

مطالعه اثر محرومیت کوتاه مدت از خواب متناقض بر نوروزن ناحیه هیپوکامپ و حافظه فضایی موشهای صحرایی نر بالغ

علی ناصری: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، گروه روانشناسی سلامت، کرج، ایران. Dr.alinaseri@yahoo.com

حسن احدی: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، گروه روانشناسی سلامت، کرج، ایران. Drh.ahadi@yahoo.com

حسن عشایری: دانشکده علوم توانبخشی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران. ashayei@yahoo.com

*سیدبهنام الدین جامعی: گروه علوم پایه، دانشکده پیراپزشکی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران (*نویسنده مسئول).

behjame@gmail.com.behnamjameie@iums.ac.ir

نورعلی فرخی: دانشگاه علامه طباطبائی، تهران، ایران. Farrokkhinoorali@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۱/۱۶

تاریخ دریافت: ۹۲/۸/۱۲

چکیده

زمینه و هدف: خواب یک ریتم بیولوژیک سیرکادین پدیده فیزیولوژیک فراگیری می باشد که در همه گونه های مهره داران دیده می شود و شامل دو بخش REM (Rapid Eye Movement) و non-REM می باشد. محرومیت کامل یا نسبی از خواب باعث بروز اختلالات شناختی می گردد. اختلالات شناختی متعاقب محرومیت از خواب احتمالاً ناشی از تغییرات سلولی در بعضی از نواحی مغزی درگیر در این پدیده می باشد. با توجه به نقش هیپوکامپ در فعالیت های شناختی و همچنین ادامه نوروزن در آن، در تحقیق حاضر اثر محرومیت کوتاه مدت از خواب REM بر نوروزن و حافظه موشهای صحرایی نر مطالعه گردید.

روش کار: این تحقیق بر روی ۲۴ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار که به طور تصادفی در ۳ گروه تقسیم شدند انجام گرفت. از روش سکو برای القای محرومیت ۷۲ ساعت از خواب REM، از ماز آبی موریس برای بررسی حافظه و از رنگ آمیزی Brdu جهت مطالعه نوروزن ناحیه هیپوکامپ استفاده شد. داده ها توسط نرم افزار SPSS آنالیز و سطح $p < 0.05$ معنی دار تلقی گردید.

یافته ها: نتایج نشان داد که محرومیت از خواب REM در مقایسه با گروه کنترل بر شاخص های حافظه اثر معنی داری داشته است. همچنین نوروزن در ناحیه هیپوکامپ گروه آزمایش در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی داری را نشان داد.

نتیجه گیری: اختلال در فعالیت های شناختی شامل حافظه فضایی و جهت یابی متعاقب محرومیت از خواب REM با تغییرات سلولی برخی از نواحی مغز که مستقیماً با مراکز درگیر در کنترل پدیده خواب مرتبط نمی باشند همراه است.

کلیدواژه ها: نوروزن، هیپوکامپ، حافظه، محرومیت از خواب REM

مقدمه

اهمیت خواب این تحقیقات نشان داده اند که هر یک از مراحل خواب دارای عملکرد متفاوتی می باشد به طوری که در خواب NREM تفکر، تجزیه و تحلیل و حل مسائل (۲) و در خواب REM بسیاری از فرآیندهای شناختی، از جمله تثبیت حافظه رخ می دهد (۳). تحقیقات متعدد دیگری با استفاده از روشهای اعمال محرومیت از خواب (SD=Sleep Deprivation) نشان داده اند که محرومیت از خواب به صورت کامل (TSD) یا به صورت مرحله ای (REM-SD، NREM-SD) بر عملکرد مغز، ساختار نورونی و سطح نوروترانسمیترها اثرات قابل توجه ای دارد به طوری که محرومیت طولانی مدت از خواب باعث

خواب یک ریتم بیولوژیک روزانه یا سیرکادین محسوب می گردد که به عنوان یک پدیده فراگیر بسیار مهم زیستی در تمامی مهره داران دیده می شود. خواب پستانداران عالی شامل دو مرحله REM و Non-REM می باشد (۱). هرچند این پدیده از دیرباز مورد توجه بوده است و تلاش برای شناخت جنبه های مختلف آن به سده های قبل می رسد اما تنها در طی چند دهه اخیر محققین رشته های مختلف در زمینه ماهیت، اهمیت، چگونگی کنترل این پدیده و همچنین شناخت مراکز عصبی درگیر در خواب یافته های قابل توجه ای را گزارش نموده اند. در زمینه عملکرد و

می باشد که در آن ناحیه نورون های جدید از سلول های اجدادی عصبی موجود در ناحیه زیر بطنی (Subventricular Zone= SVZ) بوجود آمده تمایز یافته، مهاجرت نموده و ارتباطات جدید ایجاد می نمایند. فرایند نوروزنر هیپوکامپ در تمام طول عمر ادامه دارد و تحقیقات متعددی وجود دارد که نشان می دهد برخی از عوامل مانند استرسورها ممکن است بر این روند تاثیر گذار باشند، به نظر می رسد استرس هایی مانند محرومیت حسی، بعضی داروها و یا نوروتوکسین ها با مکانیزم هایی که کاملا نیز مشخص نمی باشند نه تنها باعث مرگ نورونی هیپوکامپ می شوند که روند نوروزنر را نیز مختل می نمایند (۱۲). بخش قابل توجه ای از مطالعات در زمینه خواب بر روش های محرومیت از خواب کامل یا نسبی بر روی انسان یا مدل های بیولوژیک متمرکز بوده است (۵). این مطالعات نه تنها نشان دهنده بروز اختلالات شناختی پس از اختلالات خواب را تایید می نمایند که نشان دهنده تغییرات در سطوح سلولی و مولکولی و حتی بیان ژنها می باشد. مطالعه تانگ و همکارانشان داد که بین روند نوروزنر و اختلالات خواب ارتباط وجود دارد (۱۳). تحقیقات گازمن- روبین و همکاران نشان داده که اعمال محرومیت طولانی مدت از خواب منجر به مرگ نورونی در هیپوکامپ موش های صحرایی بالغ می شود (۱۴). علیرغم وجود تحقیقات قابل توجه بر روی اثرات شناختی، سلولی و مولکولی ناشی از محرومیت از خواب در مدل های انسانی و بیولوژیک بر اساس دانسته های محققین طرح حاضر بر مبنای مرور مقالات حوزه روانشناختی و روانشناسی تعداد تحقیقات در زمینه همبستگی بین یافته های سلولی و رفتاری چندان زیاد نمی باشد. با توجه به بروز اختلالات شناختی از جمله حافظه که در نمونه های انسانی بسیار گزارش شده است و نقش هیپوکامپ و روند نوروزنر این ناحیه که باعث تامین ذخیره نورونی و ایجاد ارتباطات جدید در مدارهای نورونی حافظه می گردد به نظر می رسد که باید بین این دو پدیده، اختلالات حافظه و نوروزنر، ارتباطی وجود داشته باشد. هدف از پژوهش حاضر یافتن ارتباط احتمالی این

مرگ سلولی، کاهش تعداد سیناپسها، تغییرات در فراساختارهای نورونی در برخی از نواحی سیستم عصبی درگیر در خواب مانند هسته های رافه سیستم سروتونرژیک و همچنین کاهش سطح نوروترانسمیترهایی چون سروتونین می گردد (۴ و ۵). این تحقیقات نشان می دهد که اختلال در عملکردهای شناختی مانند حافظه و یادگیری متعاقب محرومیت از خواب احتمالا ناشی از تغییرات ساختاری و فرا ساختاری در سطح نورونی و یا تغییرات در سطح بالانس نوروترانسمیتری مغز می باشد (۶ و ۷). همچنین نشان داده شده است که بالا بودن زمان خواب REM در دوران نوزادی باعث افزایش دانسیته سیناپسی در برخی از نواحی مغز مانند ناحیه هیپوکامپ و هسته های رافه مغز میانی گردیده که از نظر تکامل مغز و تقویت مدارهای درگیر در حافظه نقش مهمی را ایفا می نمایند (۵ و ۸).

سیستم لیمبیک که از نظر فیلوژنتیک جز ساختارهای قدیمی سیستم عصبی محسوب می گردد وظایف متعددی از جمله پردازش اطلاعات شناختی، حافظه، کنترل هیجانات و همچنین تنظیم اعمال احشایی را بر عهده دارد. سیستم لیمبیک دارای ارتباطات گسترده با نواحی مختلف سیستم عصبی می باشد. ناحیه هیپوکامپ که بخشی از این سیستم است شامل سابیکولوم (Subiculum)، هیپوکامپ اصلی و شکنج دندانه ای (Dentate Gyrus=DG) می باشد (۹ و ۱۰). شکنج دندانه ای بخشی از تشکیلات هیپوکامپ است که قسمتی از ناحیه CA3 را در بر گرفته و سلول های اصلی آن سلول های گرانولار می باشند شواهد متعددی وجود دارد که نشان دهنده نقش این ناحیه در فرآیند حافظه می باشد این تحقیقات همچنین این ناحیه را نقطه ورود اطلاعات به مدارهای هیپوکامپی می شناسند (۱۱). هر چند که تا اوایل قرن بیستم اعتقاد بر پایان یافتن روند تولید سلول های عصبی (Neurogenesis) پس از تولد بوده است، تحقیقات اخیر نشان داده است که روند نوروزنر به طور محدود در بعضی از نواحی مغز بالغین ادامه دارد از جمله نواحی که نوروزنر در آن به اثبات رسیده است ناحیه شکنج دندانه ای

ارتفاع ۱۰ سانتیمتر و صفحه‌ای به قطر ۷ سانتیمتر وجود داشت که به وسیله آب احاطه شده بود قرار داده می شد. این وضعیت به حیوان اجازه خواب REM، Non-REM و بیداری را می داد ولی از آنجایی که شروع خواب REM با شل شدن عضلات محوری گردن همراه است، پوزه حیوان با آب تماس پیدا کرده، باعث بیدار شدنش می گردید. در طی مدت محرومیت از خواب نیز موش‌ها آب تازه و غذای کافی در اختیار داشتند. مدت زمان محرومیت از خواب REM هفتاد و دو ساعت در نظر گرفته شد.

برای سنجش یادگیری و حافظه فضایی از ماز آبی-موریس استفاده شد (۱۵). پارامترهایی که توسط ماز آبی موریس و به کمک دوربین مادون قرمز متصل به کامپیوتر و توسط نرم افزار Ethovision XT version 5 از حرکت موش ثبت می گردید شامل اندازه‌گیری سرعت حرکت موش، مسافت طی شده و زمان سپری شده برای یافتن سکو در ربع هدف بود. همچنین سرعت شنای حیوان در روزهای آموزش به عنوان شاخص‌های یادگیری فضایی استفاده می گردید. بر این اساس چنانچه حیوان در روز آخر آموزش نسبت به روز اول بتواند سکوی پنهان در آب را در زمان و مسافت کمتری پیدا نماید، روند یادگیری فضایی در آن‌ها مثبت ارزیابی می شود. به هر حال این یافته‌ها هنگامی معنی پیدا می کنند که با کاهش سرعت شنای حیوان همراه نباشد (۱۶). در هنگام آزمایش اتاق کاملاً تاریک می شد و فقط چراغ مطالعه‌ای در کنار اتاق روشن بود که نور آن کاملاً به سمت زمین هدایت شده بود تا جابجا کردن حیوانات امکان پذیر باشد. روی دیواره‌های آزمایشگاه نیز صفحاتی با اشکال مختلف نصب شده بود که تا آخرین مرحله آزمایش تغییر نیافت. همچنین تلاش شد تا اثر متغیرهایی مثل صدا و حرارت نیز به حداقل ممکن برسد. آزمون‌های رفتاری بین ساعت ۱۰ الی ۱۶ انجام گرفت. در مرحله یادگیری هر موش به مدت ۴ روز و هر روز ۴ بار در ماز قرار داده می شد. در هر آزمایش موش از یک سمت ماز به صورت تصادفی (که توسط کامپیوتر تعیین می گردید) رها می شد به طوری

دو پدیده متعاقب محرومیت کوتاه مدت از خواب REM می باشد.

روش کار

تحقیق حاضر یک پژوهش کاربردی از نوع مداخله‌ای- آزمایشی بود. جامعه آماری شامل موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار و نمونه آماری عبارت بود از ۲۴ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۰۰-۳۰۰ gr که از مرکز تحقیقات و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی ایران تهیه شد. حیوانات با استفاده از روش تصادفی ساده، به ۳ گروه ۸ تایی تقسیم شدند. در طول آزمایش آب و غذای کافی در اختیار حیوانات قرار گرفته و هر دو روز یکبار قفس آن‌ها تمیز می گردید. دمای مرکز تحقیقات و نگهداری حیوانات نیز بین 22 ± 3 درجه سانتیگراد و سیکل روشنایی - تاریکی به صورت ۱۰-۱۴ تنظیم گردیده بود. قبل از آزمایش امکان تطابق با شرایط آزمایشگاهی برای حیوانات وجود داشت. همه آزمایش‌ها در طول سیکل روشنایی انجام شد و هر حیوان فقط یکبار مورد استفاده قرار گرفت. کلیه آزمایشات انجام شده بر مبنای رعایت موازین اخلاقی در پژوهش‌های حیوانی و نیز کدهای مربوط به کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوبه کمیته اخلاقی در پژوهش‌های زیستی دانشگاه علوم پزشکی ایران بوده است.

گروه اول: آزمایش (E): ۸ سر موش با پیش‌آزمون یادگیری و حافظه، محروم از خواب REM و پس‌آزمون حافظه. گروه دوم: شاهد (F): ۸ سر موش با پیش‌آزمون یادگیری و حافظه، بدون محرومیت از خواب REM و پس‌آزمون حافظه. گروه سوم: کنترل (G): ۸ سر موش بدون هر گونه آزمون رفتاری که جهت بررسی نوروزن فقط تزریق Brdu داشتند.

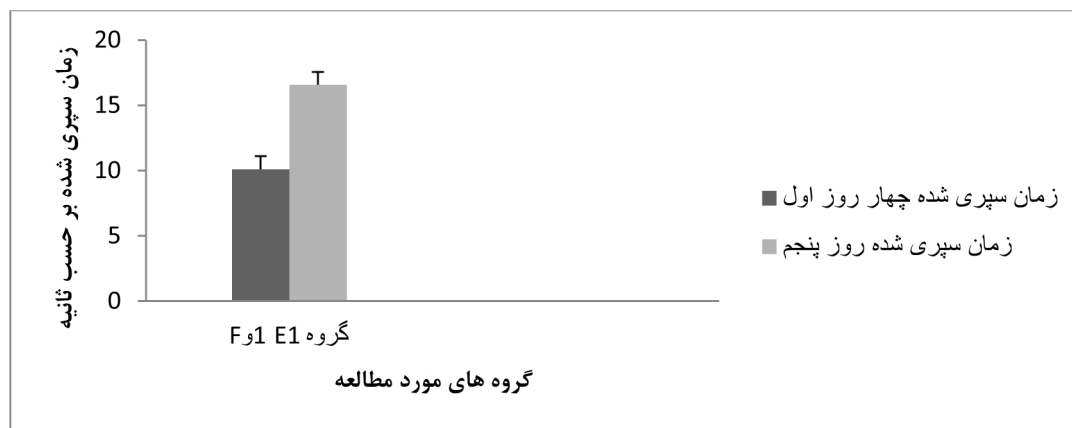
اعمال محرومیت از خواب REM: برای اعمال محرومیت خواب REM از روش سکو یا Disk Over Water که روش رایج این گونه مطالعات است استفاده گردید (۵). در این روش حیوان در مکعبی به ابعاد $30 \times 30 \times 30$ سانتیمتر از جنس پلکسی گلاس بود که در وسط آن میله‌ای به

که صورتش به طرف جداره حوضچه بود. هر بار به حیوان ۶۰ ثانیه فرصت داده می‌شد تا سکو را بیابد. چنانچه در مدت ۶۰ ثانیه حیوان نمی‌توانست سکو را پیدا کند توسط آزمایشگر از درون آب خارج شده، روی سکو منتقل می‌گردید و پس از ۱۵ ثانیه استراحت، از ناحیه دیگر به آب انداخته می‌شد. این عمل تا پایان روز چهارم تکرار می‌گردید. پس از ۴ روز متوالی یادگیری، در روز پنجم حافظه فضایی موش‌ها در ماز فاقد سکو مورد ارزیابی قرار می‌گرفت. در این مرحله (روز پنجم) یک آزمون ۶۰ ثانیه‌ای از هر حیوان ثبت می‌گردید، بدین صورت که حیوان را فقط یکبار و از یک جهت در آب رها کرده، مدت زمانی که حیوان در طی این ۶۰ ثانیه در ربع هدف (ربعی که در روزهای آموزش، سکو در آن قرار داشت) سپری می‌نمود به عنوان شاخص و ملاک حافظه ثبت می‌شد و مورد تجزیه و تحلیل قرار می‌گرفت. چنانچه فرآیند تثبیت حافظه فضایی اتفاق افتاده باشد حیوان باید بیشترین زمان و حضور را در ربع هدف داشته باشد. پس از اتمام کار نیز حیوان‌ها با حوله خشک گردیده، به مرکز تحقیقات و نگهداری حیوانات انتقال داده می‌شدند. ضمناً به منظور اطمینان از سلامت بینایی از تمام نمونه‌ها تست بینایی نیز گرفته شد. حیوانات دارای ضعف بینایی از مطالعه حذف شدند.

از رنگ آمیزی Brdu به ایمینوهیستوشیمی به منظور بررسی نوروزن در ناحیه DG هیپوکامپ استفاده گردید. برای این منظور (Brdu 50) از رنگ آمیزی Brdu به ایمینوهیستوشیمی به منظور بررسی نوروزن در ناحیه DG هیپوکامپ استفاده گردید. برای این منظور (Brdu 50)

یافته‌ها

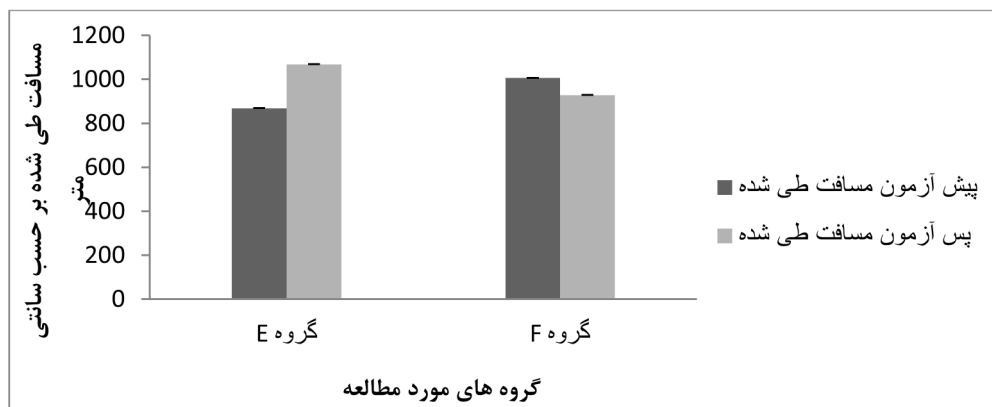
نتایج تحقیق حاضر در دو بخش سلولی و رفتاری توسط نرم افزار SPSS 19 آنالیز آماری شدند. سطح معنی‌داری $p > 0.05$ برای نتایج معنی‌دار تلقی گردید. از آزمون‌های آماری شامل، آزمون t وابسته، تحلیل کوواریانس ANCOVA، آزمون نا پارامتریک کروسکال والیس و یومان ویتنی برای آنالیز داده‌ها استفاده شد. قبل از تجزیه و تحلیل داده‌ها نیز جهت بررسی صحت حافظه اولیه، شاخص زمان سپری شده حافظه روز پنجم و میانگین نمرات چهار روز اول مورد مقایسه قرار



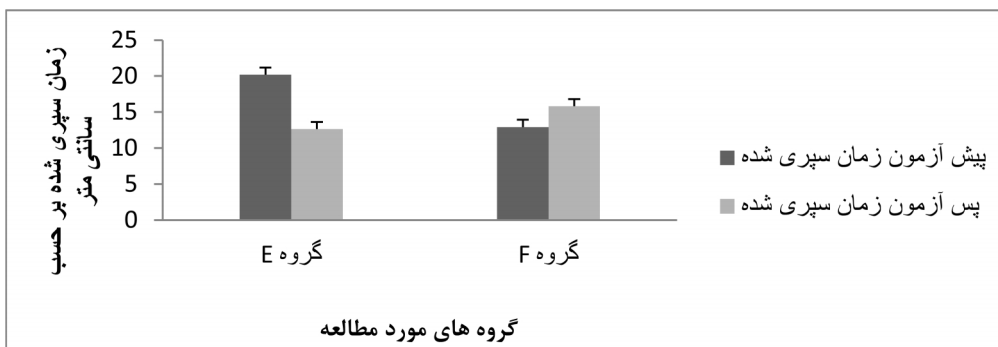
نمودار ۱- آزمون t وابسته جهت بررسی صحت شاخص زمان سپری شده حافظه اولیه در دو گروه E و F

را نشان داد به نحوی که در گروه E با آنکه حیوانات در ماز آبی موريس مسافت بیشتری را طی نموده بودند و سرعت شنای آنها نیز زیاده‌تر گردیده بود اما زمان کمتری را در ربع هدف سپری نموده بودند (بر عکس گروه F). همچنین میانگین نوروزن گروه F بیشتر از گروه E و گروه E بیشتر از گروه G بود.

گرفت. نتایج آزمون t وابسته جهت بررسی صحت شاخص زمان سپری شده حافظه در دو گروه E و F در نمودار ۱ توصیف شده است. نتایج میانگین و انحراف معیار پیش‌آزمون و پس‌آزمون شاخص‌های حافظه در دو گروه آزمایش (E) و شاهد (F) به ترتیب در نمودارهای ۲، ۳ و ۴ توصیف شده است. نتایج این تحقیق نشان داد که متعاقب محرومیت ۷۲ ساعته از خواب REM حافظه و نوروزن حیوانات گروه E با گروه F و G تفاوت معنی‌داری



نمودار ۲- میانگین و انحراف معیار پیش‌آزمون و پس‌آزمون شاخص مسافت طی شده حافظه در دو گروه آزمایش (E) و شاهد (F)



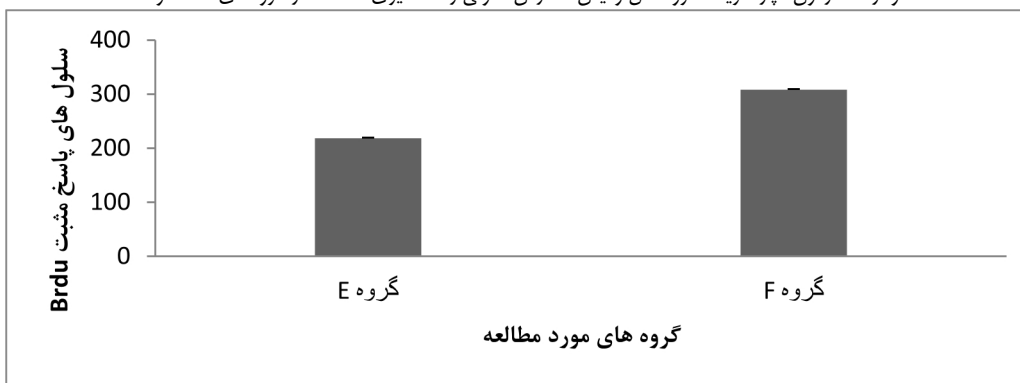
نمودار ۳- میانگین و انحراف معیار پیش‌آزمون و پس‌آزمون شاخص زمان سپری شده حافظه در دو گروه آزمایش (E) و شاهد (F)



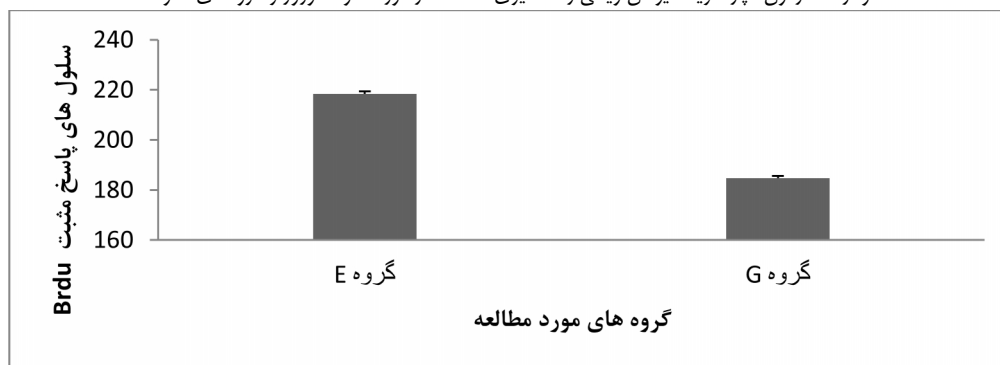
نمودار ۴- میانگین و انحراف معیار پیش‌آزمون و پس‌آزمون شاخص سرعت شنای حافظه در دو گروه آزمایش (E) و شاهد (F)



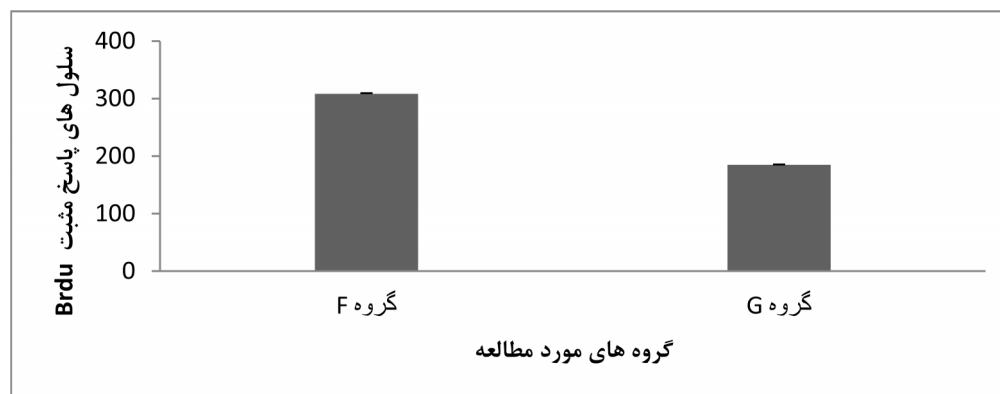
نمودار ۵- آزمون ناپارامتریک کروسکال والیس شمارش سلولی رنگ آمیزی Brdu در گروه های E، F و G



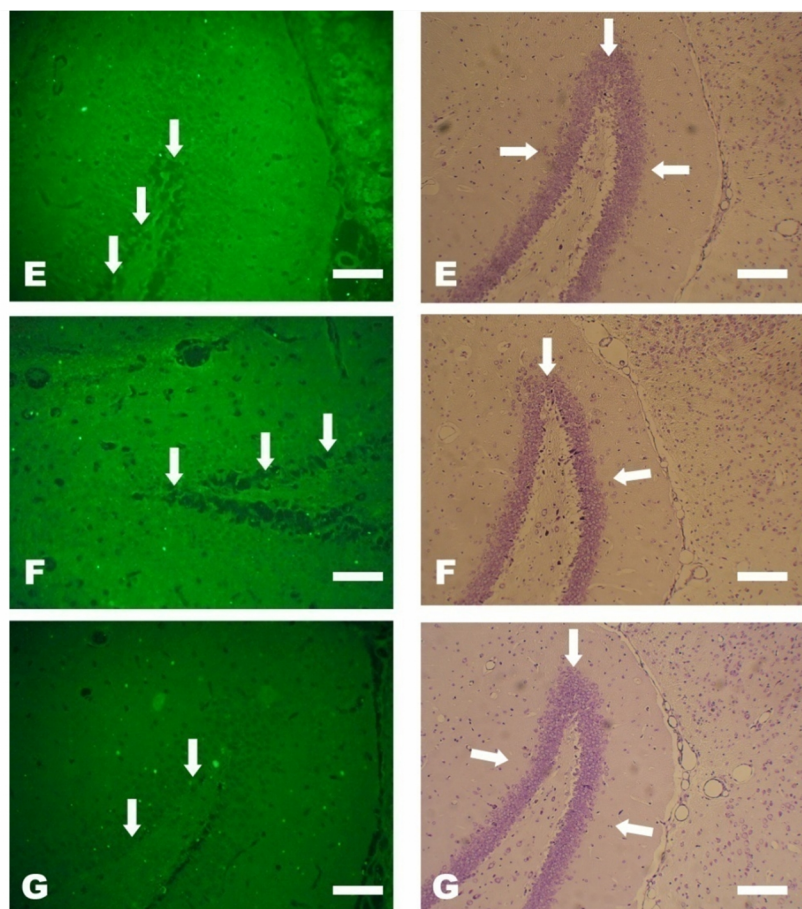
نمودار ۶- آزمون ناپارامتریک یومان ویتنی رنگ آمیزی Brdu در مورد تفاوت نوروزنر گروه های E و F



نمودار ۷- آزمون ناپارامتریک یومان ویتنی رنگ آمیزی Brdu در مورد تفاوت نوروزنر گروه های E و G



نمودار ۸- آزمون ناپارامتریک یومان ویتنی رنگ آمیزی Brdu در مورد تفاوت نوروزنر گروه های F و G



شکل ۱- فوتومیکروگراف از ناحیه شکنج دندانهای ناحیه هیپوکامپ با رنگ آمیزی Brdu و Nissl برای نشان دادن نوروزنز در این ناحیه (فلش‌های سفید). تفاوت روند نوروزنز در گروه‌های مختلف دیده می‌شود. Scale bar for E&F&G 30

محققین طرح حاضر تبیین مکانیزم‌هایی که در یادگیری، حافظه، تثبیت اطلاعات و یادآوری آنها دخالت داشته و همچنین تطبیق آنها با شواهد سلولی در مراکز درگیر پردازش اطلاعات حائز اهمیت است. شواهد متعددی وجود دارد که نشان دهنده نقش هیپوکامپ در شکل‌گیری حافظه می‌باشد، این تحقیقات همچنین تایید می‌کنند که هیپوکامپ با آنالیز اطلاعات فضایی و مکانی به این امر کمک می‌کند (۱۷). بر اساس این مطالعات ناحیه دوسال شکنج دندانهای مسئولیت آنالیز فضایی و مکانی را نیز بر عهده دارد (۱۸ و ۱۹). فرضیه‌های متعددی برای چگونگی اثر محرومیت از خواب بر ساختار و عملکرد مغز ارائه شده است یکی از فرضیه‌هایی که مقبولیت بیشتری دارد تغییرات در سطح نوروترانسمیتری سیستم‌های مختلف مغز از جمله دو سیستم سروتونرژیک و آدرنرژیک می‌باشد. شواهد متعددی وجود دارد که

نتایج آزمون ناپارامتریک کروسکال والیس شمارش سلولی رنگ آمیزی Brdu در گروه‌های آزمایش، شاهد و کنترل در نمودار ۵ توصیف شده است. نتایج آزمون ناپارامتریک یومان ویتنی رنگ‌آمیزی Brdu در مورد تفاوت نوروزنز گروه‌های آزمایش، شاهد و کنترل به ترتیب در نمودارهای ۶، ۷ و ۸ توصیف شده است.

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان دهنده تغییرات در نوروزنز متعاقب اعمال محرومیت از خواب بود که با بعضی از پارامترهای رفتاری مورد مطالعه در این تحقیق نیز همبستگی نشان داد. نتایج حاضر در تایید برخی دیگر از تحقیقاتی است که یافته‌های سلولی و رفتاری مشابهی را گزارش نموده‌اند. صرف نظر از تشابهاتی و یا تفاوت‌هایی که بین نتایج این مطالعه با مطالعات دیگران دارد از نظر

(۲۹). مطالعات اخیر نشان داده است که تمایز نوروبلاستها و تولد نورون‌های جدید در پستانداران از هیپوکامپ و پیاز بویایی شروع می‌شود و پس از مهاجرت و استقرار در مدارهای نورونی هیپوکامپ و برقراری سیناپسهای جدید نقش عملکردی شان آغاز می‌شود (۳۰ و ۳۱). قرار گرفتن این نورونها در مدارهای مرتبط به حافظه و سایر فعالیتهای شناختی و بیان پروتئینهای اختصاصی وابسته به زمان نیز می‌باشد بنابراین هر عاملی که در طی مدت تمایز بر این روند تاثیر بگذارد باعث بروز اختلالات شناختی می‌گردد و از آنجا که این روند در بالغین نیز ادامه می‌یابد بروز اینگونه اختلالات دور از انتظار نمی‌باشد (۳۲-۳۵). هر چند که متاثر شدن هیپوکامپ از خواب و اختلالات آن هم از نظر بالینی در نمونه‌های انسانی و هم تجربی در مدل‌های بیولوژیک مشابه نتایج تحقیق حاضر نشان داده شده است، اینکه خواب و یا اختلالات آن چگونه و در چه سطحی بر هیپوکامپ اثر می‌گذارد هنوز مشخص نمی‌باشد اما قطعاً تغییرات عملکردی هیپوکامپ ناشی از تغییرات در سطح ساختاری و یا فرا ساختاری می‌باشد. عواملی همچون افسردگی، استرس و افزایش سن عملکردهای وابسته به هیپوکامپ را شامل یادگیری و حافظه را مختل می‌نماید (۱۸ و ۳۶). به نظر میرسد خواب با برقراری بالانس نوروترانسمیتری در سیستمهای کولینرژیک، سروتونرژیک و دوپامینرژیک که از طریق آورانه‌ها هیپوکامپ را متاثر می‌سازند امکان نورون‌ها را فراهم می‌آورد (۳۷). شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد محرومیت از خواب تعادل نوروترانسمیتری دو سیستم کولینرژیک و دوپامینرژیک را برهم می‌زند (۳۸). دوپامین به عنوان نوروترانسمیتری که در مدارهای حافظه حضور دارد شناخته شده است، اورانه‌های دوپامینرژیکی به نواحی مختلف هیپوکامپ از جمله ناحیه شکنج دندان‌ای نه تنها در تکمیل مدارهای حافظه مشارکت دارند که احتمالاً از طریق افزایش بیان رسپتورهای دوپامینی در نورونهای جدید باعث بقا و عملکردی شدن آنها می‌گردند؛ بنابراین بهم خوردن بالانس

نشان می‌دهد محرومیت از خواب باعث بهم خوردن بالانس نوروترانسمیتری می‌گردد، متعاقب محرومیت از خواب REM فعالیت سیستم آدرنرژیک و در نتیجه سطح نورآدرنالین افزایش می‌یابد (۲۰). نورآدرنالین از جمله نوروترانسمیترهایی است که از طریق اثر بر گروه نورون‌های hcr/ortx موجود در هیپوتالاموس نقش مهمی در حفظ سیکل بیداری ایفا می‌کنند، نشان داده شده است که آسیب دیدن این نورونها منجر به اختلال نارکولپسی می‌گردد که به دلیل نقش مهم نورآدرنالین در برانگیختگی این نورونها ایفا می‌نماید، باشد (۲۳-۲۱). مطالعات گریول و همکاران نشان داد حتی دو ساعت محرومیت از خواب باعث تغییر پاسخ سلول‌های hcr/ortx به نورآدرنالین، از تحریک به مهار می‌شود (۲۴). تحقیقات یوسچاکو و همکاران نیز این یافته را تأیید کردند و نشان دادند محرومیت از خواب باعث تغییر پاسخ گیرنده‌های α_2 آدرنرژیک از دیپلاریزه به هیپرپلاریزه می‌شود (۲۵). بر این مبنا به نظر می‌رسد خواب REM بر فعالیت آنزیمی مغز اثر می‌گذارد و بنابراین تحریک‌پذیری آن را کنترل می‌کند. متعاقب محرومیت از خواب REM همچنین فعالیت پمپ سدیم پتاسیم نورونها در نواحی درگیر در کنترل خواب و حتی نواحی دیگر افزایش یافته و منجر به تحریک‌پذیری عمومی مغز می‌گردد تصور بر این است که این افزایش فعالیت احتمالاً به دلیل افزایش سطح نورآدرنالین می‌باشد (۲۶). محرومیت از خواب همچنین باعث افزایش فعالیت حرکتی وابسته به اضطراب در موش‌ها می‌شود که احتمالاً ناشی از افزایش نور آدرنالین سیستمیک می‌باشد (۲۷ و ۲۸). سرعت شنای زیاد و طی مسافت بیشتر که در حیوانات گروه E دیده شد ممکن است ناشی از این مکانیزم باشد. در ارتباط با کاهش نورون‌ها در حیوانات گروه E متعاقب محرومیت از خواب REM به نظر می‌رسد مکانیزمهای پیچیده تری وجود داشته باشد. مکانیزمهایی که یا مانع از تمایز نوروبلاستها به نورون که قبلاً تصور می‌شد محدود به زمان جنینی می‌باشد می‌گردند و یا باعث مرگ نوروبلاستها و ویا نورونهای تمایز یافته می‌شوند

LTP حافظه در مرحله REM و اینکه سروتونین از وقوع LTP در نورونهای درگیر در مراکز و مدارهای حافظه جلوگیری می‌نماید، بنابراین لازم است که سطح سروتونین و فعالیت سروتونرژیک به صورت فیزیولوژیک در مرحله REM کاهش پیدا کند تا LTP القا شده، حافظه تثبیت گردد، محرومیت از خواب REM این مکانیزم را مختل می‌نماید بر این اساس کاهش حافظه در حیوانات گروه E از این منظر قابل توجه می‌باشد (۴۷). علاوه بر این خواب و رؤیا دیدن که در مرحله REM رخ می‌دهد سیستم پاداش را در مغز فعال نموده، اطلاعات ورودی را طبقه‌بندی کرده و باعث تثبیت حافظه به بهترین نحو می‌گردد (۴۸). شواهدی نیز وجود دارد که نشان می‌دهد تغییرات مولکولی و سلولی در ناحیه هیپوکامپ که برای کارکرد آن و تثبیت حافظه ضروری هستند تحت تأثیر کیفیت و میزان خواب بخصوص مرحله REM قرار می‌گیرند (۴۹).

یافته‌های این تحقیق و تحقیقات مشابه نشان می‌دهد که اختلالات شناختی متعاقب اختلالات کمیت و کیفیت خواب و یا محرومیت نسبی یا کامل از خواب ناشی از تغییرات ساختاری در سطح نورونها، ارتباطات سیناپسی و بالانس نوروترانسمیتری مدارها و مراکز مشترک درگیر در هر دو پدیده خواب و فعالیت‌های شناختی می‌باشد. این یافته‌ها ممکن است راهگشای روشهای نوین درمانی برای درمان اختلالات شناختی و یا خواب باشد و اینکه درمان یک مورد می‌تواند مورد دیگر را نیز بهبود بخشد.

تقدیر و تشکر

محققین طرح حاضر از همکاری ریاست محترم وقت دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران جناب آقای دکتر درگاهی به خاطر حمایت‌های ارزشمندشان، همکار و سرپرست محترم آزمایشگاه علوم پایه دانشکده پیراپزشکی سرکار خانم دکتر آتوسا جانزاده به خاطر تلاش بی دریغ و صمیمانه ایشان در تمام مراحل اجرای تحقیق، همکاران و کارشناسان گروه اناتومی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ایران و همچنین

نوروترانسمیتری دوپامین در اثر محرومیت از خواب باعث حذف این اثر و مرگ نورونهای جدید می‌گردد (۳۹، ۴۰). استیل کولین و آورانهای کولینرژیک نیز در مطالعات اخیر مورد توجه قرار گرفته‌اند که نه تنها در مراحل خواب از طریق آورانهای قابل توجه ای که به مراکز درگیر در پدیده خواب ارسال می‌دارند موثر هستند که مراکز موثر در فعالیت‌های شناختی همچون حافظه شامل هیپوکامپ را نیز عصب دهی می‌نمایند (۴۱). آورانهای کولینرژیک به هیپوکامپ به نظر می‌رسد که در حفظ نوروزن از طریق مکانیزمی مشابه آورانهای دوپامینی عمل می‌نمایند (۴۲) و نقش موثر سروتونین در تنظیم سیکلهای خواب و بیداری در تحقیقات متعددی به اثبات رسیده است. سطح سروتونین در هنگام بیداری افزایش و در هنگام خواب کاهش می‌یابد، آورانهای سروتونرژیک تقریباً به تمام نواحی مغز ارسال می‌شوند سیستم لیمبیک از جمله نواحی است که بیشترین آورانهای سروتونرژیک را دریافت می‌کند، رسپتورهای سروتونینی بر نورونهای نواحی CA1, CA2, CA3 و ناحیه DG شناسایی شده‌اند، هرچند که ارتباط مستقیمی بین ترشح سروتونین و روند نوروزن گزارش نشده است، با این حال نشان داده شده است که این انتقال دهنده عصبی یکی از عوامل افزایش پرولیفراسیون و نوروزن هیپوکامپ می‌باشد، شواهدی وجود دارد که تزاید سلولی را به گیرنده‌های A1 سروتونین که در خارهای دندریتی وجود دارند نسبت می‌دهند (۴۵، ۴۴، ۴۵). محرومیت طولانی مدت از خواب و نه کوتاه مدت احتمالاً به طور غیر مستقیم حساسیت گیرنده‌های A1 سروتونرژیک را کم می‌نماید (۴۵، ۴۴). سروتونین در تثبیت حافظه در حین خواب نقش مهمی ایفا می‌نماید بطوری که با کاهش سطح سروتونین به هنگام خواب تعداد خارهای دندریتی که در طی سیکل بیداری به علت افزایش فعالیت پس سیناپسی نورونها افزایش یافته‌اند کاهش می‌یابد و بدین ترتیب با این مکانیزم تعداد خارها دندریتی که ساختارهایی با پلاستیسیته بالا در نورونها می‌باشند ثابت می‌ماند (۴۶). با توجه رخداد تثبیت وابسته به

and memory deficits in the hippocampus CA1 diabetic rats. Scientific J. of Medical Sciences, Kermanshah (Behbood) 2010;15:1.(Persian).

16 . Pourmotabbed A, Nedaei SE, Mehrabinasab E. Assessment of the role of NMDA receptors located in hippocampal CA1 area on the effects of oral morphine dependency on spatial learning and memory in rat. Physiology & Pharmacology 2006;10:2.(Persian).

17 . Tulving E. Elements of episodic memory. New York: Oxford University Press.1983.

18 . Dupret D, Fabre A, Dobrossy MD, Panatier A, Rodriguez JJ, Lamarque S, et al. Spatial learning depends on both the addition and removal of new hippocampal neurons. J. PLoS Biol 2007; 5: 214-221.

19 . Hunsaker MR, Kesner RP. Evaluating the differential roles of the dorsal den-tate gyrus, dorsal CA3, and dorsal CA1 during a temporal ordering for spatialallocations task. J Hippocampus 2008; 18: 955-964.

20 . Mallick BN, Singh S, Singh A. Mechanism of noradrenaline-induced stimulation of Na-K ATPase activity in the rat brain: implications on REM sleep deprivation-induced increase in brain excitability. Mol Cell Bioche 2010; 336: 3-16 .

21 . Longordo F, Kopp C, Luthi A. Cosequences of sleep deprivation on neurotransmitter receptor expression and function. European Journal of Neuroscience 2009; 29: 1810-1819.

22 . Sakurai T. The neural circuit of orexin (hypocretin): maintaining sleep and wakefulness. J Nat Rev Neurosci 2007; 8: 171-181.

23 . Bayer L, Eggermann E, Serafin M, Grivel J, Machard D, et al. Opposite effects of noradrenaline and acetylcholine upon hypocretin/orexin versus melanin concentrating hormone neurons in rat hypothalamic slices. Neuroscience 2005; 130: 807-811

24 . Grivel J, Cvetkovic V, Bayer L, Machard D, Tobler I, et al. The Wake- Promoting Hypocretin/Orexin Neurons Change Their Response to Noradrenaline after Sleep Deprivation. J. Neurosci 2005; 25: 4127-4130.

25 . Uschakov A, Grivel J, Cvetkovic-Lopes V, Bayer L, Bernheim L, Jones BE, et al. Sleep-deprivation regulates α -2 adrenergic responses of rat hypocretin/orexin neurons. J. PLOS One 2011; 8: 16672-16681.

26 . Pires GN, Tufik S, Andersen ML. Relationship between sleep deprivation and anxiety: experimental research perspective. Einstein (Sao Paulo) 2013;10(4): 519-523.

27 . Singh A, Subhashini N, Sharma S, Mallick B.N. Involvement of the α 1-adrenoceptor in sleep-waking and sleep loss-induced anxiety behavior in zebrafish. J. Neuroscience 2013; 15: 136-147.

28 . Ming GL, Song H. Adult neurogenesis in the mammalian central nervous system. Annu. Rev. J. Neurosci 2005; 28: 223-250.

29 . Ge S, Yang CH, Hsu KS, Ming GL, Song HA.

دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج تشکر و قدردانی می‌نمایند.

منابع

1. Kaplan H, Sadock B. Comprehensive text book of psychiatric. Fiveth Ed, Philadelphia awaverly company 2000; 704.

2. Moazzami D. An Introduction to neuropsychology. Tehran: Samt 2010. (Persian).

3. Perogamvros L, Dang-Vu T T, Desseilles M, Schwartz S. Sleep and dreaming are for important matters. J. Front Psychol 2013; 25: 469-474.

4. Horne JA, Pettitt A. High incentive effects on vigilance performance during 72 hours of total sleep deprivation. Acta phisiologica 1985; 85: 123-139.

5. Jameie S.B, Noyan MH, Behzadi G & Sadeghy Y. Effects of REM-sleep Deprivation on Acetylcholin Estarse Activity (AchE) of the Rat Dorsal Raphe Nucleus: An Enzyme Histochemistry Study. Iran J Neurology 2002; 2-3: 11-18.

6. Osorio I, Daroff RB. Absence of REM and altered NREM sleep in patients with spinocerebellar degeneration and slow saccades. Annals of Neurology 1980; 7: 277-280.

7. Carlson NR. Foundations of physiological psychology. 4thed. Allyn and bacon 1999; 210-344.

8. Morrissey MJ, Duntly SP, Anch AM, Nonneman, R. Active sleep and itsrole in the prevention of apoptosis in the developing brain. J Med Hypotheses 2004; 62 (6): 876-879.

9. Slomianka L, Amrein I, Knuesel I, Sorensen J & Wolfer D Rose M. Hippocampal pyramidal cells: the reemergence of cortical lamination. Brain Struct Funct 2011; 216 (4): 301-317.

10. Knowles WD. Normal anatomy and neurophysiology of hippocampal formation. J. Clin. Neurophysiol 1992; 9: 252-263.

11. Williams OL, Bannister LH, Berry MM, Collins P, Dyson M, Dussek JE. Gray's Anatomy. In: Nervous system, 38th. London: Churchill Livingstone 1995; 1123-1129.

12. Kee N, Sivalingam S, Boonstra R, Wojtowicz JM. The utility of Ki-67 and Brdu as proliferative markers of adult neurogenesis. J Neurosci Methods 2002; 115: 97-105.

13. Tung A, Takase L, Fornal C, Jacobs B. Effects of sleep deprivation and recovery sleep upon cell proliferation in adult rat dentate gyrus. J Neuroscience 2005; 134: 721-723.

14. Guzman- Ruben M, Bashir T, Suntsova N, Szymusiak R, MCGinty D. Adult hippocampal neurogenesis is reduced by sleep fragmentation in the adult rat. J Neuroscience 2007; 10: 325-333.

15 . Ghiasi G, Pourmotabbed A, Bahrami Gh, Nedaei SE. Effect of insulin administration on spatial learning

20: 2896-2903.

43. Noyan Ashraf MH, Behzadi G & Jameie B. Rapid Eye Movement Sleep Deprivation Induces Acetylcholinesterase Activity in the Preoptic Area of the Rat Brain. Medical Journal of Islamic Republic of Iran 2000; 14(1): 47-51.

44. Sato K. Why does serotonergic activity drastically decrease during REM sleep. Med Hypotheses 2013; 81: 734-737.

45. Perogamvros L, Dang-Vu TT, Desseilles M, Schwartz S. Sleep and dreaming are for important matters. J. Front Psychol 2013; 25: 469-474.

46. Jameie SB, Noyan Ashraf MH & Behzadi G. Ovariectomy reduces dendritic spine density of the dorsal raphe neurons in the adult rat. Arch Iranian Med 2004; 7(2): 122-127.

47. Prince T.M. & Abel T. The impact of sleep loss on hippocampal function. J. Learning & Memory 2013; 17: 558-569.

48. Meerlo P, Mistlberger RE, Jacobs BL, Heller HC, McGinty D. New neurons in the adult brain: the role of sleep and consequences of sleep loss. J. Sleep Med Rev 2009; 13(3):187-194.

49. Abrous DN, Koehl M, Le Moal M. Adult neurogenesis: from precursors to network and physiology. Physiol Rev 2005; 85: 523-569.

Critical period for enhanced synaptic plasticity in newly generated neurons of the adult brain. J Neuron 2007; 54: 559-566.

30. Schmidt-Hieber C, Jonas P, Bischofberger J. Enhanced synaptic plasticity in newly generated granule cells of the adult hippocampus. J. Nature 2004; 429: 184-187.

31. Nakashiba T, Cushman JD, Pelkey KA, Renaudineau S, Buhl DL, McHugh TJ, et al. Young dentate granule cells mediate pattern separation, whereas old granule cells facilitate pattern completion. J. Cell 2012; 149: 188-192.

32. Sahay A, Scobie KN, Hill AS, O'Carroll CM, Kheirbek MA, Burghardt NS, et al. Increasing adult hippocampal neurogenesis is sufficient to improve pattern separation. J. Nature 2011; 472: 466-470.

33. Clelland CD, Choi M, Romberg C, Clemenson GD, Fagniere A, Tyers P, et al. A functional role for adult hippocampal neurogenesis in spatial pattern separation. J Science 2009; 325, 210-213.

34. Frank MG, Benington JH. The role of sleep in memory consolidation and brain plasticity: dream or reality? J Neuroscientist 2006; 12: 477-488.

35. Mueller AD, Mear RJ, Mistlberger RE. Inhibition of hippocampal neurogenesis by sleep deprivation is independent of circadian disruption and melatonin suppression. J Neuroscience 2011; 193: 170-181.

36. Wang JH, vanden Buuse M, Tian SW, Ma YY. Effect of paradoxical sleep deprivation and stress on passive avoidance behavior. Physiology & behavior 2003; 79: 591-596.

37. Quinlan MG, Almey A, Caissie M, Lachappelle, Radiotis G, Brake WG. Estradiol and Striatal Dopamine Receptor Antagonism Influence Memory System Bias in the Female Rat. J Neurobiology of learning and memory 2013; 11: 23-29.

38. Schuck NW, Frensch PA, Schjeide BM, Schroder J, Bertram L, Li SC. Effects of Aging and Dopamine Genotypes on the Emergence of Explicit Memory during. J. Neuropsychologia 2013; 12: 239-248.

39. Lu ZH, Fukuda S, Minakawa Y, Yasuda A, Sakamoto H, Sawamura S, et al. Melanin concentrating hormone induces hippocampal acetylcholine release via the medial septum in rats. J. Peptides 2013; 44: 32-39.

40. Mohapel P, Leanza G, Kokaia M, Lindvall O. Forebrain acetylcholine regulates adult hippocampal neurogenesis and learning. J. Neurobiology of Aging 2005; 26: 939-946.

41. Aberg MA, Aberg ND, Hedbacker H, Oscarsson J, Eriksson PS. Peripheral infusion of IGF-I selectively induces neurogenesis in the adult rat hippocampus. J. Neurosci 2000; 20: 2896-2903

42. Novati A, Roman V, Cetin T, Hagewoud R, DenBoer JA, Luiten PGM, et al. Chronically restricted sleep leads to depression-like changes in neurotransmitter receptor sensitivity and neuroendocrine stress reactivity in rats. J. Sleep 2008;

Study of the effects of short- term REM sleep deprivation on neurogenesis and spatial memory of adult male rats

Ali Naseri, Department of Health Psychology, Faculty of Psychology, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran.

Hasan Ahahdi, Department of Health Psychology, Faculty of Psychology, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran.

Hasan Ashayeri, Department Medical of Basic Sciences, Faculty of Rehabilitation, IUMS, Tehran, Iran.

***Seyed Behnamedin Jameie**, Department of Medical Basic Sciences, Faculty of Allied Medicine, Physiology Research Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran (*Corresponding author). behnamjameie@iums.ac.ir & behjame@gmail.com

Nour ali Farokhi, Department of Psychology, Faculty of Psychology, Alame-h Tabatabaei University, Thran, Iran.

Abstract

Background: Sleep is a universal circadian biological rhythm which is seen among all vertebrate and has two separate steps including REM and Non-REM. Total or partial sleep deprivation would lead to cognitive dysfunction. It seems that the cognitive dysfunction following sleep deprivation is resulted from cellular changes in certain area involved in this phenomenon. Regarding the role of hippocampus in cognitive dysfunction and behavior and also the continuation of neurogenesis in this area, the present research was designed to study the effects of short-term sleep deprivation on neurogenesis in hippocampus and memory of adult male rats.

Methods: Twenty four Wistar adult male rats were used in this study. The animals randomly divided into three groups of trials and control. Flower pot technique was used for REM-SD. To study spatial memory Morris Water Maze was used. In order to evaluate neurogenesis Brdu immunohistochemistry was used. Data were analyzed using SPSS and the results presented in the form of Mean $\pm$ SD, the $p < 0.05$ considered as significant.

Results: Short-term REM-SD led to significant decrease of neurogenesis in hippocampus of trial groups comparing control group. We showed that REM-SD significantly affected some certain parameters of memory in REM-SD.

Conclusion: Based on our findings it could be concluded that any cognitive dysfunction following REM-SD might be related to cellular changes of brain certain area that indirectly involve in sleep control and regulation.

Keywords: Neurogenesis, Hippocampus, Memory, REM-SD