مجله دانش و تندرستی در علوم پایه پزشکی، دوره ۱۴، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۸
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شاهرود

DOI: 10.22100/jkh.v14i2.2229

مقاله پژوهشی

اثر تجویز سولفید هیدروژن بر اختلالات حافظه و یادگیری و مرگ سلولی نکروز در ناحیه هیپوکامپ در مدل سمیت عصبی ناشی از مت‌آمفتامین

فاطمه قنبری[۱]، مهدی خاکساری*[۲]، غلامحسن واعظی[۳]، ویدا حجتی[۴]، عبدالحسین شیروی[۵]

۱- دانشجوی دکترای تخصصی- گروه زیست‌شناسی- واحد دامغان- دانشگاه آزاد اسلامی- دامغان- ایران.
۲- دانشیار- گروه فیزیولوژی- دانشگاه علوم پزشکی شاهرود- شاهرود- ایران.
۳- استاد- گروه زیست‌شناسی- واحد دامغان- دانشگاه آزاد اسلامی- دامغان- ایران.
۴- استادیار- گروه زیست‌شناسی- واحد دامغان- دانشگاه آزاد اسلامی- دامغان- ایران.
۵- دانشیار- گروه زیست‌شناسی- واحد دامغان- دانشگاه آزاد اسلامی- دامغان- ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۲/۱۴، **تاریخ پذیرش:** ۱۳۹۸/۰۴/۱۲

چکیده

مقدمه: *مت‌آمفتامین یکی از انواع محرک‌های مصنوعی است که سبب ایجاد آسیب‌های بازگشت‌ناپذیر در سیستم عصبی مرکزی می‌گردد؛ مطالعات اخیر نشان داده‌اند که مت‌آمفتامین از مسیرهای متعددی همچون اثر بر نوروترانسمیترهای مغزی از جمله دوپامین، افزایش تشکیل رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو، تسریع روند مرگ سلولی نکروز و آپوپتوز منجر به آسیب‌های نورونی می‌گردد. به‌علاوه بررسی‌ها و شواهد بسیاری مبنی‌بر اثرات ضدالتهابی، ضدآپوپتوزی و آنتی‌اکسیدانی هیدروژن سولفید در انواع بیماری‌های عصبی وجود دارد. از این‌رو این مطالعه در جهت کمک به اثبات عملکرد محافظت نورونی سولفید هیدروژن در برابر فعالیت نوروتوکسیک مت‌آمفتامین انجام گرفته است.*

مواد و روش‌ها: *نوروتوکسیسیته مت‌آمفتامین به‌وسیله تزریق مت با دوز ۴۰ میلی‌گرم/کیلوگرم در چهار نوبت هر بار به مقدار ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم، با فاصله زمانی دو ساعت ایجاد شد سپس در گروه‌های تیمار تزریق سولفید هیدروژن به‌صورت ترکیب سولفید هیدروژن سدیم و درون صفاقی انجام گرفت؛ به این صورت که نوبت‌های تزریق ۳۰ دقیقه، ۲۴ ساعت و ۴۸ ساعت پس از آخرین تزریق مت‌آمفتامین انجام شدند. سپس جهت بررسی عملکرد یادگیری و حافظه فضایی آزمون ماز آبی موریس انجام گرفت و در آخرین روز بعد از آزمون نهایی، مغزها جهت رنگ‌آمیزی نیسل خارج گردیدند.*

نتایج: *داده‌های رفتاری نشان داد که در گروه‌های تیمار شده با سولفید هیدروژن میزان یادگیری نسبت‌به گروه مت‌آمفتامین افزایش‌یافته و در آزمون پروب درصد حضور حیوانات در ربع دایره هدف در گروه‌های تیمار شده به‌طور معناداری از گروه مت‌آمفتامین بیشتر بود که نشان‌دهنده بهبود عملکرد حافظه می‌باشد. به‌علاوه در گروه مت‌آمفتامین افزایش مرگ سلولی نکروز در ناحیه CA1 هیپوکامپ مشاهده گردید که تیمار با سولفید هیدروژن کاهش معناداری در میزان سلول‌های نکروتیک نشان داد ($P<0/01$).*

نتیجه‌گیری: *براساس یافته‌ها سولفید هیدروژن به‌دلیل خاصت آنتی‌اکسیدانی‌اش اثرات نوروپروتکتیو (محافظت‌کننده نورونی) مشخصی در برابر نوروتوکسیته ناشی از مت‌آمفتامین نشان می‌دهد که می‌تواند سبب بهبود عملکرد حافظه و یادگیری در رت‌ها گردد.*

واژه‌های کلیدی: نوروتوکسیسیته مت‌آمفتامین، سولفید هیدروژن، نکروز، یادگیری و حافظه فضایی، ماز آبی موریس.

***نویسنده مسئول:** شاهرود- میدان هفت تیر- دانشگاه علوم پزشکی- دانشکده پزشکی، **تلفن:** ۳۲۳۹۵۰۵۴، **نمابر:** ۳۲۳۹۵۰۵۴، **Email:** Khaksari417@yahoo.com

ارجاع: قنبری فاطمه، خاکساری مهدی، واعظی غلامحسن، حجتی ویدا، عبدالحسین شیروی. اثر تجویز سولفید هیدروژن بر اختلالات حافظه و یادگیری و مرگ سلولی نکروز در ناحیه هیپوکامپ در مدل سمیت عصبی ناشی از مت‌آمفتامین. مجله دانش و تندرستی در علوم پایه پزشکی ۱۳۹۸؛۱۴(۲):۲۳-۳۲.

مقدمه

مت‌آمفتامین یکی از انواع داروهای مخدر روان‌گردان می‌باشد که بر سیستم نوروترانسمیترهای مونوآمین مغز اثر گذاشته سبب افزایش انرژی و سرخوشی می‌گردد (۱). عقیده بر این است که اثرات پاتوژنیک نوروتوکسیسیته ناشی از مت‌آمفتامین در بخش‌هایی، مشابه سایر بیماری های تحلیل برنده عصبی نظیر پارکینسون و آلزایمر می‌باشد (۲). هرچند به‌نظر می‌رسد فاکتورهای دیگری نیز در ایجاد نوروتوکسیته ناشی از مت‌آمفتامین شرکت داشته باشند که مکانیسم‌های آنها هنوز شناخته نشده است. بیشتر فرضیه‌ها بر وقایع درون نورون‌ها از قبیل اکسیداسیون دوپامین ، استرس اکسیداتیو و سمیت خارج سلولی استوارند (۳ و ۴). مت‌آمفتامین از طریق ناقل‌های دوپامین یا سروتونین وارد پایانه‌های نورونی شده و جایگزین دوپامین و سروتونین درون سلولی و وزیکولار می‌گردد. اینگونه آمین‌های جایگزین شده از طریق اتواکسیداسیون و یا به‌وسیله مونوآمین اکسیداز به رادیکال‌های آزاد اکسیژن اکسیده می‌شوند (۵). با افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ازطریق نیتریک اکساید و پراکسید هیدروژن) مرگ نکروتیک سلولی رخ می‌دهد (۶). هرچند در طول زمان مکانیسم‌های دیگری از جمله نوروتوکسیته ناشی از گلوتامات یا پروکسی نیتریت نیز افزوده شدند .

همچنین نشان داده شده مت‌آمفتامین به‌دلیل خاصیت چربی دوستی اش قادر به انتشار از خلال غشاهای سلولی ارگانل‌های درون سلولی نظیر میتوکندری می‌باشد (۷) و نیز ممکن است مت‌آمفتامین از طریق تولید رادیکال‌های آزاد، بلکه حتی با القا و راه‌اندازی آبشارهای آپوپتوزی وابسته‌به میتوکندری سبب مرگ نورون‌ها شود (۸). مشخص شده مت‌آمفتامین از طریق مکانیسم‌های چندگانه سبب مرگ نورون‌ها در یک بازه زمانی می‌گردد.

از طرفی اثرات سمیت عصبی مت‌آمفتامین با کاهش نورون‌زایی در هیپوکامپ نیز در ایجاد اختلالات شناختی پایدار نقش دارند (۹). در مطالعه‌ای با استفاده از مارکرهای نشان‌دهنده‌ی مرگ سلولی آپوپتوز مرگ سلولی در قشر پیش پیشانی و جسم مخطط نشان داده شده است؛ همچنین مت‌آمفتامین با افزایش فعالیت کاسپاز-۳ و مسیرهای مرگ سلولی FAS/FASL باعث پیشبرد آپوپتوز می‌شود. افزایش FASL یکی از سیتوکین‌های خانواده فاکتور نکروز تومور آلفا در جسم مخطط رت‌ها ۴-۲ ساعت بعد از تجویز مت‌آمفتامین مشاهده می‌شود (۱۰). همچنین پژوهش‌ها افزایش سایر سیتوکین‌ها مثل اینترلوکین-۵، اینترلوکین-۱ آلفا و فاکتور نکروز تومور آلفا پس از استفاده از این ماده در جسم مخطط را نشان داده‌اند (۱۱ و ۱۲).

به‌علاوه مت‌آمفتامین سبب افزایش گلوتامات گردیده که آن هم با فعال‌سازی گیرنده‌ی AMPA و ان-متیل دی آسپارتات سبب افزایش سطح کلسیم درون سلولی و فعال‌سازی آنزیم‌های پروتئولیتیک وابسته به یون کلسیم منجر به افزایش رادیکال‌های آزاد اکسیژن و نیتروژن و فعال شدن مسیر آپوپتوز شده در نهایت سبب آسیب و مرگ سلولی در بخش‌هایی همچون هیپوکامپ و قشر مخطط می‌گردد (۱۳ و ۱۴).

در خصوص اثر التهابی مت‌آمفتامین مطالعات نشان می‌دهد استفاده از مت‌آمفتامین سبب فعال‌سازی میکروگلیاها در استریاتوم، قشر مغز و هیپوکامپ می‌شود (۱۸-۱۵). افزایش دوپامین سیتوزولی و استرس اکسیداتیو در جریان استفاده از مت‌آمفتامین باعث تولید دوپاکوئینون‌ها شده میکروگلیاها را فعال می‌کند سپس سیتوکین‌های تولید شده در جریان فعال شدن میکروگلیاها باعث افزایش انتقال گلوتامات شده اگزیتوتوکسیسیته ایجاد می‌کند (۱۹).

سولفید هیدروژن در گذشته به‌عنوان یک گاز سمی در آب‌ها و هوای آلوده شناخته می‌شد اما مطالعات اخیر نشان داد که سولفید هیدروژن علاوه‌بر آب و هوای آلوده در داخل بدن به‌عنوان یک میانجی بیولوژیکی نیز حضور دارد و در بافت‌های پستانداران توسط آنزیم‌های سیستاتیونین بتا سنتاز، سیستاتیونین گاما لیاز و ۳- مرکاپتوپیروات سولفور ترانسفراز ساخته می‌شود که از ال-سیستئین به‌عنوان سوبسترای اصلی استفاده می‌شود. در واقع سولفید هیدروژن به‌عنوان سومین ترانسمیتر گازی دارای نقش سیگنالینگ داخلی بعد از نیتریک اکسید و کربن مونواکسید شناخته می‌شود (۲۰).

سولفید هیدروژن از طریق سه ویژگی ضدالتهابی (۲۱ و ۲۲)، ضدآپوپتوزی (۲۳ و ۲۴) و آنتی‌اکسیدانی (۲۵ و ۲۶) اثرات محافظت کننده نورونی خود را نشان می‌دهد. بر میکروگلیاها که اولین و مهم‌ترین خط دفاعی در CNS محسوب می‌شوند اثر گذاشته ساخت و آزادسازی نیتریک اکساید و فاکتور نکروز تومور آلفا را در این سلول‌ها و آستروسیت‌ها مهار می‌کند؛ سبب مهار تولید فاکتورهای آغازگر التهاب و افزایش تولید سیتوکین‌های ضدالتهابی می‌شود (۲۷).

سولفید هیدروژن با تحریک برداشت گلوتامات در آستروسیت‌ها، از طریق افزایش انتقال‌دهنده‌های گلوتامات گلیال، سبب کاهش گلوتامات خارج سلولی شده اثر مهاری گلوتامات بر انتقال سیستین را از بین می برد و با فعال‌سازی ناقل آنتی‌پورت گلوتامات سیستین میزان ال-سیستئین درون سلولی را افزایش می‌دهد که در نهایت منجر به افزایش گلوتاتیون از مهمترین آنتی‌اکسیدان‌های درون سلولی می‌شود (۲۵). همچنین نشان داده شده ترکیبات حاوی سیستئین سبب کاهش التهاب و کاهش سطح پلاسمایی پیش التهاب‌های پروتئین‌های واکنش‌دهنده C همچون اینترلوکین-جی، اینترلوکین-۱۰ و فاکتور نکروز تومور آلفا می‌شوند. نمک سولفید هیدروژن سدیم به‌عنوان یک آزادکننده‌ی سولفید هیدروژن سبب افزایش تولید سولفید هیدروژن اندوژن، افزایش بیان BDNF وابسته‌به دوز، کاهش تولید عامل HC-Y تولیدکننده آپوپتوز

نورونی و کاهش پاسخ استرس شبکه اندوپلاسمی در هیپوکامپ می گردد. سولفید هیدروژن توانایی جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد را داشته و از طریق افزایش بیان پروتئین Bcl2 به‌عنوان یک عامل ضدآپوپتوز عمل می‌کند (۲۸).

مواد و روش‌ها

تعداد ۷۲ رأس موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار و با وزن تقریبی۲۸۰-۲۵۰ گرم خریداری شده وتحت شرایط استاندارد با دوره معکوس روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته (۸ صبح تا ۸ شب) و دمای ۱ ± ۲۱ درجه سانتی‌گراد و دسترسی به آب آشامیدنی و غذای کافی نگهداری شدند. حیوانات برای سازگاری با محیط حداقل ۱۰ روز قبل از مطالعه به حیوانخانه منتقل می‌گردند. رت‌ها سه بار در هفته وزن شدند. با بررسی لازم اطمینان حاصل می‌گردد که هیچکدام از حیوانات واجد بیماری یا دارای شواهدی دال بر بیماری نبودند. سپس رت‌ها به‌طور تصادفی در ۶ گروه ۱۲ تایی تقسیم‌بندی شدند. ایجاد مدل نوروتوکسیسیته متآمفتامین و اختلال حافظه و یادگیری در رت‌ها به‌صورت زیر انجام شد:

مرحله اول: تجویز دارو

گروه اول: شاهد.

گروه دوم: دریافت‌کننده سالین با دوز ۴× ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم به صورت داخل صفاقی + سولفید هیدروژن ۵ میلی‌گرم به ازای یک کیلو گرم وزن بدن به‌صورت داخل صفاقی

گروه سوم: دریافت‌کننده متآمفتامین با دوز ۴× ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم به‌صورت داخل صفاقی +سالین به‌عنوان حلال دارو۳۰ دقیقه، ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از تزریق متآمفتامین

گروه چهارم: دریافت‌کننده متآمفتامین با دوز ۴× ۱۰ میلی گرم/کیلوگرم به‌صورت داخل صفاقی + سولفید هیدروژن ۱ میلی‌گرم به ازای یک کیلوگرم وزن بدن به‌صورت داخل صفاقی ۳۰ دقیقه، ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از آخرین تزریق متآمفتامین.

گروه پنجم: دریافت‌کننده متآمفتامین با دوز ۴× ۱۰ میلی گرم/کیلوگرم (درون صفاقی) + سولفید هیدروژن ۵ میلی‌گرم به ازای یک کیلوگرم وزن بدن به‌صورت داخل صفاقی ۳۰ دقیقه ، ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از آخرین تزریق متآمفتامین.

گروه ششم: دریافت‌کننده متآمفتامین با دوز ۴× ۱۰ میلی گرم/کیلوگرم (درون صفاقی) + سولفید هیدروژن ۱۰ میلی‌گرم به ازای یک کیلوگرم وزن بدن به‌صورت داخل صفاقی ۳۰ دقیقه، ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از آخرین تزریق متآمفتامین.

مرحله دوم: انجام آزمون‌های رفتاری

روش ارزیابی یادگیری وحافظه فضایی:

دستگاه ماز آبی موریس:

به‌منظور بررسی میزان یادگیری فضایی حیوانات، ماز آبی موریس مورد استفاده قرار می‌گیرد. ماز آبی از یک مخزن آب استوانه‌ای سیاه رنگ به قطر ۱۴۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۶۰ سانتی‌متر تشکیل شده است که تا ارتفاع ۳۲ سانتی‌متر از آب پر می‌شود. دمای آب، هم دمای اتاق آزمایشگاه و برابر با ۲۲ درجه سانتی‌گراد تنظیم می‌گردد. ماز به چهار قسمت مساوی فرضی تقسیم می‌شود و یک سکوی نجات با ارتفاع ۲۵ سانتی‌متر در یکی از چهار قسمت قرار می‌گیرد؛ به‌طوری که بین ۱ تا ۲ سانتی‌متر زیر سطح آب واقع می‌شود و از بیرون قابل دیدن نباشد. ماز در اتاقی قرار می‌گیرد که در آن علایم فضایی مختلفی که در طول آزمایشات ثابت بوده و برای حیوان در ماز قابل دید باشد وجود دارد و در طول آزمایش، شخص آزمایش‌کننده همیشه باید در یک جا بایستد. این مجموعه از طریق دوربین ردیاب که در ارتفاع ۱۸۰ سانتی‌متری و در بالای مرکز ماز آبی قرار گرفته است، مونیتور شده و از طریق اتصال به کامپیوتر اطلاعات مربوطبه آزمایش در حال انجام ذخیره می‌گردد. نرم‌افزار اختصاصی "ردیاب" که توانایی پذیرش تنظیمات مختلف برای آزمایشات متفاوت در ماز آبی را دارد نصب شده در کامپیوتر از TV Tuner با به‌کارگیری قابلیت‌های روند آزمایش فیلم تهیه کرده و با ذخیره کردن اطلاعات در حافظه کامپیوتر آن را برای تجزیه و تحلیل بعدی نگهداری می‌کند. در این سیستم کافی است تا شروع آزمایش را با به‌کاراندازی حسگرهای اختصاصی نصب شده در کناره‌های ماز به نرم افزار مذکور اعلام کنیم. نرم‌افزار براساس تنظیمات قبلی روند آزمایش را تا انتها تعقیب می‌کند و پس از اتمام زمان مورد نظر یا بعد از پایان آزمایش مونیتورینگ را به‌طور اتوماتیک قطع می‌کند. در طول انجام آزمایش حیوان از یکی از سمت‌های چهارگانه ماز به‌طوری‌که روی آن به طرف دیوارهای ماز باشد رها می‌شود که انتخاب محل شروع به‌صورت تصادفی و توسط نرم‌افزار صورت گیرد. همزمان با رهاسازی حیوان درون آب دکمه شروع برنامه فشار داده می‌شود و برنامه شروع به ضبط و ثبت رفتار حیوان درون ماز می‌کند. حداکثر زمانی که حیوان جهت پیدا کردن سکو در اختیار دارد ۶۰ ثانیه است. در صورتی که حیوان نتواند در طول این مدت سکو را پیدا کند حیوان به سمت سکو راهنمایی می‌شود و اجازه دارد تا ۳۰ ثانیه روی آن قرار بگیرد. در طول این ۳۰ ثانیه حیوان با توجه به موقعیت سکو و علایم نصب شده در آزمایشگاه موقعیت خود را به خاطر می‌سپارد. در صورتی که حیوان سکو را پیدا نماید همزمان با قرارگیری حیوان روی سکو عمل ضبط متوقف می‌شود و باز هم به حیوان ۳۰ ثانیه جهت به خاطر سپردن علایم وقت داده می‌شود. پس از این مدت حیوان به درون ظرف مخصوصی منتقل شده و پس از خشک شدن به قفس خود انتقال داده می‌شود. مدت زمان کل آزمایش ۵ روز در نظر گرفته می‌شود که ۴ روز مربوطبه آموزش است و روز پنجم روز

آزمون اصلی است. در هر روز آموزش چهار بار با فاصله ده دقیقه حیوان در ماز آبی رها می‌شود. در این مراحل روند آموزش حیوان براساس مدت زمان سپری شده و مسافت طی شده جهت یافتن سکو سنجیده می‌شود در پایان روز پنجم پس از اتمام آزمایشات یک مرحله پروب برای سنجش حافظه انجام می‌شود؛ بدین صورت که پس از برداشتن سکو حیوان باز هم به‌صورت تصادفی از یکی از جهات درون ماز رها می‌شود. این آزمایش بر این اساس است که با فرض اینکه حیوان محل سکو را به خاطر سپرده باید بیشترین زمان و مسافت را در ربع محل قرارگیری سکو بماند. این مرحله برای هر حیوان یک بار تکرار می‌شود که مدت آن همان ۹۰ ثانیه است. مدت زمان و مسافت طی شده در ربع محل قرارگیری سکو معیار و میزان سنجش حافظه می‌باشد.

اطلاعات جمع‌آوری شده برای هر یک از حیوانات شامل: ۱- مدت زمان سپری شده به‌منظور یافتن سکوی پنهان ۲- مدت مرحله پروب. مقایسه اطلاعات به‌دست آمده ازحیوانات گروه‌های مختلف مورد مطالعه با روش‌های آماری و نرم‌افزارهای مرتبط انجام می‌شود.

رنگ‌آمیزی نیسل معمولاً برای شناسایی ساختار پایه‌ای نورون‌های سالم از نورون‌های نکروز شده در بافت مغز و طناب نخاعی استفاده می‌شود. در این رنگ‌آمیزی سلول‌های سالم به‌صورت سلول‌های یوکروماتین دیده می شوند. برای رنگ‌آمیزی نیسل، برش‌های ۷ میکرومتری (سه برش در هر حیوان) بر روی لام‌های سیلانه شده انتقال داده می‌شوند. سپس با استفاده از محلول کرزیل ویوله استات ۰/۱ درصد (سیگما، USA) رنگ‌آمیزی خواهند شد. لام‌ها سپس خشک شده و با انتالن پوشانده می‌شوند. سپس با استفاده از میکوسکوپ نوری (Olympus AX-70) و با بزرگنمایی x۴۰۰ از برش‌ها تصویر تهیه خواهد شد. بعد از تهیه تصاویر، با استفاده از نرم‌افزار Olysia bio report شمارش سلولی در امتداد خطی با طول ۴۰۰ میکرومتر (مساحتی حدود ۰/۱۶۰ میلی‌متر مربع) از ناحیه CA1 هیپوکامپ راست رت‌ها انجام خواهد شد. فقط سلول‌های نامنظم و تیره که هسته و هستک مشخص نداشتند به‌عنوان سلول‌های مرده در نظر گرفته و شمارش می‌شوند.

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری پریسم و آزمون‌های تجزیه و تحلیل واریانس یک طرفه و توکی تجزیه و تحلیل شدند. نتایج به‌صورت خطای معیار میانگین ±میانگین بیان می‌شوند و سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

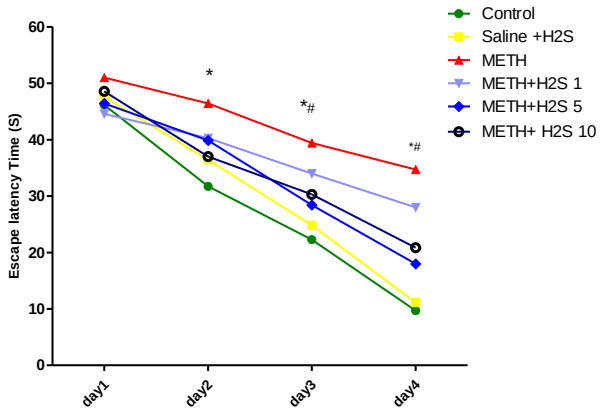
نتایج

میزان یادگیری در روزهای آموزش افزایش معناداری در گروه مت آمفتامین نسبت‌به گروه‌های کنترل و سولفید هیدروژن نشان می‌دهد (کاهش میزان یادگیری). به‌علاوه در گروه‌های تیمار شده با سولفید هیدروژن میزان یادگیری در روزهای آموزش نسبت‌به گروه مت‌آمفتامین کاهش یافته است (بهبود فرآیند یادگیری) (P=۰/۰۰۰۰۱)، (نمودار۱).

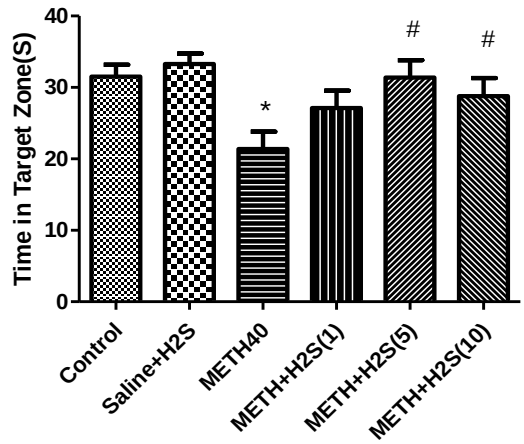
زمان حضور در منطقه هدف (محل حضور سکو در روزهای آموزش) در روز پراب در گروه مت‌آمفتامین کاهش معناداری نسبت‌به گروه‌های کنترل و سولفید هیدروژن نشان می‌دهد که بیانگر اختلال در حافظه فضایی می‌باشد. در گروه تیمار شده با سولفید هیدروژن (۱۰ و ۵ میلی گرم/کیلوگرم) افزایش معناداری در عملکرد حافظه نسبت‌به گروه مت آمفتامین مشاهده می‌شود (P=۰/۰۳۵)، (نمودار ۲).

سولفید هیدرژن نکروز نورونی ناشی از مت‌آمفتامین در ناحیه هیپوکامپ را کاهش می‌دهد. نتایج حاصل از رنگ‌آمیزی نیسل نشان می‌دهد که درصد سلول‌های نکروتیک در ناحیه CA1، هیپوکامپ راست در گروه مت‌آمفتامین (۴±۲۴٪) نسبت‌به گروه شاهد سولفید هیدروژن (۲±۲٪) افزایش می‌یابد (P=۰/۰۰۱).

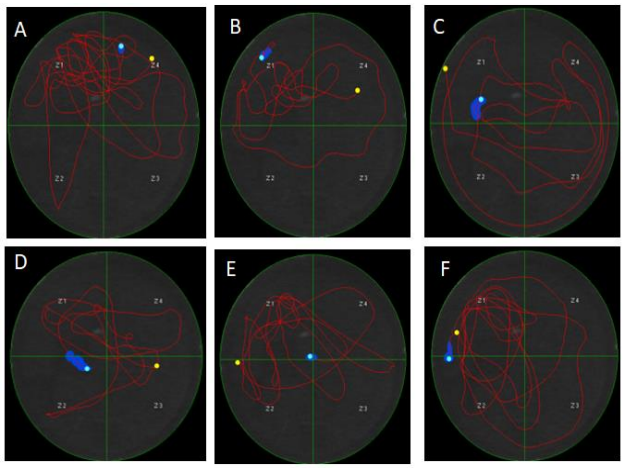
در گروه تیمار شده با سولفید هیدروژن (۳±۱۳٪) مرگ سلولی نکروتیک در مقایسه با گروه مت‌آمفتامین کاهش می‌یابد (P<۰/۰۵)، (نمودار۳).



نمودار ۱- مقایسه زمان تأخیر تا گریز در روزهای آموزش (روزهای ٤-۱) در گروه‌های مورد آزمایش

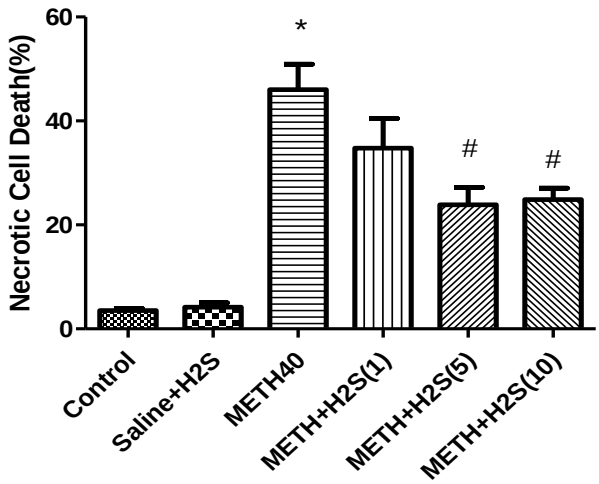


نمودار ۲- مقایسه عملکرد حافظه در ماز آبی موریس در گروه‌های مورد آزمایش



شکل ۱- الگوی شنای حیوانات در گروه‌های مختلف در روز آزمون (روز پنجم) در آزمون ماز آبی موریس

A) گروه کنترل، B) گروه سولفید هیدروژن، C) گروه مت‌آمفتامین، D) گروه تیمار شده با سولفید هیدروژن ۱ میلی‌گرم/کیلوگرم، E) گروه تیمار شده با سولفید هیدروژن ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم، F) گروه تیمار شده با سولفید هیدروژن ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم



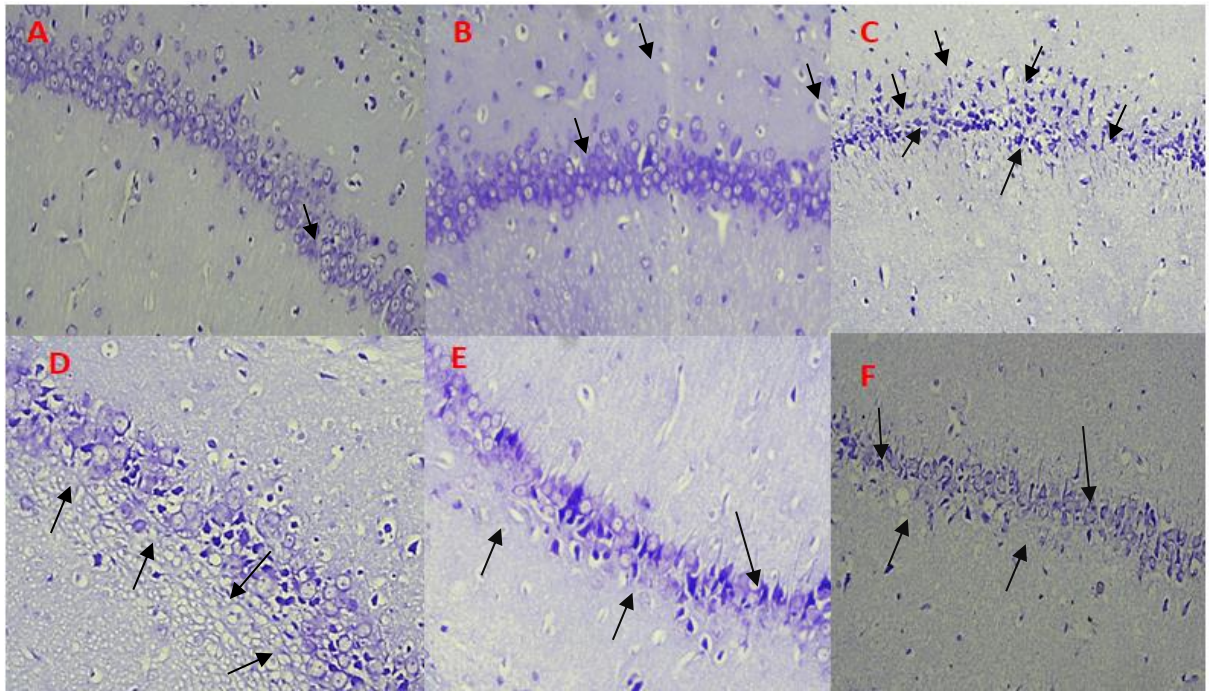
نمودار ۳- نمودار اثرات سولفید هیدروژن بر مرگ سلول‌های نکروتیک ناشی از دریافت مت‌آمفتامین در ناحیه هیپوکامپ CA1 موش صحرایی با استفاده از رنگ‌آمیزی نیسل. سولفید هیدروژن به‌طور قابل توجهی کاهش مرگ سلولی نکروتیک ناشی از دریافت مت‌آمفتامین در ناحیه CA1

* در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری ($P\leq ۰/۰۰۱$).

تفاوت معنی‌داری در مقایسه با گروه دریافت‌کننده مت‌آمفتامین ($P\leq ۰/۰۵$).

بحث

حافظه فضایی به حیوانات کمک می‌کند تا به‌خاطر بیاورند که اطلاعات کسب شده را در کجا به‌دست آورده‌اند و اینکه این اطلاعات را در کجا به‌کار ببرند. هیپوکامپ در اشکال مختلف حافظه و یادگیری فضایی نقشی حیاتی دارد. از جمله، این بخش برای پردازش اطلاعات مربوطبه شناخت فضا و نیز حافظه کاری ضروری است (۲۹). مطالعات حیوانی نشان داده، مانند سایر محرک‌ها مصرف حاد آمفتامین و مت‌آمفتامین حافظه و یادگیری وابسته‌به هیپوکامپ را در ماز T (۳۰)، ماز آبی موریس (۳۱)، ماز با بازوی شعاعی (۳۲) و شرایط پرهیز افزایش می‌دهد. به‌علاوه عقیده بر این است که اثرات سوء مت‌آمفتامین بر فرایندهای شناختی وابسته‌به سیستم‌های نوروترانسمیتری و ساختارهای مغزی تحت تأثیر این محرک است. نتایج حاصل از مطالعات متعدد بیانگر نقش نوروترانسمیترهای مختلف از قبیل دوپامین، سروتونین و گلوتامات در ایجاد مشکلات شناختی می‌باشند. همچنین مطالعه بر روی نواحی مختلف مغزی مربوطبه کارکردهای شناختی و تأثیر نوروترانسمیترهای مختلف در این پدیده روانشناختی، گویای این حقیقت است که دوپامین به‌عنوان عمده‌ترین نوروترانسمیتر در ایجاد این پدیده، نقش اساسی دارد (۳۳). یک مطالعه نشان داد که کاهش در تعداد انتقال‌دهنده‌های دوپامینی در سیناپس‌های دوپامینرژیک هیپوکامپ متعاقب مصرف مکرر مت‌آمفتامین، غلظت سیناپسی دوپامین را افزایش داده و متعاقب آن،گیرند ه‌های پس سیناپسی مدت زمان طولانی‌تری فعال می‌مانند (۳۴) در جریان تجمع نابجای وابسته به مت دوپامین سیتوزولی، رادیکال های آزاد اکسیژن وابسته به دوپامین شکل می‌گیرند که به نظر می‌رسد با این کاهش در ارتباط باشند . رادیکال‌های آزاد وابسته‌به مت‌آمفتامین سرانجام سبب فعال‌سازی مسیر جان ان- ترمینال کیناز / پروتئین کیناز فعال شده با استرس می‌گردد که منجر به آپوپتوز نورونی می‌شود (۳۵)، همچنین رادیکال‌های آزاد ایجاد شده با فعال‌سازی مسیرهای مرگ سلولی سبب از بین رفتن نورون‌ها در اثر نکروز می‌گردند. مدلی که در این تحقیق استفاده شد نیز نشان داد که سمیت عصبی ناشی از مت‌آمفتامین موجب مرگ سلولی ناشی از آپوپتوز و نکروز در ناحیه CA1 هیپوکمپ می‌شود، به‌نحوی که افزایش معناداری در میانگین تعداد سلول‌های نکروتیک ناحیه CA1 در گروه مت‌آمفتامین نسبت‌به سایر گروه‌ها وجود دارد که در اثر تیمار با هیدروژن سولفید میزان مرگ سلولی نکروز در مقایسه با گروه مت‌آمفتامین به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد و همین‌طور نیز کاهش معنی‌داری در شاخص‌های عملکردی یادگیری و حافظه فضایی شامل زمان تأخیر تا گریز برای رسیدن به سکو در روزهای آموزش و همین‌طور زمان صرف شده در منطقه هدف در طول روز آزمون در گروه مت‌آمفتامین نسبت‌به سایر گروه‌ها مشاهده شد که این شاخص‌ها در گروه تیمار شده با سولفید هیدروژن بهبود یافتند. این نتایج نشان‌دهنده اثرات مثبت سولفید هیدروژن بر آسیب یادگیری و حافظه فضایی موش‌ها پس از سمیت عصبی ناشی از مت‌آمفتامین است که می‌تواند به‌دلیل اثرات محافظت‌کننده عصبی سولفید هیدروژن و کاهش مرگ سلولی در ناحیه CA1 هیپوکمپ باشد.



شکل ۲- فوتومیکروگراف از رنگ‌آمیزی کریزل ویوله (نیسل) در ناحیه CA1 هیپوکامپ راست پس از ایجاد نوروتوکسیسیته ناشی از مت‌آمفتامین **A) گروه کنترل، B) گروه سولفید هیدروژن، C) گروه مت‌آمفتامین، D) گروه تیمار شده با هیدروژن سولفید ۱میلی‌گرم/کیلوگرم، E) گروه تیمار شده با سولفید هیدروژن ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم، F) گروه تیمار شده با سولفید هیدروژن ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم**

مت‌آمفتامین دارویی است با سوء مصرف و خواص سمیت عصبی که بسیاری از مکانیسم‌های پیچیده آسیب‌های سمیت عصبی آن هنوز به درستی شناخته نشده است. هر چند برخی از مکانیسم‌ها نظیر نکروز، استرس اکسیداتیو، آپوپتوز، عدم تنظیم کلسیم و سمیت برون‌زاد از جمله مواردی هستند که در سمیت عصبی ناشی از مت‌آمفتامین دخیلند. سمیت عصبی ناشی از مت‌آمفتامین با افزایش تولید ذرات اکسیژن فعال شده در مغز ارتباط دارد. شواهد به‌دست آمده نشان می‌دهد که رادیکال‌های سوپراکسید، پراکسیدهیدروژن و رادیکال‌های هیدروکسیل به خوبی نیتریک اکساید در آسیب‌شناسی نورونی ناشی از مت‌آمفتامین شرکت دارند؛ خصوصاً مشخص شده تجویز مت‌آمفتامین می‌تواند سبب آزاد شدن دوپامین در سیتوپلاسم پایانه‌های دوپامینی گردد. آزاد شدن دوپامین با اکسیداسیون دوپامین در پایانه‌های دوپامینی و یک چرخه اکسیداسیون و احیا برای دوپاکوئینون‌ها و افزایش تشکیل رادیکال‌های آزاد در مغز همراه است . تولید و تجمع رادیکال‌های آزاد در میتوکندری می‌توانند سبب باز شدن منافذ غشایی نفوذپذیر میتوکندریایی شده و سبب ایجاد هایپرپلاریزاسیون غشاء میتوکندری گردد (۳۶).

در میتوکندری‌هایی که غشاء آن آسیب دیده پروتئین پیش آپوپتوزی سیتوکروم سی از میتوکندری به داخل سیتوپلاسم منتشر می‌شود. آزادسازی سیتوکروم سی می‌تواند منجر به فعال‌سازی کاسپاز -۳ و قطعه قطعه شدن هسته‌ای در جریان آپوپتوز وابسته‌به کاسپاز -۳ گردد.

مطالعات نشان داده است که تجویز سولفید هیدروژن، کاهش آپوپتوز سلولی را در آسیب‌های عصبی با کاهش فعالیت پروتئین پیش‌آپوپتوزی کاسپاز -۳ انجام می‌دهد. هیدروژن سولفید سرکوب استرس اکسیداتیو را با کاهش سطح مالون دی‌آلدهید (به‌عنوان محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدی) و افزایش سطح آنتی‌اکسیدان‌های سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون انجام می‌دهد. همچنین نشان داده شده است که سولفید هیدروژن دارای اثرات ضدالتهابی و ضدآپوپتوزی در مدل‌های بیماری‌های مغزی نظیر آلزایمر و پارکینسون می‌باشد که این اثرات را با کاهش فعالیت کاسپاز -۳ و کاهش سطح پلاسمایی سیتوکین‌های پیش التهابی شامل فاکتور نکروز توموری آلفا، اعمال می‌کند. نتایج مطالعات همچنین مشخص کرده است که سولفید هیدروژن پاسخ‌های التهابی وابسته‌به فاکتور هسته‌ای کاپا-بی و عملکرد سیتوکین‌های پیش التهابی را مهار می‌کند و به‌واسطه کاهش کاسپاز -۳، آپوپتوز سلول‌های عصبی را بعد از آسیب‌های مغزی کاهش می‌دهد (۲۰).

یکی از محصولات سیتوتوکسیک ایجاد شده از پراکسیداسیون لیپیدها مالون دی‌آلدهید می‌باشد که به‌عنوان یک نشانگر زیستی برای استرس اکسیداتیو، تولید رادیکال‌های آزاد و آسیب بافتی را اثبات می‌کند. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون سلول ها را در برابر آسیب اکسیداتیو محافظت می‌کنند. آنها یک مکانیسم دفاعی برای ارگانسیم‌های هوازی محسوب می‌شوند. سوپراکسید

دیسموتاز، تبدیل آنیون سوپراکسید به پراکسید اکسیژن و هیدروژن راکاتالیز می‌نماید. به‌علاوه گلوتاتیون سلول‌ها را در برابر آسیب ناشی از ذرات اکسیژن فعال شده شامل رادیکال‌ها و پراکسیدهای آزاد محافظت می‌کند. در بررسی‌ها نشان داده شده که سولفید هیدروژن فعالیت آنتی اکسیدانی داشته و سبب کاهش سطح مالون دی‌آلدهید و نیز افزایش میزان سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون در هیپوکامپ بعد از سمیت عصبی ناشی از مت‌آمفتامین می‌گردد. گلوتامات یک نوروترانسمیتر تحریکی اولیه در سیستم عصبی مرکزی است که نه می‌تواند از سد خونی – مغزی عبور کند و نه اینکه در فضای سیناپسی کم شود؛ بنابراین افزایش میزان گلوتامات در فضای سیناپسی سبب افزایش فعالیت گیرنده‌های ان–متیل دی آسپارتات و زیر واحدهای دیگر گیرنده گلوتاماتی شده منجر به سمیت برون‌زاد و آسیب نورونی می‌گردد.

به‌طور عادی گلوتامات به‌صورت فعال به سلول‌ها باز جذب می‌شود تا دوباره استفاده گردد و یا به گلوتامین تبدیل شود. این عملکرد از طریق ناقل‌های گلوتامات که پروتئین‌های غشایی نورون‌ها و سلول‌های گلیال هستند انجام می‌پذیرد. ناقل‌های گلوتامات در آستروسیت‌ها یک عنصر کلیدی جهت تنظیم سطح گلوتامات در فضای سیناپسی بوده و نقش محافظتی در برابر نوروتوکسیته ناشی از گلوتامات ایفا می‌کند. مت‌آمفتامین در نهایت سبب افزایش میزان گلوتامات خارج سلولی در ساقه مغز می‌گردد. به‌نظر می‌رسد مجموعه اثرات آزاد شدن گلوتامات و دوپامین در ایجاد استرس اکسیداتیو و سمیت برون‌زاد میانجیگری شده با گلوتامات در مغز نقش داشته باشند، چرا که سمیت مت‌آمفتامین وابسته به تولید رادیکال آزاد اکسیژن بوده و رادیکال آزاد اکسیژن می‌تواند مسیرهای سیگنالینگ متعددی را تحریک کند (۳۷).

مطالعات پیشین نشان می‌دهد که سولفید هیدروژن سبب افزایش برداشت گلوتامات از طریق کاهش تولید رادیکال آزاد اکسیژن و همچنین تنظیم بالادستی ناقل‌های گلوتامات در سلول‌های آستروسیت می‌گردد (۳۸).

به‌علاوه ظرفیت بلوکه کردن تولید سایتوکین‌های التهابی نظیر فاکتور نکروز توموری آلفا می‌تواند یکی دیگر از مکانیسم‌های ممکن در خصوص توانایی محافظت‌کننده عصبی سولفید هیدروژن در برابر مت‌آمفتامین به حساب آید. سطح فاکتور نکروز توموری آلفا مغز به‌طور مشخص در انواع مختلفی از بیماری‌های سیستم عصبی مرکزی نظیر تروما، ایسکمی، مالتیپل اسکلروزیس و صرع لوب گیجگاهی افزایش می یابد. علاوه‌بر این بسیاری از تحقیقات مشخص می‌کند که تیمار با مت‌آمفتامین سبب افزایش فاکتور نکروز توموری آلفا mRNA و اینترلوکین –۶ در هیپوکامپ و قشر پیشانی می‌گردد همچنین پیشنهاد شده که فاکتور نکروز توموری آلفا برای نورون‌ها و گلیاها خاصیت سمی داشته و با سمیت عصبی ناشی از مت‌آمفتامین همراه است. این مولکول‌های پیش التهابی مسیرهای سیگنالینگ آپوپتوزی پایین دستی را در نورون‌ها فعال نموده، در نهایت سبب مرگ نورونی و فعال‌سازی سلول‌های گلیال می‌گردند که التهاب نورونی را تشدید می‌نماید (۲۰).

مطالعات دیگری نشان می‌دهند که درمان با سولفید هیدروژن، باعث کاهش غلظت واسطه‌های التهابی مانند فاکتور نکروز توموری آلفا، اینترلوکین–۱ بتا و اینترلوکین –۶ در مدل‌های مختلف بیماری‌های مغزی می‌گردد. از سویی دیگر به خوبی مشخص شده است که مصرف مت منجر به پدیده التهاب عصبی می‌شود، که توسط فعال‌سازی آستروسیت‌ها و میکروگلیاها و نیز آزادسازی عوامل سیتوتوکسیک مانند نیتریک اکسید، گونه‌های اکسیژن فعال، سیتوکین‌های التهابی مشخص می‌شود که این عوامل منجر به تخریب سد خونی مغزی و مرگ سلول‌های عصبی می‌شوند (۳۹). بنابراین به‌نظر می‌رسد که پیشگیری از فرآیندهای التهابی و آپوپتوزی می‌تواند به‌عنوان روشی درمانی برای بهبود آسیب ناشی از مت‌آمفتامین مورد استفاده قرار گیرد (۴۰). همسو با پژوهش حاضر، ویژگی‌های محافظت‌کننده عصبی سولفید هیدروژن در مدل بیماری پارکینسون و آلزایمر نیز نشان داده شد که مشخص شده است سولفید هیدروژن نورون‌های دوپامینرژیک را در مقابل سمیت عصبی بیماری پارکینسون محافظت می‌کند و این اثرات محافظت‌کننده سولفید هیدروژن به‌وسیله بازسازی عملکرد میتوکندری، جلوگیری از آزاد شدن سیتوکروم سی و سرکوب فعال شدن کاسپاز –۳ انجام می‌شود. در شرایط مختلف پاتولوژیک فاکتور نکروز توموری آلفا در مغز تولید می شود. فاکتور نکروز توموری آلفا موجب فعال‌سازی سلول‌های گلیال می شود که پس از آن باعث تغییر ساختار بافت و گلیوز می‌شود (۴۱). علاوه بر این یافته‌ها نشان داده است که انواع سیتوکین‌های پیش التهابی مانند فاکتور نکروز توموری آلفا، اینترلوکین ۱–بتا و اینترلوکین–۶ و همچنین سایر عوامل سیتوتوکسیک، متابولیت‌های اسید آراشیدونیک، گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن و نیتروژن و گلوتامات اکسیتوکسیک از سلول‌های میکروگلیاهای فعال شده در پاسخ به مت‌آمفتامین آزاد می‌شوند. این تحقیق نشان می‌دهد که سولفید هیدروژن دارای اثرات ضدالتهابی بوده و فاکتور نکروز توموری آلفا را در هیپوکامپ پس از القای سمیت عصبی ناشی از مت‌آمفتامین کاهش می‌دهد. این نتایج بر پایه تحقیقات پیشین نشان می‌دهد که سولفید هیدروژن دارای اثرات ضدالتهابی بوده و میزان سایتوکین‌های پیش التهابی نظیر فاکتور نکروز توموری آلفا و اینترلوکین ۱–بتا را در مدل آلزایمر و نیز مدل‌های حیوانی ایسکمی و سمیت عصبی ناشی از لیپو پلی ساکاریدها کاهش می‌دهد (۲۰).

در این مطالعه، ما دریافتیم که درمان با سولفید هیدروژن به‌طور قابل توجهی آسیب ناحیه CA1 هیپوکامپ و اختلالات حافظه و یادگیری فضایی در مدل سمیت عصبی ناشی از مت‌آمفتامین را بهبود می‌بخشد. به نظر می‌رسد که این اثرات محافظت‌کننده عصبی سولفید هیدروژن از

مکانیسم‌های بسیاری مانند مهار مرگ سلولی نکروزیس و آپوپتوزیس به‌واسطه کاهش بیان پروتئین‌های پروآپوپتوزی کاسپاز -۳، افزایش آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و همچنین کاهش پاسخ‌های التهابی به‌واسطه مهار فعال‌سازی آستروسیت‌ها و میکروگلیاها ناشی می‌شود. در نتیجه، باتوجه به این اثرات حفاظتی سولفید هیدروژن در شرایط پاتولوژیک، می‌توان آن را به‌عنوان یک عامل مؤثر برای کاهش سمیت عصبی ناشی از مت‌آمفتامین معرفی کرد، هرچند که تحقیقات بیشتر در آینده موردنیاز است.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از زحمات سرکار خانم پیراسته نوروزی، کارشناس مسئول آزمایشگاه جامع تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی شاهرود و دیگر عزیزانی که ما را در این مطالعه یاری نمودند صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نماییم.

References

1. Yu S, Zhu L, Shen Q, Bai X, Di X. Recent advances in methamphetamine neurotoxicity mechanisms and its molecular pathophysiology. Behav Neurol 2015;2015:103969. doi: 10.1155/2015/103969
2. Gonçalves J, Martins T, Ferreira R, Milhazes N, Borges F, Ribeiro CF, et al. Methamphetamine-induced early increase of il-6 and tnf-α mrna expression in the mouse brain. Ann N Y Acad Sci 2008;1139:103-11. doi: 10.1196/annals.1432.043
3. Cadet JL, Krasnova IN, Jayanthi S, Lyles J. Neurotoxicity of substituted amphetamines: molecular and cellular mechanisms. Neurotox Res 2007;11:183-202. doi:10/1007/BF03033567
4. Thomas DM, Walker PD, Benjamins JA, Geddes TJ, Kuhn DM. Methamphetamine neurotoxicity in dopamine nerve endings of the striatum is associated with microglial activation. J Pharmacol Exp Ther 2004;311:1-7. doi: 10.1124/jpet.104.070961
5. Cubells JF, Rayport S, Rajendran G, Sulzer D. Methamphetamine neurotoxicity involves vacuolation of endocytic organelles and dopamine-dependent intracellular oxidative stress. J Neurosci 1994;14:2260-71. doi: 10.1523/JNEUROSCI.14-04-02260.1994
6. Bowyer JF, Clausing P, Gough B, Slikker Jr W, Holson RR. Nitric oxide regulation of methamphetamine-induced dopamine release in caudate/putamen. Brain Res 1995;699:62-70. doi: 10.1016/0006-8993(95)00877-S
7. Davidson C, Gow AJ, Lee TH, Ellinwood EH. Methamphetamine neurotoxicity: necrotic and apoptotic mechanisms and relevance to human abuse and treatment. Brain Res Rev 2001;36:1-22. doi: 10.1016/S0165-0173(01)00054-6
8. Seiden LS, Sabol KE. Methamphetamine and methylenedioxymethamphetamine neurotoxicity: possible mechanisms of cell destruction. NIDA Res Monogr 1996;163:1276.
9. Khademi S, Zarei E. Surveying effective factors on increase in addiction of self-introduced addicts in Shiraz city. International Journal of Advanced Studies in Humanities and Social Science 2014; 3:24-9.
10. Jayanthi S, Deng X, Ladenheim B, McCoy MT, Cluster A, Cai N-s, et al. Calcineurin/NFAT-induced up-regulation of the Fas ligand/Fas death pathway is involved in methamphetamine-induced neuronal apoptosis. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2005 January 18; Sweden.p.868-73. doi: 10.1073/pnas.0404990102
11. Sriram K, Miller DB, O'callaghan JP. Minocycline attenuates microglial activation but fails to mitigate striatal dopaminergic neurotoxicity: role of tumor necrosis factor-α. Journal of neurochemistry 2006;96:706-18. doi: 10.1111/j.1471-4159.2005.03566.x
12. Bruno V, Scapagnini U, Canonico P. Excitatory amino acids and neurotoxicity. Funct neurol 1993;8:279-92.
13. Nicholls D. Mitochondrial dysfunction and glutamate excitotoxicity studied in primary neuronal cultures. Current Molecular Medicine 2004;4:149-77. doi: 10.2174/1566524043479239
14. Yamaguchi T, Kuraishi Y, Minami M, Nakai S, Hirai Y, Satoh M. Methamphetamine-induced expression of interleukin-1β mRNA in the rat hypothalamus. Neuroscience Letters 1991;128:90-2.
15. Escubedo E, Guitart L, Sureda FX, Jiménez A, Pubill D, Pallàs M, et al. Microgliosis and down-regulation of adenosine transporter induced by methamphetamine in rats. Brain research 1998;814:120-6. doi: 10.1016/S0006-8993(98)01065-8
16. Guilarte T, Nihei M, McGlothan J, Howard A. Methamphetamine-induced deficits of brain monoaminergic neuronal markers: distal axotomy or neuronal plasticity. Neuroscience 2003;122:499-513. doi: 10.1016/S0306-4522(03)00476-7
17. Pubill D, Canudas AM, Pallàs M, Camins A, Camarasa J, Escubedo E. Different glial response to methamphetamine-and methylenedioxymethamphetamine-induced neurotoxicity. Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology 2003;367:490-9.
18. Zou JY, Crews FT. TNFα potentiates glutamate neurotoxicity by inhibiting glutamate uptake in organotypic brain slice cultures: neuroprotection by NFκB inhibition. Brain research 2005;1034:11-24. doi: 10.1016/j.brainres.2004.11.014
19. Chen W-L, Niu Y-Y, Jiang W-Z, Tang H-L, Zhang C, Xia Q-M, et al. Neuroprotective effects of hydrogen sulfide and the underlying signaling pathways. Reviews in the Neurosciences 2015;26:129-42. doi: 10.1515/revneuro-2014-0051
20. LaVoie MJ, Card JP, Hastings TG. Microglial activation precedes dopamine terminal pathology in methamphetamine-induced neurotoxicity. Experimental neurology 2004;187:47-57. doi: 10.1016/j.expneurol.2004.01.010
21. Fan H, Guo Y, Liang X, Yuan Y, Qi X, Wang M, et al. Hydrogen sulfide protects against amyloid beta-peptide induced neuronal injury via attenuating inflammatory responses in a rat model. Journal of biomedical research 2013;27:296. doi: 10.7555/JBR.27.20120100
22. Zanardo RC, Brancaleone V, Distrutti E, Fiorucci S, Cirino G, Wallace JL, et al. Hydrogen sulfide is an endogenous modulator of leukocyte mediated inflammation. The FASEB journal 2006;20:2118-20. doi: 10.1096/fj.06-6270fje
23. Wei H-j, Xu J-h, Li M-h, Tang J-p, Zou W, Zhang P, et al. Hydrogen sulfide inhibits homocysteine-induced endoplasmic reticulum stress and neuronal apoptosis in rat hippocampus via upregulation of the BDNF-TrkB pathway. Acta Pharmacologica Sinica 2014;35:707. doi: 10.1038/aps.2013.197
24. Yin J, Tu C, Zhao J, Ou D, Chen G, Liu Y, et al. Exogenous hydrogen sulfide protects against global cerebral ischemia/reperfusion injury via its anti-oxidative, anti-inflammatory and anti-apoptotic effects in rats. Brain research 2013;1491:188-96. doi: 10.1016/j.brainres.2012.10.046
25. Kimura H, Shibuya N, Kimura Y. Hydrogen sulfide is a signaling molecule and a cytoprotectant. Antioxidants & Redox Signaling 2012;17:45-57. doi: 10.1089/ars.2011.4345
26. Kimura Y, Goto Y-I, Kimura H. Hydrogen sulfide increases glutathione production and suppresses oxidative stress in mitochondria. Antioxidants & Redox Signaling 2010;12:1-13. doi: 10.1089/ars.2008.2282
27. Xue X, Bian J-S. Neuroprotective effects of hydrogen sulfide in Parkinson's disease animal models: methods and protocols. Methods in enzymology. 554: Elsevier; 2015.p.169-86. doi: 10.1016/bs.mie.2014.11.015
35. CADET JL, JAYANTHI S, DENG X. Speed kills: cellular and molecular bases of methamphetamine-induced nerve terminal

28. Kimura H. Hydrogen sulfide and its therapeutic applications: Springer Science & Business Media; 2013.

29. Opitz B, Mothes HK, Clausing P. Effects of prenatal ethanol exposure and early experience on radial maze performance and conditioned taste aversion in mice. Neurotoxicology and Teratology 1997;19:185-90. doi: 10.1016/S0892-0362(96)00225-5

30. Ito R, Canseliet M. Amphetamine exposure selectively enhances hippocampus-dependent spatial learning and attenuates amygdala-dependent cue learning. Neuropsychopharmacology 2010;35:1440. doi: 10.1038/npp.2010.14

31. Cao G, Zhu J, Zhong Q, Shi C, Dang Y, Han W, et al. Distinct roles of methamphetamine in modulating spatial memory consolidation, retrieval, reconsolidation and the accompanying changes of ERK and CREB activation in hippocampus and prefrontal cortex. Neuropharmacology 2013;67:144-54. doi: 10.1016/j.neuropharm.2012.10.020

32. Strupp B, Bunsey M, Levitsky D, Kesler M. Time-dependent effects of post-trial amphetamine treatment in rats: evidence for enhanced storage of representational memory. Behavioral and neural biology 1991;56:62-76. doi: 10.1016/0163-1047(91)90291-W

33. Kaushal N, R Matsumoto R. Role of sigma receptors in methamphetamine-induced neurotoxicity. Current neuropharmacology 2011;9:54-7. doi: 10.2174/157015911795016930

34. Hart CL, Marvin CB, Silver R, Smith EE. Is cognitive functioning impaired in methamphetamine users? A critical review. Neuropsychopharmacology 2012;37:586. doi: 10.1038/npp.2011.276

degeneration and neuronal apoptosis. The FASEB Journal 2003;17:1775-88. doi: 10.1096/fj.03-0073rev

36. Cadet JL, Jayanthi S, Deng X. Methamphetamine-induced neuronal apoptosis involves the activation of multiple death pathways. Review Neurotoxicity Research 2005;8:199-206.

37. Stephans SE, Yamamoto BK. Methamphetamine-induced neurotoxicity: roles for glutamate and dopamine efflux. Synapse 1994;17:203-9. doi: 10.1002/syn.890170310

38. Kimura Y, Kimura H. Hydrogen sulfide protects neurons from oxidative stress. The FASEB Journal 2004;18:1165-7. doi: 10.1096/fj.04-1815fje

39. Stoll G, Kleinschnitz C, Nieswandt B. Combating innate inflammation: a new paradigm for acute treatment of stroke? Annals of the New York Academy of Sciences 2010;1207:149-54.

40. Chu K, Yin B, Wang J, Peng G, Liang H, Xu Z, et al. Inhibition of P2X7 receptor ameliorates transient global cerebral ischemia/reperfusion injury via modulating inflammatory responses in the rat hippocampus. Journal of Neuroinflammation 2012;9:69. doi: 10.1186/1742-2094-9-69

41. Feuerstein G, Liu T, Barone F. Cytokines, inflammation, and brain injury: role of tumor necrosis factor-alpha. Cerebrovascular and Brain Metabolism Reviews 1994;6:341-60.

Journal of Knowledge & Health
in Basic Medical Sciences 2019; Vol 14, No 2

DOI: 10.22100/jkh.v14i2.2229

Original Article

The Evaluation Effect of Hydrogen Sulfide on Impairment Learning and Memory and Necrosis Cell Death on Hippocampus in Methamphetamine Neurotoxicity in Male Rats

Fateme Ghanbari (Ph.D.)[1], Mehdi Khaksari (Ph.D.)[2*], Golamhassan Vaezi (Ph.D.)[1], Vida Hojati (Ph.D.)[1], Abdolhossein Shiravi (Ph.D.)[1]

1- Dept. of Biology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran.
2- Addiction Research Center, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran.

Received: 4 May 2019**, Accepted:** 3 July 2019

Abstract:

Introduction: *Methamphetamine is one of a number of artificial stimulants that can cause irreversible damage to the central nervous system. Recent studies have shown that methamphetamine result in neuronal damage through several ways like effecting on brain neurotransmitters such as dopamine, increased free radicals and oxidative stress, accelerated cell death, and apoptosis. In addition, there are many studies and evidence of anti-inflammatory, anti-apoptotic and antioxidant effects of hydrogen sulfide on various types of neurological diseases. Therefore, this study was designed to help prove the function of sulfide hydrogen neurotransmitter protection against neurotoxic activity of methamphetamine.*

Methods: *Methamphetamine neurotoxicity was induced by 40 mg/kg of METH in four intraperitoneally (IP) injections (e.g., 4×10 mg/kg q. 2-h, IP.). NaHS was administered at 30- min, 24-h, and 48 h after the final injection of METH. Spatial memory test was evaluated by Morris water maze then the brains were removed for Nissl staining to assess necrosis neuronal death within the hippocampal CA1 area*

Results: *Behavioral tests shows that H2S treatment could significantly improve spatial memory deficits and learning ($P<0.05$) versus the METH group. Moreover, H2S could significantly reduce necrosis cell death ($P<0.01$) in CA1 area of hippocampus*

Conclusion: *According to the findings, H2S exerts significant neuroprotective effects on METH neurotoxicity due to its antioxidant and anti-inflammatory activity.*

Keywords: Hydrogen sulfide, Methamphetamine neurotoxicity, Apoptosis, Neuroinflammation, Antioxidant activity.

Conflict of Interest: No

***Corresponding author**: M. Khaksari, **Email**: Khaksari417@yahoo.com*

Citation: Fateme Ghanbari, Mehdi Khaksari, Vida Hojati, Golamhassan Vaezi, Abdolhossein Shiravi. The evaluation effect of hydrogen sulfide on impairment learning and memory and necrosis cell death on hippocampus in methamphetamine neurotoxicity in male rats. Journal of Knowledge & Health in Basic Medical Sciences 2019;14(2):23-32.