

## Research Paper

# The Effects of Sodium Hydrosulfide on Motor Learning in a Rat Model of Parkinson's Disease



\* Mohammad Hossein Esmaeili<sup>1</sup>, Hashem Haghdoost Yazdi<sup>1</sup>, Esmail Abbasi<sup>1</sup>, Neda Farshad<sup>1</sup>

1. Department of Physiology and Biophysics, School of Medicine, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran.



**Citation** Esmaeili MH, Haghdoost H, Abbasi E, Farshad N. The Effects of Sodium Hydrosulfide on Motor Learning in a Rat Model of Parkinson's Disease. The Journal of Qazvin University of Medical Sciences. 2019; 22(6):106-115. <https://doi.org/10.32598/JQUMS.22.6.106>

**doi** <https://doi.org/10.32598/JQUMS.22.6.106>



Received: 27 May 2018

Accepted: 28 Aug 2018

Available Online: 01 Feb 2019

### Keywords:

Hydrogen Sulfide, 6-Hydroxydopamine, Rotarod test, Medial Forebrain Bundle (MFB), Parkinson's Disease

## ABSTRACT

**Background** Hydrogen Sulfide (H<sub>2</sub>S), a novel endogenous gasotransmitter, plays an important role in neuromodulation and memory performance and also protects neurons against neurotoxin-induced neurodegeneration.

**Objective** This study aimed to investigate the potential neuroprotective effects of Sodium Hydrosulfide (NaHS), on motor learning in a unilateral 6-Hydroxydopamine (6-OHDA) rat model of Parkinson's Disease.

**Methods** Male Wistar rats were subjected to unilateral injection of 6-OHDA (15 µg) into the Medial Forebrain Bundle (MFB) and then treated with NaHS for 25 days. Animals were divided into control, sham, sham plus NaHS, Parkinson (6-OHDA), Parkinson plus vehicle (saline), and Parkinson plus NaHS (2.8 and 5.6 mg/kg, IP) groups, (N=8). One-way ANOVA followed by turkey's test was applied for statistical analyses of the data.

**Findings** The riding time in fixed and accelerating speed rotarod were significantly decreased in Parkinson rats (6-OHDA group) compared to controls in all training days (P<0.001). Treatment with NaHS (2.8 and 5.6 mg/kg/d) reversed these decreases in a dose-dependent manner, so no significant differences were found in these parameters between the control and Parkinson plus NaHS groups during the accelerating speed rotarod test.

**Conclusion** In the Parkinson rats, NaHS administration enhanced and improved the endurance time in the rotarod test. These results demonstrate that NaHS treatment enhances rat motor balance and coordination and suggest treatment with NaHS attenuates motor impairments in the Parkinson rats.

## Extended Abstract

### 1. Introduction

Parkinson Disease (PD) is a progressive neurodegenerative disorder characterized by a progressive loss of Substantia Nigra pars compacta (SNc) dopaminergic neurons, which leads to motor symptoms of bradykinesia, rigidity, resting tremor, and postural imbalance [1].

PD is a neurodegenerative condition in which dementia may be observed even in the early stage of the disease together with mild motor disabilities that follows midbrain dopaminergic neuron loss [2].

The prevalence of cognitive dysfunction is high with reports indicating that this non-motor symptom negatively affects the quality of life of about 60% of patients with PD and cause morbidity and mortality in 36% of patients

### \* Corresponding Author:

Mohammad Hossein Esmaeili, PhD.

Address: Department of Physiology and Biophysics, School of Medicine, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran.

Tel: +98 (281) 3336002-5

E-Mail: esmail66@yahoo.com

at the early onset of the disease [3]. Therefore, the patients suffering from PD, appear to be particularly susceptible to develop cognitive impairments 4-6 times more than what happens with normal aging [4].

Both structural and functional changes of the hippocampus which are involved in cognitive processes such as learning and memory have been observed in PD patients [5, 6]. Several studies have also shown that the reduction of hippocampal volume was accompanied by cognitive deficits in PD patients [7]. Numerous studies have suggested that neuroinflammation and oxidative stress play major roles in the pathogenesis of nigral dopaminergic cell death in PD [8].

6-Hydroxydopamine (6-OHDA) was the first dopaminergic neurotoxin used experimentally to induce PD [9]. The neuronal damage induced by 6-OHDA is mainly due to the great oxidative stress caused by the toxin. For this reason, unilateral injection of 6-OHDA is a good model for studying oxidative stress in the pathogenesis of PD. To date, three main neurotransmitters have been identified: Nitric Oxide (NO), Carbon monoxide (CO), and Hydrogen Sulfide (H<sub>2</sub>S). It has been discovered that H<sub>2</sub>S plays multiple functional roles in the body from cardiovascular tone regulation to neuromodulation.

In recent years, it has been demonstrated that H<sub>2</sub>S as a cytoprotectant, significantly improves spatial learning and memory impairment induced by A $\beta$  and exerts anti-inflammatory, anti-apoptotic, and antioxidant effects [10]. However, the possible role of H<sub>2</sub>S as an anti-oxidant agent in cognitive dysfunction in a rat model of PD has not yet been fully elucidated. Therefore, the present study was designed to investigate the protective effects of H<sub>2</sub>S against 6-OHDA-induced motor learning impairment in a unilateral 6-OHDA rat model of PD.

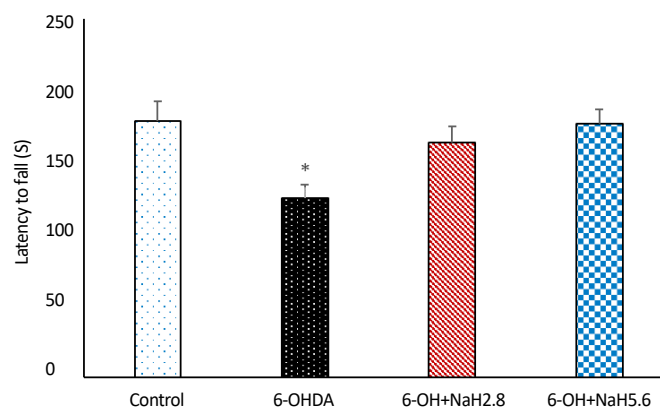
## 2. Methods and Materials

Animals were first anesthetized with Intraperitoneal (IP) injection of ketamine (100 mg/kg) and xylazine (10 mg/kg) and were then placed in a stereotactic apparatus. Burr holes were drilled in the right side of the skull and 4  $\mu$ g of 6-OHDA mixed in 2  $\mu$ L of 0.2% ascorbic acid with 0.9% normal saline was injected into the ascending mesostriatal pathway using stereotactic positioning (4.4 mm posterior to the bregma, 1.2 mm lateral to the midline, and 7.8 mm below the dura) near the MFB at a rate of 0.2  $\mu$ L.

Administration of normal saline vehicle with the same volume was performed as sham surgery. Then the animals were divided into seven groups; including control, sham, sham plus NaHS (5.6 mg/kg), Parkinson (6-OHDA), Parkinson plus vehicle (saline), and Parkinson plus NaHS (2.8 and 5.6 mg/kg). Animals in the sham plus NaHS and 6-OHDA plus NaHS groups received daily intraperitoneal administration of NaHS (Sigma-USA) post-operation for 25 days. NaHS was dissolved in distilled water. Behavioral tests were performed 24 h after the last injection. Motor coordination was assessed using an automated rotating rod [11, 12]. One-way ANOVA was applied for statistical analyses of the data. The level of significance was less than 0.05.

## 3. Results

The overall results showed no statistically significant differences in different parameters between the sham, control, and sham plus NaHS groups. Furthermore, no statistically significant difference was found between the 6-OHDA and 6-OHDA plus vehicle (saline) groups with respect to different parameters. Data are not shown. Therefore, these data are not depicted graphically and the data obtained from the 6-OHDA plus saline (6-OHDA group) and 6-OHDA plus



**Figure 1.** Comparison of latency to fall in control and experimental groups

The Journal of  
Qazvin University of Medical Sciences (JQUMS)

Effects of NaHS on 6-OHDA-induced impairment in motor learning of the rats in the rotarod test. All values are represented as Mean $\pm$ SEM. \* P<0.05; Relative to the control group.

NaHS (2.8 and 5.6 mg/kg) groups were compared with each other and with the control group.

The riding time in fixed and accelerating speed rotarod significantly decreased in Parkinson rats (6-OHDA group) compared to controls, in all of the training days. Treatment with NaHS (2.8 and 5.6 mg/kg/d) reversed these decreases in a dose-dependent manner, so no significant differences were found between the control and Parkinson plus NaHS groups in these parameters during the fixed and accelerating speed rotarod test (Figure 1).

Our results showed that microinjection of 6-OHDA into the MFB depressed motor performances of animals on the rotarod and remarkably decreased the time that animals balanced steadily on the rotarod, whereas administration of NaHS (2.8 and 5.8 mg/kg) reversed the inhibitory effects of 6-OHDA on rotarod and considerably increased the animals' endurance time on rotarod. These results demonstrate that NaHS enhances rat motor balance and coordination in a unilateral 6-OHDA rat model of PD.

#### 4. Conclusion

In the Parkinson rat group, NaHS administration enhanced and improved the endurance time in the rotarod test. These results demonstrate that NaHS treatment enhances rat motor balance and coordination and suggest that treatment with NaHS attenuates motor impairments in the Parkinson rat group.

#### Ethical Considerations

##### Compliance with ethical guidelines

This research was approved by the Ethics Committee of the Qazvin University of Medical Sciences (code: IR.QUMS.REC.1396.476).

##### Funding

The present paper was extracted from the MSc. thesis of Neda Farshad, in Department of Physiology and Biophysics, School of Medicine, Qazvin University of Medical Sciences.

##### Authors' contributions

Conception, design and revising the article critically for important intellectual content: Mohammad Hossein Esmaili; acquisition, Analysis and interpretation of data: Mohammad Hossein Esmaili, Esmail Abbasi, Neda Farshad; and Drafting the article: Mohammad Hossein Esmaili, Hashem Haghdoošt Yazdi.

##### Conflict of interest

The authors declared no conflict of interest.

##### Acknowledgments

The authors would like to thank the Department of Physiology, School of Medical Sciences, Qazvin University of Medical Sciences.

## بررسی اثرات هیدروسولفید سدیم بر یادگیری حرکتی در مدل موش صحرایی پارکینسونی

\* محمد حسین اسماعیلی<sup>۱</sup>، هاشم حق دوست<sup>۱</sup>، اسماعیل عباسی<sup>۱</sup>، ندا فرشاد<sup>۱</sup>

۱- گروه فیزیولوژی و فیزیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران.

### چکیده

**زمینه:** سولفید هیدروژن که نوعی ناقل گازی درون‌زای جدید است، نقش مهمی در تعدیل عصبی و حافظه دارد و از نورون‌ها در مقابل مواد سمی تخریب‌کننده محافظت می‌کند.

**هدف:** از این مطالعه بررسی اثرات بالقوه محافظت نورونی هیدروسولفید سدیم بر یادگیری حرکتی در مدل موش پارکینسونی یک‌طرفه ۶-هیدروکسی دوپامین است.

**مواد و روش‌ها:** سم ۶-هیدروکسی دوپامین به صورت یک‌طرفه به ناحیه دسته مغز جلویی میانی تزریق شد و موش‌ها ۲۵ روز تحت درمان با هیدروسولفید سدیم قرار گرفتند. حیوانات به گروه‌های کنترل، شش، شش به همراه هیدروسولفید سدیم (۵/۶)، پارکینسونی و پارکینسونی به همراه سالین و هیدروسولفید سدیم (۲/۸ و ۵/۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم تقسیم شدند (۸ رأس موش در هر گروه). برای مقایسه نتایج بین گروه‌ها از آزمون آماری آنوای یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد.

**یافته‌ها:** استقامت در موش‌های گروه پارکینسونی در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی‌داری در آزمون روتارود با سرعت چرخش ثابت و شتاب‌دار کاهش یافت ( $P < 0.001$ ). درمان با هیدروسولفید سدیم این کاهش را به صورت وابسته به دُز معکوس کرده؛ به گونه‌ای که هیچ تفاوت معنی‌داری در این متغیرها بین گروه کنترل و گروه پارکینسونی به همراه هیدروسولفید سدیم در طی آزمون روتارود با سرعت چرخش شتاب‌دار مشاهده نشد.

**نتیجه‌گیری:** تزریق هیدروسولفید سدیم به موش‌های پارکینسونی، باعث بهبود و افزایش زمان استقامت در آزمون روتارود آن‌ها شد که نشان می‌دهد هیدروسولفید سدیم موجب تقویت هماهنگی حرکتی می‌شود و می‌تواند اختلالات حرکتی را در موش‌های پارکینسونی کاهش دهد.

تاریخ دریافت: ۶ خرداد ۱۳۹۷

تاریخ پذیرش: ۶ شهریور ۱۳۹۷

تاریخ انتشار: ۱۲ بهمن ۱۳۹۷

### کلیدواژه‌ها:

سولفید هیدروژن،  
۶-هیدروکسی دوپامین،  
آزمون روتارود، دسته  
مغز جلویی میانی،  
بیماری پارکینسون

### مقدمه

محصولات فرعی تولید می‌شوند که باعث آسیب به میتوکندری سلول‌ها می‌شوند. نورون‌های دوپامینرژیک، به‌ویژه مستعد تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن هستند [۱]. درمان با داروی لوودوپا کمبود دوپامین در استریاتوم مغز و به دنبال آن بسیاری از علائم بیماری را برطرف می‌کند، اما این دارو نمی‌تواند جلوی مرگ نورون‌های دوپامینرژیک و پیشرفت بیماری را بگیرد و درمان طولانی‌مدت با آن سبب تسریع مرگ نورون‌های دوپامینرژیک بر اثر استرس اکسیداتیو و دیسکینزی می‌شود [۲]. از این رو در حال حاضر تحقیقات به سمت شناخت روش‌های نوین برای جلوگیری از مرگ نورون‌های دوپامینرژیک و کند کردن پیشرفت بیماری می‌رود.

سولفید هیدروژن نوعی مولکول سیگنالینگ درون‌زاست و

بیماری پارکینسون دومین بیماری شایع تخریب عصبی بعد از بیماری آلزایمر است که علائم کلینیکی آن عبارتند از: لرزش در حالت استراحت، کندی حرکات، بی‌حرکتی، اختلال در راه‌رفتن، بی‌ثباتی در وضعیت و صورت ماسک‌مانند [۱]. این بیماری با از دست رفتن نورون‌های دوپامینرژیک مغز میانی و کاهش متعاقب دوپامین در استریاتوم ایجاد می‌شود [۲]. پاتوفیزیولوژی بیماری پارکینسون به‌خوبی شناسایی نشده است، اما مشخص شده است که استرس اکسیداتیو و اختلال در عملکرد میتوکندری‌ها نقش مهمی در آن ایفا می‌کنند [۳].

در فرایند انتقال الکترون در میتوکندری‌ها اکسیدانت‌های قوی مانند رادیکال‌های سوپراکسید و هیدروژن پراکسید به عنوان

\* نویسنده مسئول:

دکتر محمد حسین اسماعیلی

نشانی: قزوین، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی و فیزیک پزشکی.

تلفن: ۰۲۰۳۳۳۶۰۰۲ (۲۸۱) ۹۸+

رایانامه: email66@yahoo.com

در هر گروه، تهیه شده از مؤسسه رازی) که وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم داشتند، به ۷ گروه کنترل، شش، شش به همراه هیدروسولفید سدیم (۵/۶ میلی گرم بر کیلوگرم داخل صفاقی)، پارکینسونی، پارکینسونی به همراه سالیسین و پارکینسونی به همراه هیدروسولفید سدیم (۲/۸ و ۵/۶ میلی گرم بر کیلوگرم داخل صفاقی) تقسیم شدند. موش‌ها، در شش قفس جداگانه در شرایط استاندارد از نظر دما (۲۳±۲) درجه سانتی‌گراد) و نور نگهداری شدند.

در مدت آزمایش، موش‌ها آب و غذای طبیعی خود را آزادانه دریافت می‌کردند. این تحقیق، در چهار مرحله اجرا شد: ۱. جراحی استرئوتاکسیک و تزریق سم ۶-هیدروکسی دوپامین به درون ناحیه دسته مغز جلویی میانی<sup>۸</sup> به منظور ایجاد مدل پارکینسونی یک‌طرفه [۱۴]؛ ۲. درمان موش‌های پارکینسونی با تزریق درون صفاقی هیدروسولفید سدیم با دوز ۲/۸ و ۵/۶ میلی گرم بر کیلوگرم، روزانه برای ۲۵ روز [۱۳]؛ ۳. انجام آزمون چرخش القاشده با اپومرفین (۰/۵ میلی گرم بر کیلوگرم داخل صفاقی) در روز بیست و هشتم و شمردن تعداد چرخش‌های موش در خلاف جهت تزریق سم در مدت زمان یک ساعت برای ارزیابی شدت بیماری پارکینسون موش‌ها؛ ۴. انجام آزمون رفتاری روتارود از روز بیست و نهم به بعد در تمام گروه‌ها برای ارزیابی توانایی حرکتی موش‌های پارکینسونی.

برای ایجاد مدل پارکینسونی یک‌طرفه در موش‌های نر صحرایی سم ۶-هیدروکسی دوپامین (۱۵ میکروگرم حل شده در سالیسین حاوی ۰/۲ درصد اسید اسکوربیک) با جراحی استرئوتاکسیک به ناحیه دسته مغز جلویی میانی تزریق شد. در این جراحی ابتدا حیوانات با استفاده از کتامین/ زایلازین (۶/۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم) بیهوش و سپس در دستگاه استرئوتاکس قرار داده شدند. در پوست سر یک برش طولی به اندازه ۲ سانتی‌متر ایجاد و سطح استخوان آشکار شد. سپس نقطه برگما مشخص شد و با استفاده از دستگاه استرئوتاکس و به کمک اطلس پاکسینوز محل مدنظر تزریق نشانه‌گذاری شد (۴/۴- نسبت به برگما و ۱/۲+ نسبت به خط وسط و ۷/۸- نسبت به سخت شامه).

سپس سطح جمجمه با مته دندانپزشکی سوراخ شد و با استفاده از سرنگ هامیلتون تزریق سم ۶-هیدروکسی دوپامین به درون ناحیه مد نظر به‌آهستگی صورت گرفت [۱۵]. در گروه آزمایش به جای سم ۶-هیدروکسی دوپامین، حلال آن یعنی سالیسین حاوی ۰/۲ درصد اسید اسکوربیک به درون دسته مغز جلویی میانی تزریق شد.

### آزمون روتارود

به کمک این آزمون هماهنگی حرکات، حفظ تعادل و مهم‌تر از همه توانایی یادگیری حرکتی در حیوانات ارزیابی می‌شود.

### 8. Medial Forebrain Bundle (MFB)

پس از منوکسید کربن و نیتروکساید، به عنوان ناقل گازی سوم شناخته شده است. سولفید هیدروژن اعمال فیزیولوژیک مهمی در سیستم عصبی مرکزی انجام می‌دهد. گزارش‌ها نشان می‌دهند سولفید هیدروژن در تقویت طولانی مدت<sup>۱</sup> و تنظیم هوموستاز کلسیم و مهار استرس‌های اکسیداتیو دخالت دارد. همچنین این ماده اثرات ضدالتهاب، آنتی‌اکسیدان، ضدآپوپتوز و تنظیم سیناپسی نیز دارد [۵]. این ماده قلب را در برابر آسیب ایسکمیک محافظت و تکثیر سلولی و آپوپتوز را تعدیل می‌کند [۵].

سولفید هیدروژن التهاب عصبی القاشده با لیپوپلی ساکاریدها و امیلوئید بتا را مهار می‌کند [۶، ۷]. کیمورا<sup>۲</sup> و همکاران گزارش دادند گاز سولفید هیدروژن نورون‌ها را در برابر استرس اکسیداتیو محافظت می‌کند [۸]. کامات<sup>۳</sup> و همکاران نشان دادند استشمام گاز سولفید هیدروژن تخریب عصبی و اختلالات مغزی عروقی القاشده با تجویز درون مغزی هموسیستئین در مغز موش‌های سوری را کاهش می‌دهد [۹]. لو<sup>۴</sup> و همکاران نشان دادند تزریق سیستمیک هیدروسولفید سدیم (دهنده سولفید هیدروژن) مرگ نورون‌های دوپامینرژیک بر اثر تجویز سم متیل فنیل تتراهیدروپیریدین<sup>۵</sup> در موش‌های سوری را کاهش می‌دهد [۵].

کید<sup>۶</sup> و همکاران گزارش کردند استنشاق سولفید هیدروژن از مرگ نورون‌های دوپامینرژیک و اختلالات حرکتی بر اثر تجویز سم متیل فنیل پیریدینیم جلوگیری می‌کند [۱۰]. هو<sup>۷</sup> و همکاران گزارش کردند تزریق سیستمیک هیدروسولفید سدیم می‌تواند از ایجاد بیماری پارکینسون با روتنون (مهارکننده اختصاصی کمپلکس میتوکندریایی ۱ در غشای داخلی میتوکندری‌ها که باعث دژنراسیون سیستم دوپامینرژیک می‌شود) جلوگیری کند و سلول‌ها را در برابر آسیب ناشی از تزریق سم ۶-هیدروکسی دوپامین و استرس اکسیداتیو محافظت کند. همچنین این محققان نشان دادند تجویز این ماده به موش‌های پارکینسونی سبب معکوس شدن اختلالات حرکتی و مرگ نورون‌های دوپامینرژیک می‌شود [۶، ۷].

با توجه به اثرات سودمند هیدروسولفید سدیم در محافظت از نورون‌ها، هدف از این مطالعه تجربی، بررسی اثرات تزریق سیستمیک هیدروسولفید سدیم بر یادگیری حرکتی موش‌های پارکینسونی مدل ۶-هیدروکسی دوپامین در آزمون روتارود بود [۱۱-۱۳].

### مواد و روش‌ها

در این مطالعه ۵۶ موش صحرایی نر ویستار (۸ رأس موش

1. Long Term Potentiation (LTP)
2. Kimura
3. Kamat
4. Lu
5. 1-Methyl-4-Phenyl-1,2,3,6-TetrahydroPyridine (MPTP)
6. Kida
7. Hu

اختلاف بین گروه کنترل و آزمایش با چهار گروه پارکینسونی و پارکینسونی به همراه سالیین و پارکینسونی به همراه هیدروسولفید سدیم (۲/۸ و ۵/۶ میلی گرم بر کیلوگرم) کاملاً معنی دار بود ( $P < 0/001$ ). نتایج این مرحله نشان داد تعداد چرخش‌ها در گروه پارکینسونی با گروه پارکینسونی به همراه سالیین تفاوت معنی داری ندارند ( $P > 0/05$ ). به همین دلیل نتایج بقیه گروه‌ها فقط با گروه پارکینسونی مقایسه شد و در مربوط به آزمون روتارود نتایج گروه آزمایش و گروه پارکینسونی به همراه سالیین حذف شدند. تعداد چرخش‌ها در گروه پارکینسونی به طور معنی داری بیشتر از گروه‌های پارکینسونی به همراه هیدروسولفید سدیم (۲/۸ و ۵/۶ میلی گرم بر کیلوگرم) بود ( $P < 0/05$ ) (شکل شماره ۱).

نتایج آزمون روتارود با سرعت چرخش ثابت هشت دور در دقیقه (شکل شماره ۲) نشان داد استقامت و تعادل حرکتی در گروه کنترل بیشتر از گروه‌های پارکینسونی است. موش‌های گروه کنترل مدت بیشتری روی میله روتارود حرکت می‌کردند و تأخیر زمان افتادن آن‌ها به طور معنی داری بیشتر از گروه‌های پارکینسونی بود. نتایج نشان داد اختلاف بین گروه کنترل و گروه‌های پارکینسونی و پارکینسونی به همراه هیدروسولفید سدیم (۲/۸ و ۵/۶ میلی گرم بر کیلوگرم) در ۳ روز آموزش معنی دار است ( $P < 0/01$  در ۲ روز اول و  $P < 0/05$  در روز سوم)، ولی بین گروه‌های پارکینسونی و پارکینسونی به همراه هیدروسولفید سدیم در این مرحله اختلاف معنی داری مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ), هرچند گروه‌های پارکینسونی به همراه هیدروسولفید سدیم (۲/۸ و ۵/۶ میلی گرم بر کیلوگرم) تأخیر زمانی بیشتری نسبت به گروه پارکینسونی نشان دادند (شکل شماره ۲).

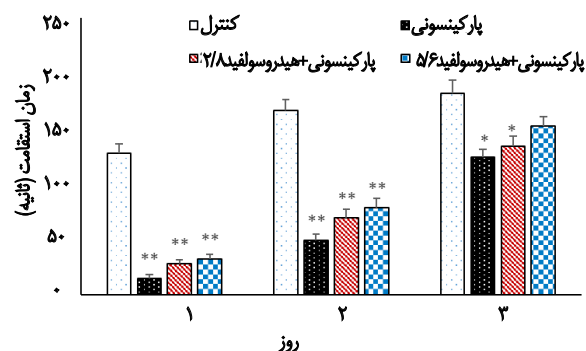
همچنین نتایج آزمون روتارود با سرعت چرخش شتاب‌دار ۴ تا ۴۰ دور در دقیقه در عرض ۱۲۰ ثانیه (شکل شماره ۳) نشان داد باز هم استقامت و تعادل حرکتی در موش‌های گروه

دستگاه روتارود شامل چارچوبی پلاستیکی است که در آن میله‌های استوانه‌ای با قابلیت چرخش در سرعت‌های مختلف تعبیه شده است که حیوان می‌تواند روی آن قدم بزند. در این آزمایش سرعت چرخش میله‌های استوانه‌ای به گونه‌ای تنظیم می‌شود که در فاصله زمانی ۱۲۰ ثانیه‌ای از ۵ دور بر ثانیه به ۴۰ دور بر ثانیه برسد. زمانی که حیوان می‌تواند روی میله‌ها قدم بزند معیاری از توانایی اجرای حرکتی حیوان است.

این آزمون در ۳ روز پشت سر هم هر روز سه بار با فاصله زمانی حداقل یک ساعت (در مجموع ۹ جلسه) انجام می‌شود. حیوانات سالم پس از چند جلسه به خوبی یاد می‌گیرند که روی میله‌ها در تمام مدت آزمون قدم بزنند، تعادل خود را حفظ و از افتادن خود از دستگاه جلوگیری کنند. از طرف دیگر حیوانات با اختلالات حرکتی مثلاً حیوانات پارکینسونی یا حیوانات مبتلا به آلزایمر یا آتاکسیا در انجام این آزمون ضعیف عمل می‌کنند و اجرای آن را یاد نمی‌گیرند یا دیر یاد می‌گیرند [۱۶]. برای آنالیز آماری نتایج، از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد.

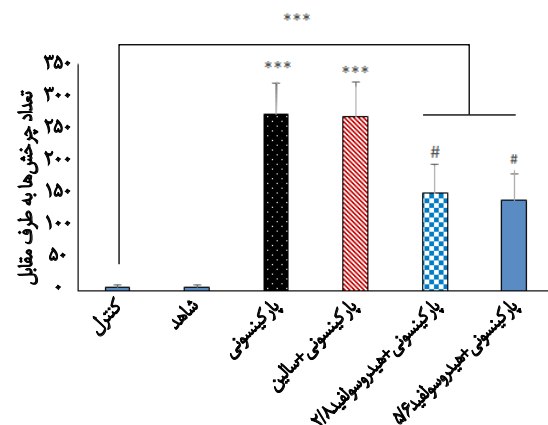
## یافته‌ها

نتایج آزمون چرخش القاشده با اپومرفین نشان داد فقط موش‌هایی که سم ۶-هیدروکسی دوپامین به درون ناحیه دسته مغز جلویی میانی آن‌ها تزریق شده بود، بعد از تزریق داخل صفاقی اپومرفین چرخش نشان می‌دهند که نشانه پارکینسونی شدن آن‌هاست. در حالی که موش‌های گروه کنترل و گروه آزمایش بعد از تزریق داخل صفاقی اپومرفین هیچ‌گونه چرخشی نشان ندادند. از آنجایی که بین گروه کنترل و گروه آزمایش در این آزمون تفاوت معنی داری مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ), در آزمون روتارود فقط از گروه کنترل استفاده شد.



مجله علمی  
دانشگاه علوم پزشکی قزوین

شکل ۲. مقایسه تأخیر زمان افتادن (زمان استقامت) بین گروه‌ها در ۳ روز آموزش در آزمون روتارود با سرعت چرخش ثابت ۸ دور در دقیقه  $P < 0/05$  #  $P < 0/01$  \*\*\* اختلاف معنادار گروه مربوط با گروه کنترل



مجله علمی  
دانشگاه علوم پزشکی قزوین

شکل ۱. مقایسه تعداد چرخش‌های خالص به طرف مقابل بین گروه‌ها در ۳۰ دقیقه بعد از تزریق اپومرفین  $P < 0/001$  \*\*\* اختلاف معنادار گروه مربوط با گروه کنترل؛ #  $P < 0/05$  و اختلاف معنادار گروه مربوط با گروه پارکینسونی

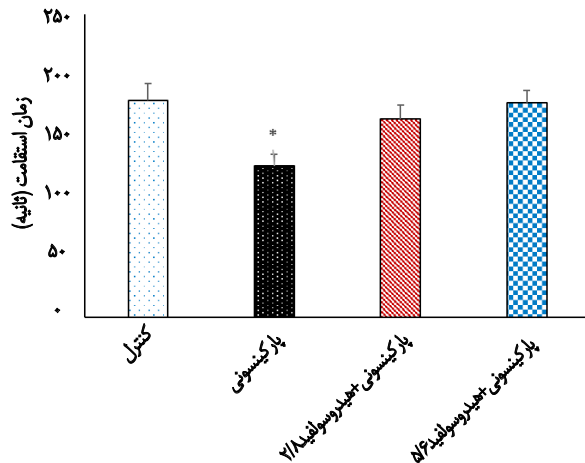
حرکتی و اختلالات مغزی عروقی در موش‌های پارکینسونی را از طریق سازوکارهای مختلفی از جمله اثرات ضدالتهابی و ضد آپوپتوزی و ضد اکسیداتیو و مهار متابولیسم کاهش دهد، همخوانی دارد [۱۰-۶].

همچنین با نتایج محققانی که نشان داده‌اند هیدروسولفید سدیم می‌تواند نورون‌های مغز را در مقابل ضربه مغزی محافظت کند و از کاهش حافظه ناشی از ضربه مغزی و تزریق هموسیستین جلوگیری کند همخوانی دارد [۱۷، ۱۱۳]. در این رابطه لیو<sup>۹</sup> و همکاران نشان دادند هیدروسولفید سدیم از طریق مهار تولید امیلوئید بتا می‌تواند یادگیری در موش‌های ترنس ژنیک را بهبود بخشد [۱۸].

همچنین تجویز دُز کم هیدروسولفید سدیم می‌تواند به طور مؤثری اندام‌های آسیب‌دیده را از طریق تنظیم استرس اکسیداتیو محافظت کند [۱۹، ۱۱۸]. هیدروسولفید سدیم می‌تواند از طریق مهار استرس اکسیداتیو بر ضداپسکمی‌های موضعی و کلی مغز اثرات مفید و سودمندی داشته باشد [۲۱-۱۹]. همچنین هیدروسولفید سدیم از طریق کاهش تولید واسطه‌های پیش‌التهابی می‌تواند اختلال شناختی ناشی از عمل جراحی یا مصرف لیپوپولی ساکراید را کاهش دهد [۲۳، ۲۲].

همین‌طور هیدروسولفید سدیم می‌تواند از طریق افزایش فعالیت و بیان گیرنده‌های سطحی گلوتامات و همچنین بهبود تقویت طولانی‌مدت هیپوکامپ، اختلالات شناختی و اختلالات پلاستی سیتی سیناپسی در موش‌های آلزایمری و ترانس ژنیک را کاهش دهد [۲۴-۲۷]. این شواهد نشان می‌دهد تجویز هیدروسولفید سدیم در یک دُز مناسب ممکن است اثر محافظتی در برابر آسیب مغزی ناشی از ضربه و بیماری آلزایمر و پارکینسون داشته باشد [۱۹].

بیماری پارکینسون یک اختلال تخریب‌کننده عصبی است که با اختلالات حرکتی و طیف وسیعی از علائم غیرحرکتی شامل اختلالات خواب و اختلالات شناختی و عاطفی همراه است. علائم غیرحرکتی بیماری پارکینسون یک مشکل فزاینده فوری برای درمان بیماری پارکینسون است. در بیماری پارکینسون اختلال عملکرد زوال عقل یا اختلال شناختی ممکن است پیش از اختلال حرکتی بروز کند. شیوع اختلالات شناختی در بیماران پارکینسونی زیاد است. گزارش‌ها نشان می‌دهد حدود ۶۰ درصد از بیماران مبتلا به پارکینسون به اختلالات شناختی نیز مبتلا می‌شوند. به نظر می‌رسد بیماران مبتلا به پارکینسون حساسیت بیشتری برای ابتلا به اختلالات شناختی دارند؛ به طوری که چهار تا شش برابر بیشتر از افراد مسن معمولی به اختلالات شناختی مبتلا می‌شوند [۲۸، ۲۹].



مجله علمی  
دانشگاه علوم پزشکی قزوین

شکل ۳. مقایسه تأخیر زمان افتادن (زمان استقامت) در بین گروه‌ها در روز سنجش استقامت در آزمون روتارود با سرعت چرخش شتاب‌دار (۴ تا ۴۰ دور در دقیقه در عرض ۱۲۰ ثانیه)  
\*  $P < 0.05$  اختلاف معنادار گروه مربوط با گروه کنترل

کنترل بیشتر از گروه پارکینسونی است و مدت بیشتری روی میله روتارود حرکت می‌کنند و تأخیر زمان افتادن موش‌های گروه کنترل به طور معنی‌داری بیشتر از گروه پارکینسونی بود ( $P < 0.05$ )، ولی چنین اختلاف معنی‌داری بین گروه کنترل و گروه‌های پارکینسونی به همراه هیدروسولفید سدیم (۲/۸ و ۵/۶ میلی گرم بر کیلوگرم) مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ) (شکل شماره ۳).

## بحث و نتیجه گیری

سم ۶-هیدروکسی دپامین بسیار ناپایدار است و به آسانی اکسیده می‌شود و رادیکال‌های آزاد اکسیژن تولید می‌کند که می‌تواند سبب مرگ نورون‌های دپامینرژیک از طریق آپوپتوزیس در جسم سیاه شود و مدل پارکینسونی یک‌طرفه را ایجاد کند که نشانه آن در مطالعه ما افزایش معنی‌دار تعداد چرخش‌ها به طرف مقابل در آزمون چرخش القاشده با اپومرفین در گروه پارکینسونی بود. نتایج مرحله اول کار ما نشان داد تزریق داخل صفاقی هیدروسولفید سدیم (۲/۸ و ۵/۶ میلی گرم بر کیلوگرم) به موش‌های پارکینسونی تعداد چرخش‌های آن‌ها را کاهش می‌دهد که نشان می‌دهد هیدروسولفید سدیم می‌تواند شدت بیماری پارکینسون را کاهش دهد.

همچنین نتایج مرحله دوم مطالعه حاضر نشان داد هیدروسولفید سدیم می‌تواند استقامت و تعادل حرکتی در موش‌های پارکینسونی را در آزمون روتارود با سرعت چرخش ثابت و شتاب‌دار افزایش دهد و اختلال در یادگیری حرکتی آن‌ها را بهبود بخشد. از این نظر نتایج ما با نتایج محققانی که نشان داده‌اند تزریق درون صفاقی هیدروسولفید سدیم و استشمام سولفید هیدروژن می‌تواند میزان تخریب نورونی و اختلالات

### سپاسگزاری

بدین وسیله از همکاری معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی قزوین تشکر و قدردانی می‌شود.

با این حال، تا به امروز، سازوکار سلولی زمینه‌ساز توسعه و پیشرفت اختلالات شناختی در بیماری پارکینسون ناشناخته است. نورون‌های دوپامینرژیک قشر جلویی پیشانی مغز نقش مهمی در فرایند یادگیری و حافظه کوتاه‌مدت و بلندمدت ایفا می‌کنند. شدت اختلالات شناختی در بیماران پارکینسون به تدریج و با گذشت زمان افزایش می‌یابد که میزان شدت آن با شدت آسیب سیستم دوپامینرژیک قشر جلویی پیشانی مغز همخوانی دارد. تغییر میزان دوپامین در قشر جلویی پیشانی مغز باعث پردازش غیرطبیعی و غیرواقعی اطلاعات می‌شود که به نوبه خود به کاهش یادگیری و حافظه منجر می‌شود [۲۸، ۲۹].

همه این شواهد نشان می‌دهد پارکینسونی کردن موش‌ها از طریق تزریق یک طرفه سم ۶-هیدروکسی دوپامین علاوه بر ایجاد علائم حرکتی بیماری پارکینسون، اختلال شناختی همچون اختلال در یادگیری حرکتی هم ایجاد می‌کند. به همین خاطر موش‌های گروه ۶-هیدروکسی دوپامین زودتر از موش‌های گروه کنترل از روی میله روتارود افتادند و درمان با هیدروسولفید سدیم توانست تا حدود زیادی اختلالات حرکتی و شناختی موش‌های پارکینسونی را بهبود بخشد. اختلال یادگیری حرکتی می‌تواند هم جزء دسته اختلالات حرکتی باشد و هم جزء دسته اختلالات شناختی بیماران پارکینسونی قرار گیرد و درمان با هیدروسولفید سدیم برای آن‌ها سودمند خواهد بود.

### ملاحظات اخلاقی

#### پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این مطالعه با کد اخلاق IR.QUMS.REC.1396.476 در دانشگاه علوم پزشکی قزوین ثبت شده است.

#### حامی مالی

این مقاله از پایان‌نامه ندا فرشاد، مقطع کارشناسی ارشد، در گروه فیزیولوژی و فیزیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین گرفته شده است.

#### مشارکت نویسندگان

طراح اصلی و بازبینی مقاله به لحاظ محتوایی: محمد حسین اسماعیلی؛ اکتساب، تحلیل و تفسیر داده‌ها: محمد حسین اسماعیلی، ندا فرشاد، اسماعیل عباسی؛ پیش‌نویس مقاله: محمد حسین اسماعیلی، هاشم حق‌دوست یزدی.

#### تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان، این مقاله تعارض منافع ندارد.



## References

- [1] Przedborski S. Pathogenesis of nigral cell death in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord.* 2005; 11(Suppl1):S3-7. [DOI:10.1016/j.parkreldis.2004.10.012] [PMID]
- [2] Dauer W, Przedborski S. Parkinson's disease: Mechanisms and models. *Neuron.* 2003; 39(6):889-909. [DOI:10.1016/S0896-6273(03)00568-3]
- [3] Tsang AH, Chung KK. Oxidative and nitrosative stress in Parkinson's disease. *Biochim Biophys Acta (BBA)-Mol Basis of Dis.* 2009; 1792(7):643-50. [DOI:10.1016/j.bbadis.2008.12.006] [PMID]
- [4] Wang XJ, Xu JX. Possible involvement of Ca<sup>2+</sup> signaling in rotenone-induced apoptosis in human neuroblastoma SH-SY5Y cells. *Neurosci Lett.* 2005; 376(2):127-32. [DOI:10.1016/j.neulet.2004.11.041] [PMID]
- [5] Lu M, Zhao FF, Tang JJ, Su CJ, Fan Y, Ding JH, et al. The neuroprotection of hydrogen sulfide against MPTP-induced dopaminergic neuron degeneration involves uncoupling protein 2 rather than ATP-sensitive potassium channels. *Antioxid Redox Signal.* 2012; 17(6):849-59. [DOI:10.1089/ars.2011.4507] [PMID] [PMCID]
- [6] Hu LF, Lu M, Tiong CX, Dawe GS, Hu G, Bian JS. Neuroprotective effects of Hydrogen Sulfide on Parkinson's Disease rat models. *Aging Cell.* 2010; 9(2):135-46. [DOI:10.1111/j.1474-9726.2009.00543.x] [PMID]
- [7] Xie L, Hu LF, Teo XQ, Tiong CX, Tazzari V, Sparatore A, et al. Therapeutic effect of Hydrogen Sulfide-releasing L-Dopa derivative ACS84 on 6-OHDA-induced Parkinson's disease rat model. *PLoS One.* 2013; 8(4):e60200. [DOI:10.1371/journal.pone.0060200] [PMID] [PMCID]
- [8] Kimura Y, Kimura H. Hydrogen Sulfide protects neurons from oxidative stress. *FASEB J.* 2004; 18(10):1165-7. [DOI:10.1096/fj.04-1815fje] [PMID]
- [9] Kamat PK, Kalani A, Givvimani S, Sathnur PB, Tyagi SC, Tyagi N. Hydrogen sulfide attenuates neurodegeneration and neurovascular dysfunction induced by intracerebral-administered homocysteine in mice. *Neurosci.* 2013; 252:302-19. [DOI:10.1016/j.neuroscience.2013.07.051] [PMID] [PMCID]
- [10] Kida K, Yamada M, Tokuda K, Marutani E, Kakinohana M, Kaneki M, et al. Inhaled hydrogen sulfide prevents neurodegeneration and movement disorder in a mouse model of Parkinson's disease. *Antioxid Redox Signal.* 2011; 15(2):343-52. [DOI:10.1089/ars.2010.3671] [PMID] [PMCID]
- [11] Fujita K, Yamafuji M, Nakabeppu Y, Noda M. Therapeutic approach to neurodegenerative diseases by medical gases: Focusing on redox signaling and related antioxidant enzymes. *Oxid Med Cell Longev.* 2012; 2012:324256. [DOI:10.1155/2012/324256]
- [12] Zhou CF, Tang XQ. Hydrogen Sulfide and nervous system regulation. *Chinese Med J.* 2011; 124(21):3576-82. [PMID]
- [13] Karimi SA, Hosseinmardi N, Janahmadi M, Sayyah M, Hajisoltani R. The protective effect of Hydrogen Sulfide (H<sub>2</sub>S) on Traumatic Brain Injury (TBI) induced memory deficits in rats. *Brain Res Bull.* 2017; 134:177-82. [DOI:10.1016/j.brainresbull.2017.07.014] [PMID]
- [14] Nikkha G, Duan WM, Knappe U, Jödicke A, Björklund A. Restoration of complex sensorimotor behavior and skilled forelimb use by a modified nigral cell suspension transplantation approach in the rat Parkinson model. *Neurosci.* 1993; 56(1):33-43. [DOI:10.1016/0306-4522(93)90559-X]
- [15] Paxinos G, Watson C. *The rat brain in stereotaxic coordinates*, 3<sup>rd</sup> ed. San Diego: Academic Press; 1977.
- [16] Hamm RJ, Pike BR, O'Dell DM, Lyeth BG, Jenkins LW. The rotarod test: An evaluation of its effectiveness in assessing motor deficits following traumatic brain injury. *J Neurotrauma.* 1994; 11(2):187-96. [DOI:10.1089/neu.1994.11.187] [PMID]
- [17] 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; 20(4):305-15. [PMID] [DOI: 10.1093/ijnp/pyw103]
- [18] 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.* 2016; 150-151:207-16. [DOI:10.1016/j.pbb.2016.11.002] [PMID]
- [19] Jiang X, Huang Y, Lin W, Gao D, Fei Z. Protective effects of Hydrogen Sulfide in a rat model of traumatic brain injury via activation of mitochondrial adenosine triphosphate-sensitive potassium channels and reduction of oxidative stress. *J Surg Res.* 2013; 184(2):27-35. [DOI:10.1016/j.jss.2013.03.067] [PMID]
- [20] Tan BH, Wong PT, Bian JS. Hydrogen sulfide: A novel signaling molecule in the central nervous system. *Neurochem Int.* 2010; 56(1):3-10. [DOI:10.1016/j.neuint.2009.08.008] [PMID]
- [21] 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 Res.* 2013; 1491:188-96. [DOI:10.1016/j.brainres.2012.10.046] [PMID]
- [22] Chu QJ, He L, Zhang W, Liu CL, Ai YQ, Zhang Q. Hydrogen sulfide attenuates surgical trauma-induced inflammatory response and cognitive deficits in mice. *J Surg Res.* 2013; 183(1):330-6. [DOI:10.1016/j.jss.2012.12.003] [PMID]
- [23] Gong QH, Wang Q, Pan LL, Liu XH, Huang H, Zhu YZ. Hydrogen sulfide attenuates lipopolysaccharide-induced cognitive impairment: A pro-inflammatory pathway in rats. *Pharmac Biochem Behav.* 2010; 96(1):52-8. [DOI:10.1016/j.pbb.2010.04.006] [PMID]
- [24] 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; 58(2):169-75. [DOI:10.1016/j.neuint.2010.11.010] [PMID]
- [25] Xuan A, Long D, Li J, Ji W, Zhang M, Hong L, et al. Hydrogen sulfide attenuates spatial memory impairment and hippocampal neuroinflammation in beta-amyloid rat model of Alzheimer's Disease. *J Neuroinflammation.* 2012; 9(1):202. [DOI:10.1186/1742-2094-9-202] [PMID] [PMCID]

- [26] 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 $\beta$  in APP/PS1 transgenic mice. *Neurochem Int.* 2014; 67:1-8. [DOI:10.1016/j.neuint.2014.01.004] [PMID]
- [27] 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. *Neurosci.* 2016; 335:170-83. [DOI:10.1016/j.neuroscience.2016.08.033]
- [28] Dallé E, Daniels WM, Mabandla MV. Fluvoxamine maleate effects on dopamine signaling in the prefrontal cortex of stressed Parkinsonian rats: Implications for learning and memory. *Brain Res Bull.* 2017; 132:75-81. [DOI:10.1016/j.brainres-bull.2017.05.014] [PMID]
- [29] Masini D, Lopes Aguiar C, Bonito Oliva A, Papadia D, Anderson R, Fisahn A, et al. The histamine H3 receptor antagonist thioperamide rescues circadian rhythm and memory function in experimental parkinsonism. *Transl Psychiatry.* 2017; 7(4):e1088. [DOI:10.1038/tp.2017.58] [PMID] [PMCID]