

## مقاله پژوهشی

## بررسی تأثیر سولفید هیدروژن بر یادگیری و حافظه فضایی موش صحرائی نر بالغ تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب در ماز بارنز

حسین شاطری<sup>۱</sup>، الهه حبیبی تبار<sup>۱</sup>، هیرش مریدی<sup>۱،۲</sup>، ایرج صالحی<sup>۱</sup>، علیرضا کمکی<sup>۱،۳</sup>، سیداسعد کریمی<sup>۱،۳\*</sup>

۱. مرکز تحقیقات فیزیولوژی اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران  
۲. گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، کردستان، ایران  
۳. گروه علوم اعصاب، دانشکده علوم و فناوری نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

پذیرش: ۲ بهمن ۱۴۰۰

دریافت: ۱۷ آذر ۱۴۰۰

## چکیده

**زمینه و هدف:** عملکردهای شناختی و متابولیسم سولفید هیدروژن ( $H_2S$ ) با افزایش مصرف رژیم غذایی پرچرب (HFD) مختل می‌شوند. بنابراین هدف این مطالعه بررسی اثرات سدیم هیدروسولفید (NaHS) (به عنوان دهنده  $H_2S$ ) بر تغییرات حافظه و یادگیری فضایی موش صحرائی نر تحت مصرف HFD می‌باشد.

**روش‌ها:** به دنبال ۱۱ هفته مصرف رژیم HFD و عادی با و بدون تیمار با NaHS (با دوز ۳ و ۵ میلی گرم بر کیلوگرم) در موش‌های صحرائی نر، ماز بارنز برای ارزیابی حافظه و یادگیری فضایی استفاده شد. در ماز بارنز حیوان در فضایی روشن روی سطح دایره شکل با سوراخ‌های گرد تعبیه شده در پیرامون آن قرار می‌گیرد. در زیر یکی از سوراخ‌ها جعبه‌ای تاریک با نام جعبه یا سوراخ هدف قرار دارد.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد که در رابطه با مسافت طی شده، تعداد خطاها و زمان سپری شده تا پیدا کردن سوراخ هدف در طی روزهای آموزش تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های مختلف وجود نداشت. اما در روز تست، تعداد خطاها در گروه دریافت کننده HFD و گروه کنترل دریافت کننده دوز ۵ میلی گرم NaHS در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافت. همچنین تعداد خطاها در حیوانات گروه HFD به همراه دوز ۵ میلی گرم NaHS در مقایسه با گروه HFD به تنهایی کاهش پیدا کرد.

**نتیجه‌گیری:** نتایج حاصل از تست بارنز نشان داد که HFD اثر معنی‌داری بر مرحله اکتساب تست بارنز ندارد اما موجب اختلال در بازیابی حافظه می‌شود. علاوه بر این، تجویز NaHS اختلال حافظه ناشی از مصرف HFD را معکوس می‌کند. در حیوانات کنترل، تجویز دوز ۵ میلی گرم NaHS تعداد خطاها در روز تست را افزایش داد، که ممکن است نشان دهنده وجود اختلال حافظه باشد.

**واژه‌های کلیدی:** تست بارنز، حافظه و یادگیری، رژیم غذایی پرچرب، سولفید هیدروژن، موش‌های نژاد ویستار

## مقدمه

مکان و یادآوری مکان یک شی یا وقوع یک رویداد است. علیرغم نقش موثر فاکتورهای تغذیه‌ای در سلامت عمومی بشر، اطلاعات در خصوص اثرات واقعی تغذیه بر ساختمان و عملکرد مغزی هنوز ناچیز می‌باشد. با توجه به عدم ساخت و ذخیره مواد غذایی در مغز، تغذیه روزانه تنها منبع فوری انرژی برای مغز و بنابراین تنها راه تأثیر بر عملکردهای مغزی می‌باشد. تغذیه امروزه جوامع بشری به خصوص در دنیای غرب

یادگیری و حافظه فضایی به مجموعه‌ای از رفتارها و فرآیندهایی اطلاق می‌شود که از طریق آن‌ها اطلاعات مربوط به فضای محیطی بیرونی کسب، ذخیره، سازماندهی و استفاده می‌شود. این پدیده، الگویی را برای مطالعه سیستماتیک پایه عصبی شناخت ارائه می‌دهد [۱]. در روانشناسی شناختی و علوم اعصاب، حافظه فضایی شکلی از حافظه است که مسئول ثبت و بازیابی اطلاعات مورد نیاز برای برنامه‌ریزی یک دوره در یک

می‌شود. این آزمون برای اولین بار توسط دکتر کارول بارنز<sup>۲</sup> در سال ۱۹۷۹ معرفی شد [۸].

## مواد و روش‌ها

### ملاحظات اخلاقی

تمام مراحل آزمایشات مطابق با دستورالعمل‌های مراقبت و استفاده از حیوانات مورد تأیید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی همدان و مطابق با راهنمای مؤسسه ملی بهداشت برای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی انجام شد (کد اخلاق IR.UMSHA.REC.1397.937). هر دستکاری که می‌توانست باعث درد و ناراحتی شود در غیاب حیوانات دیگر در اتاق دیگری انجام می‌شد.

### حیوانات و طراحی مطالعه

موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۲۵۰ تا ۲۶۰ گرم از حیوان‌خانه دانشگاه علوم پزشکی همدان تهیه شدند. حیوانات در گروه‌های ۲ تا ۴ تایی در قفس‌های پلاستیکی شفاف مخصوص نگهداری موش در شرایط آزمایشگاهی استاندارد با آب و غذای مناسب و تازه و همچنین دوره ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی و در دمای  $22 \pm 2$  درجه سانتیگراد نگهداری شدند. حیوانات به‌طور تصادفی به گروه‌های زیر تقسیم شدند: گروه کنترل که رژیم غذایی معمولی مصرف می‌کردند، حیوانات کنترل تحت درمان با NaHS (۳ و ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، گروه HFD که فقط رژیم غذایی پرچرب دریافت کردند (به مدت ۱۱ هفته)، و حیوانات HFD تحت درمان با NaHS (۳ و ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم). در گروه‌های دریافت‌کننده NaHS، NaHS خریداری شده از شرکت سیگماآلدردیج قبل از تزریق در سالین حل شده و بلافاصله پس از حل شدن به‌صورت داخل صفاقی تزریق می‌شد [۵].

### تهیه رژیم غذایی پرچرب

HFD مطابق با استاندارد HFD D12492 Dietary طراحی شده است که برای ایجاد چاقی استفاده می‌شود. ابتدا پودر خشک پلت با استفاده از همزن برقی به مدت ۱۵ دقیقه

و متاسفانه در کشور ما حاوی رژیم غذایی غنی از چربی اشباع و قند تصفیه شده می‌باشد که این نوع تغذیه قادر به تهدید تغییر شکل‌پذیری و مخاطره ظرفیت یادگیری مغز می‌باشد [۲]. بر اساس مشاهدات مربوط به مطالعه‌ی پیشین ما و همچنین یافته‌های دیگر مطالعات انسانی و حیوانی نشان داده شده که عملکرد شناختی و بازده کل بدن در پی استفاده کوتاه‌مدت و بلندمدت از رژیم پرچرب (HFD) دستخوش تغییرات می‌گردند [۳]. علاوه بر این، مطالعات گسترده‌ای نیز مصرف HFD را به‌عنوان یک عامل خطر برای ابتلا به بیماری آلزایمر معرفی کرده‌اند [۴]. اگرچه پاتوژنز اختلالات شناختی ناشی از مصرف HFD تاکنون به‌طور کامل مشخص نشده است اما عواملی مانند اختلالات متابولیک، التهاب مغزی، مقاومت به انسولین و استرس اکسیداتیو در ایجاد اثرات مخرب HFD ایفای نقش می‌کنند [۵].

باتوجه به افزایش جهانی مصرف HFD و چاقی، درک تاثیر مصرف HFD بر یادگیری و حافظه، شناسایی و شناخت مکانیسم‌های اساسی مربوطه و یافتن راهکارهای درمانی موثر می‌تواند در درمان و پیشگیری نقایص مرتبط با آن مفید واقع شود. اما با این وجود تاکنون هیچ درمان موثری برای کنترل اثرات سوء ناشی از رژیم HFD در دسترس نیست.

در مطالعاتی که اخیراً انجام شده، گزارش شده است که مصرف HFD می‌تواند متابولیسم هیدروژن سولفید ( $H_2S$ ) در بافت‌های مختلف را تغییر دهد [۶]. در مطالعات پیشین نشان داده شده است که مصرف  $H_2S$  می‌تواند از سلول‌ها در برابر استرس اکسیداتیو محافظت کرده و تعادل اکسیدان/آنتی‌اکسیدان را حفظ نماید [۷]. باتوجه به این که استفاده از رژیم غذایی پرچرب با افزایش استرس اکسیداتیو، التهاب مغزی و کاهش پروفایل آنتی‌اکسیدانی بدن همراه است به‌نظر می‌رسد استفاده از  $H_2S$  اگزوزن به‌عنوان یک عامل با خاصیت آنتی‌اکسیدانی ممکن است بتواند اثرات محافظتی در برابر اختلالات شناختی ناشی از HFD را اعمال کند [۷].

بنابراین هدف این مطالعه تعیین و بررسی اثرات  $H_2S$  بر تغییرات حافظه و یادگیری فضایی موش صحرایی نر تحت مصرف رژیم غذایی پرچرب در ماز بارنز بود. ماز بارنز ابزاری است که برای اندازه‌گیری یادگیری و حافظه فضایی استفاده

<sup>1</sup> High fat diet (HFD)

<sup>2</sup> Barnes

استفاده شد (تست نرمال بودن،  $\alpha = 0.05$ ). آزمون های آماری آنالیز واریانس یک طرفه و دوطرفه به ترتیب به همراه تست های تعقیبی توکی و بن فرونی برای مقایسه اختلاف میانگین گروه های مختلف استفاده شد.

## یافته ها

### اثرات HFD و NaHS بر اکتساب حافظه فضایی

در اینجا برای بررسی نرمال بودن داده ها از آزمون شاپیرو-ویلک<sup>۳</sup> استفاده شد (تست نرمال بودن،  $\alpha = 0.05$ ). داده های این بخش توزیع نرمال داشتند، بنابراین از آزمون آنالیز واریانس (ANOVA) یک طرفه و دوطرفه برای آنالیز داده ها استفاده شد.

همه حیوانات در تمام گروه های آزمایشی پس از سه روز آموزش، مکان سوراخ هدف را یاد گرفتند. زمان سپری شده برای پیدا کردن سوراخ هدف در همه ی گروه ها روند کاهشی داشت. از سوی دیگر، این زمان در روز آخر در همه گروه ها نسبت به زمان ثبت شده در روز اول تست به طور معنی داری کاهش یافته بود ( $p < 0.05$ ). برای مقایسه گروه های مورد مطالعه با همدیگر از ANOVA دوطرفه با اندازه گیری های مکرر<sup>۴</sup> استفاده شد که نتایج نشان داد که در رابطه با زمان سپری شده تا پیدا کردن سوراخ هدف در طی روزهای آموزش تفاوت معنی داری بین گروه های مختلف وجود ندارد ( $p < 0.05$ ). نمودار ۱الف و ۱ج).

### اثرات HFD و NaHS بر حافظه فضایی در روز تست بخاطرآوری

تعداد خطاهایی که حیوانات در مدت زمان یکسان برای رسیدن به سوراخ هدف در صفحه بارنز در روز تست مرتکب شدند در تمام گروه ها مورد ارزیابی قرار گرفت. طبق نمودار ۲، در رابطه با میانگین تعداد خطاها برای رسیدن به سوراخ هدف در روز تست بین گروه های مورد آزمایش تفاوت

به آرامی مخلوط شد. سپس روغن های چرب ( $8/3\%$ )، روغن هیدروژنه ( $4/05\%$ )، کلسترول ( $1\%$ ) و شکر ( $3\%$ ) به مخلوط پودر اضافه شدند و به مدت ۱۵ دقیقه مخلوط شدند [۵]. سپس مجدد آن ها را به شکل پلیت در آورده و تا زمان مصرف، در یخچال نگهداری می شدند.

### مطالعه یادگیری و حافظه فضایی در تست بارنز

ماز بارنز روشی جهت اندازه گیری حافظه فضایی در موش های کوچک آزمایشگاهی و موش صحرایی می باشد. این ماز از یک صفحه ی مدور از جنس پلاکسی گلاس شیری رنگ ساخته شده که حدود ۱۲۰ سانتی متر قطر دارد. این صفحه ی مدور با ارتفاع ۹۰ سانتی متر از کف و شامل ۲۰ سوراخ (به قطر ۱۰ سانتی متر) است که به صورت دایره ای در لبه سکو قرار گرفته اند. سوراخ هدف این سیستم به جعبه فرار ( $10 \times 10 \times 15$  سانتی متر) متصل می شد. در طی سه روز آموزش و یادگیری، هر حیوان بر روی ماز قرار می گرفت. به حیوانات این فرصت داده شد تا به مدت ۱۸۰ ثانیه آزادانه دستگاه را کشف کنند تا وارد جعبه فرار شوند. در آموزش ابتدا هر موش توسط یک سرپوش غیرشفاف در مرکز دایره قرار داده و سپس بعد از برداشتن سرپوش استرس صوتی (صدای زنگ بلند ۸۰ دسی بل) وارد می شد که حیوان در پاسخ به آن به دنبال یک فضای امن می گردد و در صورت ورود به باکس هدف صوت قطع می شد و در صورت عدم ورود موش به باکس هدف (پس از ۱۸۰ ثانیه) خودمان آن را در داخل باکس قرار می دادیم. حیوانات به مدت ۶۰ ثانیه در جعبه فرار باقی می ماندند. و سپس به قفس خود برگردانده می شدند. هر روز سه تریال انجام می شد. در روز چهارم بازیابی یادگیری فضایی انجام می شد. این روش مشابه روزهای آموزش بود (فقط استرس صوتی اعمال نمی شد). در روز تست هر موش تنها یکبار در ماز رها می شد. تأخیر در رسیدن به سوراخ هدف در روزهای تمرین، مسافت طی شده و تعداد خطاها برای رسیدن به منطقه هدف ثبت شدند.

### تجزیه و تحلیل آماری

آنالیز آماری با استفاده از نرم افزارهای Prism 8 انجام شد. نتایج بر حسب میانگین  $\pm$  انحراف معیار استاندارد گزارش شده است. برای بررسی نرمال بودن داده ها از آزمون شاپیرو ویلک

<sup>3</sup> Shapiro-Wilk

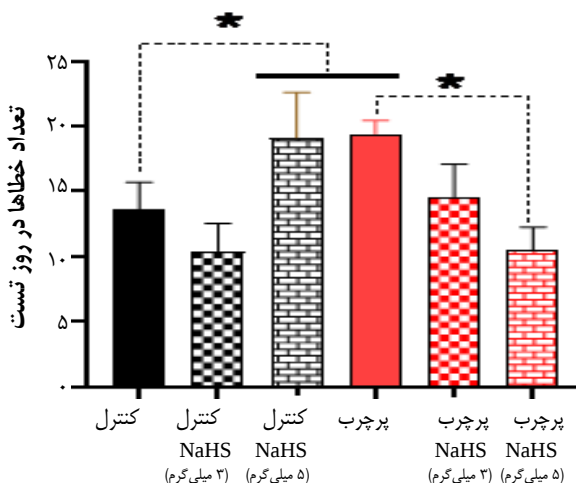
<sup>4</sup> Repeated measures two-way ANOVA

معنی‌داری وجود داشت. تعداد خطاها در گروه دریافت‌کننده رژیم غذایی پرچرب (HFD) در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافت. به عبارتی، به‌خاطر آوری در این گروه در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافته است ( $p < 0.05$ ).

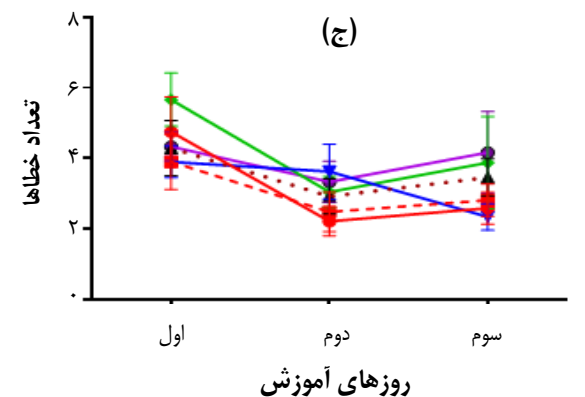
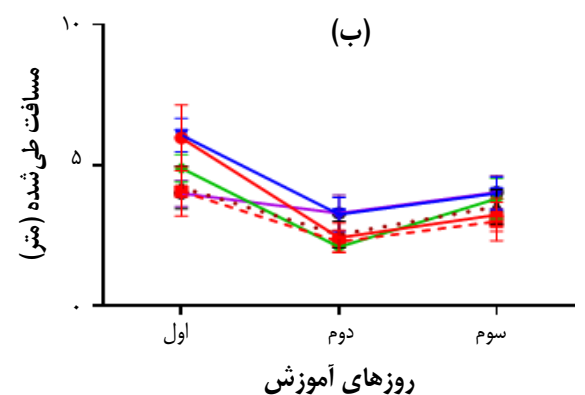
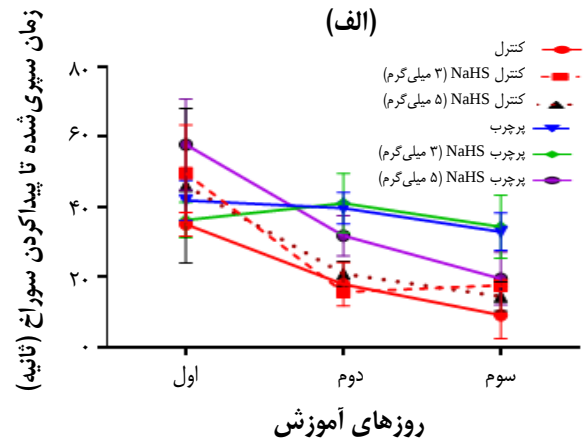
همچنین تعداد خطاها در حیوانات گروه HFD به همراه دوز ۳ و ۵ میلی‌گرم NaHS (HFD + NaHS) در مقایسه با گروه HFD به‌تنهایی کاهش پیدا کرد. به‌طوری‌که این کاهش برای دوز ۵ میلی‌گرم از لحاظ آماری معنی‌دار بود ( $p < 0.05$ ). یکی از نتایج جالب توجه این بخش افزایش تعداد خطاها در گروه کنترل دریافت‌کننده دوز ۵ میلی‌گرم NaHS در مقایسه با گروه کنترل به‌تنهایی بود که از نظر آماری هم معنی‌دار بود ( $p < 0.05$ ).

## بحث

این مطالعه جهت سنجش اثرات رژیم پرچرب و سدیم هیدروسولفید به‌عنوان دهنده  $H_2S$  بر یادگیری و حافظه‌ی فضایی در موش‌های صحرایی‌های نر نژاد ویستار طراحی شد. نتایج حاصل از تست بارنز نشان داد که رژیم پرچرب اثر معنی‌داری بر مرحله اکتساب تست بارنز ندارد اما موجب اختلال در بازیابی حافظه می‌شود. علاوه‌براین، تجویز سیستمیک



**نمودار ۲-** میانگین تعداد خطاها برای رسیدن به سوراخ هدف در روز تست. تعداد خطاها در گروه دریافت‌کننده رژیم غذایی پرچرب (HFD) و گروه کنترل دریافت‌کننده دوز ۵ میلی‌گرم NaHS در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافت. دوز ۵ میلی‌گرم NaHS در گروه HFD تعداد خطاها را کاهش داد. داده‌ها به‌صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار استاندارد ارائه شده است.  $p < 0.05$ .\*



**نمودار ۱-** زمان سپری شده (الف)، مسافت طی شده (ب) و تعداد خطاها (ج) تا پیدا کردن سوراخ هدف در طی روزهای آموزش در ماز بارنز در گروه‌های مختلف. همه حیوانات در همه‌ی گروه‌های آزمایشی پس از سه روز آموزش، مکان سوراخ هدف را یاد گرفتند. داده‌ها به‌صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار استاندارد ارائه شده است تفاوتی معنی‌داری در بین گروه‌های مختلف مشاهده نشد.

ترکیب سدیم هیدروسولفید (دوز ۵ میلی گرم) اختلال حافظه ناشی از مصرف رژیم غذایی پرچرب را معکوس کرد. برخلاف اکثر مطالعات قبلی [۹، ۱۰]؛ نتایج ما نشان داد که توانایی یادگیری فضایی در موش‌های تحت درمان با HFD دست‌نخورده باقی مانده است. برخی مطالعات نشان داده‌اند که HFD بر رشد طبیعی سیستم عصبی مرکزی تأثیر گذاشته و شکل‌پذیری سیناپسی و یادگیری را کاهش می‌دهد [۹، ۱۰]. اما برخی دیگر حتی نشان داده‌اند که مصرف HFD یادگیری فضایی را بهبود می‌بخشد. در این رابطه، ستکوویچ<sup>۵</sup> و همکاران مشاهده کردند که مصرف طولانی مدت HFD به مدت ۱۲ ماه توانایی یادگیری را بهبود می‌بخشد [۱۱]. آن‌ها همچنین دریافتند که مصرف طولانی مدت HFD منجر به افزایش حجم هیپوکامپ و بالارفتن غلظت متابولیت‌های هیپوکامپ می‌شود که احتمالاً به دلیل افزایش سطح اجسام کتون در خون است. علاوه بر این، گزارش شده است که افزایش در شاخص توده بدنی<sup>۶</sup> انسان با بهبود توانایی‌های فضایی مرتبط است [۱۲]. همچنین، نشان داده شده است که HFD میکروبیوتای روده را تغییر می‌دهد اما حافظه کاری فضایی را در موش‌های صحرایی<sup>۷</sup> Sprague Dawley میانسال تغییر نمی‌دهد [۱۳]. حلیم و محمود<sup>۸</sup> همچنین گزارش کرده‌اند که HFD اکتساب یادگیری و بازیابی حافظه را بهبود می‌بخشد اما حافظه مرجع را مختل می‌کند [۱۴].

مطابق با برخی یافته‌های قبلی، نتایج ما تأیید کرد که HFD باعث اختلال در بازیابی حافظه فضایی می‌شود که با ترکیب سدیم هیدروسولفید بازسازی شد. نشان داده شده است که استفاده از رژیم پرچرب موجب القای استرس اکسیداتیو در اثر افزایش فعالیت NADPH اکسیداز<sup>۹</sup>، افزایش فعالیت NF-κB<sup>۱۰</sup> و التهاب دستگاه عصبی در کورتکس موش‌ها می‌شود [۱۵]. علاوه بر این، رژیم غذایی پرچرب موجب افزایش استرس اکسیداتیو در هیپوکمپ شده و کاهش عملکرد شناختی در موش‌های پیر می‌شود [۱۶]. همچنین نشان داده شده است

که استفاده از رژیم پرچرب موجب تغییر در بیان آنزیم‌های دخیل در تولید H<sub>2</sub>S در بافت‌ها می‌شود و همین‌طور بیوسنتز H<sub>2</sub>S را در بافت‌ها کاهش می‌دهد [۶]. H<sub>2</sub>S طبیعی تولیدشده در بدن در دستگاه عصبی مرکزی اغلب توسط CBS<sup>۱۱</sup> تولید می‌شود و تغییر در بیان CBS می‌تواند موجب تغییر در سطح H<sub>2</sub>S شود. رژیم پرچرب می‌تواند موجب کاهش بیان نسبت CSE/CBS<sup>۱۲</sup> و در نتیجه کاهش سنتز H<sub>2</sub>S در بدن شود [۶]. در بسیاری از مطالعات H<sub>2</sub>S به‌عنوان یک ترکیب آنتی‌اکسیدانی معرفی شده است. هم‌چنین قبلاً ما مشاهده کرده بودیم که ترکیب H<sub>2</sub>S با توجه به خصوصیت آنتی‌اکسیدانی خود می‌تواند عوارض ناشی از رژیم پرچرب بر حافظه را جبران کند [۵] بنابراین احتمالاً از این طریق نیز عمل می‌کند.

H<sub>2</sub>S همچنین با اثرات ضدالتهابی خود و تأثیر بر افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی [۱۷]، از سلول‌های عصبی در مقابل آسیب و آپوپتوز جلوگیری می‌کند [۱۸]. در راستای نتایج مطالعه قبلی ما [۵]، نشان داده شده است که H<sub>2</sub>S اگزوزن می‌تواند سطح MDA<sup>۱۳</sup> را کاهش داده و موجب افزایش فعالیت SOD<sup>۱۴</sup> و گلوکاتایون پراکسیداز در موش‌های تحت رژیم پرچرب شود [۱۹].

اثرات حفاظتی H<sub>2</sub>S بر سلول‌های عصبی از طریق جمع‌آوری ترکیبات حاصل از پراکسیداسیون لیپیدی و کاهش سطح ROS<sup>۱۵</sup> می‌شود. علاوه بر این، H<sub>2</sub>S، ترکیب اکسیدانی قوی پراکسی نیتريت (ONOO<sup>-</sup>) را که حاصل از دو ترکیب NO<sup>۱۶</sup> و سوپراکسید می‌باشد را مهار می‌کند. H<sub>2</sub>S به‌عنوان یک ترکیب آنتی‌اکسیدانی با کاهش و حذف ترکیب گلوکاتایون دی سولفید و تغییر عملکرد ROS و همچنین اتصال به جایگاه اختصاصی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز و گلوکاتایون موجب کاهش استرس اکسیداتیو می‌شود [۲۰].

H<sub>2</sub>S با افزایش کلسیم داخل سلولی و فعالیت گیرنده‌ی NMDA<sup>۱۷</sup>، موجب افزایش تولید گلوکاتایون و کاهش پاسخ

<sup>11</sup> Cystathionine-β-synthase (CBS)

<sup>12</sup> Cystathionine γ-lyase (CSE)/Cystathionine β synthetase (CSE)

<sup>13</sup> Malondialdehyde (MDA)

<sup>14</sup> Superoxide dismutase (SOD)

<sup>15</sup> Reactive oxygen species (ROS)

<sup>16</sup> Nitric oxide (NO)

<sup>17</sup> N-Methyl- d-aspartic acid (NMDA)

<sup>5</sup> Setkowicz

<sup>6</sup> Body mass index (BMI)

<sup>7</sup> Rat

<sup>8</sup> Haleem and Mahmood

<sup>9</sup> Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) oxidase

<sup>10</sup> Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF-kappaB)

## نتیجه گیری

این داده‌ها نشان می‌دهد  $H_2S$  اگزوزن قادر به بهبود حافظه در موش‌های تغذیه‌شده با رژیم پرچرب است. بنابراین  $H_2S$  یا ترکیبات آزادشده از آن را ممکن است بتوان به عنوان دارویی جهت درمان در بیماری‌های مربوط به اختلال حافظه‌ی ناشی از رژیم پرچرب معرفی کرد.

## سپاسگزاری

از دانشگاه علوم پزشکی همدان بابت حمایت مالی قدردانی می‌گردد.

## ملاحظات مالی

این تحقیق با حمایت معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی همدان (با شماره گرنت: ۹۸۰۱۲۰۱۳۳) انجام شده است.

## تعارض در منافع

نویسندگان این مقاله تعارض در منافع ندارند.

## نقش نویسندگان

ح.ش، ا.ح، ه.م: انجام مطالعه؛ جمع‌آوری داده‌ها و نگارش مقاله؛ س.ا.ک، ا.ص، ع.ک: طراحی مطالعه؛ نظارت بر اجرای پژوهش و آنالیز داده‌ها.

## فهرست منابع

- [1] Stevens CF, Spatial learning and memory: the beginning of a dream. *Cell* 87(1996) 1147-1148.
- [2] Greenwood CE, Winocur G, Cognitive impairment in rats fed high-fat diets: a specific effect of saturated fatty-acid intake. *Behav Neurosci* 110 (1996) 451-459.
- [3] Edwards LM, Murray AJ, Holloway CJ, Carter EE, Kemp GJ, Codreanu I, Brooker H, Tyler DJ, Robbins PA, Clarke K, Short-term consumption of a high-fat diet impairs whole-body efficiency and cognitive function in sedentary men. *FASEB J* 25 (2011) 1088-1096.
- [4] Morris MC, Evans DA, Bienias JL, Tangney CC, Bennett DA, Aggarwal N, Schneider J, Wilson RS, Dietary fats and the risk of incident Alzheimer disease. *Arch Neurol* 60 (2003) 194-200.

سلولی به استرس اکسیداتیو در سیستم عصبی مرکزی می‌شود [۲۱]. همچنین نشان داده شده است که NaHS به عنوان دهنده  $H_2S$  می‌تواند موجب افزایش تولید  $^{18}cAMP$  در نورون‌ها سلول‌های گلیا بشود. تولید cAMP در افزایش فعالیت عوامل مختلف از جمله پروتئین کیناز  $^{19}A$  نقش دارد که این عوامل در حافظه و یادگیری نقش دارند [۲۲]. این مشاهدات تاییدی بر این مساله است که  $H_2S$  ممکن است از طریق ایجاد تغییراتی در cAMP داخل سلولی و افزایش القای  $^{20}LTP$  موجب ایجاد تغییراتی در عملکرد و فعالیت گیرنده ی NMDA بشود [۲۳]. LTP از مکانیسم‌های اصلی درگیر در فرایند حافظه و یادگیری می‌باشد.

در حیوانات کنترل، تجویز دوز ۵ میلی گرم NaHS تعداد خطاها در روز تست را افزایش داد، که ممکن است نشان‌دهنده وجود اختلال حافظه باشد. حذف گسترده ROS توسط NaHS می‌تواند به عنوان یک مکانیسم احتمالی مطرح باشد. ROS در تنظیم چندین فرآیند فیزیولوژیکی نقش دارد [۲۴]. ROS می‌تواند باعث تغییرات برگشت‌پذیر در برخی پروتئین‌ها، که در مسیرهای سیگنالینگ حافظه نقش دارند بشود [۲۵]. همچنین مشخص شده است که سطوح نرمال و طبیعی ROS در میانجیگری بسیاری از پاسخ‌های سلولی، از جمله رشد سلولی و ایمنی نقش دارد [۲۵]. تولید ROS به طور طبیعی در نتیجه فرآیندهای متابولیکی رخ می‌دهد. بالاین حال، وجود ROS اضافی می‌تواند منجر به پراکسیداسیون لیپیدی، آسیب DNA، و حتی القای مرگ سلولی شود [۲۵].

- [5] Habibitabar E, Moridi H, Shateri H, Karimi SA, Salehi I, Komaki A, Sarihi A, 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* 164 (2020) 380-391.
- [6] Peh MT, Anwar AB, Ng DS, Atan MSBM, Kumar SD, Moore PK, Effect of feeding a high fat diet on hydrogen sulfide ( $H_2S$ ) metabolism in the mouse. *Nitric Oxide* 41 (2014) 138-145.
- [7] Yonezawa D, Sekiguchi F, Miyamoto M, Taniguchi E, Honjo M, Masuko T, Nishikawa H, Kawabata A, A protective role of hydrogen sulfide against oxidative stress in rat gastric mucosal epithelium. *Toxicology* 241 (2007) 11-18.
- [8] Barnes CA, Memory deficits associated with senescence: a neurophysiological and behavioral study in the rat. *J Comp Physiol Psychol* 93 (1979) 74-104.

<sup>18</sup> Cyclic adenosine monophosphate (cAMP)

<sup>19</sup> Protein kinase A (PKA)

<sup>20</sup> Long-term potentiation (LTP)

- [9] Solfrizzi V, Panza F, Capurso A, The role of diet in cognitive decline. *J Neural Transm* 110 (2003) 95-110.
- [10] Molteni R, Barnard R, Ying Z, Roberts CK, Gomez-Pinilla F, A high-fat, refined sugar diet reduces hippocampal brain-derived neurotrophic factor, neuronal plasticity, and learning. *Neuroscience* 112 (2002) 803-814.
- [11] Setkowicz Z, Gałdzińska A, Osoba JJ, Karwowska K, Majka P, Orzeł J, Kossowski B, Bogorodzki P, Janeczko K, Wyleżół M, Does long-term high fat diet always lead to smaller hippocampi volumes, metabolite concentrations, and worse learning and memory? a magnetic resonance and behavioral study in wistar rats. *PloS One* 10 (2015) e0139987.
- [12] Gunstad J, Lhotsky A, Wendell CR, Ferrucci L, Zonderman AB, Longitudinal examination of obesity and cognitive function: results from the Baltimore longitudinal study of aging. *Neuroepidemiology* 34 (2010) 222-229.
- [13] Deshpande NG, Saxena J, Pesaresi TG, Carrell CD, Ashby GB, Liao M-K, Freeman LR, High fat diet alters gut microbiota but not spatial working memory in early middle-aged Sprague Dawley rats. *PloS One* 14 (2019) e0217553.
- [14] Haleem DJ, Mahmood K, Brain serotonin in high-fat diet-induced weight gain, anxiety and spatial memory in rats. *Nutr Neurosci* 24 (2021) 226-235.
- [15] Zhang X, Dong F, Ren J, Driscoll MJ, Culver B, High dietary fat induces NADPH oxidase-associated oxidative stress and inflammation in rat cerebral cortex. *Exp Neurol* 191 (2005) 318-325.
- [16] Morrison CD, Pistell PJ, Ingram DK, Johnson WD, Liu Y, Fernandez-Kim SO, White CL, Purpera MN, Uranga RM, Bruce-Keller AJ, High fat diet increases hippocampal oxidative stress and cognitive impairment in aged mice: implications for decreased Nrf2 signaling. *J. Neurochem* 114 (2010) 1581-1589.
- [17] Deng J, Lei C, Chen Y, Fang Z, Yang Q, Zhang H, Cai M, Shi L, Dong H, Xiong L, Neuroprotective gases—fantasy or reality for clinical use? *Prog Neurobiol* 115 (2014) 210-245.
- [18] Olas B, Hydrogen sulfide in signaling pathways. *Clin Chim Acta* 439 (2015) 212-218.
- [19] Wu D, Zheng N, Qi K, Cheng H, Sun Z, Gao B, Zhang Y, Pang W, Huangfu C, Ji S, Exogenous hydrogen sulfide mitigates the fatty liver in obese mice through improving lipid metabolism and antioxidant potential. *Med Gas Res* 5 (2015) 1.
- [20] Kimura H, Hydrogen sulfide and its therapeutic applications: Springer Science & Business Media, 2013:
- [21] Shefa U, Kim M-S, Jeong NY, Jung J, Antioxidant and cell-signaling functions of hydrogen sulfide in the central nervous system. *Oxid Med Cell Longev* 2018 (2018).
- [22] Kandel ER, The molecular biology of memory: cAMP, PKA, CRE, CREB-1, CREB-2, and CPEB. *Mol Brain* 5 (2012) 14.
- [23] Kimura H, Hydrogen sulfide induces cyclic AMP and modulates the NMDA receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 267 (2000) 129-133.
- [24] Zuo L, Zhou T, Pannell B, Ziegler A, Best TMJAp, Biological and physiological role of reactive oxygen species—the good, the bad and the ugly. *Acta Physiol* 214 (2015) 329-348.
- [25] Sena LA, Chandel NS, Physiological roles of mitochondrial reactive oxygen species. *Mol Cell* 48 (2012) 158-167.

## Research paper

## The effect of hydrogen sulfide on spatial learning and memory of adult male rats fed a high-fat diet in the Barnes maze

Hossein Shateri<sup>1</sup>, Elahe Habibitabar<sup>1</sup>, Heresh Moridi<sup>1,2</sup>, Alireza Komaki<sup>1,3</sup>, Iraj Salehi<sup>1</sup>, Seyed Asaad Karimi<sup>1,3\*</sup>

1. Neurophysiology Research Center, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

2. Department of Laboratory Sciences, School of Allied Medical Sciences, Kurdistan University of Medical Sciences, Kurdistan, Iran

3. Department of Neuroscience, School of Science and Advanced Technologies in Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

Received: 8 December 2021

Accepted: 22 January 2022

## Abstract

**Background and Aim:** Cognitive functions and hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S) metabolism are impaired by high fat diet (HFD). Therefore, the aim of this study was to examine the potential effect of sodium hydrosulfide (NaHS) (as H<sub>2</sub>S donor) on spatial learning and memory in male rats fed with HFD.

**Methods:** After 11 weeks of normal and HFD diet with and without NaHS treatment (at doses of 3 and 5 mg/kg) in male rats, Barnes maze was used to assess memory and spatial learning.

**Results:** During training days there were not significant differences in escape latency, traveled distance and the number of errors in finding the escape box between experimental groups. HFD and control + NaHS (5 mg) groups made significantly more errors on the test day (probe trial) than control rats. Also, the number of errors in the HFD animals with NaHS (5 mg) decreased compared to the HFD group alone.

**Conclusion:** Based on our observation, HFD has no significant effect on the acquisition of Barnes test but causes impaired memory retrieval. In addition, administration of NaHS reverses HFD-induced memory impairment. In control animals, the administration of NaHS increased the number of errors in the probe test, which may indicate the presence of memory deficits.

**Keywords:** Barnes test, Learning and memory, High fat diet, Hydrogen sulfide, Wistar rats

Please cite this article as follows:

Shateri H, Habibitabar E, Moridi H, Komaki A, Salehi I, Karimi SA, The effect of hydrogen sulfide on spatial learning and memory of adult male rats fed a high-fat diet in the Barnes maze. *Iran J Physiol Pharmacol* 6 (2022) 10-17.

\*Corresponding author: asad\_karimi\_128@yahoo.com; a.karimi@umsha.ac.ir; asaad.karimi@utoronto.ca (ORCID ID: 0000-0002-8663-6485)