

تأثیر دوره های خاصی از خواب رم متعاقب آموزش در شکل گیری حافظه در موش های صحرایی

^۱ابراهیم نبئی^{*}، فرشته معتمدی^۲، سید محمد علی شریعت زاده^۳، معصومه نبئی^۴

۱. کارشناسی ارشد فیزیولوژی، اداره آموزش و پرورش شازند، شازند، ایران
۲. استاد، دکترا فیزیولوژی، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۳. استاد، دکترا تخصصی جنین شناسی و بافت شناسی، گروه زیست شناسی، دانشگاه اراک، اراک، ایران
۴. کارشناسی ارشد فیزیولوژی دانشگاه اراک، اراک، ایران

تاریخ دریافت ۳۱/۵/۸۸ تاریخ پذیرش ۲۶/۲/۸۸

چکیده

مقدمه: خواب با حرکات سریع چشم‌ها (مرحله رم) در پردازش حافظه نقش دارد. دوره زمانی متعاقب یادگیری که در آن مقدار خواب رم بالاتر از سطوح نرمال بوده و اعمال محرومیت از آن باعث اختلال در حافظه می‌شود را پنجره‌های خواب متناقض می‌گویند. هدف از این مطالعه بررسی ارتباط خواب رم و حافظه از طریق ثبت امواج مغزی و اعمال محرومیت در موش صحرایی نژاد ان-ماری می‌باشد.

روش کار: در این مطالعه تجربی آزمایشگاهی موش‌های صحرایی نژاد ان-ماری تحت آموزش فعال دو طرفه یک جلسه ۱۰۰ تریالی قرار گرفتند. یک هفته بعد حافظه مورد آزمایش قرار گرفت. در بخش الکتروفیزیولوژی فاکتورهای مختلف خواب و بیداری در سطوح پایه و ۱-۴ ساعت پس از آموزش ثبت شدند. در بخش رفتاری حیواناتی که به مرز ۷۰ درصد یادگیری رسیدند در دو دوره ۱-۴ و ۵-۸ ساعت پس از یادگیری توسط تکنیک سکوی آب از خواب رم محروم شدند.

نتایج: میزان خواب رم در گروهی که به ۷۰ درصد یادگیری رسیدند در ۱-۴ ساعت متعاقب یادگیری نسبت به سطوح پایه ($p < 0.01$) و گروهی که به مرز ۷۰ درصد یادگیری نرسیدند بیشتر است ($p < 0.05$). سایر فاکتورها بین دو گروه و قبل و بعد از آموزش تفاوت معنی‌داری نشان ندادند. در بخش رفتاری تنها حیوانات محروم در ۱-۴ ساعت پس از یادگیری نسبت به گروه شاهد اختلال در حافظه را نشان دادند ($p < 0.05$).

نتیجه گیری: خواب متناقض افزایش یافته در ۱-۴ ساعت پس از یادگیری تحت شرایط فوق در تثبیت حافظه موثر است و این دوره را می‌توان به عنوان پنجره خواب متناقض مطرح نمود.

واژگان کلیدی: خواب متناقض، پنجره‌های خواب متناقض، محرومیت از خواب رم، موش صحرایی، حافظه

* نویسنده مسئول: شازند، خیابان عباس آباد، دانشگاه پیام نور

Email: E_nabaee@yahoo.com

آموزشی کاهش می یابد. اگر آموزش شامل یک جلسه ۱۰۰ تریالی باشد پنجره های خواب متناقض سریع تر و ۱-۴ ساعت پس از آموزش دیده می شود^(۹). با وجود داده های فوق در زمینه ارتباط خواب با یادگیری و حافظه، فرضیه های مختلفی مطرح می باشد. برخی محققین خواب رم را در مرتب نمودن و حذف اشتباها کسب شده در حین یادگیری موثر می دانند و برخی معتقد به پردازش متواال اطلاعات می باشند^(۱۰) و تعدادی نیز خواب رم را در تبدیل حافظه کوتاه مدت به حافظه بلند مدت موثر می دانند^{(۱۱)، (۱۲)}. لذا بر آن شدیدم که به بررسی ارتباط خواب رم و حافظه از طریق ثبت امواج مغزی و اعمال محرومیت در موش های صحرایی نژاد ان ماری (NMRI) پس از آموزش یک جلسه ۱۰۰ تایی احتراز فعال دو طرفه شاتل باکس (shuttle box) پردازم.

روش کار

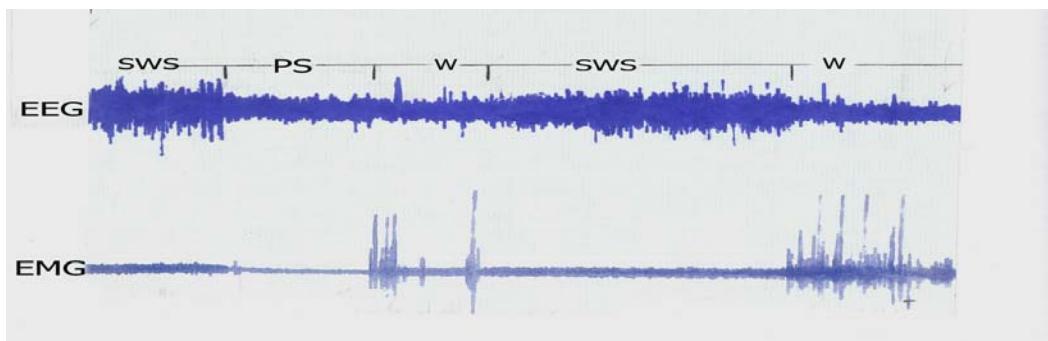
طی یک پژوهش تجربی آزمایشگاهی در تمامی آزمایش ها، موش های صحرایی نژاد ان ماری (۳۵۰-۲۵۰ گرم) با رعایت موازین اخلاقی مورد استفاده قرار گرفتند. حیوانات تحت آموزش یک جلسه ۱۰۰ تریالی احتراز فعال دو طرفه شاتل باکس قرار گرفتند و ۲۰ تریال آخر مبنای برای یادگیری در نظر گرفته می شد. حیواناتی که حداقل ۱۴ امتیاز مثبت (۷۰-۱۰۰ درصد) داشتند، به عنوان گروهی که به مرز یادگیری رسیدند (Learner-L) و در غیر این صورت به عنوان گروهی که به مرز یادگیری نرسیدند (Non Learner-NL) منظور می شدند. جهت تست حافظه در گروه L در بخش رفتاری پس از گذشت یک هفته و در همان محدوده زمانی آموزش، حیوان مجددا در دستگاه شاتل باکس قرار می گرفت و ۲۰ تریال به عنوان تست حافظه کار احترازی انجام می پذیرفت و تعداد پاسخ مثبت حیوان به عنوان حافظه جهت آنالیز آماری استفاده می شد.

مقدمه

بررسی ارتباط خواب و حافظه یکی از موضوعات جالب توجه برای محققین می باشد. بررسی مراحل مختلف خواب نشان می دهد که خواب متناقض به دلیل خصوصیات چون فعالیت بالای مغز، بهترین کاندیدا برای این ارتباط می باشد. جهت بررسی ارتباط خواب متناقض با یادگیری و حافظه دو شیوه پژوهشی مطالعات ثبتی و مطالعات محرومیت (Paradoxical Sleep Deprivation- PSD) مورد استفاده قرار می گیرد. با استفاده از نتایج دو شیوه، گروهی از محققین خواب متناقض را در تبدیل حافظه کوتاه مدت به حافظه بلند مدت موثر می دانند، البته خواب متناقض تنها پس از یادگیری این اعمال چون احتراز از فعال دو طرفه ماز آبی و غیره افزایش می یابد و محرومیت اعمال شده پس از یادگیری در حافظه اختلال ایجاد می کند، بالعکس پس از یادگیری اعمالی چون احتراز غیر فعال، احتراز فعال یک طرفه و تنفر چشایی و افزایش خواب متناقض مشاهده نشده و محرومیت اعمال شده پس از یادگیری اعمال فوق بر حافظه اثری ندارد^(۱) سلیگمن در این مورد فرضیه کارهای بدون آمادگی (ساده) و کارهای با آمادگی (پیچیده) را مطرح نموده و تنها یادگیری کارهای پیچیده را با خواب متناقض مرتبط می داند^(۲). اسمیت و همکاران معتقدند که خواب با حرکات سریع چشمها یعنی مرحله رم (REM) در زمان های مشخصی پس از یادگیری افزایش می یابد که دوره های خاصی آنها در تثیت حافظه نقش داشته و محرومیت اعمال شده در این دوره های خاص باعث اختلال در حافظه می شود. این دوره ها تحت عنوان پنجره های خواب متناقض (Paradoxical Sleep Windows - PSW) مطرح نموده اند^(۳-۷). اسمیت و همکاران در تاخیر زمانی وقوع پنجره های خواب متناقض سه عامل نوع گونه و نوع موجود زنده، نوع آموزش و تعداد تریال های آموزشی هر جلسه را موثر می دانند^(۳-۵). تأخیر در شروع پنجره های خواب متناقض با افزایش تریال های

دندانپزشکی بر روی سر حیوان ثابت می شدند. پس از گذشت ۷ روز دوره‌ی بهبودی، حیوان به مدت سه روز درون محفظه‌ای پلکسی گلاس با ابعاد $30 \times 30 \times 30$ سانتی‌متر قرار گرفته و با شرایط ثبت آداته شده و در نهایت با روش ثبت یک سویه (Single Blind Recording) و با استفاده از ملاک‌کترولانسفالوگرافی (Electro Encephalo Graphy- EEG) و نشانه‌های رفتاری، سطوح پایه خواب-بیداری ۴ ساعته حیوان ثبت گردید(شکل ۱). سپس موش‌های صحرایی مورد آموزش قرار گرفته و سیکل خواب-بیداری آنها در دوره‌ی چهار ساعته‌ی ۱-۴ (۱ ساعته پس از آموزش) در هر دو گروه NL و L ثبت گردید (تعداد نمونه در هر گروه برابر ۵ بود).

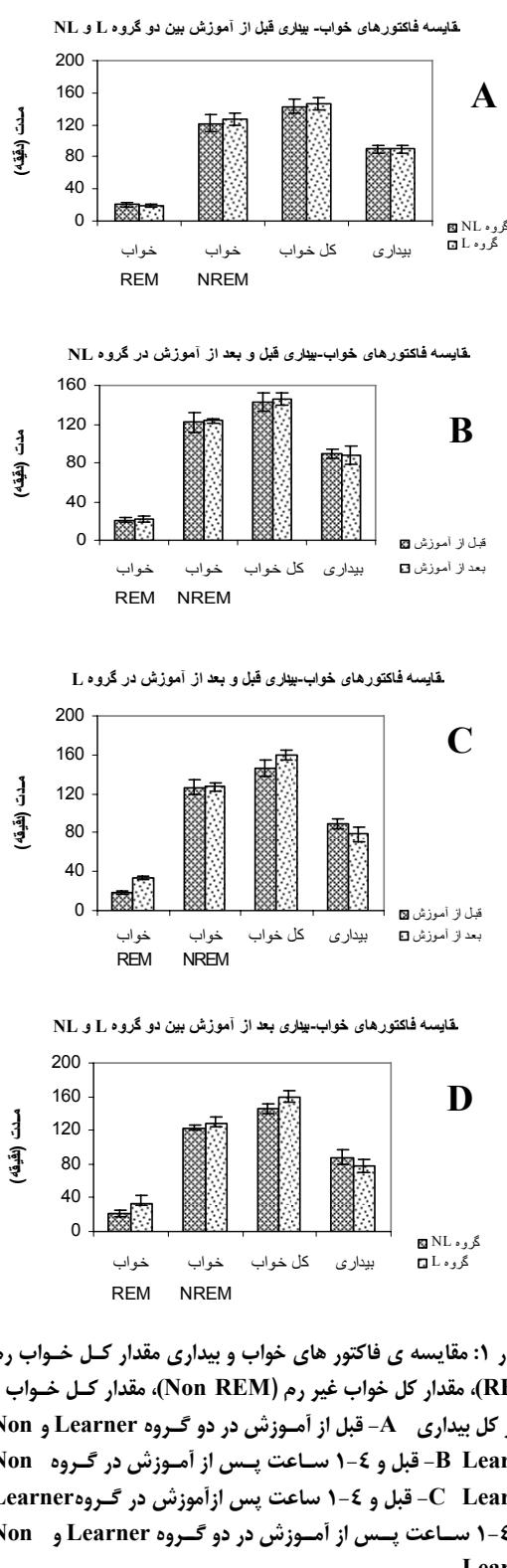
در بخش الکتروفیزیولوژی ، ۱۰ حیوان جهت انجام جراحی توسط محلوت کتامین (ketamine) به میزان ۱۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم و رومپان (Rompun) به میزان ۵ میلی گرم بر کیلو گرم بیهوش شده و پس از تراشیدن موهای سر در دستگاه استریو تاکسی قرار می گرفتند. پس از شکافت پوست سر توسط تیغ جراحی، به وسیله دریل دندانپزشکی دو سوراخ در استخوان پاریتال در دو طرف خط میانی ایجاد و الکترودهای ثبات در آنها قرار می گرفتند، هم‌چنین الکترود سوم (زمین) نیز در استخوان گیجگاهی قرار داده می شد. جهت ثبت نوار الکتریکی عضلاتی - عضلات پس گردن واقع شده و در نهایت پنج الکترود توسط پین به کانکتور اتصال یافته و مجموعاً به وسیله سیمان



شکل ۱: ثبت نمونه از چرخه خواب-بیداری با سرعت $25/0$ میلی متر در ثانیه شامل سیکل خواب غیر رم، خواب رم و بیداری (SWS = Slow Wave Sleep ,W = Wake fullness ,Sleep)

شدن آن می‌شود. حیوانات پس از یادگیری به صورت تصادفی در یکی از سه گروه قرار می گرفتند. گروه شاهد شامل ۱۱ رت می گردید که پس از یادگیری به حیوان خانه جهت تست حافظه در هفته بعد منتقل می شدند، گروه محرومیت ۱-۴ ساعت شامل ۱۲ حیوان می شد که پس از یادگیری بلا فاصله به درون دستگاه جهت محرومیت ۴ ساعت اول منتقل و پس از آن به حیوان جهت تست حافظه در هفته بعد منتقل می شدند و گروه محرومیت ۵-۸ ساعت که شامل ۸ رت می گردید پس از

در بخش رفتاری جهت اعمال محرومیت از خواب رم از ساختمان سکویی با ابعاد $30 \times 30 \times 30$ سانتی‌متر استفاده می شد که در وسط آن میله ای با ارتفاع ۱۰ سانتی‌متر و با صفحه ای به قطر $8/5$ سانتی‌متر وجود داشت. حیوان مورد نظر بر روی صفحه درون سکو قرار می گیرد، در این وضعیت به حیوان اجازه خواب غیر رم (Non REM و بیداری را می دهد، ولی از آنجایی که شروع خواب رم با شل شدن عضلات محوری و گردن همراه است، پوزه حیوان با آب تماس پیدا کرده و باعث بیدار



یادگیری در ۴ ساعت اول به حیوان خانه منتقل و سپس در چهار ساعت دوم جهت محرومیت از خواب رم منتقل و دوباره به حیوان خانه جهت تست حافظه در هفته منتقل می شدند.

جهت بررسی اثر آموزش بر فاکتورهای خواب و بیداری قبل و بعد از آموزش (در دو گروه L و NL) از روش آماری تی زوجی و جهت مقایسه متغیرهای ذکر شده بین دو گروه از آزمون تی مستقل استفاده شده است. همچنین جهت مقایسه اثر محرومیت بر حافظه و مقایسه آنها با گروه شاهد از آنالیز واریانس یک طرفه و تست توکی استفاده گردید.

نتایج

در بخش الکتروفیزیولوژی فاکتورهایی چون مقدار کل خواب، مقدار کل خواب غیر رم، مقدار خواب رم، مقدار کل بیداری، تعداد خواب رم و تعداد خواب غیر رم قبل و بعد از آموزش بین دو گروه L و NL، قبل و بعد از آموزش در گروه L و قبل و بعد از آموزش در گروه NL مقایسه شدند. میزان خواب رم در گروه L پس از آموزش به صورت معنی داری ($p < 0.01$) نسبت قبل از آموزش افزایش نشان می دهد. همچنین مقدار خواب رم در گروه L به صورت معنی داری ($p < 0.05$) نسبت به بعد از آموزش در گروه NL بالاتر بود. مقایسه سایر فاکتورها تفاوت معنی داری را نشان نمی دهد (نمودار ۱).

در بخش رفتاری نتایج حاکی از آن است که میزان حافظه در گروه محرومیت ۱-۴ ساعت پس از یادگیری کاهش معنی داری ($p < 0.05$) نسبت به گروه شاهد دارد و میزان حافظه در گروه محرومیت ۸-۵ ساعت تفاوت معنی داری با گروه شاهد ندارد (نمودار ۲).

نتایج حاضر تغییر معنی داری در تبدیل اپی زودهای خواب با امواج آهسته به خواب رم را نشان نمی دهد و بنابراین از این فرضیه حمایت نمی کند.

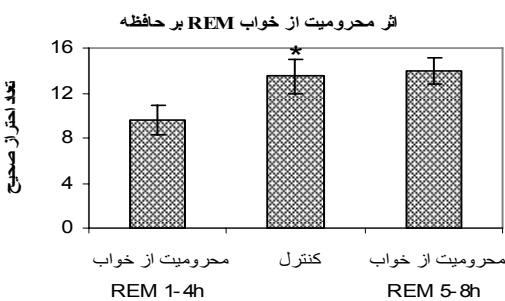
همچنین نتایج این پژوهش بر خلاف نتایج اسمیت و همکاران^(۱۳) تنها افزایش در اندازه اپی زودهای و نه تعداد اپی زودهای را نشان می دهد.

پژوهشگرانی چون اسمیت (۱، ۴ و ۵)، هنوین (۱۱)، زولی (۱۵) و وانجر (۱۶) اعتقاد به دخالت مستقیم خواب رم در تبدیل حافظه کوتاه مدت به حافظه بلند مدت دارند برعکس این اساس افزایش خواب رم تنها در حیوانات موفق به یادگیری دیده می شود. نتایج این پژوهش با نتایج این محققین موافق می باشد.

اسمیت خواب رم متعاقب یادگیری را زمانی برای تسریع تغییرات سیناپسی و سلولی می داند و معتقد است در دوره های خاصی از خواب رم (پنجه های خواب متناظر) تغییراتی چون افزایش استیل کولین ، فعالیت استیل کولین استراز، انشعابات دندریتی و تماس های سیناپسی درون کورتکس رخ می دهد^(۶).

نتایج بخش رفتاری این پژوهش با یافته های باتлер، بوتلر و ساکسویگ^(۱۷-۱۹) هم سو است و نشان می دهد که محرومیت از خواب رم در دوره های خاص موجب ایجاد اختلال در حافظه می گردد.

نتایج این پژوهش با مشاهدات کول-اندرو و همکاران^(۲۰) و همچنین مارتینم و همکاران^(۲۱) موافق نمی باشد. این محققین با استفاده از آموزش پنج جلسه ۱۰ تریالی شاتل باکس (هر روز یک جلسه) به این نتیجه رسیدند که اعمال محرومیت بلا فاصله پس از آموزش موجب تسهیل یادگیری می شود. این محققین عنوان نمودند که استرس حاصل از سکوی آب با القای آزاد سازی هورمون ها مختلفی چون هورمون آدرنوکورتیکو تروپین، وازوپرسین و همچنین افزایش هوشیاری موجب این بهبودی می گردد. برخی علت تحریب حافظه در اثر محرومیت از



نمودار ۲: نمودار اثر محرومیت از خواب رم (REM) در دوره های ۴ ساعته مختلف بر حافظه. نمودار فوق نشان می دهد که بین گروه محروم ۱-۴ ساعت و گروه شاهد اختلاف معنی داری ($P<0.05$) وجود دارد.

بحث

در بررسی ارتباط خواب رم و یادگیری-حافظه فرضیه های مختلفی ارائه گردیده است. گروهی از پژوهشگران معتقدند که بالا بودن خواب رم طبیعی در سطوح پایه با قابلیت یادگیری مرتبط می باشد^(۱۱). در این پژوهش تفاوت معنی داری بین سطوح پایه خواب رم در دو گروه L و NL مشاهده نشده و به همین دلیل نتایج این پژوهش با فرضیه آماده سازی خواب رم موافق نمی باشد.

برخی محققین چون کریک و میچی سون معتقدند^(۱۲) که احتمالاً خواب رم به عنوان مکانیسمی در مرتب نمودن و حذف اشتباہات کسب شده در حین مراحل یادگیری عمل می کند. اما نتایج این پژوهش و چندین پژوهش دیگر^(۱۳، ۱۱) تنها افزایش خواب رم را در گروه L گزارش می نمایند. اگر خواب رم در حذف اشتباہات به کار می رفت می بایست افزایش آن در گروه NL که در حین آموزش اشتباہات بیشتری را مرتکب شده اند، بر جسته تر باشد. همچنین با استدلالی مشابه افزایش خواب رم در گروه L را نمی توان به شوک های وارد شده و استرس^(۱۴) به این گروه حیوانات نسبت داد، زیرا حیوانات گروه NL مقدار بیشتری شوک گرفته اند. برخی محققین چون آمبروسینی و همکاران^(۱۰) معتقد به پردازش متوالی اطلاعات می باشند، یعنی پردازش اطلاعات در خواب با امواج آهسته آغاز و در حین خواب رم ادامه می یابد، اما

3. Smith C, Conway JM, Rose GM. Brief paradoxical sleep deprivation impairs reference but not working memory in radial arm maze task. *Neurobiology of Learning and Memory* 1998; 69 issue 2: 211-17.
4. Smith CT, Nixon MR, Nader RS. Post-training increases in REM sleep intensity implicate REM sleep in memory processing and provide a biological marker of learn mem. 2004;11: 714-19.
5. Smith C. Sleep states and memory processes. *Behav Brain Res* 1995; 69 issues 1-2: 137-45.
6. Smith C, Sleep states memory processes and synaptic plasticity. *Behav Res* 1996; 78: 9-56
7. Smith C, Rose MG. Evidence for paradoxical sleep window for placelearning in the morris water maze. *Physiol Behav* 1996; 59: 93-7.
8. Smith C, Young J, Young W. Prolonged increases in paradoxical sleep during and after avoidance task acquisition. *Sleep* 1983; 304: 111-14.
9. Smith C, Lappa, L. Prolonged increase in both PS and number of REMs following a shuttle avoidance task. *Physiol Behav*. 1988; 43: 213-16.
10. Ambrosini MV , Giuditta A, Learningand sleep: the sequential hypothesis. *Sleep Medicine Reviews* 2001; 5(6): 477-90.
11. Hennevin E, Hars B, Maho G, Bloech V. Processing of learned information in paradoxical sleep: relevance for memory. *Behav Brain Res* 1995; 69: 125-35.
12. Crick F, Mithison G. The function of rem sleep. *Nature* 1980; 3: 67-81.
13. Smith C, LaPP L, Prolonged increases in both PS and number of REMs following a shuttle avoidance task. *Physiol Behav* 1988; 43: 213-16.
14. Mattew P, Walker Robert Stickgold. Sleep dePendent learning and memory consolidation. *Nuron* 2004; 44: 121- 33.
15. Rolli –Baumeler N, Achermann P, Bassetti CL. Corelation between sleep and cognitive functuions after hemispheric ischemic stroke. *Eur J Nural* 2008; 15: 565-72.
16. Wagner U, Born J. Memory consodilation during sleep: interactive effects of sleep stages

خواب رم را استرس وارد شده بر حیوان (اشر تکنیک سکوی) می دانند(۲۲، ۱۴، ۲). با توجه به عدم مشاهده تخریب حافظه در محرومیت ۴ ساعت دوم (۵-۸ ساعت پس از یادگیری) می توان گفت که استرس نقش تعین کننده ای در این ارتباط نداشته و استفاده از صفحه بزرگ (با قطر ۸/۵ سانتی متر) به میزان بسیار بالایی از اثرات استرس بر حیوان می کاهد(۲۳، ۲۴).

وجود نتایج مخالف با یافته های این پژوهش را می توان به دو دلیل دانست: ۱- اعمال محرومیت در دوره های غلط (خارج از پنجره های خواب متناقض) که با پردازش حافظه ارتباطی ندارند ۲- کوتاه بودن دوره های اعمال محرومیت.

نتیجه گیری

افزایش معنی دار مقدار خواب رم در ۱-۴ ساعت پس از یادگیری در گروه L همچنین اختلال در حافظه در اثر اعمال محرومیت در این محدوده زمانی بیانگر نقش خواب رم در تبدیل حافظه کوتاه مدت به بلند مدت بوده و می توان دوره ۱-۴ ساعت متعاقب یادگیری یک جلسه ۱۰۰ تریالی رفتار احترازی فعال دو طرفه را به عنوان پنجره خواب متناقض مطرح نمود.

تشکر و قدردانی

از مسئولین محترم دانشکده علوم دانشگاه شهید بهشتی تهران که در تأمین منابع مالی مورد نیاز انجام این پایان نامه دانشجویی مساعدت کافی را داشته اند، تقدیر و تشکر می گردد.

منابع

1. Smith C. Sleep states and learning: a review of the animal literature. *Nursci Behav Rev* 1985; 9 157-68.
2. Seligman MEP. On the generality of the laws of learning . *Psychol Rev* 1970; 77(5) 406-48.

- an HPA regulation. Stress 2007; 11 issue 1: 28-41.
17. Butler S, Smith C. Brief Ps retardation of learning performance. Sleep Res 1981; 10: 125.
 18. Legault G, Smith C, Beninger JR. Scopolamine during the paradoxical sleep window impair radial arm maze learning in rats. Pharmacology, Biochemistry Behavior 2004; 79: 715-21.
 19. Saxvig IW, Lundervold AJ, Gronli J, Urisin R, Bjorvatn B, Portas MC. The effect of a REM sleep deprivation procedure on different aspect of memory function in humans. Psychophysiology 2008; ISSUE 2, 45: 309-17.
 20. Coll-Andereu M, Marti-Nicolovis M, Morgado-Bernal Z. Facilitation of shuttle-box avoidance by the platform method: temporal effect. Physiol Behav 1991; 49: 1211-15.
 21. Marti M, Portell-Corters I, Morgado-Bernal I. Improvement of shuttle-box avoidance following post-training treatment in paradoxical sleep deprivation platforms in rats. Physiol Behav 1988; 43: 94-8.
 22. Fishben W, Gutwein BM. Paradoxical sleep and memory storage processes. Behav Biol 1977; 19: 425-64.
 23. Thakkar M, Mallick NB. Effect of rapid eye movement sleep deprivation on 5-nuclotida activity in the brain. Neurscilett 1996; 206: 177-80.
 24. Vogel GW. A review of REM sleep deprivation. Arch Gen Psychiatry 1975; 32: 749-61.

Effect of special periods of post-training REM sleep in memory formation of Rats

Nabaee E^{1*}, Motamed F², Shariatzade SMA³, Nabaee M⁴

1- MSc of Physiology, Shazand Education and Training Administration, Shazand, Iran

2- Professor, Physiologist, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3- Professor, Embryologist, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Arak University, Arak,Iran

4- MSc of physiology, Arak University, Arak, Iran.

Received 21 May, 2009 Accepted 17 Aug, 2009

Abstract

Background: REM sleep has a role in memory processing. The period of post-learning, that REM sleep is higher than normal level and deprivation of REM sleep impairs memory, is called paradoxical sleep windows (PSW).

Methods and Materials: In this experimental study, male N.M.RI rats were trained in a two-way shuttle avoidance task (100 trials/one sessions) then memory retention was tested in next week. In electrophysiology section, different sleep-memory factors were recorded in basal level and 1-4 hours after training. In behavioral section, animals that reached 70% learning criterion (learner group) were deprived of PS in the two periods of 1-4 hours and 5-8 hours after learning by Maze water technique.

Results: The amount of REM sleep in group which gained 70% learning after 1-4 hours training, and group without it. In v.s of basic level, significantly increase ($p<0.01$). Other factors were showed no significant difference between two groups before of training. In behavioral section those animals were deprived in 1-4 hr post-learning show significant memory impairment ($p<0.05$).

Conclusion: Paradoxical increased REM sleep is effective in memory consolidation after 1-4 hours training. This period can be consider as paradoxical sleep window.

Keywords: Paradoxical Sleep, Paradoxical Sleep Window, REM Sleep Deprivation, Rat, Memory

*Corresponding author;
Email: E_nabaee@yahoo.com
Address: Shazand Education and Training, Shazand, Iran