

A DIMETIL-TRISZULFID KRÓNIKUS ENYHE MEGJÓSZOLHATATLAN STRESSZ OKOZTA
DEPRESSZIÓVAL SZEMBEN TANÚSÍTOTT ANTIDEPRESSZÁNS HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA AZ
ENDOKANNABINOID RENDSZER KÖZREMŰKÖDÉSÉVEL

Készítette: Sinkó Zalán, PTE TTK, Biológia BSc

Témavezető: Dr Pozsgai Gábor, egyetemi docens;
Göntér Kitti, PhD hallgató

PTE GYTK Gyógyszerhatástani Tanszék

PTE ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet

TARTALOMJEGYZÉK

Absztrakt:	4
I. Elméleti háttér	5
I.1. Bevezetés.....	5
I.2. Krónikus stressz	5
I.2.1. Stresszelméleti alapfogalmak	5
I.2.2. A stressz agyi szabályozása	5
I.2.3. A krónikus stresszhez kapcsolódó betegségek	6
I.3. Szorongás és depresszió	7
I.3.1. Okai, típusai.....	7
I.3.2. A depresszió patomechanizmusa	11
I.3.3. Kezelési lehetőségek, farmakológiai aspektusok	11
I.3.4. Egyéb kezelési lehetőségek	12
I.4. Dimetil-triszulfid.....	12
I.5. Endokannabinoid rendszer	13
I.5.1. Alapfogalmak	13
I.5.2. Az endokannabinoid rendszer zavarai, kapcsolódó betegségek	14
I.5.3. Az endokannabinoid rendszer és a depresszió kapcsolata.....	15
II. Célkitűzés.....	17
III. Anyag és módszer	18
III.1. Az alkalmazott módszertan indokoltsága és tudományos megalapozottsága	18
III.2. A projektben alkalmazott összes kísérlet.....	19
III.2.1. Open field test (OFT):.....	19
III.2.1. Krónikus megjósolhatatlan enyhe stressz (CUMS) modell	19
III.2.2. Dimetil-triszulfid (DMTS) kezelés	19
III.2.3. AM251 és vivőanyag szubkután beadása	20
III.2.4. Viselkedés tesztek.....	20
III.2.4.1. A modell validitását igazoló viselkedésteszt	20
III.2.4.2. A szorongást kimutató viselkedésteszt.....	21
III.2.4.3. A depresszió-szerű viselkedést kimutató tesztek	21
III.3. Mintavétel/termináció.....	22
III.4. Értékelési módszerek	22
III.4.1 Noldus EthoVision XT 15.....	22
III.5. Statisztikák.....	22

IV.	Eredmények.....	23
IV.1.	A modell validálása	23
IV.1.1.	Testtömeg-változás	23
IV.2.	Szorongást-kimutató viselkedésteszt.....	24
IV.2.1.	Üveggolyó-eltemetési teszt.....	24
IV.2.2.	Nyílt terep teszt.....	25
IV.3.	Depresszió-szerű viselkedést kimutató tesztek	26
IV.3.1.	Szukróz preferencia teszt.....	26
IV.3.2.	Erőltetett úszás teszt.....	27
IV.3.3.	Farokfelfüggesztési teszt.....	27
V.	KONKLÚZIÓ	29
VI.	Irodalomjegyzék:.....	30

ABSZTRAKT:

A depresszió és a szorongás modern korunk leggyakoribb mentális betegségeihez tartoznak, komoly társadalmi és gazdasági terhet róva az emberi közösségre. A dimetil-triszulfid (DMTS) egy kedvező farmakokinetikai tulajdonságokkal bíró, a vér-agy gáton is áthatolni képes, szerves poliszulfid, amely előzetes kutatásaink alapján részt vehet a stresszhez kapcsolódó agyi mechanizmusokban. E dolgozat célja a DMTS antidepresszáns-szerű és anxiolitikus hatásának vizsgálata volt, különös tekintettel az endokannabinoid rendszer szerepére, valamint az endokannabinoid rendszer közreműködésének igazolása a krónikus megjósóhatatlan enyhe stressz okozta depresszió-szerű viselkedés egérmódelijében. C57Bl/6 törzsbe tartozó egerek csoportjait DMTS kezelésnek, illetve az endokannabinoid rendszerre való hatást igazolandó, a CB1 receptor antagonistá AM251 kezelésnek vetettünk alá, az egerek egy csoportja mindkettőn átesett. A 4 nappali és 3 éjszakai stresszorból álló, 21 napos stresszparadigma során az állatokat a depresszió-szerű viselkedés (farokfelfüggesztési teszt -TST; erőltetett úszás teszt -FST) és szorongásszint meghatározására szolgáló teszteken (nyílt terep teszt -OFT; üveggolyó eltemetési teszt -MBT) vezettük át, a modell validitását szukrózpreferencia teszt segítségével igazolva (SPT). Az egerek testtömegének változása is dokumentálásra került. A krónikus stressznek kitett állatok testsúlycsökkenést és megemelkedett szorongási szintet, valamint depresszió-szerű viselkedést mutattak, amely az alkalmazott tesztekben megnyilvánult. A DMTS kezelés mind a depresszió-szerű viselkedést, mind a szorongási szintet, valamint a testtömeg növekedését is csökkentette, antidepresszáns hatásában az endokannabinoid rendszer szerepe beigazolódott, szorongásoldó hatásában ugyanakkor nem bizonyult szignifikáns tényezőnek. A DMTS potenciális jelölt lehet a depresszió és szorongás kiegészítő kezelésében mint gyógyszer, vagy mint táplálékkiegészítő.

Személyesen a stresszorok alkalmazása során; a szorongásra és depresszióra utaló vizsgálatok kivitelezésében és videós, szoftveres kiértékelésében; az állatok kémiai anyagokkal való kezelésében; terminálásában és a jelenleg zajló vizsgálatokhoz felhasznált szövetmintáik begyűjtésében; illetve a kapott adatok bevitelében és kiértékelésében is közreműködtem.

I. ELMÉLETI HÁTTÉR

I.1. Bevezetés

A szorongás és a depresszió korunk leggyakrabban előforduló pszichiátriai betegségei közé sorolhatók, a felnőtt populáció több, mint 16%-a szenved depressziós, szorongásos zavarral élete egy adott szakaszán (Chen és mtsai., 2013). A WHO álláspontja szerint a depresszió világszerte az öt vezető betegség közé tartozik, amelyek súlyos társadalmi teherrel járnak, mintegy 350 millió embert érintve (Antoniuk és mtsai., 2019).

I.2. Krónikus stressz

I.2.1. *Stresszelméleti alapfogalmak*

A stressz Selye János klasszikus és legszélesebb körben elfogadott definíciója szerint a szervezet adott kényszerre nyújtott nem specifikus válaszreakciója. Az ezen reakciót kiváltó tényezőt stresszornak nevezzük. Megkülönböztethetünk a szervezet számára kedvező hatású, az alkalmazkodóképességet növelő ún. eustresszt és a szervezet számára káros distresszt (Mindazonáltal mindig adott egyedre vonatkoztatott, hogy egy bizonyos stresszt a kettő közül melyik kategóriába sorolunk.) (Selye, 1956).

I.2.2. *A stressz agyi szabályozása*

Az agy három régiója: a prefrontális kéreg, az amigdala illetve a hippocampusz játszanak meghatározó szerepet a viselkedésben, a kognitív funkcióban, valamint az autonóm stresszválasz illetve a hipotalamo-hipofizeális (Hypothalamic-pituitary-adrenal – HPA) tengely stresszválaszának szabályozásában (McEwen és mtsai., 2015). A glükokortikoid és mineralokortikoid receptorokat legelőször a hippocampusz formációjában fedezték fel (McEwen és mtsai., 1968), ezzel bizonyítva, hogy a mellékvese szteroidhormonjai több útvonalon hatnak az agyra, mint csupán a hipotalamuszon keresztül, melyről már az is ismeretes, hogy a tér és időbeli memóriára és a hangulati szabályozásra is hatást gyakorol. A hippocampuszon belül mutatták ki először, hogy a glükokortikoidok jelenléte a dendritek zsugorodásához illetve az elágazások (spines) mennyiségének csökkenéséhez vezet, valamint itt ismerték fel először a serkentő aminosavak szerepét is (McEwen, 1999). Az akut és krónikus stressz amigdalára gyakorolt hatásai eltérnek a hippocampusznál látottaktól. Az akutt, traumatikus stresszorok hatására a dendritikus elágazások száma növekszik az amigdala bazolaterális neuronjain, a krónikus stressz pedig dendritjeik expansziójához vezet (McEwen & Morrison, 2013).

Mindazonáltal a mediális amigdala krónikus stressz esetén elágazásvesztést mutat (Rao és mtsai., 2012) és ezek a változások érvényesek nagyobb szorongásszint és poszttraumás stressz szindróma-szerű (PTSD-szerű) viselkedés fennálltakor is (Bennur és mtsai., 2007; McEwen & Morrison, 2013). A prefrontális kortexen (PFC) belül a krónikus stressz a mediális PFC neuronok dendritikus zsugorodását és elágazásainak számának csökkenését indukálja, amely a kognitív rigiditással áll kapcsolatban, míg az orbitofrontális kortikális neuronok megnövekedett éberséggel asszociált neuronjai növekedést mutatnak (Du és mtsai., 2009; Radley és mtsai., 2004). A stressz alatt álló prefrontális kortex neuronok jelentős információval szolgáltak a korral járó reziliencia-csökkenés és memóriavesztés kapcsán, valamint a cirkadián ritmus zavarát és a félelem-memória elvesztését illetően (Armanini és mtsai., 1990).

1.2.3. A krónikus stresszhez kapcsolódó betegségek

A mindennapi élet (pl. munkahely) stresszorai által indukált krónikus stressz számos betegség kialakulásához vezethet. Ennek fő oka elsősorban a homeosztázis megzavarása, melynek révén mind humorális, mind celluláris útvonalakon keresztül az immunrendszer általános diszregulációját okozhatja, így előidézve vagy fokozva például a periodontózist és egyéb gyulladásos, illetve autoimmun betegségeket (Warren és mtsai., 2014). Ennek fényében nem meglepő, hogy a krónikus stressz az öregedési folyamatok akcelerálásában is fontos tényező, hatására a szervezet minden sejtjének kromoszómáin telomerrövidülés tapasztalható, e két tényező szinergikus hatását „inflammageingnek” is nevezik (Yegorov és mtsai., 2020). Ezenfelül a krónikus stressz irodalmi adatok alapján hozzájárul metabolikus szindróma (Chandola és mtsai., 2006), valamint (gyakran előbbivel kéz a kézben) a 2-es típusú diabetes kialakulásához is, továbbá egyre nagyobb epidemiológia bizonyíték áll rendelkezésre, miszerint a pszichoszociális stressz fontos szerepet játszhat a kardiovaszkuláris rendszer betegségeinek létrejöttében (Brydon és mtsai., 2006; Holmes és mtsai., 2006; Rozanski és mtsai., 2005; Strike & Steptoe, 2004) és idősebb férfiakban a stroke megjelenésében is (Öhlin, 2004). Érdemes megemlíteni a test összetételének és a krónikus stressznek a kapcsolatát, mely olyan rendellenességek tárházára van hatással, mint a szarkopénia, mioszteatózis, kóros elhízás, nem-alkohol indukálta májelzsírosodás, osteopénia, csontritkulás valamint ezek különféle kombinációi (Stefanaki és mtsai., 2018)

Jelen tanulmány szempontjából legfontosabb hatása mégis a pszichiátriai rendellenességekhez való kapcsolata: A krónikus stressznek való kitettség általánosságban növeli az affektív zavarok megjelenésének kockázatát, erre a bizonyíték a HPA-tengely funkcióváltozásában (Holsboer,

2000; Ising és mtsai., 2007), valamint a depressziós páciensek kortikotropinfelszabadító-hormon (corticotropin releasing hormone – CRH) szintjének megnövekedésében keresendő (Nemeroff és mtsai., 1984). Egyes tanulmányok szerint az erős pszichoszociális stressz kétszeresére növeli az Alzheimer-kór fellépésének valószínűségét (Wilson és mtsai., 2003), a munkahelyi stressz pedig kulcsszerepet játszik a klinikai depresszió (Major Depressive Disorder – MDD) kialakulásában (Wang, 2005), valamint ismételten, a betegségek folyamatainak felgyorsításában és a neuronális degenerációban (Schmidt és mtsai., 2008; Tafet & Bernardini, 2003).

I.3. Szorongás és depresszió

I.3.1. *Okai, típusai*

Számos alapkutatás és klinikai vizsgálat zajlik jelenleg is a betegség háttérmechanizmusának felderítése érdekében, azonban a betegség kialakulásának részletes patomechanizmusa mindmáig ismeretlen, ugyanis az alapkutatásban nem áll rendelkezésre általánosan elfogadott állatmodell. A stressz és a depresszió preklinikai és klinikai vizsgálatai számos olyan neurokémiai és morfológiai változást mutattak ki, amelyek hozzájárulhatnak a hangulatzavarok patofiziológiájához. Ezenkívül a depresszió összetettsége és heterogenitása is megnehezíti egyetlen mögöttes rendellenesség azonosítását, és arra utal, hogy a jelenségnek több oka van (Duman, 2014).

A szorongás kényelmetlenség, diszkomfort, feszültség, aggodalom vagy félelem szubjektív érzése, melynek számos autonóm idegrendszeri és szomatikus megjelenése van. Alapvetően a szorongás normális, ésszerű, érzelemteljes és elvárt válaszreakció valós vagy potenciális veszély fennálltakor, amennyiben azonban a tünetek elnyúlnak vagy aránytalan, irracionális, esetleg súlyos mértéket öltenek, valódi stresszor hiányában lépnek fel, vagy a mindennapi tevékenységeket hátráltatják, szorongásos zavarokról beszélünk. (DSM IV-TR, 2000).

A szorongási zavarok prevalenciája a leggyakoribb mentális rendellenességek közé emeli őket (Melton & Kirkwood, 2017). Egyeséges etiológiával nem rendelkeznek, a csoport meglehetősen heterogén. Számottevő, pszichodinamikai, pszichoanalitikai, viselkedébeli, kognitív, genetikai és biológiai teória került felvetésre a szorongásos zavarok etiológiájára (Cates et al., 1996). Ily módon úgynevezett „biopszichoszociális” (biológiai, pszichológiai és szociális) tényezőkről beszélhetünk, amik hozzájárulnak a szorongásos zavarok létrejöttéhez (Pies, 1994, White, 2005 Wong, 2006.).

Biológiai tényező az örökletesség, a neurotranszmitter-egyensúly zavara, a betegségek, a gyógyszeres kezelések és a tápanyagok hiánya (Shri, 2010).

A genetikai tényezők révén egyes emberek hajlamosak bizonyos szorongásos zavarokra. Magasabb esély van szorongásos betegségek megjelenésére az érintettek családjában és rokonsági körében, mint a hasonló kórral nem küzdők esetén (Torgersen, 1983; Weissman, 1993). Agyi képzőanyag és funkcionális tanulmányok bizonyították, hogy számos neurotranszmitter áll kapcsolatban a szorongás neurobiológiájával (kolecisztokinin B, CRH, noradrenalin vs gamma-amino-vajsav, szerotonin) és serkentő és gátló neurotranszmittereink egyensúlyának zavara hozzájárulhat esetleges rendellenességek kialakulásához (Cates et al., 1996; Millan, 2003; Sandford és mtsai., 2000; Augustin, 2005).

Amennyiben a külső és belső stresszorok felülmúlják a megbírkózási képességeket, vagy ezek a képességek valamilyen oknál fogva elgyengülnek, az szintén szorongási zavarokhoz vezethet. Ez elsősorban pszichológiai tényezőknek tudható be, melyeket a pszichodinamikai, a viselkedésbeli, valamint a spirituális faktorok három fő csoportjába sorolhatunk.

Pszichodinamikai faktorokról akkor beszélhetünk, ha belső mentális folyamatok, ösztönök és impulzusok konfliktusba kerülnek, ezzel distresszt okozva. A viselkedésbeli faktorok esetén a szorongás oka bizonyos múltbeli élményekre adott maladaptív, tanult válasz, ami a jövőbeli hasonló szituációkban általánosításra kerül. Spirituális faktorokról pedig akkor van szó, amikor az egyén mély, elfojthatatlan ürességet és hasztalanságot él meg az életében, ami gyakran aggodalomhoz vezet saját halandóságát és végsősoron bekövetkező halálát illetően. (Sarason & Sarason, 2002; Brannon & Feist, 2004).

Különböző szociális tényezők, így olyan negatív élettapasztalatok, mint egy családtag halála, válás, pénzügyi veszteség, baleset vagy komoly betegség is befolyással vannak egy ember élethelyzetekhez való hozzáállására, a hosszantartó bántalmazás, erőszak, terrorizmus és szegénység is hozzájárulhat az egyén szorongásos zavaroknak való kitettségéhez. (Eysenck, 2004).

A szorongásos rendellenességeket több kategóriába sorolhatjuk,

- Így beszélhetünk generalizált szorongásos zavarról (GAD), ami túlzásbavitt, életszerűtlen, nehezen kontrollálható aggodalmat jelent többféle élethelyzetet illetően legalább 6 hónapon keresztül;

- Pánikbetegségről (agarofóbiával vagy anélkül), ami adott szomatikus tünetekkel (izzadás, tachykardia, mellkasi fájdalom, remegés, fulladás) rendelkező, visszatérő, váratlan félelmi rohamok megjelenését jelenti.
- Agarofóbiáról pánikbetegség előzménye nélkül, ahol az egyén irracionális félelmet tapasztal publikus, vagy nyílt helyeken.
- Egyéb fóbias betegségekről, ami félelmet jelent például szociális interakcióktól (szociális fóbia), vagy bizonyos dolgoktól, szituációktól (specifikus fobiák)
- Poszttraumás stressz zavarról (PTSD), ami szorongás aktiválta folytonos felidéződése megélt traumatikus eseményeknek.
- Szeparációs szorongási zavarról, ami az egyén számára kedves személyek elhagyásától való félelem.
- Obszesszív-kompulzív zavarról, amikor az egyén csapdába esik olyan ismétlődő gondolatok és viselkedések (obszessziók és kompulziók) hálójában, amik jelentős distresszt okoznak, hosszú időt emésztnek fel, vagy lényegesen beleavatkoznak a normális elfoglaltságaiba, szociális tevékenységeibe és kapcsolataiba.
- Akut stressz zavarról, ami egy traumatikus eseményt követő lehetséges szorongási reakció.
- Egészségügyi állapottal kapcsolatos szorongásos zavarról, melynek fellépése annak a tudatnak róható fel, hogy az egyén krónikus, vagy talán meggyomorító betegséggel rendelkezik.
- Szerhasználat idnukálta szorongásos zavarról
- és az előbbi kategóriákba nem eső, egyéb szorongásos zavarokról (Shri, 2010; World Health Organization, 1992; Cates et al., 1996; DSM-V-TR, 2013; Augustin, 2005; Rang et al., 2007).
- Szelektív mutizmusról, amikor az érintett elvárt helyzetben képtelen nyilvánosan megszólalni.

A depresszió okai a szorongásnál látottakhoz hasonló tényezőkhez köthetők: Egy a teljes genomra kiterjedő tanulmány 178, a klinikai depresszióhoz kötődő génvariánst azonosított, ezzel bizonyítva a rendellenesség genetikai hátterének összetettségét (Levey és mtsai., 2021). Kutatások alátámasztották, hogy a depressziót az agyban található vegyületek egyensúlyának felborulása, hormonális változások, valamint bizonyos gyógyszerek is nagyban befolyásolhatják (Remes és mtsai., 2021). Egy a kapcsolódó tanulmányok eredményeit összegző metaanalízis úgy találta, hogy a diszfunkcionális hozzáállás és a negatív érzelmiség kapcsolatban állhatnak a MDD kialakulásával (Fu és mtsai., 2021). Bemutatásra került, hogy a

gyermekkor trauma, a társadalmi-pénzügyi háttér és a családok nem megfelelő működése jelentősen növelheti a depresszió kockázatát (C. Yang és mtsai., 2021). Valamint igazolt az is, hogy az egészségtelen étkezés, a testmozgás hiánya és a szerhasználat összefüggésben áll a depresszió magas kockázatával (Sarris és mtsai., 2020).

- A klinikai depresszió (MDD), melynek jellemzője a legalább 2 hétig elhúzódó tartós szomorúság, az érdeklődés hiánya bármilyen tevékenység iránt (anhedónia), illetve változatos fizikai és érzelmi problémák (American Psychiatric Association, 2013).
- A tartós depressziós zavar (Persistent Depressive Disorder – PDD), azaz a disztímia, a depresszió krónikus formája, ami hosszútávú (legalább 2 év), mégis a MDD-vel ellentétben kevésbé súlyos tünetekkel jár (Kessler & Bromet, 2013).
- A bipoláris zavar, amely depressziós és mániás vagy hipomániás epizódokat foglal magába, a páciens pedig vagy különösen felhőtlenül, vagy borzalmasan ingerlékenynek érzi magát (Grande és mtsai., 2016).
- A szezonális affektív zavar (Seasonal Affective Disorder -SAD), ami az év bizonyos időszakában következhet be, jellemzően a téli hónapokban, amikor kevesebb a napsütés, így hátráltatott például a D-vitamin szintézise is (Rosenthal és mtsai., 1985).
- A szülés utáni depresszió (posztpartum depresszió), amely egyes nőket érint szülés után és extrém szomorúság, szorongás és kimerültség érzését váltja ki, ami gondot okozhat az újdonsült anya azon képességével, hogy megfelelően törődjön magával és/vagy a gyermekével (O'Hara & McCabe, 2013)
- A pszichotikus depresszió, mely során a depresszió a pszichózis tüneteivel (halucinációk, tévképzetek) társul (Gaudiano és mtsai., 2007).
- A premenstruációs diszfóriás zavar (Premenstrual Dysphoric Disorder (PMDD)): A premenstruációs szindróma (PMS) súlyos formája, olyan tünetekkel, mint az erőteljes ingerlékenység, depresszió és szorongás a menstruáció hetén vagy 2 héttel előtte (Halbreich és mtsai., 2003).
- A diszruptív hangulati diszregulációs zavar (Disruptive Mood Dysregulation Disorder – DMDD), ami gyermek- illetve kamaszkorban kerül diagnosztizálásra és súlyos ingerlékenységet, haragot és gyakori intenzív dühkitöréseket von magával (Axelson & Birmaher, 2001).

Mindezen felül, a Stanfordi egyetem kutatói egy újabb tanulmányban a depresszió 6 elkülönülő biológiai altípusát, azaz „biotípusát” azonosították agyi képződmények és gépi tanulás segítségével.

Ezek a biotípusok segíthetnek a kezelésre való reakciók elővetítésében és utat nyithatnak személyreszabottabb kezelési megközelítések számára (Williams, 2017).

1.3.2. A depresszió patomechanizmusa

A depresszió patomechanizmusa, mint az már említésre került egy összetett, mindmáig nem teljesen megfejtett etiológiával bíró folyamatgyűttes. A háttérben álló legelterjedtebb magyarázat a monoaminerg hipotézis, mely abból a feltevésből indul ki, hogy a például a motiváció, hangulat, éberség, étvágy, koncentráció (...) szabályozásáért felelős fő monoamin neurotranszmitterek, a szerotonin (5HT), a dopamin (DA) és a noradrenalin (NA) elérhető mennyiségének csökkenése visszaeső neurotranszmisszió és nem megfelelő kognitív teljesítmény révén depresszióhoz vezet (Barchas & Altemus, 1999; Coppen, 1967). A monoaminok funkcionális csődje ugyanakkor csökkent fehérjetranszporter funkciók és abnormális receptorműködések eredményeképp is felléphet (Brigitta, 2002).

Ez az elmélet önmagában nem fedi le az összképet, egyes tanulmányok például növekedett noradrenalin szintekről számoltak be depresszió esetén mind a vérplazmában, mind a cerebrospinális folyadékban (Wong & Licinio, 2001). Jelenlegi állás szerint a depresszió patogenezisében olyan tényezők is közrejátszanak, mint a már említett genetikai, környezeti és endokrin faktorok, a neurogenesis, vagy éppen az immunológiai tényezők s erre egyre növekvő bizonyíték áll rendelkezésre. Ezek és a depresszió kialakulása között valószínűsíthetően a HPA tengely játsza az összekötői szerepet, így okozva strukturális és funkcionális változásokat számos agyterületen, ami végsősoron a neurogenesis és neurotranszmisszió hibás működésében, ezáltal a depresszió különböző tüneteinek konstellációjának megjelenésében kulminálódik (Jesulola és mtsai., 2018).

1.3.3. Kezelési lehetőségek, farmakológiai aspektusok

A depresszió és szorongás kezelésére egyre több gyógyszer áll rendelkezésre, mégis a betegek nagy része nem reagál egyes gyógyszerekre, a kezelés hatása késleltetett, illetve kellemetlen vagy veszélyes mellékhatásokkal (szexuális zavarok, agresszió, öngyilkos készletés) jár (Wong & Licinio, 2001). Ezen okoknál fogva a depresszió és a szorongás kezelésére új terápiás célpontok azonosítására van szükség.

Jelenleg a depresszió ellen legszélesebb körben alkalmazott gyógyszeres kezelések egy része szolgált a monoaminerg elmélet alapjául, céljuk a monoaminok mennyiségének szintentartása a központi idegrendszer szinaptikus réseiben. A leggyakoribbak az elmélet alapján már újonnan

kifejlesztett szelektív szerotonin visszavétel gátlók (selective serotonin reuptake inhibitors - SSRI) valamint szerotonin és noradrenalin visszavétel gátlók (SNRI), amelyek nevükből is adódóan a monoaminok intercelluláris térből való visszavételét gátolják, utánuk következnek a hasonlóan működő, de lényegesen több mellékhatással bíró triciklikus gyógyszerek és a monoamin oxidáz (MAO) gátlók, melyek a monoaminok szinaptikus résbeli elbomlását akadályozzák (Wong & Licinio, 2001; Rang és mtsai.).

Számos tanulmány törekszik ugyanakkor újabb és újabb célpontok felderítésére: több neurotranszmittert érintő multimodális kezelés került látótérbe a szerotonin degradációjának elkerülésére; de a depresszió folyamán megváltozó szerotonin és adreanlin receptorok specifikus megcélzása, a depresszióval kapcsolatos géneket érintő génterápia (GNB3, SCL6A3, SLC6A4); vagy épp a trijód-thyronin (T3) is ígéretes iránynak bizonyulnak (Jesulola és mtsai., 2018).

I.3.4. Egyéb kezelési lehetőségek

Egyes kutatások úgy tartják, hogy súlyos depresszió esetén akkor a legsikeresebb a kezelés, ha az antidepresszáns terápiát egyúttal pszichoterápia is követi (Castrén, 2002), egyéb tanulmányok pedig a depresszió cirkadián ritmusban való zavarokozásával összefonódó szezonális affektív zavar alvásmegvonással és fehér fény terápia segítségével való orvosolhatóságát bizonyítják (Gerner és mtsai., 1979). Mai modern világunkban ugyanakkor a komplementer orvoslás (Complementary and alternative medicine – CAM) is egyre nagyobb teret hódít, 1990 és 1997 között az efféle terápiák használóinak száma 33,8%-ról 42,1%-ra ugrott, jelentős újításokat hozva olyan nehezen kezelhető betegségek esetén, mint amilyen maga a depresszió is (Ernst, 2000). Ide tartoznak a kognitív visszajelzés terápiák (relaxáció, hypnoterápia...), alternatív orális gyógymódok (gyógynövények, megavitaminok, cink, likopin, omega3...), fizikai terápiák (jóga, akkupunktúra, fizioterápia, csontkovácsolás...), alternatív gyógyászati ágazatok (aromaterápia, homeopátia, hagyományos kínai orvoslás...) és számos egyéb terápiai lehetőség (Shri, 2010).

I.4. Dimetil-triszulfid

Irodalmi adatok alapján a szulfid mérsékli a krónikus megjósolhatatlan enyhe stressz (CUMS) okozta depressziószerű magatartást (Liu és mtsai., 2017; Wei és mtsai., 2018). A hidrogén-szulfidot (H₂S), mint endogén gáztranszmittert széles körben kutatják, egyes vélemények szerint a szulfid hatását poliszulfidok közvetítik, melyek a szulfid oxidált formái. A

poliszulfidokat rágcshálók központi idegrendszerében detektálták (Cortese-Krott és mtsai., 2015, 2016; Greiner és mtsai., 2013). A szulfid központi idegrendszeri szerepének aktív kutatása ellenére mégsem tudunk sokat a szorongásban, depresszióban kifejtett hatásairól (Yang & Wu, 2017). Kémiaiilag az alkil-triszulfidok, mint például a dimetil-triszulfid (DMTS), tri- és diszulfid metabolitokat képeznek a cisztein-aminosavak tiolcsoportjaival, míg a szerves poliszulfidok a fehérjék perszulfidációjához vezetnek, emiatt a két vegyületcsoport eltérő biológiai hatással rendelkezhet. A szerves poliszulfidok továbbá megfelelőbb farmakokinetikai tulajdonságokkal rendelkeznek (Báta és mtsai., 2018).

A DMTS könnyen elérhető nagy tisztaságban, a természetben megtalálható, stabil vegyület, illetve elfogadható áron hozzáférhető. Más tanulmányokból főként a ciánmérgezés ellenszereként ismeretes (DeLeon és mtsai., 2018). A diallil-vegyületek nem stabilak, nagyon drágák, és legtöbbször számos kémiai vegyület keverékeként érhetőek csak el. A DMTS eliminációs féleletideje 36 perc és leginkább a vörösvértestekben akkumulálódik (De Silva és mtsai., 2016). Könnyen átjut a vér-agy gáton, és detektálható az agy szövetében (Kiss és mtsai., 2017; Warnakula és mtsai., 2020).

Korábbi kísérleteink során a DMTS gátolta a spontán motoros aktivitást és légzést egérben (Pozsgai és mtsai., 2017), központi idegrendszer depresszááló hatású, továbbá nemrégiben végzett kísérleteink során a DMTS csökkentette a depresszió-szerű magatartást és szorongást akut stressz, valamint krónikus megjósolhatatlan enyhe stressz modelljeiben. Ezen kísérleteink folyamán a TRPA1 ioncsatornát vettük górcső alá, mint a DMTS hatásának lehetséges közvetítőjét. Eredményeink alapján a TRPA1 ioncsatorna részt vesz a DMTS hatásának közvetítésében, mindazonáltal más útvonalak is szerepet kell, hogy játszanak a folyamatban.

I.5. Endokannabinoid rendszer

I.5.1. Alapfogalmak

Az emlősök agyában nemrégiben új specifikus kötőhelyeket sikerült azonosítani, amiknek az endogén ligandumait izolálás és jellemzés után endokannabinoidoknak nevezték el. Az endokannabinoid rendszer magában foglalja a receptorokat, az endogén agonistákat és az ezekhez kapcsolódó biokémiai gépezetet, amely szintézisükért és hatásuk kifejezéséért felelős. A receptorokat a Nemzetközi Klinikai Farmakológiai Társaság (IUPHAR) a felfedezésük sorrendje szerint CB1 és CB2 receptoroknak nevezte el (Howlett, 2002). Mindkét esetben G-fehérjéhez kapcsolt receptorról van szó. A központi idegrendszerben a CB1 elsősorban a

preszinaptikus idegvégződéseken lokalizálódik, és a kannabinoidok neuronális hatásainak többségéért felelős. A CB2 ezzel szemben az immunrendszer fő kannabinoid-receptora, ugyanakkor a neuronokban is kifejeződhet. A CB1 és CB2 fő endogén agonistái az arachidonsav-származékok. Az arachidonoil-etanolamin volt az elsőként felfedezett endokannabinoid, melyet a "boldogság" után anandamidnak neveztek el. Később azonosítottsra került a 2-arachidonoil-glicerin (2-AG) is (Saito és mtsai., 2010).

Az endokannabinoidok atipikus hírvivők, tekintve, hogy nem felelnek meg a klasszikus neurotranszmitterek kritériumainak. A jelátvitelt retrográd módon közvetítik a posztzinaptikus terminálokból a preszinaptikus terminálokba, igény szerint szintetizálódnak és nem is tárolódnak vezikulákban, szintézisük posztzinaptikusan történik és a preszinaptikusan lokalizálódó CB receptorokhoz kötődnek. Az anandamid és a 2-AG hidrolíziséért felelős elsődleges enzimek a zsírsavamid-hidroláz (FAAH) és a monoacilglicerid-lipáz (MGL). Mind a FAAH, mind az MGL fontos farmakológiai terápiás célpont lehet. Napjainkra számos módszert fejlesztettek ki, amelyen keresztül beleavatkozhatunk az endokannabinoid rendszer működésébe, amik közül a legelterjedtebb két módszer a CB receptorok működésére ható agonisták vagy antagonisták alkalmazása, valamint az endokannabinoidokat lebontó enzimek gátlása (Egertová és mtsai., 1998).

1.5.2. Az endokannabinoid rendszer zavarai, kapcsolódó betegségek

Az endokannabinoid rendszer a központi idegrendszerben diffúzan eloszló, számos agyterületre kiterjedő modulációs rendszer, amely több szempontból egyfajta kiegyensúlyozó védvonalként működik, ami megvédi az agyat a túlzott serkentő vagy gátló hatásoktól. Nem nehéz ily módon belátni, hogy amennyiben ez a rendszer nem funkcionál megfelelően, az extrém agykérgi serkentés esetén mániás, vagy „túlizgatott”, a spektrum másik felén, extrém gátló hatás esetén pedig anhedonikus, apatikus, depressziós hangulathoz vezethet. Az endokannabinoid rendszer aktivitásának mértéke továbbá hozzájárulhat normális egyének személyiségjegyeinek milyenségéhez és a hangulatzavaroknak való kitettségükhöz (Ashton & Moore, 2011).

A csökkent endokannabinoid aktivitás (például a depresszióhoz is kapcsolódóan) a szerotoninerg aktivitás visszaesésével és csökkenő fájdalomtoleranciával jár (Moreira & Crippa, 2009), egy megfelelően működő endokannabinoid rendszer ugyanis az idegrendszer minden szintjén modulálja a perifériáról az agyba érkező fájdalomimpulzusokat (Pertwee, 2001). A rendszer a kannabinoid receptorok révén interakcióba lép a monoaminerg és opioid neurotranszmitterek által mediált opioid rendszerekkel és leszálló fájdalomszuppresszáns

útvonalakkal, ezekkel ellentétben viszont nem csupán intenzív, vagy elnyújtott fájdalomérzet hatására aktiválódik, hanem alapvetően egyfajta tonicitást mutat. Mindazonáltal a fájdalom intenzitás növekedésével mindkét rendszer aktivitása megnövekszik (Walker és mtsai., 1999).

Az endokannabinoid rendszer szorongásban betöltött szerepét elsősorban klinikai adatok igazolják, megnövekedett aktivitása feltételezhetően segít az agykérgi stimuláció túllövéseinek stresszhelyzetbeli mérséklésében (Ashton & Moore, 2011). Az endokannabinoidok emellett egyfajta amnesztikus hatással is rendelkeznek (García-Gutiérrez & Manzanares, 2010; Marsicano és mtsai., 2002), melynek szerepe a stresszszituációk utóhatásának mérséklésében, például a poszttraumás stressz zavar (PTSD) esetén és averzív emlékek elfelejtésében manifesztálódhat (Ashton & Moore, 2011). A CB1 receptor blokkolódása ily módon hibákhoz vezet a felejtésben és hiperérzékenységhet okoz a stressz tekintetében (Hill & Gorzalka, 2005).

A CB1 receptort kódoló CNR1 génhez továbbá számos allél köthető, beleértve egy darab nukleotidot érintő polimorfizmusokat és triplet-ismétlődéseket (Tzavara & Witkin, 2008). Ezen allélok némelyike olyan fenotípusokhoz vezet, melyek a skizofrénia, elhízás, bulémiás anorexia nervosa, szerhasználat, depresszió és/vagy egyéb mentális betegségek kockázatát hordozzák magukkal (Tzavara & Witkin, 2008; Vinod & Hungund, 2006).

Egyes tanulmányok olyan neurodegeneratív betegségekkel kialakulásával is kapcsolatba hozzák az endokannabinoid rendszert, mint a Parkinson-, Alzheimer- és Huntington-kór (Basavarajappa és mtsai., 2017).

1.5.3. Az endokannabinoid rendszer és a depresszió kapcsolata

Állatkísérletek közvetlenebb bizonyítékot szolgáltatnak az endokannabinoid-raendszer szorongásban és depresszióban való részvételére. Kimutatták, hogy az endokannabinoid rendszer számos olyan agyi régióban, például a prefrontális kéregben, a hippocampusban, az amygdalában és a középagyi periaqueductalis szürkeállományban működik, amelyek különböző pszichiátriai zavarokban érintettek. Eddig kevés vizsgálat mérte az endokannabinoidok szintjét pszichiátriai rendellenességekben. Az AEA és a 2-AG bazális szérumkoncentrációja jelentősen csökken depresszió esetén, ami a rendszer szerepére utal a rendellenességben (Herkenham és mtsai., 1990; Hill és mtsai., 2009).

A zsírsav-amid-hidroláz (FAAH) az emlős központi idegrendszerben megjelenő enzim. A FAAH az N-arachidonoil-etanolamin endokannabinoid fő lebontó enzime, ezáltal az

endokannabinoid rendszer fontos szabályozója. Az enzim genetikai hiánya vagy krónikus gátlása szorongásoldó és antidepresszáns hatású (Tejeda-Martínez és mtsai., 2021). Poliszulfidok FAAH-ra kifejtett hatását még nem tanulmányozták, viszont az valószínűsíthető, ugyanis az enzim aktivitása cisztein módosítás által gátolható (Shin és mtsai., 2019).

Mint már említettük, a monoacil-glicerín-lipáz (MGLL) is megtalálható a központi idegrendszerben és az endokannabinoid rendszer fontos eleme. Gátlása mérsékli az akut stressz hatását és a depressziót (Gomes-de-Souza és mtsai., 2016), mivel az enzim aktivitását egy diszulfid kötés létrejötte gátolja, ami itt is valószínűsíti a poliszulfidokkal való kölcsönhatást (Kapanda és mtsai., 2009).

II. CÉLKITŰZÉS

Kutatásunk fő céljai ismét összefoglalva felderíteni a DMTS hatásának közvetítésében szerepet játszó háttérmechanizmusokat, különös tekintettel az endokannabinoid rendszer szerepére. Továbbá szeretnénk igazolni az endokannabinoid rendszer szerepét a krónikus, megjósolhatatlan enyhe stressz okozta depresszió-szerű magatartás és szorongás kialakulásában, a rendszert alkotó endokannabinoidok és gátló enzimek jelenlétét a stresszfolyamatokban releváns agyterületeken (Kormos és mtsai., 2022).

III. ANYAG ÉS MÓDSZER

III.1. Az alkalmazott módszertan indokoltsága és tudományos megalapozottsága

Kísérleteink során egy szerves poliszulfid vegyület, a dimetil-triszulfid (DMTS) hatását és endokannabinoid rendszerrel való kölcsönhatását szeretnénk vizsgálni krónikus megjósolhatatlan enyhe stressz (CUMS) esetén. A hatásmechanizmus feltárásának érdekében a folyamatban valószínűleg szerepet játszó endokannabinoid rendszert gátló CB1 és CB2 antagonistát (AM251), alkalmazunk.

A DMTS megfelelő intraperitoneális dózisát korábbi kísérleteink során már megállapítottuk, Open Field Test segítségével. A C57Bl/6 törzsű egereket krónikus megjósolhatatlan enyhe stressz (CUMS) vizsgálatnak vetünk alá. Az állatokat 60 percig korlátozzuk mozgásukban, 3 órára megdöntjük a dobozukat, 3 óráig sötétben tartjuk őket vagy 3 órán át percenként 50-szer rázatjuk a dobozukat a nappal folyamán. Éjszaka 250 mL vizet adunk az almukhoz, szociális elszigetelést vagy normál csoportos tartást alkalmazunk. A stresszorokat 3 hét folyamán naponta kétszer – nappal és éjszaka – véletlenszerűen alkalmazzuk. Minden állatcsoport ugyanabban a sorrendben részesül a stresszorokban. A kontrollcsoportokat nem tesszük ki stressznek. A vizsgálat végén OFT-t, üveggolyó eltemetés tesztet (MBT), szukróz preferencia tesztet (SPT), tail suspension testet (TST) és forced swim testet (FST) végzünk. Az utolsó 24 órában nem alkalmazunk stresszort. Az MBT során az állatok egyesével kerülnek olyan átlátszó műanyag dobozba, ami 24 egyenletesen elhelyezett üveggolyót tartalmaz fűrészpor felszínén. Miután az egér 30 percet töltött a dobozban, megszámoljuk hány golyót temetett el legalább kétharmad magasságig. Az állatokat az SPT során alkalmazott, csapvizet, illetve 1%-os szukróz oldatot tartalmazó itatópalackhoz 4 egymást követő napon szoktatjuk hozzá. A szukrózt tartalmazó palackot véletlenszerűen helyezzük el. A végső kísérlet során az állatokat egyesével helyezzük a dobozba egy éjszakára. A csapvíz és szukróz oldat fogyasztását a palackok tömegének kísérlet előtti és utáni megméréseivel detektáljuk.

Kísérleteink első részében az endokannabinoid szerepét szeretnénk igazolni a folyamatban, így CB1 antagonista AM251 (3 mg/kg i.p.) és megfelelő vivőanyag, valamint DMTS (30 mg/kg i.p.) és megfelelő vivőanyag kezelésben részesítjük az állatokat. Az állatok egy csoportja a két anyag kombinációját kapja. A DMTS-t a már korábban tesztelt kezelése módszerrel megegyezően, egy nap 7x, óránként 1x adjuk 8 és 14 óra között. Az AM251 vegyületet 7 napon keresztül, napi 1x adjuk.

Más kísérletekben az endokannabinoidokat lebontó enzimek gátlóit alkalmazzuk az állatokon. Ennek során a stressznek kitett állatokat 4 csoportba osztjuk.

A fent leírtaknak megfelelően az állatokat a viselkedési kísérletek után 24 órával pentobarbitállal elaltatjuk.

III.2. A projektben alkalmazott összes kísérlet

III.2.1. *Open field test (OFT):*

Az állatokat egy 60x60 cm-es és 60 cm magas fallal körülvett doboz közepére helyezzük, amiben szabadon mozoghatnak. Az állatok viselkedését 10 percen keresztül digitális kamerával rögzítjük. Az egerek által megtett távolságot és a mozgással töltött időt EthoVision XT alkalmazással (Noldus) értékeljük. Az OF tesztet a megfelelő DMTS dózis és adagolási rend meghatározására alkalmazzuk (Bahi, 2016).

III.2.1. *Krónikus megjósolhatatlan enyhe stressz (CUMS) modell*

Ennek során hím C57Bl/6 törzsű egereket véletlenszerűen különböző stresszoroknak tesszük ki. Az állatokat 60 percig korlátozzuk mozgásukban (restraint stress), 3 órára megdöntjük a dobozukat, 3 óráig sötétben tartjuk őket vagy 3 órán át percenként 50-szer rázatjuk a dobozukat a nappal folyamán. Éjszaka 250 mL vizet adunk az almukhoz, szociális elszigetelést vagy csoportos tartást alkalmazunk. A stresszorokat 3 hét folyamán véletlenszerűen alkalmazzuk naponta kétszer, nappal és éjszaka. Minden állatcsoport ugyanabban a sorrendben részesül a stresszorokban. Szociális izoláció során az egy ketrecben lévő állatokat külön ketrecbe helyezzük egy éjszakára, ahol a normál ketrechez teljesen megegyező körülményeket biztosítunk. Nedves alom alkalmazása során a ketrecek állatai együtt maradnak az éjszaka folyamán, ám az almot este benedvesítjük tiszta csapvízzel. A nedves alom lecserélésre reggel kerül sor. Megvilágítási viszonyok megváltoztatása során az állatokat nappal (tehát normál megvilágítási viszonyok idején) sötét helyiségbe helyezzük 3 órára. Az állatokat ez idő alatt is a saját ketrecükben tartjuk a táplálék és a víz biztosításával (Göntér és mtsai., 2024; Kormos és mtsai., 2022).

III.2.2. *Dimetil-triszulfid (DMTS) kezelés*

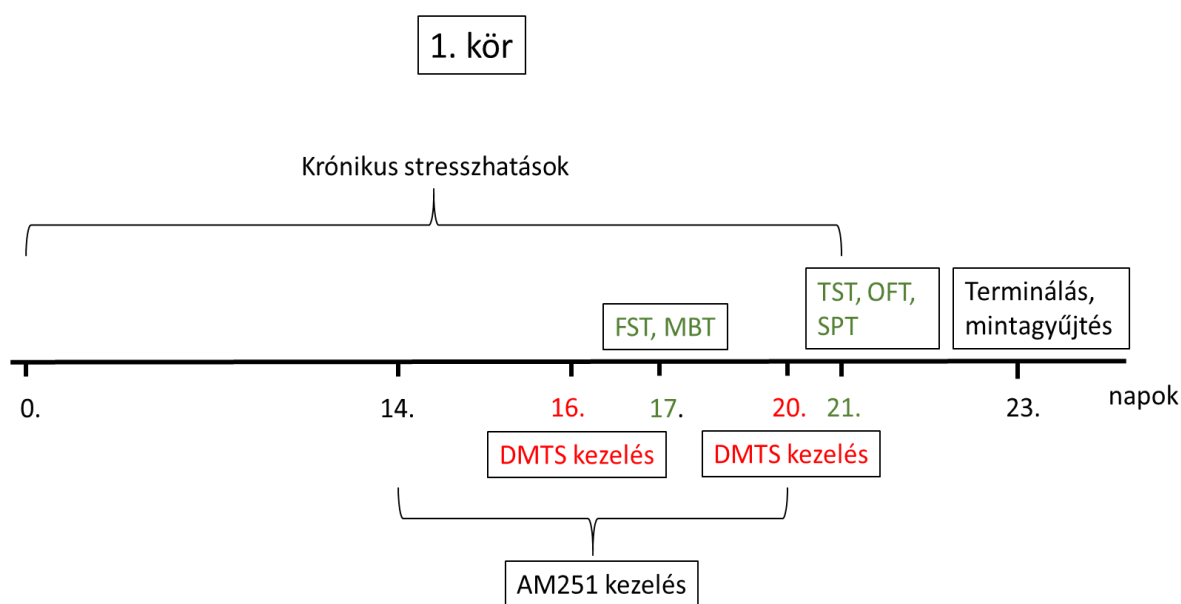
Dimetil-triszulfid (DMTS), illetve vivőanyagai intraperitoneális beadása. A kezelést éber állaton végezzük 30 G injekciós tű segítségével laterális alhasi területen (Göntér és mtsai., 2024).

III.2.3. AM251 és vivőanyag szubkután beadása

A kezelést éber állaton végezzük 30 G injekciós tű segítségével. Az alkalmazott vegyület dózisát irodalmi adatok alapján állapítjuk meg, ez 3 mg/kg (Hildebrandt és mtsai., 2003; Long és mtsai., 2009; Fegley és mtsai., 2005).

III.2.4. Viselkedés tesztek

Az állatok depresszió-, anhedónia és szorongási szintjének vizsgálatára viselkedési teszteket végzünk. Ennek során OFT-t, üveggyólyó eltemetés tesztet (MBT), szukróz preferencia tesztet (SPT), tail suspension tesztet (TST) és forced swim tesztet (FST) végzünk. Az utolsó 24 órában nem alkalmazunk stresszort.



1. ábra: a kísérlet menete. A krónikus stresszparadigma 3 hétig tartott, melynek 16. és 20. napján megtörtént a DMTS adminisztrációja; 14. és 21. napja között az AM-251 kezelés; 17. és 21. napján a viselkedéstesztok végrehajtása, 48 órával az utolsó tesztet követően pedig a termináció és a mintagyűjtés.

III.2.4.1. A modell validitását igazoló viselkedésteszt

Szukróz preferencia teszt (SPT): Az állatokat 4 éjjelen keresztül szoktatjuk 2 véletlenszerűen egy időben felkínált itatós üveghez (ezek során az állatokat nem vonjuk el egymástól). Az egyik edény 1% szukróz oldatot tartalmaz, míg a másik vizet. A hozzászoktatást követő 2. napon az állatokat 12 órán keresztül szomjaztatjuk a cirkadián ritmus sötét fázisának kezdete előtt. A sötét fázis kezdetét követően tiszta alommal bélelt ketrecbe helyezük őket egyesével. Az állatoknak véletlenszerűen elhelyezve 2 itatósüveget kínálunk fel, melyek egyikébe csapvizet,

a másikba 1% -os szacharóz oldatot töltünk. 20 óra elteltével az állatokat visszahelyezzük eredeti ketrecekbe társaikkal együtt és a folyadékfogyasztást regisztráljuk. A csapvíz és szukróz oldat fogyasztását a palackok tömegének kísérlet előtti és utáni megméréseivel detektáljuk. A depresszió egyik fontos jele az anhedónia, mely abban nyilvánul meg, hogy az állat nem preferálja az édes folyadékot (Liu és mtsai., 2017).

III.2.4.2. A szorongást kimutató viselkedésteszt

OFT: A teszt az állatok lokomotoros aktivitásának és szorongási szintjének vizsgálatára szolgál. Az egereket egy meghatározott paraméterekkel rendelkező doboz (60x60x60 cm) közepére helyezzük, melyben az állatok szabadon mozoghatnak. Viselkedésüket 10 percen keresztül figyeljük és kamerával rögzítjük. A felvételek kiértékelése során a lokomotoros aktivitást (megtett út, mozgással töltött idő), és a szorongási szintet (a fal mellett, illetve a nyílt területen töltött idő, fej emelgetések, ágaskodások, ugrások és tisztálkodások száma) vizsgáljuk Noldus EthoVision XT alkalmazással (Chen és mtsai., 2013).

Üveggolyó elrejtési teszt (MBT): A teszt során az állatokat egyesével egy külön ketrecbe helyezzük, ahová előzőleg 24 db kb. 1 cm átmérőjű színes üveggolyót (idegen tárgy) helyezünk. Harminc perc elteltével regisztráljuk az állatok által az alomba elrejtett üveggolyók számát, pontosabban megszámláljuk, hány golyót temetett el legalább kétharmad magasságig. A több golyó eltemetése fokozott depressziószerű viselkedésre, szorongásra utal (Njung'e & Handley, 1991).

III.2.4.3. A depresszió-szerű viselkedést kimutató tesztek

FST: Az állatokat 6 perc időtartamra egy tiszta, 23 °C hőmérsékletű vízzel félig telt átlátszó műanyag edénybe helyezzük úgy, hogy az állatok nincsenek életveszélyben, de az edényből önerőből szabadulni nem képesek. Az állatok viselkedését videokamerával rögzítjük. A kísérlet végeztével az állatok bundájáról a vizet leitatjuk, majd megszáradt állapotban saját ketrecükbe helyezzük vissza. EthoVision XT alkalmazással (Noldus) értékeljük, hogy az állatok mennyi időt töltöttek mozgással, illetve mozdulatlanul, valamint hányszor mutattak nagy aktivitást (D'Souza & Sadananda, 2017).

TST: A teszt lényege, hogy az állatokat a farkuknál fogva fájdalmat nem okozva ragasztószalag segítségével – a biztonság érdekében nem túl magas felületre (50 cm magasságban) – rögzítjük 6 percre, függő helyzetben. A forced swim teszthez hasonlóan az állatok viselkedését videokamerával rögzítjük. Gondosan járunk el, hogy az állat farka ne sérüljön a rögzítés és

függeszkedés során. EthoVision XT alkalmazással (Noldus) értékeljük, hogy az állatok mennyi időt töltöttek mozgással, illetve mozdulatlanul, valamint hányszor mutattak nagy aktivitást (Kudryavtseva és mtsai., 1991).

III.3. Mintavétel/termináció

A viselkedési kísérletek után állataink felét intraperitoneálisan alkalmazott pentobarbitál (100 mg/ttkg) segítségével létrehozott mély anesztézia során transzkardiálisan perfundáljuk: a bal kamrába kanült vezetünk, melyen keresztül előbb foszfát-pufferrel átmossuk az érpályát, majd 4%-os paraformaldehid oldattal fixáljuk az állatokat. Ezek után a thymust, a mellékveséket, illetve az agyat további vizsgálat céljából eltávolítjuk.

III.4. Értékelési módszerek

III.4.1 Noldus EthoVision XT 15

A Noldus EthoVision XT rendszert az állatok mozgásának laboratóriumi körülmények közötti megfigyelésére tervezték. Egy felülnézeti kamerát használ, és fekete-fehér kontraszt alapján követi az állatokat, ami a szubjektív technikákkal összehasonlítva megbízható értékelési módszert biztosít. A rendszer széles körű adatokat generál, és különböző laboratóriumokban következetesen alkalmazható.

Az OFT esetében az értékelés 30 másodperccel azután kezdődik, hogy az állat megjelenik az arénában, és 5 percig tart. A mozgással töltött időt és az ez idő alatt megtett távolságot értékelik. Az FST esetében a 6 perces felvétel utolsó 4 percét értékeltük. Az egér körvonalának változása alapján mértük, hogy az állat mennyi ideig volt inaktív, és milyen gyakran lépett magasabb aktivitási állapotba. Hasonlóképpen, a TST esetében a program a mozdulatlanul töltött időt és az aktív időszakok számát értékelte.

III.5. Statisztikák

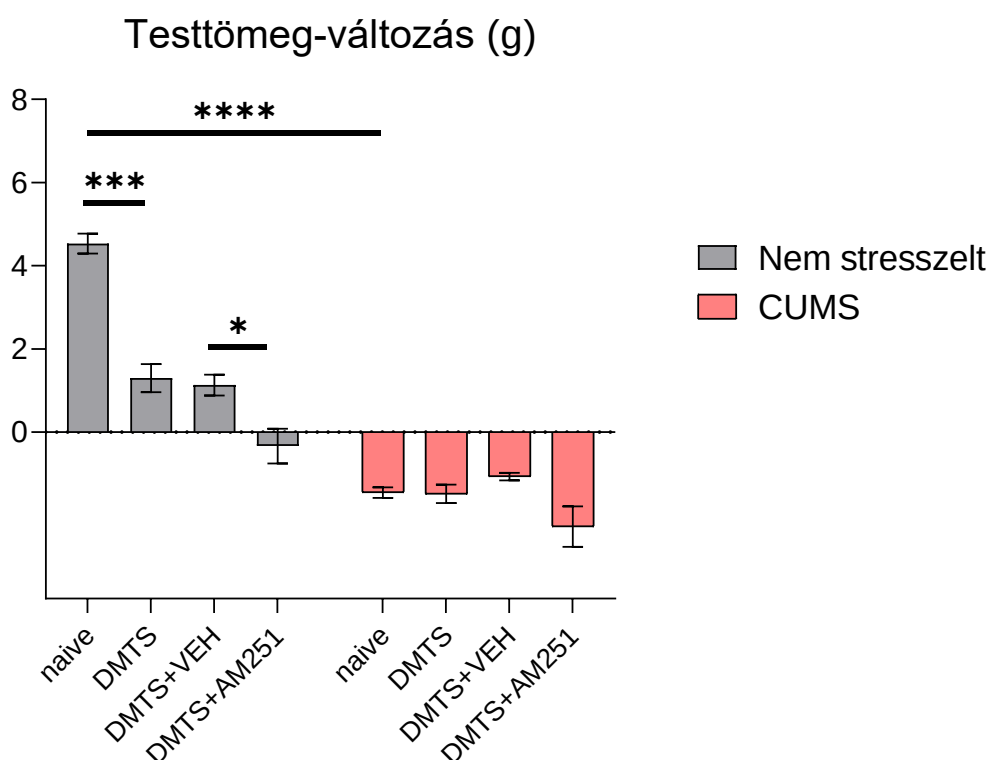
Az adatokat az átlag és az átlag standard hibája formájában mutatjuk be. Az immunhisztokémiai adatok értékelésére háromutas varianciaanalízist (ANOVA) alkalmaztunk. Az adatok eloszlásának normalitását a Shapiro-Wilk-teszttel, a variancia homogenitását pedig a Bartlett-féle Chi-négyzet teszttel ellenőriztük. A viselkedési adatokat egy- (OFT a dózis meghatározásához) és háromutas ANOVA-val értékeltük. Minden post hoc elemzést az ANOVA első- vagy másodrendű hatásai alapján végzett Tukey-teszt segítségével végeztünk. A statisztikai kiértékelést a GraphPad Prism 8 alkalmazás segítségével végeztük.

IV. EREDMÉNYEK

IV.1. A modell validálása

IV.1.1. Testtömeg-változás

A CUMS hatását az állatok testtömeg változásának mérésével vizsgáltuk (2 ábra). Eredményeink alapján a nem stresszelt, kezeltlen állatok a három hét alatt hajlamosak voltak a súlynövekedésre, míg a krónikus stressznek kitett állatok a súlycsökkenésre ($p < 0,0001$). Figyelemre méltó, hogy a stresszben nem részesült, azonban DMTS-kezelt, valamint DMTS-VEH-kezelt állatok szintén kisebb mértékű súlynövekedést mutattak a három hét alatt ($p < 0,001$), az AM251 kezelést is kapott állatok pedig minimális súlycsökkenést mutattak a DMTS és DMTS-VEH-kezelt csoportokhoz képest is ($p = 0,0166$). A stressznek kitett állatok kezelési csoportjaiban nem látható szignifikáns különbség.



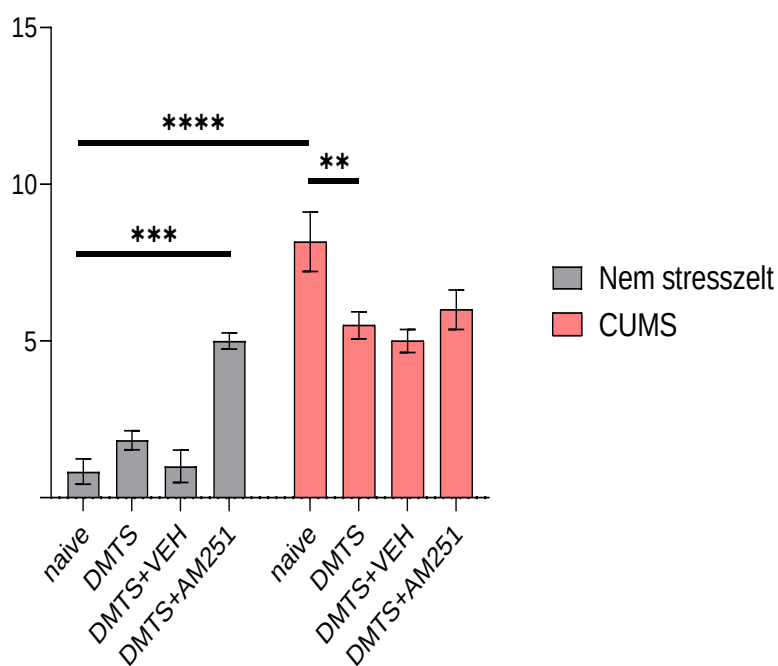
2. Ábra: Az állatok testtömeg-változása a három hét alatt. Krónikus stressz hatására az állatok hajlamosak voltak a súlycsökkenésre a súlygyarapodás helyett, mely megfigyelhető DMTS, DMTS-VEH és DMTS-AM251 kezelést követően is a nem-stresszelt csoportokban. Két-utas ANOVA, Tukey post hoc teszt (* $p < 0,05$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$), $n=6$ /csoport). Az egyértelműség érdekében csak a vonatkozó szignifikanciaszinteket tüntettük fel.

IV.2. Szorongást-kimutató viselkedésteraztek

IV.2.1. Üveggolyó-eltemetési teszt

Az eltemetett üveggolyók száma korrelál a rácsálók szorongásszintjével (3. ábra). Három hetes krónikus stressznek való kitettség eredményeként az állatok szignifikánsan több üveggolyót temettek el ($p < 0,0001$). Ami a különböző kezelési csoportokat illeti, azt tapasztaltuk, hogy a stresszben nem részesült, kezeletlen állatokkal összehasonlítva a DMTS-AM251 kombinációját tartalmazó kezelésben részesített állatok átlagosan szignifikánsan több üveggolyót temettek el ($p = 0,0005$). A stresszelt csoporton belül pedig egyértelműen látható, hogy a DMTS kezelés csökkentette az eltemetett üveggolyók számát ($p = 0,0199$). Ez az eredmény a DMTS-VEH kombinált kezelés esetén ($p = 0,0049$) és DMTS-AM251 kombinált kezelés esetén is tapasztalható ($p = 0,0049$), azonban DMTS-AM251 kezelés esetén a naív, kezeletlen csoportokhoz viszonyítva bár látható egy tendencia a csökkenésre, statisztikailag nem bizonyult szignifikánsnak ($p = 0,0783$).

Üveggolyó eltemetési teszt (eltemetett üveggolyók száma)

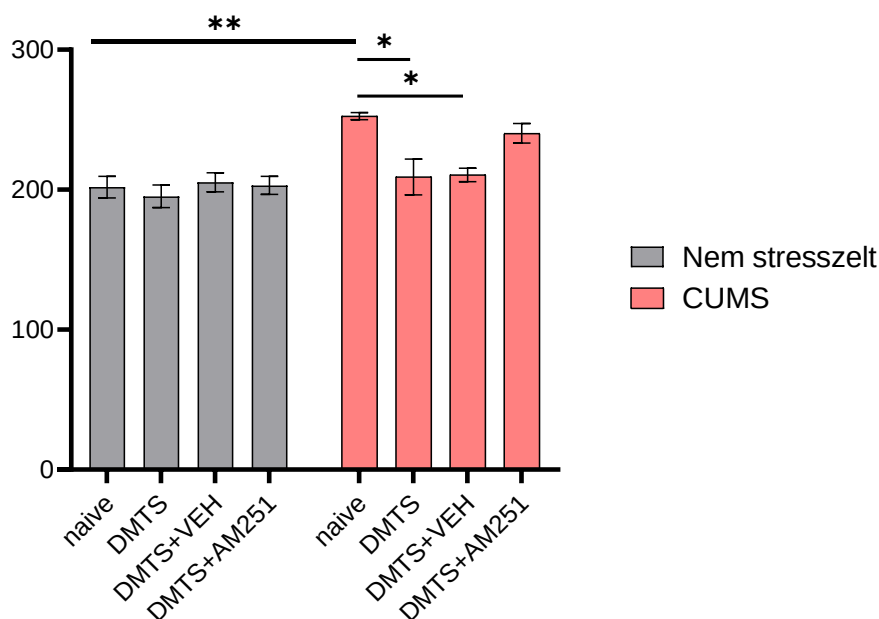


3. ábra: A üveggolyó-eltemetési teszt során elásott üveggolyók száma. Stressznek kitett állatok, valamint nem-stresszelt, DMTS-AM251 kezelésben részesült állatok szignifikánsan több üveggolyót temettek el. DMTS és DMTS-VEH kezelés hatására csökkent az eltemetett üveggolyók száma stresszelt állatok esetén. Két-utas ANOVA, Tukey post hoc teszt (** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$), $n=6$ /csoport). Az egyértelműség érdekében csak a vonatkozó szignifikanciaszinteket tüntettük fel.

IV.2.2. Nyílt terep teszt

A nyílt terep tesztben a periférián eltöltött idő korrelált az állatok szorongásszintjével (4. ábra). Statisztikailag szignifikáns különbség látható a krónikus stressznek kitett állatok esetén a stresszben nem részesült csoportokhoz képest ($p = 0,0035$). A nem stresszelt csoporton belül a kezelési csoportok között nem látható különbség, azonban a stressznek kitett csoporton belül a DMTS ($p = 0,0131$) és DMTS-VEH ($p = 0,0171$) kezelésben részesült állatok szignifikánsan kevesebb időt töltöttek a periférián. Ez azonban nem tapasztalható az DMTS-AM251 kombinációját tartalmazó kezelésben részesült, stresszelt állatok esetén ($p = 0,9207$). Érdekes azonban, hogy csak a kezelési csoportokat összehasonlítva, bár a stresszelt, naív csoporttal és a stresszelt, DMTS és DMTS-VEH csoport között látható minimális, de szignifikáns különbség, a DMTS-, valamint DMTS-VEH-kezelt csoportok és a DMTS-AM251-kezelt csoport között ezt nem tapasztalható ($p = 0,1160$; $p = 0,1476$).

Nyílt terep teszt, periférián eltöltött idő (s)

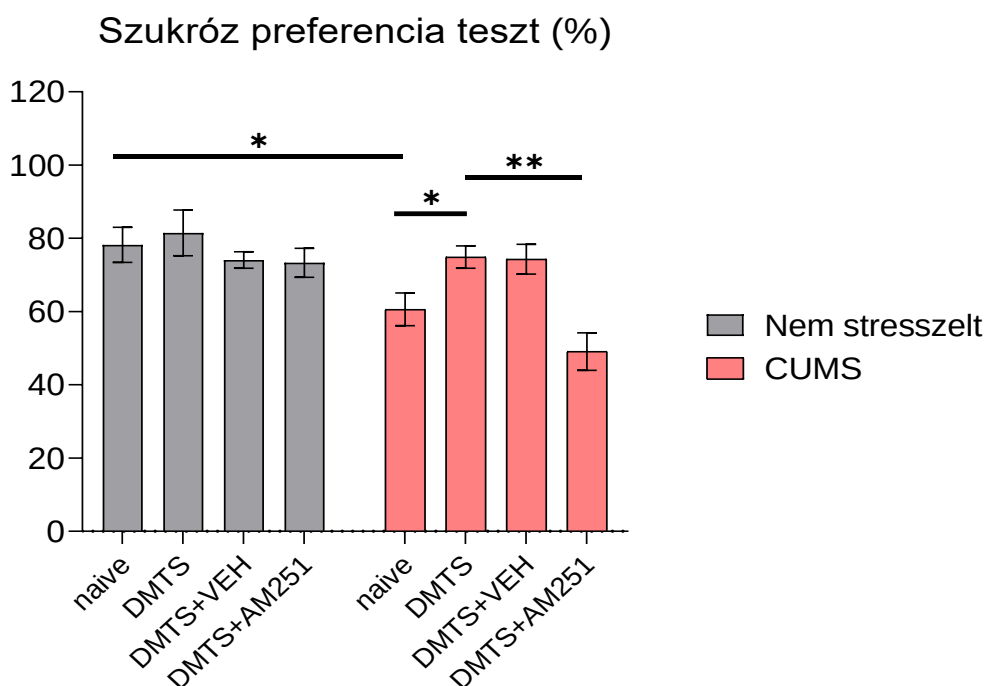


4. ábra: A periférián eltöltött idő nyílt terep tesztben. A krónikus stressznek kitett állatok szignifikánsan több időt töltöttek a periférián, ami DMTS és DMTS-VEH kezelés esetén csökkent. Két-utas ANOVA, Tukey post hoc teszt (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$), $n=6$ /csoport). Az egyértelműség érdekében csak a vonatkozó szignifikanciaszinteket tüntettük fel.

IV.3. Depresszió-szerű videlkedést kimutató tesztek

IV.3.1. Szukróz preferencia teszt

A depresszió egyik karakterisztikus tünete az anhedónia (5. ábra). A szukróz preferencia megmutatja az anhedonia szintet, ami a depresszió-szerű magatartás egyik mutatója. A krónikus stressznek kitétt állatok szignifikánsan kisebb esetben (átlagosan kb. 60%-ban) preferálták a cukortartalmú vizet a csapvízzel szemben a nem-stresszelt (átlagosan 80%) állatokhoz képest ($p = 0,0340$). Ezek alapján a krónikus stressz növelte az állatok anhedonia szintjét. A nem stresszelt csoportban nem volt hatása a különböző kezeléseknek, azonban a stresszelt csoportban elmondható, hogy a DMTS, valamint DMTS-VEH kombinációjában részesült állatoknak szignifikánsan magasabb volt a szukróz preferenciája ($p = 0,0014$). Érdekes, hogy az DMTS-AM251 kezelésben részesült állatok esetén nem tapasztalható növekedés, sőt, a szukróz preferencia nagyobb mértékű csökkenését tapasztaltuk, mint a kezeletlen, stresszelt állatok esetén ($p < 0,01$). Ezek alapján az AM251 kezelés semlegesíti a DMTS kezelés hatását és súlyosbítja a krónikus stressz hatását.

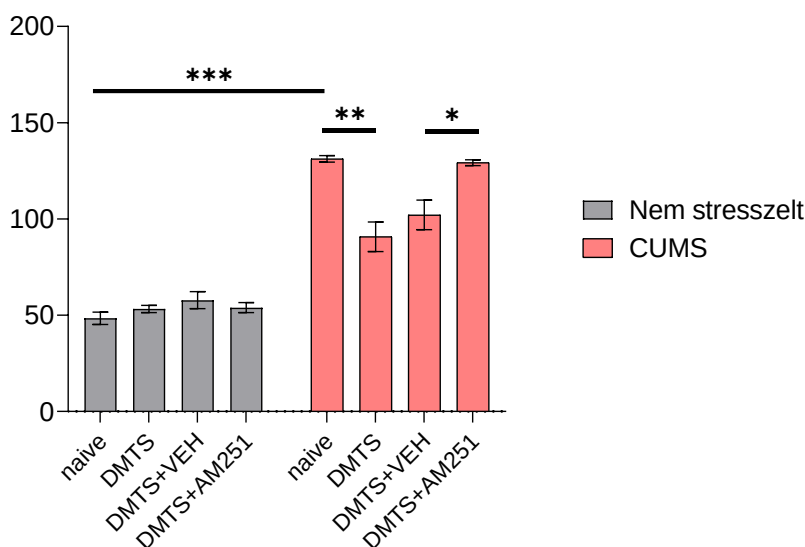


5. ábra: Szukróz preferencia teszt. A krónikus stressz csökkentette a szukróz preferenciát, azaz növelte az anhedónia szintet. DMTS és DMTS-VEH kezelés visszafordította a folyamatot. DMTS-AM251 kezelés esetén nem volt tapasztalható a DMTS szukróz-preferenciát növelő hatása. Két-utas ANOVA, Tukey post hoc teszt (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$), $n=6$ /csoport). Az egyértelműség érdekében csak a vonatkozó szignifikanciaszinteket tüntettük fel.

IV.3.2. Erőltetett úszás teszt

Az erőltetett úszás teszt az állatok aktivitását méri stresszes szituációban (6. ábra). Az inaktív időtartam korrelál a depressziószerű magatartással. Eredményeink alapján a krónikus stressz kitettség szignifikánsan növeli az inaktív időtartamot ($p < 0,001$). A stresszelt, DMTS vagy DMTS-VEH kezelt állatok esetén azonban csak kisebb mértékű növekedést látunk az inaktivitásban, a kezeletlen, stresszelt csoporthoz viszonyítva statisztikailag szignifikáns a különbség ($p = 0,0006$). DMTS-AM251-kezelt, stresszelt állatok inaktivitása azonban emelkedett maradt, a kezeletlen csoporthoz képest nincs szignifikáns különbség. A DMTS ($p = 0,0010$, valamint a DMTS-VEH ($p = 0,0217$) kezelés hatását összehasonlítva a DMTS-AM251 kezelés hatásával szignifikáns különbséget tapasztaltunk.

Erőltetett úszás teszt (inaktív időtartam, s)



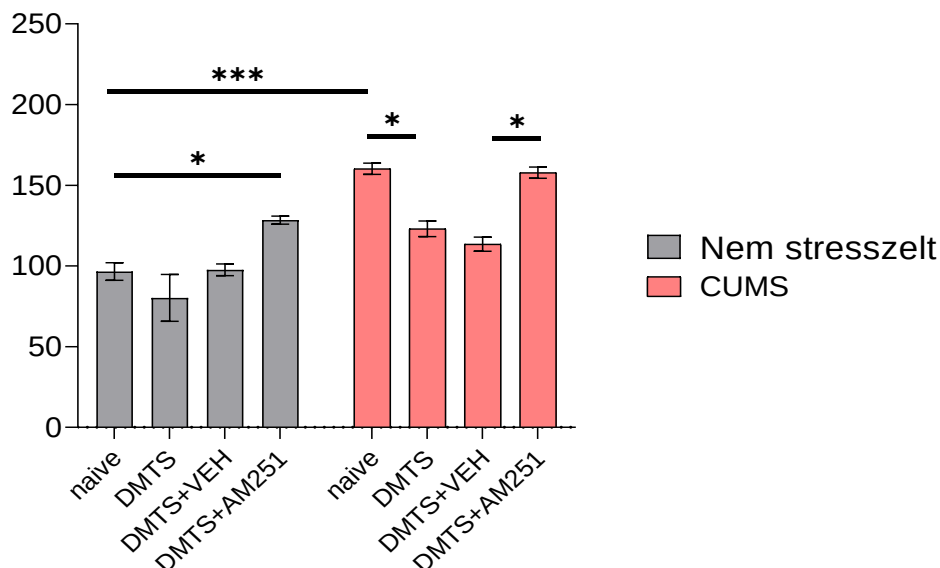
6. ábra: Erőltetett úszás teszt. A krónikus stressznek kitett állatok szignifikánsan inaktívabbak voltak a nem stresszelt csoportokhoz képest. DMTS és DMTS-VEH kezelés hatására csökkent az inaktivitás. DMTS-AM251 kezelésben részesült állatok esetén nem csökkent az inaktív időtartam. Két-utas ANOVA, Tukey post hoc teszt (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$), $n=6$ /csoport). Az egyértelműség érdekében csak a vonatkozó szignifikanciaszinteket tüntettük fel.

IV.3.3. Farokfelfüggesztési teszt

A farokfelfüggesztési teszt szintén az állatok aktivitását elemzi stresszelt környezetben. Az inaktív időtartam hossza korrelál az állatok demotiváltságával, azaz a depresszió-szerű magatartással. Érdekes módon a nem-stresszelt, DMTS-AM250 kezelésben részesült állatok inaktivitása szignifikánsan nagyobb volt a kezeletlen csoporthoz képest ($p = 0,0461$). A krónikus stressznek kitett, kezeletlen állatok szignifikánsan inaktívabbnak bizonyultak a nem

stresszelt, kezeletlen állatokhoz képest ($p < 0,001$). A DMTS ($p = 0,0150$) és DMTS-VEH-kezelt ($p = 0,0021$), stresszelt csoport szignifikánsan aktívabbnak bizonyult a kezeletlen csoporthoz képest. Ehhez a kezelési csoportokhoz viszonyítva a DMTS-AM251 kezelésben részesült állatok inaktivitása szignifikánsan nagyobb volt ($p = 0,0249$).

Farokfelfüggesztési teszt (inaktív időtartam, s)



xy. ábra: Farokfelfüggesztési teszt. A krónikus stressznek kitett állatok szignifikánsan inaktívabbnak voltak a nem stresszelt csoportokhoz képest. DMTS és DMTS-VEH kezelés hatására csökkent az inaktivitás. DMTS-AM251 kezelésben részesült állatok esetén nem csökkent az inaktív időtartam. Két-utas ANOVA, Tukey post hoc teszt (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$), $n=6$ /csoport). Az egyértelműség érdekében csak a vonatkozó szignifikanciaszinteket tüntettük fel.

V. KONKLÚZIÓ

A krónikus, megjósolhatatlan enyhe stressz egérmodell alkalmazásával igazoltuk az endokannabinoid rendszer szerepét a stresszhez való alkalmazkodási folyamatokban. Azonosítottuk a természetben előforduló szerves poliszulfid, DMTS lehetséges szorongás- és depresszióellenes, valamint anorexigén hatásait és az endokannabinoid rendszer részleges szerepét e hatások közvetítésében. A DMTS szorongásoldó hatásában eredményeink szerint nincs szerepe az endokannabinoid rendszernek, így további kutatások szükségesek a teljes hatásmechanizmus feltárásához.

Eredményeink új megvilágításba helyezik a DMTS szorongás- és depresszióellenes hatásmechanizmusát, és arra utalnak, hogy az endokannabinoid rendszer ígéretes terápiás célpont lehet a hangulatzavarok kezelésében. Ez az új megközelítés új lehetőségeket nyithat a depresszió megelőzésében és kezelésében krónikus stressz esetén.

Mindezek alapján a DMTS alkalmas jelölt lehet további kutatásokra, mint étrend-kiegészítő vagy kiegészítő terápiás szer a szorongás és depresszió kezelésében.

VI. IRODALOMJEGYZÉK:

American Psychiatric Association. (2013). *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*. American Psychiatric Association.

<https://doi.org/10.1176/appi.books.9780890425596>

Antoniuk, S., Bijata, M., Ponimaskin, E., & Wlodarczyk, J. (2019). Chronic unpredictable mild stress for modeling depression in rodents: Meta-analysis of model reliability.

Neuroscience & Biobehavioral Reviews, 99, 101–116.

<https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2018.12.002>

Armanini, M. P., Hutchins, C., Stein, B. A., & Sapolsky, R. M. (1990). Glucocorticoid endangerment of hippocampal neurons is NMDA-receptor dependent. *Brain Research*, 532(1–2), 7–12. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(90\)91734-X](https://doi.org/10.1016/0006-8993(90)91734-X)

Ashton, C. H., & Moore, P. B. (2011). Endocannabinoid system dysfunction in mood and related disorders: Endocannabinoids in mood disorders. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 124(4), 250–261. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0447.2011.01687.x>

Axelson, D. A., & Birmaher, B. (2001). Relation between anxiety and depressive disorders in childhood and adolescence. *Depression and Anxiety*, 14(2), 67–78.

<https://doi.org/10.1002/da.1048>

Bahi, A. (2016). Sustained lentiviral-mediated overexpression of microRNA124a in the dentate gyrus exacerbates anxiety- and autism-like behaviors associated with neonatal isolation in rats. *Behavioural Brain Research*, 311, 298–308.

<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2016.05.033>

Basavarajappa, B. S., Shivakumar, M., Joshi, V., & Subbanna, S. (2017). Endocannabinoid system in neurodegenerative disorders. *Journal of Neurochemistry*, 142(5), 624–648.

<https://doi.org/10.1111/jnc.14098>

Bátai, I. Z., Horváth, Á., Pintér, E., Helyes, Z., & Pozsgai, G. (2018). Role of Transient Receptor Potential Ankyrin 1 Ion Channel and Somatostatin sst4 Receptor in the Antinociceptive and Anti-inflammatory Effects of Sodium Polysulfide and Dimethyl Trisulfide. *Frontiers in Endocrinology*, 9, 55. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00055>

Bennur, S., Shankaranarayana Rao, B. S., Pawlak, R., Strickland, S., McEwen, B. S., & Chattarji, S. (2007). Stress-induced spine loss in the medial amygdala is mediated by tissue-plasminogen activator. *Neuroscience*, 144(1), 8–16.

<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.08.075>

Brigitta, B. (2002). Pathophysiology of depression and mechanisms of treatment. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 4(1), 7–20. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2002.4.1/bbondy>

Brydon, L., Magid, K., & Steptoe, A. (2006). Platelets, coronary heart disease, and stress. *Brain, Behavior, and Immunity*, 20(2), 113–119. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2005.08.002>

- Chandola, T., Brunner, E., & Marmot, M. (2006). Chronic stress at work and the metabolic syndrome: Prospective study. *BMJ*, 332(7540), 521–525. <https://doi.org/10.1136/bmj.38693.435301.80>
- Chen, W.-L., Xie, B., Zhang, C., Xu, K.-L., Niu, Y.-Y., Tang, X.-Q., Zhang, P., Zou, W., Hu, B., & Tian, Y. (2013). Antidepressant-like and anxiolytic-like effects of hydrogen sulfide in behavioral models of depression and anxiety. *Behavioural Pharmacology*, 24(7), 590–597. <https://doi.org/10.1097/FBP.0b013e3283654258>
- Cortese-Krott, M. M., Kuhnle, G. G. C., Dyson, A., Fernandez, B. O., Grman, M., DuMond, J. F., Barrow, M. P., McLeod, G., Nakagawa, H., Ondrias, K., Nagy, P., King, S. B., Saavedra, J. E., Keefer, L. K., Singer, M., Kelm, M., Butler, A. R., & Feelisch, M. (2015). Key bioactive reaction products of the NO/H₂S interaction are S/N-hybrid species, polysulfides, and nitroxyl. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(34). <https://doi.org/10.1073/pnas.1509277112>
- Cortese-Krott, M. M., Pullmann, D., & Feelisch, M. (2016). Nitrosopersulfide (SSNO –) targets the Keap-1/Nrf2 redox system. *Pharmacological Research*, 113, 490–499. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2016.09.022>
- De Silva, D., Lee, S., Duke, A., Angalakurthi, S., Chou, C.-E., Ebrahimpour, A., Thompson, D. E., & Petrikovics, I. (2016). Intravascular Residence Time Determination for the Cyanide Antidote Dimethyl Trisulfide in Rat by Using Liquid-Liquid Extraction Coupled with High Performance Liquid Chromatography. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 2016, 1–6. <https://doi.org/10.1155/2016/6546475>
- DeLeon, S. M., Downey, J. D., Hildenberger, D. M., Rhoomes, M. O., Booker, L., Rockwood, G. A., & Basi, K. A. (2018). DMTS is an effective treatment in both inhalation and injection models for cyanide poisoning using unanesthetized mice. *Clinical Toxicology*, 56(5), 332–341. <https://doi.org/10.1080/15563650.2017.1376749>
- D'Souza, D., & Sadananda, M. (2017). Anxiety- and depressive-like profiles during early- and mid-adolescence in the female Wistar Kyoto rat. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 56(1), 18–26. <https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2016.11.003>
- Du, J., McEwen, B., & Manji, H. K. (2009). Glucocorticoid receptors modulate mitochondrial function: A novel mechanism for neuroprotection. *Communicative & Integrative Biology*, 2(4), 350–352. <https://doi.org/10.4161/cib.2.4.8554>
- Duman, R. S. (2014). NEUROBIOLOGY OF STRESS, DEPRESSION, AND RAPID ACTING ANTIDEPRESSANTS: REMODELING SYNAPTIC CONNECTIONS: Review: Remodeling Synaptic Connections. *Depression and Anxiety*, 31(4), 291–296. <https://doi.org/10.1002/da.22227>
- Egertová, M., Giang, D. K., Cravatt, B. F., & Elphick, M. R. (1998). A new perspective on cannabinoid signalling: Complimentary localization of fatty acid amide hydrolase and the CB1 receptor in rat brain. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 265(1410), 2081–2085. <https://doi.org/10.1098/rspb.1998.0543>
- Fegley, D., Gaetani, S., Duranti, A., Tontini, A., Mor, M., Tarzia, G., & Piomelli, D. (2005). Characterization of the Fatty Acid Amide Hydrolase Inhibitor Cyclohexyl Carbamic Acid 3'-

Carbamoyl-biphenyl-3-yl Ester (URB597): Effects on Anandamide and Oleoylethanolamide Deactivation. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 313(1), 352–358. <https://doi.org/10.1124/jpet.104.078980>

Fu, Z., Brouwer, M., Kennis, M., Williams, A., Cuijpers, P., & Bockting, C. (2021). Psychological factors for the onset of depression: A meta-analysis of prospective studies. *BMJ Open*, 11(7), e050129. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2021-050129>

García-Gutiérrez, M. S., & Manzanares, J. (2010). The cannabinoid CB1 receptor is involved in the anxiolytic, sedative and amnesic actions of benzodiazepines. *Journal of Psychopharmacology*, 24(5), 757–765. <https://doi.org/10.1177/0269881109106910>

Gaudiano, B. A., Miller, I. W., & Herbert, J. D. (2007). The Treatment of Psychotic Major Depression: Is There a Role for Adjunctive Psychotherapy? *Psychotherapy and Psychosomatics*, 76(5), 271–277. <https://doi.org/10.1159/000104703>

Gerner, R. H., Post, R. M., Gillin, C., & Bunney, W. E. (1979). Biological and behavioral effects of one night's sleep deprivation in depressed patients and normals. *Journal of Psychiatric Research*, 15(1), 21–40. [https://doi.org/10.1016/0022-3956\(79\)90004-9](https://doi.org/10.1016/0022-3956(79)90004-9)

Gomes-de-Souza, L., Oliveira, L. A., Benini, R., Rodella, P., Costa-Ferreira, W., & Crestani, C. C. (2016). Involvement of endocannabinoid neurotransmission in the bed nucleus of stria terminalis in cardiovascular responses to acute restraint stress in rats. *British Journal of Pharmacology*, 173(19), 2833–2844. <https://doi.org/10.1111/bph.13560>

Göntér, K., Dombi, Á., Kormos, V., Pintér, E., & Pozsgai, G. (2024). Examination of the Effect of Dimethyl Trisulfide in Acute Stress Mouse Model with the Potential Involvement of the TRPA1 Ion Channel. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(14), 7701. <https://doi.org/10.3390/ijms25147701>

Grande, I., Berk, M., Birmaher, B., & Vieta, E. (2016). Bipolar disorder. *The Lancet*, 387(10027), 1561–1572. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)00241-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)00241-X)

Greiner, R., Pálinkás, Z., Bäsell, K., Becher, D., Antelmann, H., Nagy, P., & Dick, T. P. (2013). Polysulfides Link H₂ S to Protein Thiol Oxidation. *Antioxidants & Redox Signaling*, 19(15), 1749–1765. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.5041>

Halbreich, U., Borenstein, J., Pearlstein, T., & Kahn, L. S. (2003). The prevalence, impairment, impact, and burden of premenstrual dysphoric disorder (PMS/PMDD). *Psychoneuroendocrinology*, 28, 1–23. [https://doi.org/10.1016/S0306-4530\(03\)00098-2](https://doi.org/10.1016/S0306-4530(03)00098-2)

Herkenham, M., Lynn, A. B., Little, M. D., Johnson, M. R., Melvin, L. S., De Costa, B. R., & Rice, K. C. (1990). Cannabinoid receptor localization in brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 87(5), 1932–1936. <https://doi.org/10.1073/pnas.87.5.1932>

Hildebrandt, A. L., Kelly-Sullivan, D. M., & Black, S. C. (2003). Antiobesity effects of chronic cannabinoid CB1 receptor antagonist treatment in diet-induced obese mice. *European Journal of Pharmacology*, 462(1–3), 125–132. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(03\)01343-8](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(03)01343-8)

- Hill, M. N., & Gorzalka, B. B. (2005). Is there a role for the endocannabinoid system in the etiology and treatment of melancholic depression?: *Behavioural Pharmacology*, 16(5–6), 333–352. <https://doi.org/10.1097/00008877-200509000-00006>
- Hill, M. N., Hillard, C. J., Bambico, F. R., Patel, S., Gorzalka, B. B., & Gobbi, G. (2009). The Therapeutic Potential of the Endocannabinoid System for the Development of a Novel Class of Antidepressants. *Trends in Pharmacological Sciences*, 30(9), 484–493. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2009.06.006>
- Holmes, S. D., Krantz, D. S., Rogers, H., Gottdiener, J., & Contrada, R. J. (2006). Mental Stress and Coronary Artery Disease: A Multidisciplinary Guide. *Progress in Cardiovascular Diseases*, 49(2), 106–122. <https://doi.org/10.1016/j.pcad.2006.08.013>
- Holsboer, F. (2000). The Corticosteroid Receptor Hypothesis of Depression. *Neuropsychopharmacology*, 23(5), 477–501. [https://doi.org/10.1016/S0893-133X\(00\)00159-7](https://doi.org/10.1016/S0893-133X(00)00159-7)
- Howlett, A. C. (2002). International Union of Pharmacology. XXVII. Classification of Cannabinoid Receptors. *Pharmacological Reviews*, 54(2), 161–202. <https://doi.org/10.1124/pr.54.2.161>
- Ising, M., Horstmann, S., Kloiber, S., Lucae, S., Binder, E. B., Kern, N., Künzel, H. E., Pfennig, A., Uhr, M., & Holsboer, F. (2007). Combined Dexamethasone/Corticotropin Releasing Hormone Test Predicts Treatment Response in Major Depression—A Potential Biomarker? *Biological Psychiatry*, 62(1), 47–54. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2006.07.039>
- Jesulola, E., Micalos, P., & Baguley, I. J. (2018). Understanding the pathophysiology of depression: From monoamines to the neurogenesis hypothesis model - are we there yet? *Behavioural Brain Research*, 341, 79–90. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.12.025>
- Kapanda, C. N., Muccioli, G. G., Labar, G., Poupaert, J. H., & Lambert, D. M. (2009). Bis(dialkylaminethiocarbonyl)disulfides as Potent and Selective Monoglyceride Lipase Inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, 52(22), 7310–7314. <https://doi.org/10.1021/jm901323s>
- Kessler, R. C., & Bromet, E. J. (2013). The Epidemiology of Depression Across Cultures. *Annual Review of Public Health*, 34(1), 119–138. <https://doi.org/10.1146/annurev-publhealth-031912-114409>
- Kiss, L., Bocsik, A., Walter, F. R., Ross, J., Brown, D., Mendenhall, B. A., Crews, S. R., Lowry, J., Coronado, V., Thompson, D. E., Sipos, P., Szabó-Révész, P., Deli, M. A., & Petrikovics, I. (2017). From the Cover: In Vitro and In Vivo Blood-Brain Barrier Penetration Studies with the Novel Cyanide Antidote Candidate Dimethyl Trisulfide in Mice. *Toxicological Sciences*, 160(2), 398–407. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfx190>
- Kormos, V., Kecskés, A., Farkas, J., Gaszner, T., Csernus, V., Alomari, A., Hegedüs, D., Renner, É., Palkovits, M., Zelena, D., Helyes, Z., Pintér, E., & Gaszner, B. (2022). Peptidergic neurons of the Edinger–Westphal nucleus express TRPA1 ion channel that is downregulated both upon chronic variable mild stress in male mice and in humans who died by suicide. *Journal of Psychiatry and Neuroscience*, 47(3), E162–E175. <https://doi.org/10.1503/jpn.210187>

- Kudryavtseva, N. N., Bakshtanovskaya, I. V., & Koryakina, L. A. (1991). Social model of depression in mice of C57BL/6J strain. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 38(2), 315–320. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(91\)90284-9](https://doi.org/10.1016/0091-3057(91)90284-9)
- Levey, D. F., Stein, M. B., Wendt, F. R., Pathak, G. A., Zhou, H., Aslan, M., Quaden, R., Harrington, K. M., Nuñez, Y. Z., Overstreet, C., Radhakrishnan, K., Sanacora, G., McIntosh, A. M., Shi, J., Shringarpure, S. S., 23andMe Research Team, the Million Veteran Program, Concato, J., Polimanti, R., & Gelernter, J. (2021). Bi-ancestral depression GWAS in the Million Veteran Program and meta-analysis in >1.2 million individuals highlight new therapeutic directions. *Nature Neuroscience*, 24(7), 954–963. <https://doi.org/10.1038/s41593-021-00860-2>
- Liu, S.-Y., Li, D., Zeng, H.-Y., Kan, L.-Y., Zou, W., Zhang, P., Gu, H.-F., & Tang, X.-Q. (2017). Hydrogen Sulfide Inhibits Chronic Unpredictable Mild Stress-Induced Depressive-Like Behavior by Upregulation of Sirt-1: Involvement in Suppression of Hippocampal Endoplasmic Reticulum Stress. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 20(11), 867–876. <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyx030>
- Long, J. Z., Li, W., Booker, L., Burston, J. J., Kinsey, S. G., Schlosburg, J. E., Pavón, F. J., Serrano, A. M., Selley, D. E., Parsons, L. H., Lichtman, A. H., & Cravatt, B. F. (2009). Selective blockade of 2-arachidonoylglycerol hydrolysis produces cannabinoid behavioral effects. *Nature Chemical Biology*, 5(1), 37–44. <https://doi.org/10.1038/nchembio.129>
- Marsicano, G., Bisogno, T., Hermann, H., Tang, J., & Hofmann, C. (2002). *The endogenous cannabinoid system controls extinction of aversive memories*. 418.
- McEwen, B. S. (1999). STRESS AND HIPPOCAMPAL PLASTICITY. *Annual Review of Neuroscience*, 22(1), 105–122. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.22.1.105>
- McEwen, B. S., Bowles, N. P., Gray, J. D., Hill, M. N., Hunter, R. G., Karatsoreos, I. N., & Nasca, C. (2015). Mechanisms of stress in the brain. *Nature Neuroscience*, 18(10), 1353–1363. <https://doi.org/10.1038/nn.4086>
- McEwen, B. S., & Morrison, J. H. (2013). The Brain on Stress: Vulnerability and Plasticity of the Prefrontal Cortex over the Life Course. *Neuron*, 79(1), 16–29. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.06.028>
- McEwen, B. S., Weiss, J. M., & Schwartz, L. S. (1968). Selective Retention of Corticosterone by Limbic Structures in Rat Brain. *Nature*, 220(5170), 911–912. <https://doi.org/10.1038/220911a0>
- Melton, S. T., & Kirkwood, C. K. (2017). Anxiety Disorders: Generalized Anxiety, Panic, and Social Anxiety Disorders. In J. T. DiPiro, R. L. Talbert, G. C. Yee, G. R. Matzke, B. G. Wells, & L. M. Posey (Szerk.), *Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach*, 10e (1–Book, Section). McGraw-Hill Education. accesspharmacy.mhmedical.com/content.aspx?aid=1145814212
- Millan, M. J. (2003). The neurobiology and control of anxious states. *Progress in Neurobiology*, 70(2), 83–244. [https://doi.org/10.1016/S0301-0082\(03\)00087-X](https://doi.org/10.1016/S0301-0082(03)00087-X)
- Moreira, F. A., & Crippa, J. A. S. (2009). The psychiatric side-effects of rimonabant Os efeitos-colaterais psiquiátricos do rimonabanto. *Rev Bras Psiquiatr.*, 31(2), 145–153.

- Nemeroff, C. B., Widerlöv, E., Bissette, G., Walléus, H., Karlsson, I., Eklund, K., Kilts, C. D., Loosen, P. T., & Vale, W. (1984). Elevated Concentrations of CSF Corticotropin-Releasing Factor-Like Immunoreactivity in Depressed Patients. *Science*, 226(4680), 1342–1344. <https://doi.org/10.1126/science.6334362>
- Njung'e, K., & Handley, S. L. (1991). Evaluation of marble-burying behavior as a model of anxiety. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 38(1), 63–67. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(91\)90590-X](https://doi.org/10.1016/0091-3057(91)90590-X)
- O'Hara, M. W., & McCabe, J. E. (2013). Postpartum Depression: Current Status and Future Directions. *Annual Review of Clinical Psychology*, 9(1), 379–407. <https://doi.org/10.1146/annurev-clinpsy-050212-185612>
- Öhlin, B. (2004). Chronic psychosocial stress predicts long-term cardiovascular morbidity and mortality in middle-aged men. *European Heart Journal*, 25(10), 867–873. <https://doi.org/10.1016/j.ehj.2004.03.003>
- Pertwee, R. G. (2001). Cannabinoid receptors and pain. *Progress in Neurobiology*.
- Pozsgai, G., Payrits, M., Sághy, É., Sebestyén-Bátai, R., Steen, E., Szőke, É., Sándor, Z., Solymár, M., Garami, A., Orvos, P., Tálosi, L., Helyes, Z., & Pintér, E. (2017). Analgesic effect of dimethyl trisulfide in mice is mediated by TRPA1 and sst 4 receptors. *Nitric Oxide*, 65, 10–21. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2017.01.012>
- Radley, J. J., Sisti, H. M., Hao, J., Rocher, A. B., McCall, T., Hof, P. R., McEwen, B. S., & Morrison, J. H. (2004). Chronic behavioral stress induces apical dendritic reorganization in pyramidal neurons of the medial prefrontal cortex. *Neuroscience*, 125(1), 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2004.01.006>
- Rao, R. P., Anilkumar, S., McEwen, B. S., & Chattarji, S. (2012). Glucocorticoids Protect Against the Delayed Behavioral and Cellular Effects of Acute Stress on the Amygdala. *Biological Psychiatry*, 72(6), 466–475. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2012.04.008>
- Remes, O., Mendes, J. F., & Templeton, P. (2021). Biological, Psychological, and Social Determinants of Depression: A Review of Recent Literature. *Brain Sciences*, 11(12), 1633. <https://doi.org/10.3390/brainsci11121633>
- Rosenthal, N. E., Sack, D. A., James, S. P., Parry, B. L., Mendelson, W. B., Tamarkin, L., & Wehr, T. A. (1985). Seasonal Affective Disorder and Phototherapy. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 453(1), 260–269. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1985.tb11816.x>
- Rozanski, A., Blumenthal, J. A., Davidson, K. W., Saab, P. G., & Kubzansky, L. (2005). *The Epidemiology, Pathophysiology, and Management of Psychosocial Risk Factors in Cardiac Practice*. 45(5).
- Saito, V. M., Wotjak, C. T., & Moreira, F. A. (2010). Exploração farmacológica do sistema endocanabinoide: Novas perspectivas para o tratamento de transtornos de ansiedade e depressão? *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 32(suppl 1), 57–514. <https://doi.org/10.1590/S1516-44462010000500004>
- Sandford, J. J., Argyropoulos, S. V., & Nutt, D. J. (2000). *The psychobiology of anxiolytic drugs Part 1: Basic neurobiology*.

- Sarason, I. G., & Sarason, B. R. (2002). *Abnormal Psychology: The Problem of Maladaptive Behavior*. Prentice Hall. <https://books.google.hu/books?id=rsxrAAAAMAAJ>
- Sarris, J., Sinclair, J., Karamacoska, D., Davidson, M., & Firth, J. (2020). Medicinal cannabis for psychiatric disorders: A clinically-focused systematic review. *BMC Psychiatry*, 20(1), 24. <https://doi.org/10.1186/s12888-019-2409-8>
- Schmidt, M. V., Sterlemann, V., & Müller, M. B. (2008). Chronic Stress and Individual Vulnerability. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1148(1), 174–183. <https://doi.org/10.1196/annals.1410.017>
- Selye, H. (1956). Chapter 1. What is Stress? *Metabolism*, 22(12), 525–530.
- Shin, M., Ware, T. B., Lee, H.-C., & Hsu, K.-L. (2019). Lipid-metabolizing serine hydrolases in the mammalian central nervous system: Endocannabinoids and beyond. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1864(6), 907–921. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2018.08.007>
- Shri, R. (2010). Anxiety: Causes and Management. *The Journal of Behavioral Science*, 5(1), 100–118.
- Stefanaki, C., Pervanidou, P., Boschiero, D., & Chrousos, G. P. (2018). Chronic stress and body composition disorders: Implications for health and disease. *Hormones*, 17(1), 33–43. <https://doi.org/10.1007/s42000-018-0023-7>
- Strike, P. C., & Steptoe, A. (2004). Psychosocial factors in the development of coronary artery disease. *Progress in Cardiovascular Diseases*, 46(4), 337–347. <https://doi.org/10.1016/j.pcad.2003.09.001>
- Tafet, G. E., & Bernardini, R. (2003). Psychoneuroendocrinological links between chronic stress and depression. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 27(6), 893–903. [https://doi.org/10.1016/S0278-5846\(03\)00162-3](https://doi.org/10.1016/S0278-5846(03)00162-3)
- Tejeda-Martínez, A. R., Viveros-Paredes, J. M., Hidalgo-Franco, G. V., Pardo-González, E., Chaparro-Huerta, V., González-Castañeda, R. E., & Flores-Soto, M. E. (2021). Chronic Inhibition of FAAH Reduces Depressive-Like Behavior and Improves Dentate Gyrus Proliferation after Chronic Unpredictable Stress Exposure. *Behavioural Neurology*, 2021, 1–14. <https://doi.org/10.1155/2021/6651492>
- Torgersen, S. (1983). Genetic Factors in Anxiety Disorders. *Archives of General Psychiatry*, 40(10), 1085–1089.
- Tzavara, E. T., & Witkin, J. J. M. (2008). The Cannabinoid Controversy: Cannabinoid Agonists and Antagonists as Potential Novel Therapies for Mood Disorders. In A. Köfalvi (Szerk.), *Cannabinoids and the Brain* (o. 529–558). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-0-387-74349-3_23
- Vinod, K. Y., & Hungund, B. L. (2006). Role of the endocannabinoid system in depression and suicide. *Trends in Pharmacological Sciences*, 27(10), 539–545. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2006.08.006>
- Walker, J. M., Huang, S. M., Strangman, N. M., Tsou, K., & Sañudo-Peña, M. C. (1999). Pain modulation by release of the endogenous cannabinoid anandamide. *Proceedings of the*

National Academy of Sciences, 96(21), 12198–12203.
<https://doi.org/10.1073/pnas.96.21.12198>

Wang, J. (2005). Work stress as a risk factor for major depressive episode(s). *Psychological Medicine*, 35(6), 865–871. <https://doi.org/10.1017/S0033291704003241>

Warnakula, I. K., Ebrahimpour, A., Li, S. Y., Gaspe Lalalage, R. D., Hewa-Rahinduwage, C. C., Kiss, M., Rios, C. T., Kelley, K. D., Whiteman, A. C., Thompson, D. E., Rockwood, G. A., & Petrikovics, I. (2020). Evaluation of the Long-Term Storage Stability of the Cyanide Antidote: Dimethyl Trisulfide and Degradation Product Identification. *ACS Omega*, 5(42), 27171–27179. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c03208>

Warren, K. R., Postolache, T. T., Groer, M. E., Pinjari, O., Kelly, D. L., & Reynolds, M. A. (2014). Role of chronic stress and depression in periodontal diseases. *Periodontology 2000*, 64(1), 127–138. <https://doi.org/10.1111/prd.12036>

Wei, L., Kan, L.-Y., Zeng, H.-Y., Tang, Y.-Y., Huang, H.-L., Xie, M., Zou, W., Wang, C.-Y., Zhang, P., & Tang, X.-Q. (2018). BDNF/TrkB Pathway Mediates the Antidepressant-Like Role of H₂S in CUMS-Exposed Rats by Inhibition of Hippocampal ER Stress. *NeuroMolecular Medicine*, 20(2), 252–261. <https://doi.org/10.1007/s12017-018-8489-7>

Weissman, M. M. (1993). Family genetic studies of panic disorder. *Journal of Psychiatric Research*, 27, 69–78. [https://doi.org/10.1016/0022-3956\(93\)90018-W](https://doi.org/10.1016/0022-3956(93)90018-W)

White, P. (Szerk.). (2005). *Biopsychosocial Medicine: An integrated approach to understanding illness*. Oxford University Press.
<https://doi.org/10.1093/med:psych/9780198530343.001.0001>

Williams, L. M. (2017). Defining biotypes for depression and anxiety based on large-scale circuit dysfunction: A theoretical review of the evidence and future directions for clinical translation. *Depression and Anxiety*, 34(1), 9–24. <https://doi.org/10.1002/da.22556>

Wilson, R. S., Evans, D. A., Bienias, J. L., & Bennett, D. A. (2003). Proneness to psychological distress is associated with risk of Alzheimer's disease. *Neurology*, 61(11), 1479–1485.

Wong, M.-L., & Licinio, J. (2001). Research and treatment approaches to depression. *Nature Reviews Neuroscience*, 2(5), 343–351. <https://doi.org/10.1038/35072566>

World Health Organization. (1992). ICD-10. International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems: Tenth Revision 1992, Volume 1 = CIM-10. Classification statistique internationale des maladies et des problèmes de santé connexes: Dixième Révision 1992, Volume 1. *Weekly Epidemiological Record = Relevé Épidémiologique Hebdomadaire*, 67(27), 203–204. WHO IRIS.

Yang, G., & Wu, L. (2017). Trend in H₂S Biology and Medicine Research—A Bibliometric Analysis. *Molecules*, 22(12), 2087. <https://doi.org/10.3390/molecules22122087>

Yegorov, Y. E., Poznyak, A. V., Nikiforov, N. G., Sobenin, I. A., & Orekhov, A. N. (2020). The Link between Chronic Stress and Accelerated Aging. *Biomedicines*, 8(7), 198. <https://doi.org/10.3390/biomedicines8070198>

Cates, M., Wells, B. G., & Thatcher, G. W. (1996). Anxiety Disorders. In E. T. Herfindal and D. R. Gourley (Eds.). *Textbook of Therapeutics: Drug and Disease Management* (6th ed., pp. 1073-1093). Hagerstown, MD: Lippincott Williams and Wilkins.

Wong, D.F.K. (2006). *Clinical Case Management for People with Mental Illness: A Biopsychosocial Vulnerability-Stress Model* (1st ed.). Routledge.
<https://doi.org/10.4324/9781315821146>

Pies, R. W. (1994). *Clinical manual of psychiatric diagnoses and treatment: a biopsychosocial approach*. Washington, DC: American Psychiatric Press.

Augustin, S. G. (2005). Anxiety disorders. In M. A. Koda-Kimble, L. Y. Young, W. A. Kradian (Eds.), *Applied Therapeutics: The Clinical Use of Drugs* (8th ed., pp. 76-1 – 76-47). Philadelphia, PA: Lippincott Williams and Wilkins.

Brannon, L., Feist, J. (2004). *Health psychology: An introduction to behavior and health* (5th ed.). Belmont, CA: Wadsworth.

Eysenck, M. W. (2004). Approaches to Abnormality. In M. W. Eysenck, *Psychology: An International Perspective* (pp. 794-853), New York, NY: Psychology Press.

Rang, H. P., Dale, M. M., Ritter, & J. M., Flower, R. (2007). Anxiolytic and hypnotic drugs. In Rang & Dale's *Pharmacology* (6th ed.). Churchill Livingstone: Elsevier.

American Psychiatric Association. (2000). *Diagnostic and Statistical Manual for Mental Disorders (DSM-IV-TR) Text Revision* (4th ed.). Arlington, VA: American Psychiatric Publishing.

Barchas JD, Altemus M. Monoamine Hypotheses of Mood Disorders. In: Siegel G, AgranoffBW, Albers RWea, editors. *Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular and Medical Aspects*. 6th edition.ed. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1999.

Coppen A. (1967). The biochemistry of affective disorders. *The British journal of psychiatry : the journal of mental science*, 113(504), 1237–1264. <https://doi.org/10.1192/bjp.113.504.1237>

Castrén E. (2013). Neuronal network plasticity and recovery from depression. *JAMA psychiatry*, 70(9), 983–989. <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2013.1>

Ernst E. (2000). Prevalence of use of complementary/alternative medicine: a systematic review. *Bulletin of the World Health Organization*, 78(2), 252–257.

[Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders | Psychiatry Online](#)