفاید بر اضطراب و افسردگی موش‌های آلزایمری مدل استرپتوزوتوسین

هاشم حق دوست^۱، محمد حسین اسماعیلی^{۱*}، محمد صوفی آبادی^۱، پوریا سلیمانی^۲، سمیرا اسماعیلی^۲

۱. گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

۲. پزشک عمومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۲۸۳۳۳۳۶۰۰۱ فاکس: ۰۲۸۳۳۳۲۴۹۷۱ پست الکترونیک: mesmaili@qums.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: بیماران آلزایمری از اضطراب و افسردگی رنج می‌برند. سولفید هیدروژن می‌تواند افسردگی و اضطراب ناشی از دیابت را کاهش دهد. هدف مطالعه حاضر بررسی اثرات تجویز مزمن سولفید هیدروژن بر افسردگی و اضطراب موش‌های آلزایمری مدل استرپتوزوتوسین بود.

روش کار: حیوانات به گروه‌های شاهد و هیدروسولفید سدیم و آلزایمری شامل (استرپتوزوتوسین و استرپتوزوتوسین به همراه سالیین و استرپتوزوتوسین به همراه هیدروسولفید سدیم (۵/۶ میلی گرم بر کیلوگرم داخل صفاقی، روزانه، به مدت ۲۱ روز) تقسیم شدند. برای ایجاد آلزایمر استرپتوزوتوسین (۳ میلی گرم بر کیلوگرم، ۱۰ میکرولیتر در محل تزریق) به داخل بطن‌های طرفی مغز تزریق شد. نتایج رفتاری آن با استفاده از تست ماز بعلاوه، تست شنای اجباری و تست ترجیح سوکروز ارزیابی شد.

یافته‌ها: تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین، درصد زمان حضور و دفعات ورود به بازوی را کاهش داد، که نشان دهنده اثرات شبه اضطرابی است. همچنین باعث افزایش مدت زمان بی‌حرکتی و کاهش درصد ترجیح ساکارز شد، که نشان دهنده اثرات شبه افسردگی است. تجویز هیدروسولفید سدیم در موش‌های تحت درمان با استرپتوزوتوسین، درصد زمان حضور و دفعات ورود به بازوی را افزایش داد، که نشان دهنده اثرات ضد اضطرابی است. همچنین مدت زمان بی‌حرکتی را کاهش و درصد ترجیح ساکارز را افزایش داد، که نشان دهنده اثرات ضد افسردگی است.

نتیجه‌گیری: تجویز استرپتوزوتوسین می‌تواند باعث ایجاد علائم افسردگی و اضطراب در موش‌ها شود. درمان با هیدروسولفید سدیم افسردگی و اضطراب موش‌های آلزایمری را کاهش می‌دهد، نشان می‌دهد که هیدروسولفید سدیم می‌تواند در درمان اختلالات عاطفی در بیماران آلزایمری مفید باشد.

واژه‌های کلیدی: بیماری آلزایمر، هیدروسولفید سدیم، استرپتوزوتوسین، افسردگی، اضطراب

دریافت: ۱۴۰۰/۱۲/۱ پذیرش: ۱۴۰۱/۲/۲۶

مقدمه

تجمع داخل و خارج سلولی آمیلوئید بتا و پروتئین‌های تائوی فسفریله و التهاب و استرس‌های اکسیداتیو از

عوامل ایجادکننده و ویژگی‌های پاتولوژیک بیماری آلزایمر می‌باشد. در حال حاضر این موضوع که بیماری آلزایمر با اختلال در سیگنالینگ انسولین و

متابولیسم گلوکز در مغز مرتبط است به طور گسترده‌ای به رسمیت شناخته شده است و به همین دلیل پیشنهاد شده است که بیماری آلزایمر فرم خاصی از دیابت بوده و نام دیابت نوع ۳ را به آن داده‌اند [۱]. مطالعات قبلی نشان داده است که دیابت خطر ابتلا به آلزایمر را افزایش می‌دهد. بیان تائوهای فسفریله و آمیلوئید بتا در مغز موش‌های مبتلا به دیابت نوع ۱ و ۲ افزایش می‌یابد [۱]. جالب اینکه یافته‌های اخیر نشان داده‌اند بتا آمیلوئید، می‌تواند حذف گیرنده‌های انسولین از غشاء نوروها را تحریک کند و این امر منجر به ایجاد مقاومت بیشتر به انسولین در نوروها می‌شود [۲]. به‌تازگی بیان شده است که القاء مقاومت به انسولین در مغز به وسیله تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین کافی است تا تعدادی از جنبه‌های مهم بیماری آلزایمر از جمله اختلال در یادگیری و حافظه را در حیوانات ایجاد کند [۳]. به نظر می‌رسد بین افسردگی / اضطراب و زوال عقل ارتباط وجود دارد. بیماری‌های روانی ممکن است باعث زوال عقل شود یا با زوال عقل همزمان یا همراه باشند، یا زوال عقل ممکن است باعث عود علائم افسردگی / اضطراب در افرادی شود که سابقه بیماری روانی دارند. تا به امروز، اکثر مطالعات بالینی نشان داده‌اند که افسردگی و اضطراب با انواع بیماری‌های زوال عقل به ویژه بیماری آلزایمر ارتباط دارد و برخی از آن‌ها این اختلالات روانی مرتبط با استرس را به‌عنوان عوامل خطر بسیار مهمی برای پیشرفت بیماری آلزایمر گزارش کرده‌اند. با توجه به این واقعیت که شیوع افسردگی و اضطراب در بیماران مبتلا به آلزایمری، بسیار بالا است، می‌توان تصور کرد که افسردگی و اضطراب همزمان می‌تواند بر کیفیت زندگی و پیشرفت بیماری، در درصد زیادی از بیماران آلزایمری، تأثیر بگذارد [۴]. مطالعات نشان داده است که از هر چهار بیمار (۲۵٪) مبتلا به زوال عقل یک نفر دارای علائم بالینی افسردگی می‌باشد و تقریباً یک نفر از هر هفت نفر (۱۴٪) اضطراب بالینی

قابل توجهی دارد [۵]. تزریق داخل مغزی آمیلوئید بتا باعث بروز افسردگی و اضطراب در موش‌های صحرایی می‌شود که با بی‌نظمی محور استرس هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال، همراه است. اضطراب بروز بیماری‌های نورودژنراتیو همچون آلزایمر را افزایش می‌دهد [۶]. هر عاملی که بتواند اضطراب و افسردگی را کاهش دهد، می‌تواند از بروز و پیشرفت بیماری آلزایمر جلوگیری کند.

تا به امروز، سه ناقل گازی اصلی که عبارتند از سولفید هیدروژن (H_2S)، مونوکسید کربن (CO) و اکسید نیتریک (NO) که نقش‌های مهم فیزیولوژیک در بدن بر عهده دارند کشف شده است. این ناقل‌ها گازی، اعمال فیزیولوژیک و پاتولوژیک مختلف در بدن انجام می‌دهند. در ابتدا تصور می‌شد ناقل‌ها گازی فقط اثرات مضر و سمی در بدن دارند، اما این مفهوم در طول زمان تغییر زیادی کرده است. مطالعات وسیع نشان داد که این ناقل‌های گازی در عملکرد فیزیولوژیکی طبیعی بدن دخالت دارند. از تعدیل نورونی، کاهش استرس‌های اکسیداتیو و تنظیم تنوسیت قلب و عروق گرفته تا تعدیل ایمنی بدن، این گازها نقش حیاتی در بدن ایفا می‌کنند، که اگر از حد طبیعی خارج شوند، ممکن است باعث ایجاد برخی از بیماری‌های نورودژنراتیو مانند بیماری آلزایمر و بیماری پارکینسون شوند [۷].

سولفید هیدروژن توسط آنزیم‌های سیستاتینین بتا سنتتاز در مغز تولید می‌شود. سولفید هیدروژن در سیستم عصبی مرکزی، اثرات بیولوژیکی مفید بسیاری از جمله اثرات ضد التهابی، ضد اکسیداسیون، ضد آپوپتوز و تنظیم سیناپسی را اعمال می‌کند. سولفید هیدروژن در سیستم عصبی مرکزی به عنوان یک تعدیل کننده عصبی و یک حفاظت کننده عصبی عمل می‌کند. سولفید هیدروژن به عنوان یک مولکول سیگنالینگ گازی، رادیکال‌های آزاد اکسیژن را جارو می‌کند و از نوروها در برابر فشار و استرس‌های اکسیداتیو محافظت می‌کند و نقش مهمی در تنظیم

یادگیری و حافظه دارد. شواهد زیادی وجود دارد که نشان می‌دهد سولفید هیدروژن با آسیب شناسی (پاتولوژی) بیماری آلزایمر پیوند خورده است و بنابراین تجویز سولفید هیدروژن ممکن است، در مبارزه با اختلالات شناختی مشاهده شده در بیماری آلزایمر، مفید باشد. به ویژه که تحقیقات قبلی نشان داده است که سطح سولفید هیدروژن مغز در بیماران آلزایمری به طور واضح کاهش می‌یابد [۸]. غلظت سولفید هیدروژن پلاسمایی با شدت علائم بیماری آلزایمر ارتباط معکوس (منفی) دارد [۹].

تحقیقات صورت گرفته در این باره نشان می‌دهد که درمان با هیدروسولفید سدیم (NaH_2S)، آزادکننده H_2S ، باعث کاهش تولید آمیلوئید بتا در محیط کشت سلولی می‌شود [۱۰]. همچنین درمان با هیدروسولفید سدیم باعث کاهش اختلالات حافظه فضایی در موش‌های آلزایمری مدل آمیلوئید بتا می‌شود [۱۱]. همینطور درمان با هیدروسولفید سدیم، باعث کاهش اختلالات حافظه فضایی و کاهش تولید آمیلوئید بتا در موش‌های آلزایمری ترانس ژنیک می‌شود [۱۲]. علاوه بر این، سولفید هیدروژن از طریق تنظیم پاسخ التهابی، در موش صحرایی حافظه فضایی را بهبود می‌بخشد [۱۳]. در تحقیق دیگری مشخص شد که تزریق مزمن هیدروسولفید سدیم سطح سولفید هیدروژن هیپوکامپ را بالا برده و باعث افزایش حافظه ترس وابسته به هیپوکامپ و تشخیص شی جدید در موش‌های آلزایمری ترانس ژنیک می‌شود [۱۴]. همچنین درمان با هیدرو سولفید سدیم می‌تواند اختلال تقویت طولانی مدت^۱ هیپوکامپ موش‌های ترانس ژنیک، را معکوس کند. همچنین در این تحقیق مشخص شد که سولفید هیدروژن می‌تواند از طریق افزایش فعالیت و بیان گیرنده‌های گلوتامات مغز، اختلالات شناختی و اختلالات پلاستی سیتی سیناپسی را در موش‌های آلزایمری

مدل ترانس ژنیک کاهش دهد [۱۴]. این یافته‌ها احتمال دخالت سولفید هیدروژن، در تضعیف پاتوژنز بیماری آلزایمر را نشان می‌دهد. در این رابطه لی و همکاران نشان دادند که هیدروسولفید سدیم می‌تواند اپوپتوز و کاهش نورونی، در اثر تزریق آمیلوئید بتا را کاهش دهد [۱۵]. مطالعات قبلی نشان داد که هموسیستئین از طریق ایجاد اختلال در سنتز سولفید هیدروژن باعث کاهش یادگیری و حافظه می‌شود و همینطور نشان داد که تزریق سولفید هیدروژن از طریق کاهش تجمع آلدئیدهای فعال، باعث کاهش اختلال شناختی تولید شده توسط هموسیستئین می‌شود [۱۶]. علاوه بر این تحقیقات بعدی نشان داد که سولفید هیدروژن اثرات ضد افسردگی و ضد اضطرابی نیز از خود نشان می‌دهد. در این رابطه چن و همکاران دریافتند که سولفید هیدروژن اثرات ضد افسردگی و ضد اضطراب را در مدل‌های افسردگی و اضطراب موش و رت نشان می‌دهد [۱۷]. در همان زمان، تیان و همکاران نیز گزارش کردند که سولفید هیدروژن می‌تواند از طریق تنظیم مثبت آدیونکتین رفتارهای افسردگی ناشی از استرس محدودیت مزمن، را کاهش دهد [۱۸]. تانگ و همکاران گزارش کردند که سولفید هیدروژن قادر به جلوگیری از افسردگی و اضطراب در موش‌های دیابتی نوع ۱ ناشی از استرپتوزوتوسین، از طریق مهار استرس اکسیداتیو در هیپوکامپ است [۱۹]. وانگ و همکاران گزارش کردند که هیدروسولفید سدیم، به طور موثر رفتارهای شبه‌افسردگی و اضطرابی را در موش‌های دیابتی نوع ۱ بهبود می‌بخشد [۲۰]. گزارش شده است که سولفید هیدروژن، به طور قابل توجهی رفتارهای شبه افسردگی و استرس شبکه آندوپلاسمی هیپوکامپ، ناشی از استرس خفیف مزمن غیر قابل پیش‌بینی را کاهش می‌دهد [۲۱]. تان و همکاران گزارش کردند که بیان پروتئین‌های مرتبط با استرس شبکه آندوپلاسمی در هیپوکامپ موش‌های در

¹ Long-term Potentiation LTP

معرض استرس، افزایش می‌یابد و با درمان با هیدروسولفید سدیم، کاهش می‌یابد [۲۱]. لوی و همکاران گزارش کردند که درمان موش‌های تحت استرس خفیف مزمن غیرقابل پیش‌بینی، با هیدروسولفید سدیم به طور قابل توجهی باعث کاهش افسردگی ناشی از استرس می‌شود [۲۲]. از مطالعات بالا مشخص می‌شود که سولفید هیدروژن قادر به کاهش اختلالات شناختی، اضطراب، افسردگی و استرس می‌باشد. با توجه به نتایج تحقیقاتی بالا، مشخص است که هیدروسولفید سدیم از طریق کاهش استرس‌های اکسیداتیو و کاهش استرس شبکه آندوپلاسمی هیپوکامپ و کاهش التهاب و کاهش سایتوکین‌های پیش‌التهابی $TNF-\alpha$ ، $IL-6$ و $IL-1\beta$ در مغز می‌تواند اضطراب و افسردگی ناشی از استرس و دیابت را کاهش دهد. سوال اساسی این است که هیدروسولفید سدیم چه اثری بر اضطراب و افسردگی ناشی از آلزایمر دارد؟ در این تحقیق سعی شد به این سوال پاسخ داده شود. هدف مطالعه اخیر بررسی اثر درمان طولانی مدت با سولفید هیدروژن بر اضطراب و افسردگی موش‌های آلزایمری مدل استرپتوزوتوسین است.

روش کار

این مطالعه تجربی بر روی موش‌های نر نژاد ویستار، با وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم (موسسه رازی کرج) صورت گرفته است. تعداد ۶۰ سر موش، در ۶ گروه مورد آزمایش قرار گرفتند. موش‌ها در شرایط استاندارد از نظر دما (23 ± 2 درجه سانتی‌گراد) و نور نگهداری گردیدند. در طول مدت آزمایش موش‌ها آب و غذای طبیعی خود را آزادانه دریافت نمودند. این تحقیق در ۴ مرحله اجرا گردید:

- ۱- جراحی استرئوتاکسی و تزریق استرپتوزوتوسین به درون بطن‌های جانبی
- ۲- تزریق داخل صفاقی هیدروسولفید سدیم (۵/۶ میلی گرم بر کیلوگرم، روزانه، به مدت ۲۱ روز).

۳- ارزیابی میزان اضطراب موش‌ها به کمک تست ماز بعلاوه مرتفع.

۴- ارزیابی میزان افسردگی موش‌ها به کمک تست شنای اجباری و تست ترجیح سوکروز.

برای القای آلزایمر ۱۰ میکرولیتر از محلول استرپتوزوتوسین با غلظت ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم به وسیله جراحی استرئوتاکسیک به درون هر کدام از بطن‌های جانبی مغز با مختصات بر حسب برگما: $AP=-0.5$, $ML=\pm 1.2$, $DV=-3.2$ تزریق شد [۲۳،۳]. در این جراحی ابتدا حیوانات با استفاده از کتامین/زیلازین (۶/۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم) بی‌هوش و سپس در دستگاه استرئوتاکس قرار گرفتند و پس از فیکس کردن حیوان در این دستگاه، در پشت سر حیوان در خط وسط یک برش ایجاد گردید. بعد از تمیز کردن سطح جمجمه و یافتن نقطه برگما به عنوان مرجع، با استفاده از اطلس پاکسینوز، به روش استرئوتاکسیک، محل مورد نظر تزریق در دو طرف سر نشانه‌گذاری گردید. بعد از علامت‌گذاری نقاط هدف بر روی سطح جمجمه، دو سوراخ به کمک دریل دندان پزشکی ایجاد شد و سپس با استفاده از سرنگ هامیلتون، محلول استرپتوزوتوسین (۳ میلی-گرم بر کیلوگرم، ۱۰ میکرولیتر در هر طرف) به صورت دو طرفه به درون بطن‌های جانبی به آرامی تزریق گردید.

گروه‌های مورد آزمایش

۱) گروه کنترل، ۲) گروه هیدروسولفید سدیم که به مدت ۲۱ روز و روزی یک مرتبه هیدروسولفید سدیم (۲/۸ میلی گرم بر کیلوگرم) به صورت درون صفاقی دریافت کردند. ۳) گروه شم، ۴) گروه آلزایمری شده با استرپتوزوتوسین که خود به ۳ زیرگروه به شرح زیر تقسیم شدند: I) گروه استرپتوزوتوسین، II) گروه سالین+ استرپتوزوتوسین، III) گروه هیدروسولفید سدیم+ استرپتوزوتوسین، گروه II و III به مدت ۲۱ روز و روزی یک مرتبه هیدروسولفید سدیم (۵/۶ میلی گرم بر کیلوگرم

داخل صفاقی) و یا سالین (۲/۰ میلی لیتر)، به صورت درون صفاقی دریافت کردند [۱۴،۲۴،۲۵]. برای ارزیابی میزان اضطراب از روش ماز بعلاوه مرتفع استفاده شد.

تست ماز مرتفع بعلاوه^۱

این ابزار از جنس چوب و دارای چهار بازو به شکل علامت مثبت (+) است. ابعاد راهروی باز و بسته ۱۰×۵ سانتی متر بوده و دو طرف و انتهای راهروی بسته دیواره‌ای به بلندی ۸ سانتی متر داشته و برای جلوگیری از افتادن حیوان در دو طرف و انتهای راهروی باز لبه‌ای به ارتفاع ۱ سانتی متر داشت. چهار راهرو به یک محدوده مرکزی به ابعاد ۱۰×۱۰ سانتی متر منتهی می‌شوند. ماز توسط پایه‌هایی در ارتفاع ۵۰ سانتی متر از سطح زمین قرار می‌گیرد. رت‌ها درون محدوده مرکزی ماز قرار داده می‌شوند، به طوری که رو به یک راهروی باز قرار می‌گیرند. نور مناسب توسط یک لامپ ۱۰۰ واتی که در ارتفاع ۱۲۰ سانتی متری از مرکز ماز قرار دارد، تامین می‌شود. در مدت ۵ دقیقه‌ای که حیوان آزادانه در قسمت‌های مختلف ماز حرکت می‌کند. پارامترهای زیر به روش مشاهده و فیلمبرداری و آنالیز کامپیوتری، اندازه‌گیری می‌شود:

- تعداد دفعاتی که حیوان وارد راهروی باز می‌شود.
- تعداد دفعاتی که حیوان وارد راهروی بسته می‌شود.
- مدت زمانی که حیوان در راهروی باز باقی می‌ماند.
- مدت زمانی که حیوان در راهروی بسته باقی می‌ماند.

منظور از ورود به راهروی باز یا بسته هنگامی است که هر چهار پای حیوان در راهروی مورد نظر قرار می‌گیرد. زمان گذرانده شده در هر راهرو نیز بر همین اساس محاسبه شد. برای هر حیوان درصد ورود به راهروی باز و درصد زمان گذرانده شده در راهروی باز به طریق زیر محاسبه می‌گردد:

زمان سپری شدن در بازوی باز = زمان ماندن در بازوی باز تقسیم بر زمان ماندن در بازوهای باز و بسته × ۱۰۰

دفعات ورود به بازوی باز = تعداد ورود به بازوی باز تقسیم بر تعداد ورود به بازوهای باز و بسته × ۱۰۰ که افزایش معنی‌دار در این دو پارامتر نشان‌دهنده کاهش اضطراب در این تست است.

برای سنجش افسردگی از تست شنای اجباری و تست ترجیح سوکروز استفاده شد [۲۶].

تست شنای اجباری^۲

این ابزار از جنس شیشه به شکل استوانه‌ای دارای قطر ۵۰ سانتی متر و ارتفاع ۸۰ سانتی متر شامل آبی به ارتفاع ۶۰ سانتی متر و دمای ۲۵ درجه سانتیگراد می‌باشد. حیوان به آرامی داخل ظرف آزمون قرار داده می‌شود و مدت زمان بی‌حرکتی حیوان در ۸ دقیقه آخر از ۶ دقیقه زمان آزمون، توسط کورنومتر حساس (با دقت ۰/۱ / ۰/۱ ثانیه) ثبت می‌شود. بی‌حرکتی به این صورت تعریف می‌شود که حیوان در آب، در یک وضعیت عمود شناور و معلق شود و دو دست حیوان بی حرکت بماند و هیچ حرکت اضافی مشاهده نشود، غیر از حرکاتی که لازم است تا سر بالای سطح آب نگه داشته شود هرچه این مدت زمان کمتر باشد نشان‌دهنده این است که ماده اثرات ضد افسردگی دارد [۲۶].

تست ترجیح سوکروز^۳

این تست در مدت ۴۸ ساعت اجرا شد. قبل از آزمایش حیوانات دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند و هیچ‌گونه محرومیت غذایی و آبی نداشتند. پس از سه روز سازگاری با الگوی انتخاب دو بطری (دو بطری آب یکسان که هر دو حاوی آب لوله‌کشی بودند، در حین عادت کردن روی قفس‌ها قرار گرفتند) دو بطری یکی شامل ساکارز ۲ درصد و دیگری آب معمولی، در قفس گروه مورد آزمایش قرار گرفت.

² Forced Swimming Test

³ Sucrose Preference Test

¹ Elevated Plus Maze

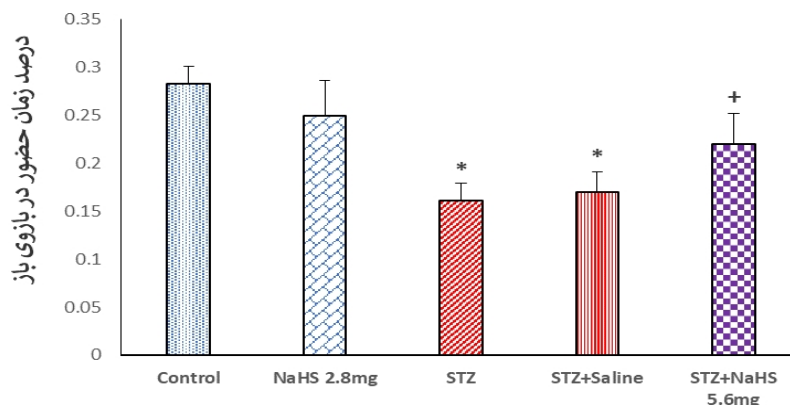
نهایت نمودار حاصل از نتایج توسط نرم افزار اکسل میکروسافت ترسیم شد.

یافته‌ها

بین گروه کنترل و گروه شم در تمام تست‌های رفتاری تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. به همین خاطر گروه شم از نتایج حذف شد و بقیه گروه‌ها فقط با گروه کنترل مقایسه شدند.

مقایسه مدت زمان حضور در بازوی باز در تست ماز بعلاوه مرتفع

همانطور که شکل ۱ نشان می‌دهد تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین به منظور ایجاد آلزایمر تجربی باعث کاهش درصد حضور در بازوی باز نسبت به بازوی بسته شده است، بنابراین تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین باعث افزایش اضطراب موش‌ها شده است و چون اضطراب از بلندی داشته‌اند زمان کمتری در بازوی باز سپری کرده‌اند و بیشتر اوقات خود را در بازوی بسته سپری کرده‌اند. درمان موش‌های آلزایمری مدل استرپتوزوتوسین با سولفید هیدروژن از این کاهش جلوگیری کرده است. بنابراین سولفید هیدروژن اثر ضد اضطرابی دارد.



شکل ۱. اثر هیدروسولفید سدیم بر اضطراب القا شده توسط استرپتوزوتوسین که توسط تست ماز بعلاوه مرتفع (در صد زمان حضور در بازوی باز) بررسی شد. نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارایه شده است و ۱۰ سر موش در هر گروه قرار داشت. $p < 0.05$ * در مقایسه با گروه کنترل و $p < 0.05$ + در مقایسه با گروه استرپتوزوتوسین

همانطور که شکل ۲ نشان می‌دهد تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین به منظور ایجاد آلزایمر تجربی باعث کاهش تعداد دفعات ورود به بازوی باز و کاهش

موقعیت بطری‌های A و B هر ۱۲ ساعت برای جلوگیری از تمایل روانی به سمت خاص تغییر می‌کرد مقدار محلول ساکارز یا آب مصرفی با وزن کردن بطری‌ها بلافاصله قبل و بعد از آزمایش اندازه‌گیری شد. سپس میزان آب مصرفی بطری‌ها پس از تست از طریق وزن کردن فوراً محاسبه شد. ترجیح ساکارز به عنوان درصد محلول ساکارز مصرف شده نسبت به مقدار کل مایع مصرفی محاسبه شد. پس از آزمایش، به حیوانات دسترسی آزادانه به آب داده شد. از آنجایی که چونندگان علاقه به خوردن مواد شیرین دارند درصد مصرف ساکارز به عنوان شاخص ضد افسردگی مورد توجه قرار می‌گیرد. بی‌رغبتی در مصرف بطری ساکارزی بعنوان رفتار افسردگی تعیین می‌شود [۲۶].

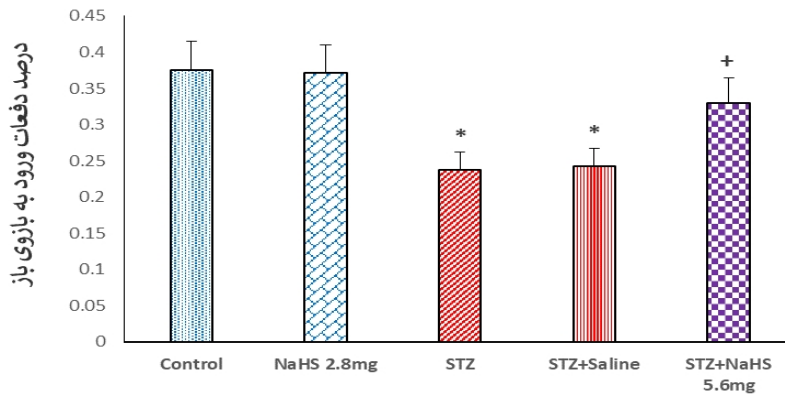
روش‌های آماری و آنالیز

اطلاعات، توسط نرم افزار SPSS-24 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. از آزمون آنوای یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی، استفاده شد. سطح معناداری برای تمامی نمونه‌ها $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.

مقایسه دفعات ورود به بازوی باز در تست ماز بعلاوه مرتفع

کمتری وارد بازوی باز شده‌اند. درمان موش‌های آلزایمری مدل استرپتوزوتوسین با سولفید هیدروژن از این کاهش جلوگیری کرده است بنابراین سولفید هیدروژن اثر ضد اضطرابی دارد.

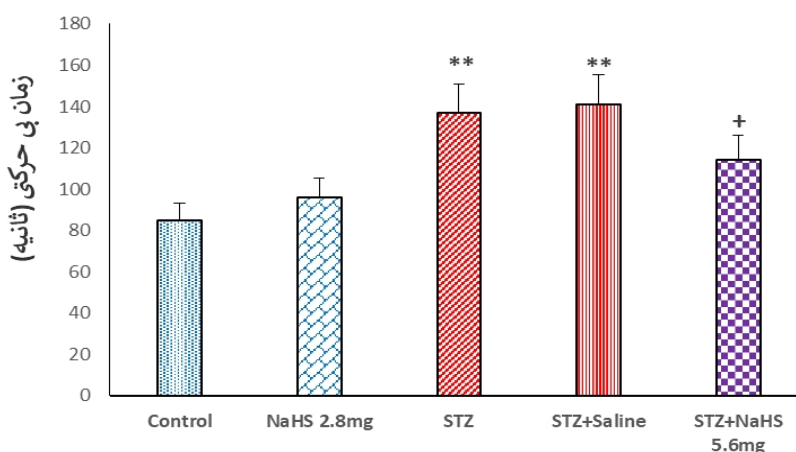
درصد دفعات ورود به بازوی بسته شده است. بنابراین تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین باعث افزایش اضطراب موش‌ها شده است و چون اضطراب از بلندی داشته‌اند دفعات



شکل ۲. اثر هیدروسولفید سدیم بر اضطراب القا شده توسط استرپتوزوتوسین که توسط تست ماز بعلاوه مرتفع (درصد دفعات ورود به بازوی باز) بررسی شد. نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شده است و ۱۰ سر موش در هر گروه قرار داشت. $p < 0.05$ * در مقایسه با گروه کنترل و $p < 0.05$ + در مقایسه با گروه استرپتوزوتوسین

کرده‌اند و مدت بی‌حرکتی و شناورماندن در آب در این گروه افزایش یافته است. درمان موش‌های آلزایمری مدل استرپتوزوتوسین با سولفید هیدروژن از این افزایش مدت زمان بی‌حرکتی جلوگیری کرده است. بنابراین سولفید هیدروژن اثر ضد افسردگی هم دارد.

مقایسه مدت زمان بی‌حرکتی در تست شنای اجباری همانطور که شکل ۳ نشان می‌دهد تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین به منظور ایجاد آلزایمر تجربی باعث کاهش مدت زمان شنا و افزایش مدت زمان بی‌حرکتی موش‌ها در تست شنای اجباری شده است. بنابراین تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین باعث افزایش افسردگی موش‌ها شده است و چون موش‌ها افسرده شده‌اند برای نجات خود تقلا و شنای کمتر

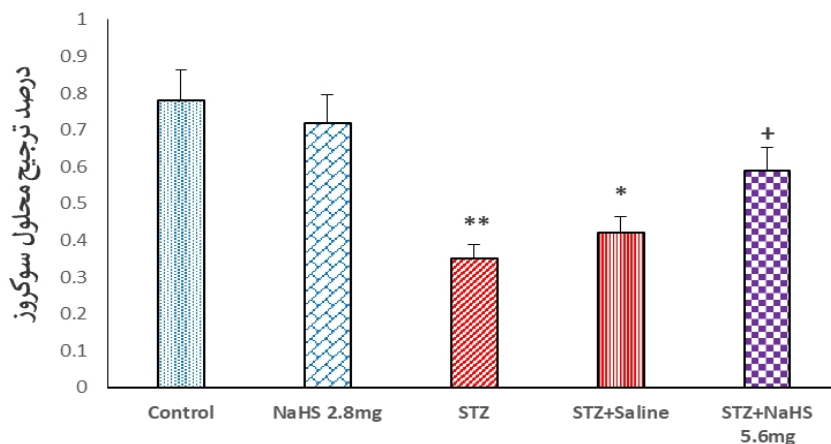


شکل ۳. اثر هیدروسولفید سدیم بر افسردگی القا شده توسط استرپتوزوتوسین که توسط تست شنای اجباری (زمان بی‌حرکتی) بررسی شد. نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شده است و ۱۰ سر موش در هر گروه قرار داشت. $p < 0.05$ * و $p < 0.001$ ** در مقایسه با گروه کنترل و $p < 0.05$ + در مقایسه با گروه استرپتوزوتوسین

مقایسه درصد ترجیح محلول سوکروز

همانطور که شکل ۴ نشان می‌دهد تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین به منظور ایجاد آلزایمر تجربی باعث کاهش درصد ترجیح محلول سوکروز شده است. بنابراین تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین باعث افزایش افسردگی موش‌ها شده است و چون موش‌ها افسرده شده‌اند نسبت به محلول شیرین

سوکروز تمایل چندانی از خود نشان نداده‌اند. درمان موش‌های آلزایمری مدل استرپتوزوتوسین با سولفید هیدروژن از این کاهش تمایل به محلول سوکروز و کاهش درصد ترجیح محلول سوکروز جلوگیری کرده است. بنابر این سولفید هیدروژن اثر ضد افسردگی دارد.



شکل ۴. اثر هیدروسولفید سدیم بر افسردگی القا شده توسط استرپتوزوتوسین که توسط تست ترجیح سوکروز (درصد ترجیح محلول سوکروز) بررسی شد. نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شده است و ۱۰ سر موش در هر گروه قرار داشت. $p < 0.05$ * و $p < 0.001$ ** در مقایسه با گروه کنترل و $p < 0.05$ + در مقایسه با گروه استرپتوزوتوسین

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تزریق استرپتوزوتوسین به داخل بطن‌های جانبی موش‌ها به منظور آلزایمری کردن موش‌ها باعث کاهش درصد ورود به بازوهای باز و کاهش مدت حضور در بازوی باز و درصد حضور در بازوی باز شد و بر عکس باعث افزایش مدت زمان حضور در بازوی بسته و افزایش درصد حضور در بازوی بسته شد که نشان می‌دهد تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین به منظور ایجاد آلزایمر تجربی، باعث افزایش اضطراب در موش‌ها شده است، چون موش‌ها اضطراب افتادن از بلندی داشته‌اند از ورود به بازوهای باز خودداری کرده‌اند و بیشتر وقت خود را در بازوی بسته سپری کرده‌اند. درمان موش‌های آلزایمری مدل استرپتوزوتوسین با سولفید هیدروژن باعث افزایش

درصد ورود به بازوهای باز و افزایش درصد حضور در بازوی باز و برعکس باعث کاهش مدت زمان حضور در بازوی بسته و کاهش درصد حضور در بازوی بسته، نسبت به گروه استرپتوزوتوسین شد که نشان می‌دهد سولفید هیدروژن اثر ضد اضطرابی دارد.

همچنین نتایج مطالعه ما نشان داد که تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین باعث افزایش مدت زمان بی‌حرکتی موش‌ها در تست شنای اجباری و کاهش درصد ترجیح سوکروز در تست ترجیح سوکروز شده است. بنابراین تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین باعث افزایش افسردگی موش‌ها نیز شده است و چون موش‌ها افسرده شده‌اند برای نجات خود تقلا و شنای کمتر کرده‌اند و مدت بی‌حرکتی و شناورماندن در آب در این گروه افزایش یافته است و نسبت به

محلول شیرین سوکروز نیز بی‌میلی نشان داده‌اند. درمان موش‌های آنزایم‌ری مدل استرپتوزوتوسین با سولفید هیدروژن از این افزایش مدت زمان بی‌حرکتی موش‌ها جلوگیری کرد و درصد ترجیح سوکروز در آن‌ها را افزایش داد. بنابراین می‌توان گفت سولفید هیدروژن علاوه بر اثر ضد اضطرابی، اثر ضد افسردگی هم از خود نشان داده است. ضروری است برای اثبات آنزایم‌ری شدن موش‌ها و اثبات افسردگی و اضطراب موش‌های آنزایم‌ری و اثبات اثرات ضد افسردگی و ضد اضطرابی سولفید هیدروژن در موش‌های آنزایم‌ری مدل استرپتوزوتوسین علاوه بر ارزیابی‌های رفتاری، ارزیابی‌های هیستوپاتولوژی و بیوشیمیایی نیز در آینده انجام شود.

در این مطالعه، نتایج نشان داد که هیدروسولفید سدیم به طور موثر رفتارهای شبه افسردگی و اضطرابی، را در موش‌های آنزایم‌ری مدل استرپتوزوتوسین بهبود می‌بخشد که با نتایج آزمایشگاه تانگ و وانگ مطابقت داشت [۱۹، ۲۰]. همسو با نتایج ماون لین چن و همکاران در مطالعات خود نشان داد که هیدروسولفید سدیم اثرات ضداضطرابی دارد [۱۷].

زو و همکاران در مطالعات خود نشان داد که هیدروسولفید سدیم از طریق مهار استرس‌های اکسیداتیو در هیپوکامپ اضطراب، موش‌های دیابتی مدل استرپتوزوتوسین را کاهش می‌دهد. سولفید هیدروژن سطح گلوکوتیون را کاهش و سطح سوپراکساید دیسموتاز در هیپوکامپ موش‌های دیابتی را افزایش داد. این موضوع نشان می‌دهد که سولفید هیدروژن از طریق مهار استرس‌های اکسیداتیو در هیپوکامپ اضطراب موش‌های دیابتی مدل استرپتوزوتوسین را کاهش داده است [۱۹].

حییی تبار و همکاران در مطالعات خود نشان دادند که هیدروسولفید سدیم از طریق مهار استرس‌های

اکسیداتیو در خون و هیپوکامپ اضطراب موش‌های با رژیم غذایی سرشار از چربی را کاهش می‌دهد [۲۷]. همچنین کانگ و همکاران در مطالعات خود با استفاده از تست ماز بعلاوه و تست شنای اجباری و تست دم معلق و تست تغذیه سرکوب شده جدید نشان دادند که هیدروسولفید سدیم، به طور قابل توجهی رفتارهای شبه افسردگی و اضطراب را در موش‌های در معرض محرومیت از خواب، کاهش می‌دهد. همچنین نشان دادند که هیدروسولفید سدیم سطح سیتوکین‌های پیش‌التهابی ($IL-1\beta$ ، $IL-6$ و $TNF-\alpha$) را کاهش و سطح سیتوکین‌های ضدالتهابی ($IL-4$ و $IL-10$) در هیپوکامپ موش‌های در معرض محرومیت از خواب را افزایش می‌دهد. این موضوع نشان می‌دهد که هیدروسولفید سدیم از طریق کاهش التهاب در هیپوکامپ رفتارهای شبه افسردگی و اضطراب را در موش‌های در معرض محرومیت از خواب کاهش داده است [۲۸].

بائی و همکاران در مطالعات خود نشان دادند که داروهای $Diallyl Disulfide$ و $GY4137$ (آزادکننده‌های آرام سولفید هیدروژن)، از طریق مهار فعال‌سازی میکروگلیال و افزایش تنظیم فسفوئینوزیتید ۳-کیناز/پروتئین کیناز فسفریله‌شده بتا در آمیگدال و PAG^1 مغز، اضطراب، افسردگی و درد مزمن نوروپاتیک ایجادشده از طریق آسیب عصب سیاتیک را کاهش می‌دهند. این موضوع نشان می‌دهد که این دو داروی آزادکننده سولفید هیدروژن از طریق مهار پاسخ‌های التهابی، آپوپتوز و اکسیداتیو در آمیگدال و PAG افسردگی و اضطراب را در موش‌های در معرض آسیب عصب سیاتیک کاهش داده است [۲۹].

در همین ارتباط کمار و همکاران در مطالعات خود نشان دادند که هیدروسولفید سدیم رفتار شبه‌اضطرابی ناشی از تزریق لیپوپلی ساکارید، که با

¹ Periaqueductal Gray

آزمون میدان باز و ماز بعلاوه مرتفع ارزیابی شد را معکوس می‌کند. در مطالعه آنها مشخص شد که تزریق عامل التهاب‌زای لیپوپلی ساکارید به موش‌ها، سطح رادیکال‌های آزاد اکسیژن را افزایش و سطح سولفید هیدروژن در قشر مغز و هیپوکامپ را کاهش می‌دهد. با این حال، تجویز هیدروسولفید سدیم سطوح رادیکال‌های آزاد اکسیژن را کاهش و سطوح سولفید هیدروژن درون‌زا را به حالت طبیعی باز گرداند. همچنین هیدرو سولفید سدیم تعداد میکروگلیاهای فعال در قشر مغز و هیپوکامپ حیوانات تحت درمان با لیپوپلی ساکارید را کاهش داد. علاوه بر این، تجویز هیدروسولفید سدیم بیان نشانگرهای فنوتیپ M1 میکروگلیال ($IL-1\beta$, $TNF-\alpha$ و NO) را کاهش و به طور همزمان بیان نشانگرهای فنوتیپ M2 ($IL-4$ و $TGF-\beta$) را در مناطق مغز حیوانات تحت درمان با لیپوپلی ساکارید افزایش داد. روی هم رفته، این یافته‌ها نشان می‌دهند که مکمل سولفید هیدروژن با سرکوب پیش التهابی و ارتقای پاسخ میکروگلیال ضد التهابی، نقایص رفتاری ناشی از لیپوپلی ساکارید را بهبود می‌بخشد [۳۰]. همچنین حیوانک و همکاران در مطالعات خود با استفاده از تست ماز بعلاوه و تست میدان باز نشان دادند که هیدروسولفید سدیم از طریق فعال کردن مسیر Phosphoinositide - 3 - Kinase - (PI3K/AKT) Protein Kinase B هیپوکامپ در موش‌های دیابتی مدل استرپتوزوتوسین از خود اثرات ضد افسردگی و ضد اضطراب نشان می‌دهد. آن‌ها همچنین گزارش کردند که هیدروسولفید سدیم نه تنها مسیر PI3K/AKT هیپوکامپ را فعال کرد بلکه به طور مطلوب نوروژنز هیپوکامپ مختل شده با استرپتوزوتوسین را معکوس کرد [۳۱].

وانگ و همکاران در مطالعات خود با استفاده از تست ماز بعلاوه، تست میدان باز، تست شنای اجباری و تست تعلیق دم نشان دادند که هیدروسولفید سدیم از طریق کاهش استرس‌های اکسیداتیو و مهار

میکروگلیاها و مهار آزادسازی سایتوکاین‌های پیش التهابی و مهار رسوب آهن و فروپتوزیس در قشر جلوی مغز به طور قابل توجهی رفتارهای شبه افسردگی و اضطراب را در موش‌های دیابتی نوع ۱ کاهش می‌دهد [۲۰].

ولی نتایج مطالعه حاضر با نتایج مطالعه کابارگا و همکاران که در مطالعات خود نشان دادند درمان موش‌ها با داروی Phenyl Isothiocyanate (آزادکننده‌های آرام سولفید هیدروژن) پر دردی و رفتارهای شبه‌افسردگی موش‌های با درد نوروپاتیک ناشی از فشار مزمن عصب سیاتیک را کاهش می‌دهد ولی تاثیری بر اضطراب موش‌ها ندارد، مغایرت دارد [۳۲].

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر و محققین قبلی نشان می‌دهد که تزریق طولانی مدت سولفید هیدروژن می‌تواند اختلالات عاطفی همچون افسردگی و اضطراب ناشی از بیماری آلزایمر را کاهش دهد.

محدودیت‌های مطالعه

برای اثبات آلزایمری شدن موش‌ها و اثبات افسردگی و اضطراب موش‌های آلزایمری و اثبات اثرات ضد افسردگی و ضد اضطرابی، سولفید هیدروژن در موش‌های آلزایمری مدل استرپتوزوتوسین علاوه بر ارزیابی‌های رفتاری، ارزیابی‌های هیستوپاتولوژی و بیوشیمیایی نیز انجام شود که به علت محدودیت منابع مالی این کار انجام نشد. محدودبودن منابع مالی از محدودیت‌های مطالعه حاضر بود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله نویسندگان مقاله از همه کسانی که در اجرای این مطالعه همراهی کردند تشکر و قدردانی می‌نمایند. مقاله حاضر برگرفته از رساله دکتری حرفه‌ای خانم سمیرا اسماعیلی با عنوان «بررسی اثرات

تعارض منافع

نویسندگان هیچگونه تعارض منافی در این مطالعه ندارند.

سولفید هیدروژن بر اضطراب موش‌های آلزایمری مدل استریپتوزوتوسین» می‌باشد. این مطالعه با کد اخلاق IR.QUMS.REC.1400.054 در دانشگاه علوم پزشکی قزوین ثبت شده است.

References

- 1- Steen E, Terry BM, Rivera EJ, Cannon JL, Neely TR, Tavares R, et al. Impaired insulin and insulin-like growth factor expression and signaling mechanisms in Alzheimer's diseases this type 3 diabetes? *J Alzheimers Dis.* 2005 Feb; 7(1):63-80.
- 2- Zhao WQ, De Felice FG, Fernandez S, Chen H, Lambert MP, Quon MJ, et al. Amyloid beta oligomers induce impairment of neuronal insulin receptors. *FASEB J.* 2008 Jan; 22(1):246-60.
- 3- Lester-Coll N, Rivera EJ, Soscia SJ, Doiron K, Wands JR, de la Monte SM. Intracerebral streptozotocin model of type 3 diabetes: relevance to sporadic Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 2006 Mar; 9(1):13-33.
- 4- Gulpers B, Ramakers I, Hamel R, Kohler S, Voshaar R, Verhey F. Anxiety as a predictor for cognitive decline and dementia: A systematic review and meta-analysis. *Am J Geriatr Psychiatry.* 2016 Oct; 24(10):823-42.
- 5- Kuring JK, Mathias JL, Ward L. Prevalence of Depression, Anxiety and PTSD in People with Dementia: a Systematic Review and Meta-Analysis. *Neuropsychol Rev.* 2018 Dec; 28(4):393-416.
- 6- Brureau A, Zussy C, Delair B, Ogier C, Ixart G, Maurice T, et al. Deregulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis functions in an Alzheimer's disease rat model. *Neurobiol Aging.* 2013 May; 34(5):1426-39.
- 7- Shefa U, Yeo SG, Kim MS, Song IO, Jung J, Jeong NY, et al. Role of Gasotransmitters in Oxidative Stresses, Neuroinflammation, and Neuronal Repair. *Biomed Res Int.* 2017; 2017:1689341.
- 8- Eto K, Asada T, Arima K, Makifuchi T, Kimura H. Brain hydrogen sulfide is severely decreased in Alzheimer's disease. *Biochem Biophys Res Commun.* 2002 May 24; 293(5):1485-8.
- 9- Liu XQ, Liu XQ, Jiang P, Huang H, Yan Y. Plasma levels of endogenous hydrogen sulfide and homocysteine in patients with Alzheimer's disease and vascular dementia and the significance thereof. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 2008 Aug 19; 88(32):2246-9. [Full text in Chinese].
- 10- Zhang H, Gao Y, Zhao F, Dai Z, Meng T, Tu S, et al. Hydrogen sulfide reduces mRNA and protein levels of beta-site amyloid precursor protein cleaving enzyme 1 in PC12 cells. *Neurochem Int.* 2011 Feb; 58(2):169-75.
- 11- Xuan A, Long D, Li J, Ji W, Zhang M, Hong L, et al. Hydrogen sulfide attenuates spatial memory impairment and hippocampal neuroinflammation in β -amyloid rat model of Alzheimer's disease. *J Neuroinflammation.* 2012 Aug 17; 9: 202.
- 12- He XL, Yan N, Zhang H, Qi YW, Zhu LJ, Liu MJ, et al. Hydrogen sulfide improves spatial memory impairment and decreases production of A β in APP/PS1 transgenic mice. *Neurochem Int.* 2014 Feb; 67:1-8.
- 13- Liu Y, Deng Y, Liu H, Yin C, Li X, Gong Q. Hydrogen sulfide ameliorates learning memory impairment in APP/PS1 transgenic mice: A novel mechanism mediated by the activation of Nrf2. *Pharmacol Biochem Behav.* Nov-Dec 2016; 150-151:207-216.
- 14- Yang YJ, Zhao Y, Yu B, Xu GG, Wang W, Zhan JQ, et al. GluN2B-containing NMDA receptors contribute to the beneficial effects of hydrogen sulfide on cognitive and synaptic plasticity deficits in APP/PS1 transgenic mice. *Neuroscience.* 2016 Oct 29; 335:170-83.
- 15- Li XH, Deng YY, Li F, Shi JS, Gong QH. Neuroprotective effects of sodium hydrosulfide against β -amyloid-induced neurotoxicity. *Int J Mol Med.* 2016 Oct; 38(4):1152-60.
- 16- Li M, Zhang P, Wei HJ, Li MH, Zou W, Li X, et al. Hydrogen Sulfide Ameliorates Homocysteine-Induced Cognitive Dysfunction by Inhibition of Reactive Aldehydes Involving Upregulation of ALDH2. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2017 Apr 1; 20(4):305-315.

- 17- Chen W, Xie B, Zhang C, Li XK, Niu Y, Tang X, et al. Antidepressant-like and anxiolytic-like effects of hydrogen sulfide in behavioral models of depression and anxiety. *Behav Pharmacol.* 2013 Oct; 24(7):590-7.
- 18- Tian Q, Chen L, Luo B, Wang AP, Zou WM, You Y, et al. Hydrogen sulfide antagonizes chronic restraint stress-induced depressive-like behaviors via up regulation of adiponectin. *Front Psychiatry.* 2018 Aug 31;9: 399.
- 19- Tang ZJ, Zou W, Yuan J, Zhang P, Tian Y, Xiao ZF, et al. Antidepressant-like and anxiolytic-like effects of hydrogen sulfide in streptozotocin-induced diabetic rats through inhibition of hippocampal oxidative stress. *Behav Pharmacol.* 2015 Aug; 26(5):427-35.
- 20- Wang Y, Wang S, Xin Y, Zhang J, Wang S, Yang Z, et al. Hydrogen sulfide alleviates the anxiety-like and depressive-like behaviors of type 1 diabetic mice via inhibiting inflammation and ferroptosis. *Life Sci.* 2021 Aug; 278:119551.
- 21- Tan H, Zou W, Jiang J, Tian Y, Xiao Z, Bi L. Disturbance of hippocampal H₂S generation contributes to CUMS-induced depression-like behavior: Involvement in endoplasmic reticulum stress of hippocampus. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai).* 2015 Apr; 47(4):285-91.
- 22- Wei L, Kan LY, Zeng HY, Tang YY, Huang HL, Xie M, et al. BDNF/TrkB Pathway Mediates the Antidepressant-Like Role of H₂S in CUMS-Exposed Rats by Inhibition of Hippocampal ER Stress. *Neuromolecular Med.* 2018 Jun; 20(2):252-261.
- 23- Esmaeili MH, Enayati M, Khabbaz Abkenara F, Ebrahimi F, Salarie AA. Glibenclamide mitigates cognitive impairment and hippocampal neuroinflammation in rats with type 2 diabetes and sporadic Alzheimer-like disease. *Behav Brain Res.* 2020 Feb; 379:112359.
- 24- Li M, Zhang P, Wei HJ, Li MH, Zou W, Li X, et al. Hydrogen sulfide ameliorates homocysteine-induced cognitive dysfunction by inhibition of reactive aldehydes involving upregulation of ALDH2. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2017 Apr 1; 20(4):305-315.
- 25- Hu LF, Lu M, Tiong CX, Dawe GS, Hu G. Neuroprotective effects of hydrogen sulfide on Parkinson's disease rat models. *Aging Cell.* 2010 Apr; 9(2):135-46.
- 26- Esmaeili MH, Bahari B, Salari AA. ATP-sensitive potassium-channel inhibitor glibenclamide attenuates HPA axis hyperactivity, depression- and anxiety-related symptoms in a rat model of Alzheimer's disease. *Brain Res Bull.* 2018 Mar; 137:265-276.
- 27- Habibitabar E, Moridi H, Shateri H, Karimi S, Salehi I. Chronic NaHS treatment improves spatial and passive avoidance learning and memory and anxiety-like behavior and decreases oxidative stress in rats fed with a high-fat diet. *Brain Res Bull.* 2020 Nov; 164: 380-391.
- 28- Kang X, Jiang L, Lan F, Tang Y, Zhang P, Zou W, et al. Hydrogen sulfide antagonizes sleep deprivation-induced depression- and anxiety-like behaviors by inhibiting neuroinflammation in a hippocampal Sirt1-dependent manner. *Brain Res Bull.* 2021 Dec; 177: 194-202.
- 29- Bai X, Batallé G, Pol O. The anxiolytic and antidepressant effects of diallyl disulfide and GYY4137 in animals with chronic neuropathic pain. *Antioxidants (Basel).* 2021 Jul 3; 10(7):1074.
- 30- Kumar M, Arora P, Sandhir R. Hydrogen sulfide reverses LPS-Induced behavioral deficits by suppressing microglial activation and promoting M2 polarization. *J Neuroimmune Pharmacol.* 2021 Jun; 16(2):483-499.
- 31- Jiang W, Tang Y, Zhu W, Li C, Zhang P, Li R, et al. PI3K/AKT pathway mediates the antidepressant- and anxiolytic-like roles of hydrogen sulfide in streptozotocin-induced diabetic rats via promoting hippocampal neurogenesis. *Neurotoxicology.* 2021 Jul; 85:201-208.
- 32- Cabarga L, Batallé G, Pol O. Treatment with slow-releasing hydrogen sulfide donors inhibits the nociceptive and depressive-like behaviours accompanying chronic neuropathic pain: Endogenous antioxidant system activation. *J Psychopharmacol.* 2020 Jul; 34(7):737-749.