



## The effect of nitric oxide on spatial learning and memory impairment following rapid eye movement (REM) sleep deprivation in rats

Mahdi Bodagh <sup>1</sup>, Majid Taati <sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Lorestan University, Khorramabad, Iran

\*Corresponding author: Majid Taati, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Lorestan University, Khorramabad, Iran. Email: taati.m@lu.ac.ir

Received: 9 July 2023 Revised: 25 September 2023 Accepted: 25 September 2023

### Abstract

**Background and Aim:** Sleep deprivation causes impairment in learning and memory. Several studies have shown the positive effect of nitric oxide on learning and memory processes. Therefore, in the present study, the effect of using L-arginine as a precursor of nitric oxide on spatial learning and memory impairment following rapid eye movement (REM) sleep deprivation in rats was investigated.

**Methods:** In this experimental study, 50 rats were divided into five groups: control, sleep deprivation, sleep deprivation plus triple doses of 100, 200 and 300 mg/kg L-arginine (intraperitoneal injection). The method of multiple platforms was used to induce 72 hours of sleep deprivation. Then, the spatial learning and memory levels of all rats were checked using the Morris water maze (MWM) task.

**Results:** Administration of 200 mg/kg L-arginine attenuated the effects of REM sleep deprivation on learning, but it had no effect on memory impairment caused by sleep deprivation.

**Conclusion:** According to the findings of the present study, it seems that nitric oxide can improve the negative effects of REM sleep deprivation on learning.

---

**Keywords:** Nitric Oxide, Spatial learning and memory, Sleep deprivation



## اثر نیتریک اکساید بر اختلال یادگیری و حافظه فضایی به دنبال محرومیت از خواب متناقض (Rapid Eye Movement) در رت‌ها

مهدی بداق<sup>۱</sup>، مجید طاعتی<sup>۱\*</sup>

<sup>۱</sup> گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران

دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۰۱/۲۶ اصلاح مقاله: ۱۴۰۱/۰۲/۲۱ پذیرش مقاله: ۱۴۰۱/۰۲/۲۱

### چکیده

**زمینه و هدف:** محرومیت از خواب موجب اختلال در یادگیری و حافظه می‌شود. مطالعات متعددی تاثیر مثبت نیتریک اکساید در روندهای یادگیری و حافظه را نشان داده‌اند. از این رو در مطالعه حاضر اثر استفاده از آل آرژینین به‌عنوان پیش‌ساز نیتریک اکساید در اختلال یادگیری و حافظه فضایی ناشی از محرومیت از خواب متناقض (Rapid Eye Movement, REM) در رت‌ها بررسی شد.

**روش‌ها:** در این مطالعه تجربی، ۵۰ رت در پنج گروه: کنترل، محروم از خواب، محروم از خواب به اضافه دوزهای سه گانه ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم/کیلوگرم آل آرژینین (تزریق داخل صفاقی) تقسیم شدند. از روش سکوه‌های چندگانه برای ایجاد ۷۲ ساعت بی‌خوابی استفاده شد. پس از آن میزان یادگیری و حافظه همه موش‌ها با استفاده از تست ماز آبی موریس بررسی شد.

**یافته‌ها:** تزریق آل آرژینین با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم موجب کاهش اثرات محرومیت از خواب REM بر یادگیری گردید اما تاثیری بر اختلال حافظه ناشی از بی‌خوابی نداشت.

**نتیجه‌گیری:** بر اساس یافته‌های حاضر، به نظر می‌رسد نیتریک اکساید می‌تواند در کاهش اثرات منفی محرومیت از خواب REM بر یادگیری موثر باشد.

**کلیدواژه‌ها:** نیتریک اکساید، یادگیری و حافظه فضایی، محرومیت از خواب

## مقدمه

خواب یک روند فیزیولوژیک طبیعی است که برای سلامتی و کیفیت همه جنبه‌های زندگی انسان ضروری می‌باشد. مطالعات نشان داده که محرومیت از خواب طولانی مدت احتمال ابتلاء به چاقی، دیابت، فشارخون بالا، بیماری قلبی و سکت‌های قلبی را افزایش می‌دهد [۵-۱]. علاوه بر آن گزارش‌های زیادی نشان‌دهنده نقش مهم خواب در فعالیت‌های عصبی است. به عنوان مثال محرومیت از خواب حاد و مزمن فعالیت‌های مغزی از قبیل تمرکز، هوشیاری، تصمیم‌گیری و رفتار را در انسان و حیوانات آزمایشگاهی تغییر می‌دهد [۶،۷]. ارتباط قوی بین محرومیت از خواب و اختلال یادگیری به اثبات رسیده است [۸،۹]. خواب دارای دو مرحله عمده است که به صورت دوره‌ای تکرار می‌شوند: خواب با حرکات سریع چشم (REM) و خواب بدون حرکات سریع چشم (NREM). هر یک از این دو نوع خواب جنبه‌های مختلف ایجاد و تثبیت حافظه را تنظیم می‌کنند. مطالعه در زمینه محرومیت کامل از خواب REM و NREM اختلالاتی را در فعالیت‌های مختلف مغزی نشان داده است. به عنوان مثال ارتباط میان محرومیت از خواب REM و شکل‌پذیری هیپوکمپ، نورونز و اختلال یادگیری نشان داده شده است [۱۰،۱۱].

در مطالعات متعددی از ترکیبات مختلف جهت کاهش اثرات منفی بی‌خوابی بر فعالیت‌های مغزی استفاده شده است [۱۲]. نیتریک اکساید یک میانجی عصبی منحصر به فرد گازی شکل با اثرات متنوع در تنظیم فعالیت‌های نورون‌ها در سیستم عصبی مرکزی است [۱۳]. نیتریک اکساید در نورون‌ها همزمان با تبدیل اسیدآمینو ال-آرژینین به ال-سیتروولین توسط آنزیم نیتریک اکساید سینتاز بوجود می‌آید [۱۳]. مطالعات بر روی حیوانات آزمایشگاهی نقش نیتریک اکساید را در روندهای یادگیری و حافظه نشان داده‌اند [۱۴]. این میانجی عصبی با تاثیر بر شکل‌گیری سیناپسی در هیپوکمپ و نیز ایجاد پتانسیل‌های طولانی مدت (LTP)، در روندهای یادگیری و حافظه نقش مهمی دارد [۱۵،۱۶]. به طوری که مهار تولید نیتریک اکساید در هیپوکمپ می‌تواند هر دو نوع حافظه سریع و کوتاه مدت را مختل نماید [۱۶]. با این همه اطلاعات زیادی در رابطه با اثرات نیتریک اکساید در اختلال یادگیری و حافظه ناشی از بی‌خوابی در دست نیست. از این‌رو در مطالعه حاضر اثر استفاده از ال آرژینین به عنوان پیش‌ساز نیتریک اکساید در اختلال یادگیری و حافظه فضایی به دنبال بی‌خوابی در موش‌های آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت.

## روش‌ها

در این پژوهش تجربی تعداد ۵۰ سر موش صحرایی نژاد ویستار با میانگین وزنی  $20 \pm 20$  گرم تهیه شده از مرکز تحقیقات رازی دانشگاه علوم پزشکی لرستان مورد استفاده قرار گرفت.

حیوانات در قفس‌های مخصوص در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در دمای اتاق  $21 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد در حیوانخانه دانشکده دامپزشکی دانشگاه لرستان نگهداری شدند. همه حیوانات دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند.

## ایجاد بی‌خوابی

در این مطالعه از روش سکوی چندگانه استفاده شد. این روش متداول‌ترین تکنیک جهت ایجاد محرومیت از خواب REM می‌باشد [۱۲]. در هر محفظه ایجاد محرومیت از خواب ۱۰ عدد سکو به ارتفاع ۱۰ سانتیمتر با سطح مقطع  $6/5$  سانتیمتر مربع وجود دارد. فاصله سکوها از هم ۷ سانتیمتر است. داخل محفظه تا ارتفاع ۸ سانتیمتر آب وجود دارد، به طوری که سطح سکوها ۲ سانتیمتر بالاتر از آب است. در هر محفظه ۵ سر حیوان قرار داده می‌شود. حیوانات بر روی سکوها قرار گرفته و به راحتی امکان جابجایی بر روی سکوها مجاور را دارند. با استفاده از سبدهای آویزان، غذا به صورت آزاد در اختیار حیوانات قرار دارد. سطح مقطع سکوها به اندازه‌ای است که حیوان می‌تواند بر روی آن وارد مرحله خواب NREM شود، ولی از آنجایی که شروع خواب REM با شل شدن عضلات محوری و عضلات گردن همراه است، به محض ورود به خواب REM، پوزه حیوان به سمت آب متمایل شده و بر اثر تماس با آب بیدار می‌شود.

## گروه‌بندی موش‌ها

موش‌ها به طور تصادفی در ۵ گروه (۱۰ سر در هر گروه) به ترتیب زیر قرار گرفتند: گروه کنترل (با خواب طبیعی)، گروه محروم از خواب، گروه محروم از خواب + ال آرژینین (۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم)، گروه محروم از خواب + ال آرژینین (۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم)، گروه محروم از خواب + ال آرژینین (۳۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم). در این مطالعه مدت محرومیت از خواب REM، ۷۲ ساعت بود. پس از آن همه گروه‌ها برای آزمایش‌های یادگیری و حافظه فضایی وارد تست ماز آبی موریس شدند. در طول ۷۲ ساعت محرومیت از خواب و نیز در طول تست ماز آبی، گروه‌های سوم تا پنجم هر روز یک بار و به روش داخل صفاقی به ترتیب دوزهای مختلف ال آرژینین را دریافت کردند.

## بررسی یادگیری و حافظه فضایی در ماز آبی موریس

ارزیابی یادگیری و حافظه فضایی توسط ماز آبی موریس انجام گرفت [۱۷،۱۸]. این ماز از یک حوضچه استوانه‌ای شکل سیاه رنگ با قطر ۱۳۶ سانتیمتر و ارتفاع ۶۰ سانتیمتر تشکیل شده که تا ارتفاع ۳۰ سانتیمتر با آب پر می‌شود. یک سکوی سیاه رنگ تحت عنوان سکوی پنهان با قطر ۱۰ سانتیمتر درون حوضچه در یکی از ۴ ربع حوضچه قرار دارد. ارتفاع سکو به گونه‌ای است که سطح آن به اندازه یک سانتیمتر زیر آب بوده و از بیرون قابل مشاهده نیست. به منظور بررسی وضعیت یادگیری، به مدت ۵ روز متوالی و در هر روز هر حیوان ۴ بار و هر بار بطور تصادفی از یکی از ۴ جهت مختلف (شمال، جنوب، شرق و غرب) در تانک آب قرار

که مدت زمان رسیدن به سکوی پنهان در گروه محروم از خواب (SD) در روزهای ۳، ۴ و ۵ بطور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بود ( $P < 0.05$ ). همچنین مشاهده شد که استفاده از آل آرژینین به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم در گروه SD+L.arg mg ۲۰۰ توانست مدت زمان رسیدن به سکوی پنهان را در روزهای ۴ و ۵ یادگیری در مقایسه با گروه SD بطور معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) کاهش دهد که نشان‌دهنده بهتر شدن وضعیت یادگیری در این گروه بود. مدت زمان رسیدن به سکوی پنهان در گروه‌های SD+L.arg ۱۰۰ mg و SD+L.arg ۳۰۰ mg در مقایسه با گروه محروم از خواب (SD) تفاوت معنی‌داری نداشت.

نمودار ۲ یافته‌های مربوط به وضعیت یادگیری گروه‌ها بر اساس رسیدن به سکوی پنهان در کل طول دوره یادگیری را نشان می‌دهد. مدت زمان رسیدن به سکوی پنهان در گروه محروم از خواب در مقایسه با گروه کنترل بطور معنی‌داری کمتر بود ( $P < 0.05$ ). در حالی که مقایسه بین گروه‌های دریافت‌کننده آل آرژینین با گروه محروم از خواب نشان داد مدت زمان رسیدن به سکوی پنهان تنها در گروه SD+L.arg 200mg به طور معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) کمتر از گروه محروم از خواب بود.

در نمودار ۳ یافته‌های مربوط به حافظه فضایی گروه‌ها در تست پروب ماز آبی آمده است. مقایسه بین گروه‌ها نشان داد که درصد حضور در ناحیه هدف همه گروه‌های محروم از خواب (SD) و محروم از خواب دریافت‌کننده آل آرژینین، در مقایسه با گروه کنترل بطور معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) کاهش یافته است که نشان‌دهنده تاثیر معنی‌دار محرومیت از خواب بر حافظه فضایی حیوانات است. هیچ یک از دوزهای بکار رفته آل آرژینین نتوانست درصد حضور در ناحیه هدف را در مقایسه با گروه محروم از خواب (SD) بطور معنی‌دار تغییر دهد.

داده شد. حداکثر زمان شنای حیوانات در تانک ۶۰ ثانیه در نظر گرفته شد. اطلاعات مربوط به سرعت، مسافت و زمان شنای حیوان به منظور یافتن سکوی پنهان استخراج و ثبت شدند.

برای بررسی وضعیت حافظه از آزمایش پروب در ماز آبی استفاده شد. به این صورت که ۲۴ ساعت پس از آخرین روز آزمایش یادگیری، ابتدا سکوی پنهان را از تانک خارج کرده و با قرار دادن هر حیوان در تانک آب، به مدت ۶۰ ثانیه اجازه داده شد که با شنا در جستجوی محل سکوی پنهان باشد. در این حالت نیز مدت زمان حضور حیوانات در مناطق ۴ گانه تانک توسط دوربین ثبت شد.

### محاسبات آماری

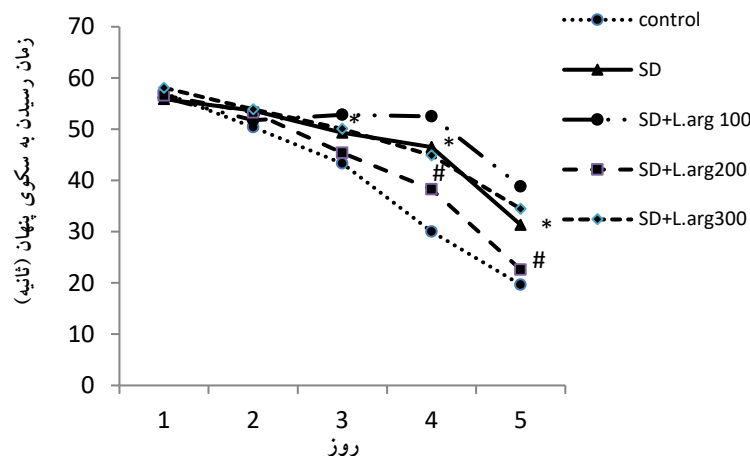
نرم افزار SPSS-13 برای تجزیه و تحلیل داده‌ها به کار گرفته شد. از روش آماری آنوای مکرر یک طرفه (One-way Repeated Measures Analysis of Variance) برای مقایسه زمان سپری شده جهت یافتن سکوی پنهان در طول دوره ۵ روزه یادگیری بین گروه‌ها استفاده گردید. از روش آماری آنوای یک طرفه (one way ANOVA) با آزمون متعاقب توکی نیز برای بررسی اطلاعات بدست آمده از پروب تست (درصد حضور در ناحیه هدف) استفاده گردید [۱۹]. مقادیر P کمتر از ۰.۰۵ معنی‌دار تلقی شد. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف میانگین استاندارد حاصل از مجموع تست‌های انجام شده ارائه شد.

### ملاحظات اخلاقی

مراحل این تحقیق مطابق مفاد معاهده هلیسنکی و با کد اخلاق LU.ECRA.2023.21 مطابق با دستورالعمل‌های کمیته اخلاق پژوهش دانشگاه لرستان انجام گردید.

### نتایج

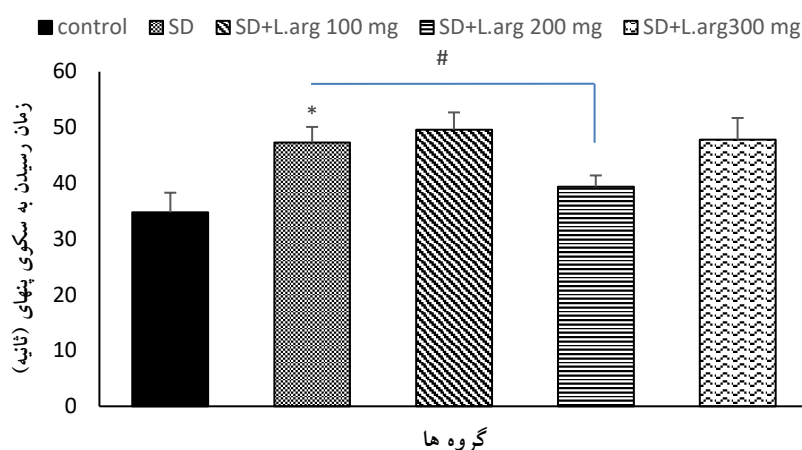
یافته‌های مربوط به یادگیری گروه‌ها در ۵ روز تست یادگیری در نمودار ۱ آمده است. مقایسه گروه‌ها با آزمون متعاقب نشان داد



### نمودار ۱- وضعیت یادگیری گروه‌ها در طول ۵ روز آزمایش در ماز آبی موريس و مقایسه آنها در روزهای مختلف

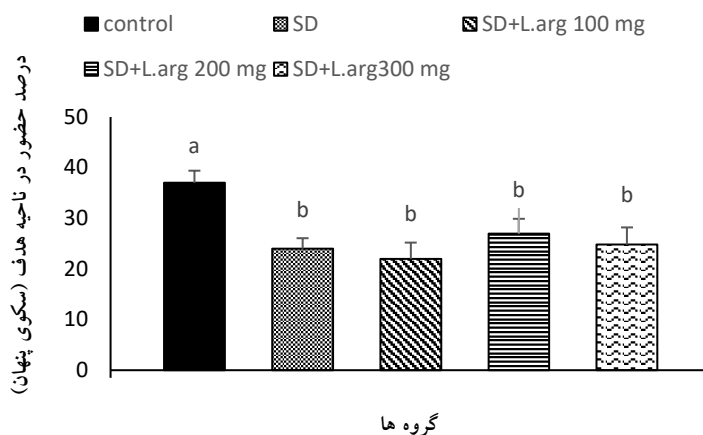
گروه محروم از خواب (SD)، محروم از خواب دریافت‌کننده ۱۰۰ میلی‌گرم آل آرژینین (SD+L.arg 100mg)، محروم از خواب دریافت‌کننده ۲۰۰ میلی‌گرم آل آرژینین (SD+L.arg 200mg)، محروم از خواب دریافت‌کننده ۳۰۰ میلی‌گرم آل آرژینین (SD+L.arg 300mg)،

# نشان‌دهنده تفاوت معنی دار بین گروه دریافت کننده ۲۰۰ میلی‌گرم آل آرژینین و گروه محروم از خواب (SD) \* نشان‌دهنده تفاوت معنی دار بین گروه‌های محروم از خواب (SD) و کنترل #  $P < 0.05$  \*  $P < 0.05$



### نمودار ۲- مقایسه میزان یادگیری در بین گروه‌ها.

گروه محروم از خواب (SD)، محروم از خواب دریافت کننده ۱۰۰ میلی‌گرم آل آرژینین (SD+L.arg 100mg)، محروم از خواب دریافت کننده ۲۰۰ میلی‌گرم آل آرژینین (SD+L.arg 200mg)، محروم از خواب دریافت کننده ۳۰۰ میلی‌گرم آل آرژینین (SD+L.arg 300mg)، # نشان‌دهنده تفاوت معنی دار بین گروه دریافت کننده ۲۰۰ میلی‌گرم آل آرژینین (SD+L.arg 200mg) و گروه محروم از خواب (SD) \* نشان‌دهنده تفاوت معنی دار بین گروه محروم از خواب (SD) و کنترل #  $P < 0.05$  \*  $P < 0.05$



### نمودار ۳- مقایسه وضعیت حافظه فضایی در بین گروه‌ها با استفاده از پروب تست ماز آبی موریس

گروه محروم از خواب (SD)، محروم از خواب دریافت کننده ۱۰۰ میلی‌گرم آل آرژینین (SD+L.arg 100mg)، محروم از خواب دریافت کننده ۲۰۰ میلی‌گرم آل آرژینین (SD+L.arg 200mg)، محروم از خواب دریافت کننده ۳۰۰ میلی‌گرم آل آرژینین (SD+L.arg 300mg)، حروف غیریکسان نشان‌دهنده تفاوت معنی دار با هم است.

خواب از روش سکوی چندگانه (multiple platform method) استفاده گردید. به دلیل شل شدن عضلات در حین خواب REM و سقوط حیوان از روی سکو، این روش موجب محرومیت حیوان از خواب REM تا ۹۵ درصد شده و همزمان موجب اختلال در خواب NREM نیز می‌شود [۱۲،۲۳]. فرضیه‌های مختلفی برای چگونگی تاثیر خواب بر یادگیری و حافظه ارائه شده است. به عنوان مثال گفته می‌شود خواب اطلاعات اولیه و فرار حافظه را تثبیت کرده و انتقال آنها را به درون شبکه‌های عصبی قشر مغز برای ذخیره طولانی مدت تسهیل می‌کند [۲۴،۲۵]. در سطح مولکولی، خواب با تقویت و پیشبرد مسیرهای پیام رسان متنوع مانند آدنوزین

## بحث

در این مطالعه اثر استفاده از آل آرژینین به عنوان پیش‌ساز نیتریک اکساید بر وضعیت یادگیری و حافظه فضایی به دنبال محرومیت از خواب تجربی در موش‌های آزمایشگاهی ارزیابی شد. نتایج نشان داد که محرومیت از خواب موجب افزایش در میانگین زمان رسیدن به سکوی پنهان در طول دوره یادگیری و نیز کاهش مدت زمان سپری شده در ناحیه هدف در آزمایش ماز آبی موریس می‌شود، به عبارتی محرومیت از خواب موجب کاهش معنی دار در یادگیری و حافظه شده است که این یافته هم راستا با مطالعات قبلی بود [۲۲-۱۲،۱۸،۲۰]. در این مطالعه برای ایجاد محرومیت از

اکساید نقایص یادگیری ناشی از پیری را بهبود بخشیده و در این رابطه می‌توان از ال-آرژنین به عنوان یک مکمل درمانی بالقوه در درمان بیماری آلزایمر تجربی استفاده نمود [۳۸]. در مطالعه دیگری که توسط هارونی و همکاران انجام گردید، کاهش میزان نیتریک اکساید از طریق مهار نیتریک اکساید سینتاز در هیپوکامپ منجر به نقص در حافظه کوتاه مدت گردید [۱۶]. همان طور که اشاره شد تقویت طولانی مدت (LTP) و شکل‌پذیری سیناپسی در نورون‌های ناحیه هیپوکامپ مهمترین گام برای یادگیری و حافظه است [۳۹]. نیتریک اکساید و نیز پیش‌ساز آن می‌توانند شکل‌پذیری سیناپسی و LTP را در هیپوکامپ افزایش دهند [۴۰]. مکانیسم‌های متفاوتی را می‌توان برای تاثیر نیتریک اکساید در کاهش اثرات محرومیت از خواب بر یادگیری و حافظه بیان نمود. یکی از مکانیسم‌های احتمالی مربوط به خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی نیتریک اکساید در سیستم عصبی است [۱۵، ۳۸]. به عنوان مثال تجویز ال-آرژنین، به طور قابل توجهی استرس اکسیداتیو در هیپوکامپ و قشر مغز، دو ناحیه‌ای که در ایجاد حافظه فضایی نقش مهمی دارند را کاهش می‌دهد [۳۸]. علاوه بر آن استفاده از ال‌آرژنین مانع از کاهش سطوح GSH در نواحی قشر، هیپوکامپ و آمیگدال مغز موش‌های مبتلا به مدل تجربی آلزایمر شده است [۳۸]. گفته می‌شود ال‌آرژنین با افزایش تولید گلوتاتیون مانع از کاهش میزان GSH شده و از این طریق سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی را تقویت می‌کند [۴۱]. علاوه بر آن نیتریک اکساید از طریق افزایش بیان mRNA آنزیم گلوتاتیون-سیستین لیگاز تولید GSH را بالا می‌برد. ال‌آرژنین در تولید کراتین نیز نقش دارد که یک ترکیب گوانیدیک با خواص آنتی‌اکسیدانی و محافظت از سیستم عصبی قوی است [۴۲]. محرومیت از خواب REM به مدت ۷۲ ساعت در موش‌ها سبب ایجاد یک پاسخ التهابی سیستمیک در بدن می‌شود، پاسخی که با افزایش سطوح پلاسمایی فاکتورهای التهابی مانند IL-1، IL-6، IL-1 $\beta$  و TNF- $\alpha$  همراه است [۴۳]. از طرف دیگر ژو و همکاران نشان دادند که ۲۴ ساعت محرومیت از خواب از طریق ایجاد یک پاسخ التهابی در سیستم عصبی به ویژه در هیپوکامپ سبب اختلال در روند یادگیری و حافظه وابسته به هیپوکامپ در موش می‌شود [۴۴]. در همین ارتباط استفاده از ال-آرژنین به میزان ۲۰۰ mg/kg اثرات منفی لیپوپولی‌ساکارید باکتریایی بر یادگیری و حافظه فضایی را که از طریق افزایش سطوح IL-6، IL-1 $\beta$  و TNF- $\alpha$  در هیپوکامپ و اختلال در روند LTP ایجاد می‌شود بهبود بخشیده است [۴۵]. بنابراین به نظر می‌رسد در مطالعه حاضر نیز ال‌آرژنین از طریق اثرات ضد التهابی توانسته اختلال یادگیری ناشی از بی‌خوابی را کمتر نماید. مکانیسم دیگری که می‌توان به آن اشاره کرد نقش نیتریک اکساید در تنظیم جریان خون مغز است [۴۵]. قبلاً نشان داده شده که اختلال در تنظیم جریان خون مغزی می‌تواند در بیماری آلزایمر نقش داشته باشد [۴۶، ۴۷]. علاوه بر آن ارتباط بین

مونوفسفات حلقوی (cAMP)، پروتئین کیناز A (PKA)، پروتئین کیناز فعال شده با میتوژن (MAPK) و پروتئین متصل‌شونده به عامل واکنش‌دهنده به آدنوزین مونوفسفات حلقوی (CREB)، فعالیت سیناپسی را تنظیم کرده و رونوشت‌برداری از ژن‌های مربوط به شکل‌گیری سیناپسی و تولید پروتئین‌ها را در نورون‌ها کنترل می‌کند [۲۷-۲۵]. هر دو نوع خواب REM و NREM در کنار هم جنبه‌های مختلف یادگیری و حافظه را تنظیم می‌کنند. نتایج حاصل از مطالعات بر روی انسان و حیوان نشان می‌دهد که یادگیری و حافظه فضایی به شدت وابسته به هیپوکامپ و شبکه عصبی مربوط به آن است [۲۹، ۲۸]. هیپوکامپ انواع مختلفی از فعالیت‌های مغزی مانند یادگیری، حافظه، جهت‌یابی فضایی را کنترل می‌کند. فعالیت طبیعی هیپوکامپ به کیفیت و طول مدت خواب وابسته است [۲۱]. شواهد زیادی نشان‌دهنده اثرات مخرب محرومیت از خواب بر یادگیری و حافظه وابسته به هیپوکامپ است [۲۲]. سعادتی و همکاران نشان دادند که محرومیت از خواب مانع از تقویت طولانی مدت (LTP) در ناحیه C1 هیپوکامپ موش‌ها می‌شود [۳۰]. علاوه بر آن گزارش شده که محرومیت از خواب موجب استرس اکسیداتیو در هیپوکامپ شده و از این طریق به نورون‌ها و سلول‌های پشتیبان سیستم عصبی آسیب وارد می‌کند [۳۱]. سیلوا و همکاران نشان دادند که نتایج منفی بدست آمده در تست حافظه احترازی غیرفعال (passive avoidance retention) به دنبال ۷۲ ساعت بی‌خوابی، ناشی از استرس اکسیداتیو در هیپوکامپ موش بوده است [۳۲]. محرومیت از خواب به مدت ۷ روز منجر به افزایش نشانگرهای پیش‌التهابی، کاهش عوامل آنتی‌اکسیدان و ضدالتهابی در هیپوکامپ و در نتیجه اختلال حافظه موش شده است [۳۳]. علاوه بر استرس اکسیداتیو و آسیب به نورون‌ها، محرومیت از خواب منجر به اختلالات عصبی رفتاری در انسان و موش‌ها می‌شود [۳۴، ۳۵]. به عنوان مثال محرومیت از خواب به مدت ۴۸ ساعت موجب افزایش رفتارهای اضطرابی و کاهش حافظه در موش شده که شدت آن متناسب با میزان استرس اکسیداتیو و کاهش تعداد نورون‌های هرمی در ناحیه C1 هیپوکامپ است [۳۶].

در مطالعه حاضر تزریق داخل صفاقی ۲۰۰ میلی‌گرم / کیلوگرم ال‌آرژنین اثر منفی محرومیت از خواب بر یادگیری را در مقایسه با گروهی که تحت تاثیر تنها بی‌خوابی بودند به طور معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) بهبود بخشید. با این حال هیچ یک از دوزهای بکار رفته ال‌آرژنین بر اختلال حافظه فضایی ناشی از بی‌خوابی موثر نبود. با بررسی مطالعات می‌توان گفت که این مطالعه برای اولین بار تاثیر نیتریک اکساید را از طریق پیش‌ساز آن، ال‌آرژنین، بر وضعیت یادگیری و حافظه به دنبال بی‌خوابی مورد بررسی قرار داده است. در مطالعات متعددی بر نقش و اهمیت نیتریک اکساید در یادگیری و حافظه تاکید شده است. ال‌آرژنین از طریق افزایش نیتریک اکساید در هیپوکامپ رت، می‌تواند اختلال حافظه ناشی از پیری را کاهش دهد [۱۵، ۳۷]. دابی و همکاران نشان دادند که نیتریک



کافی نبوده است. اما در مورد علت عدم تاثیر دوز ۳۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم دلیل قانع‌کننده‌ای وجود ندارد.

### نتیجه‌گیری

بر اساس یافته‌های این مطالعه می‌توان بیان داشت که نیتریک‌اکساید احتمالاً از طریق مکانیسم‌های مختلف اثرات منفی محرومیت از خواب بر یادگیری را بهبود می‌بخشد.

### تشکر و قدردانی: نویسندگان مقاله از همکاری معاونت

پژوهشی دانشگاه لرستان در انجام این تحقیق تشکر می‌نمایند.

### نقش نویسندگان: همه نویسندگان در نگارش اولیه مقاله

یا بازنگری آن سهیم بودند و همه با تایید نهایی مقاله حاضر، مسئولیت دقت و صحت مطالب مندرج در آن را می‌پذیرند.

### تضاد منافع: نویسندگان تصریح می‌کنند که هیچ گونه تضاد

منافی در مطالعه حاضر وجود ندارد.

جریان خون مغز و قدرت یادگیری و حافظه به اثبات رسیده است [۴۷،۴۸]. ساوت و همکاران نشان دادند که محرومیت کامل از خواب به مدت ۲۴ ساعت در موش‌های صحرایی با اختلالی که در مسیر تولید نیتریک‌اکسید و COX-1 ایجاد می‌کند سبب عدم توانایی سیستم عروقی در تنظیم فشارخون می‌شود [۴۹]. جیانگ و همکاران نیز نشان دادند که محرومیت از خواب REM به مدت ۵ روز در موش‌های صحرایی می‌تواند با ایجاد نقص در مسیر سیگنالینگ eNOS/NO/cGMP سبب اختلال عملکرد سلول‌های اندوتلیال و در نتیجه ناتوانی در تنظیم فشارخون به طور طبیعی شود [۵۰]. با توجه به مطالب مورد اشاره، به نظر می‌رسد ال‌آرژینین از طریق افزایش نیتریک‌اکساید می‌تواند با کمک به جریان خون مغزی سبب کاهش آسیب‌های ناشی از محرومیت از خواب بر عملکردهای شناختی شود، آسیبهایی که به واسطه سیستم عروقی بر سیستم عصبی اعمال می‌شود. در مطالعه حاضر استفاده از دوزهای ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم ال‌آرژینین نتوانست اثرات منفی بی‌خوابی بر یادگیری را به طور معنی‌داری کاهش دهد. به نظر می‌رسد مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم ال‌آرژینین در این ارتباط

### منابع

- Zisapel NJC, Sciences ML. Sleep and sleep disturbances: biological basis and clinical implications. *Cell Mol Life Sci* 2007; 64(10):1174-86. doi:10.1007/s00018-007-6529-9 PMID:17364142
- Atrooz F, Salim S. Sleep deprivation, oxidative stress and inflammation. *Adv Protein Chem Struct Biol* 2020; 119: 309-36. doi:10.1016/bs.apcsb.2019.03.001 PMID:31997771
- Meerlo P, Benca RM, Abel T. Sleep, neuronal plasticity and brain function. Springer; 2015. doi:10.1007/978-3-662-46878-4
- Jassim Mohammed M, Murad S. Intake and output evaluation in post-surgical patients during ICU stay. *Novel Clin Med*, 2023; 2(4): 170-179. doi:10.22034/ncm.2023.409911.1108
- Abbott SM, Videnovic A, sleep so. Chronic sleep disturbance and neural injury: links to neurodegenerative disease. *Nat Sci Sleep* 2016;55-61. doi:10.2147/NSS.S78947 PMID:26869817 PMCid:PMC4734786
- Abel T, Havekes R, Saletin JM, Walker MP. Sleep, plasticity and memory from molecules to whole-brain networks. *Sleep, plasticity and memory from molecules to whole-brain networks* 2013;23(17): R774-R88. doi:10.1016/j.cub.2013.07.025 PMID:24028961 PMCid:PMC4263505
- Abel T, Havekes R, Saletin JM, Walker MP. Sleep, plasticity and memory from molecules to whole-brain networks. *Elife* 2013;23(17):R774-R88. doi:10.1016/j.cub.2013.07.025 PMID:24028961 PMCid:PMC4263505
- Ferrara M, Iaria G, Tempesta D, Curcio G, Moroni F, Marzano C, et al. Sleep to find your way: the role of sleep in the consolidation of memory for navigation in humans. *Hippocampus* 2008; 18(8): 844-51. doi:10.1002/hipo.20444 PMID:18493970
- Krause AJ, Simon EB, Mander BA, Greer SM, Saletin JM, Goldstein-Piekarski AN, et al. The sleep-deprived human brain. *Nat Rev Neurosci* 2017; 18(7): 404-18. doi:10.1038/nrn.2017.55 PMID:28515433 PMCid:PMC6143346
- Kreutzmann J, Havekes R, Abel T, Meerlo P. Sleep deprivation and hippocampal vulnerability: changes in neuronal plasticity, neurogenesis and cognitive function. *Neuroscience* 2015; 309: 173-90. doi:10.1016/j.neuroscience.2015.04.053 PMID:25937398
- Havekes R, Meerlo P, Abel T, Function B. Animal studies on the role of sleep in memory: from behavioral performance to molecular mechanisms. *Curr Top Behav Neurosci* 2015:183-206. doi:10.1007/7854\_2015\_369 PMID:25680961
- Esmailpour K, Sheibani V, Saadati H. Caffeine improved spatial learning and memory deficit in sleep deprived female rat. *Physiol Pharmacol* 2015; 19(2):121-9.
- Paul V, Ekambaram P. Involvement of nitric oxide in learning & memory processes. *Indian J Med Res* 2011; 133(5):471.
- Garthwaite J, Boulton C. Nitric oxide signaling in the central nervous system. *Ann Rev Physiol* 1995; 57(1):683-706. doi:10.1146/annurev.ph.57.030195.003343 PMID:7539993
- Hosseini M, Pourganji M, Khodabandehloo F, Soukhtanloo M, Zabihi H. Protective effect of L-arginine against oxidative damage as a possible mechanism of its beneficial properties on spatial learning in ovariectomized rats. *Basic Clin Neurosci* 2012; 3(5): 36-44.
- Eshagh Harooni H, Naghdi N, Haeri Rohani A, Sepehri H. The role of hippocampal nitric oxide in

- passive avoidance learning. *Pharmacol* 2009; 13(1):1-9.
17. Taati M, Moghaddasi M, Esmaceli M, Pourkhodad S, Nayebzadeh H. The role of the central histaminergic receptors in the exercise-induced improvements of the spatial learning and memory in rats. *Brain Res* 2014; 1587:112-8. doi:10.1016/j.brainres.2014.08.065 PMID:25192644
18. Hajali V, Sheibani V, Esmaceli-Mahani S, Shabani M. Female rats are more susceptible to the deleterious effects of paradoxical sleep deprivation on cognitive performance. *Behav Brain Res* 2012; 228(2):311-8. doi:10.1016/j.bbr.2011.12.008 PMID:22192378
19. Chen M, Xia D, Min C, Zhao X, Chen Y, Liu L, Li X. Neonatal repetitive pain in rats leads to impaired spatial learning and dysregulated hypothalamic-pituitary-adrenal axis function in later life. *Sci Rep* 2016; 6: 39159. doi:10.1038/srep39159 PMID:27966656 PMCid:PMC5155224
20. Saadati H, Esmaceli-Mahani S, Esmacelipour K, Nazeri M, Mazhari S, Sheibani V, et al. Exercise improves learning and memory impairments in sleep deprived female rats. *Physiol Behav* 2015; 138: 285-91. doi:10.1016/j.physbeh.2014.10.006 PMID:25447468
21. Konakanchi S, Raavi V, MI HK, Shankar VJBRB. Impact of chronic sleep deprivation and sleep recovery on hippocampal oligodendrocytes, anxiety-like behavior, spatial learning and memory of rats. 2023; 193: 59-71. doi:10.1016/j.brainresbull.2022.12.002 PMID:36494056
22. Alvarenga TA, Patti CL, Andersen ML, Silva RH, Calzavara MB, Lopez GB, et al. Paradoxical sleep deprivation impairs acquisition, consolidation, and retrieval of a discriminative avoidance task in rats. *Neurobiol Learn Mem* 2008; 90(4):624-32. doi:10.1016/j.nlm.2008.07.013 PMID:18707010
23. Machado RB, Hipólido DC, Benedito-Silva AA, Tufik S. Sleep deprivation induced by the modified multiple platform technique: quantification of sleep loss and recovery. *Brain Res* 2004;1004(1-2):45-51. doi:10.1016/j.brainres.2004.01.019 PMID:15033418
24. Rasch B, Born J. About sleep's role in memory. *Physiol Rev* 2013. doi:10.1152/physrev.00032.2012 PMID:23589831 PMCid:PMC3768102
25. Havekes R, Abel T. The tired hippocampus: the molecular impact of sleep deprivation on hippocampal function. *Curr Opin Neurobiol* 2017; 44:13-9. doi:10.1016/j.conb.2017.02.005 PMID:28242433 PMCid:PMC5511071
26. Havekes R, Vecsey CG, Abel T. The impact of sleep deprivation on neuronal and glial signaling pathways important for memory and synaptic plasticity. *Cell Signal* 2012;24(6):1251-60. doi:10.1016/j.cellsig.2012.02.010 PMID:22570866 PMCid:PMC3622220
27. Prince T-M, Abel T. The impact of sleep loss on hippocampal function. *Learn Mem* 2013;20(10):558-69. doi:10.1101/lm.031674.113 PMID:24045505 PMCid:PMC3768199
28. Bird CM, Burgess N. The hippocampus and memory: insights from spatial processing. *Nat Rev Neurosci* 2008;9(3):182-94. doi:10.1038/nrn2335 PMID:18270514
29. Broadbent NJ, Squire LR, Clark RE. Spatial memory, recognition memory, and the hippocampus. *PNAS* 2004;101(40):14515-20. doi:10.1073/pnas.0406344101 PMID:15452348 PMCid:PMC521976
30. Saadati H, Sheibani V, Esmaceli-Mahani S, Hajali V, Mazhari S. Prior regular exercise prevents synaptic plasticity impairment in sleep deprived female rats. *Brain Res Bull* 2014;108:100-5. doi:10.1016/j.brainresbull.2014.09.009 PMID:25264158
31. Salim S. Oxidative stress and the central nervous system. *J Pharmacol Exp Ther* 2017;360(1):201-5. doi:10.1124/jpet.116.237503 PMID:27754930 PMCid:PMC5193071
32. Silva RH, Abílio VC, Takatsu A, Kameda SR, Grassl C, Chehin AB, et al. Role of hippocampal oxidative stress in memory deficits induced by sleep deprivation in mice. *Neuropharmacology* 2004;46(6): 895-903. doi:10.1016/j.neuropharm.2003.11.032 PMID:15033349
33. Xue R, Wan Y, Sun X, Zhang X, Gao W, Wu W. Nicotinic mitigation of neuroinflammation and oxidative stress after chronic sleep deprivation. *Front Immunol* 2019;10:2546. doi:10.3389/fimmu.2019.02546 PMID:31736967 PMCid:PMC6828928
34. Alkadhi K, Zagaar M, Alhaider I, Salim S, Aleisa A. Neurobiological consequences of sleep deprivation. *Curr Neuropharmacol* 2013; 11(3): 231-49. doi:10.2174/1570159X11311030001 PMID:24179461 PMCid:PMC3648777
35. Banks S, Van Dongen H, Dinges D, editors. Effect of sleep dose on recovery sleep stage and slow wave energy dynamics following chronic sleep restriction. *Sleep*; 2010: Amer Acad Sleep Medicine 2010; 33: A10 doi:10.1093/sleep/33.8.1013 PMID:20815182 PMCid:PMC2910531
36. Olonode ET, Aderibigbe AO, Adeoluwa OA, Eduviere AT, Ben-Azu B. Morin hydrate mitigates rapid eye movement sleep deprivation-induced neurobehavioural impairments and loss of viable neurons in the hippocampus of mice. *Behav Brain Res* 2019; 356: 518-25. doi:10.1016/j.bbr.2017.12.024 PMID:29284109
37. Wei X-M, Yang W, Liu L-X, Qi W-X. Effects of L-arginine and N ω-nitro-L-arginine methylester on learning and memory and α7 nAChR expression in the prefrontal cortex and hippocampus of rats. *Neurosci Bull* 2013;29:303-10. doi:10.1007/s12264-013-1331-1 PMID:23575895 PMCid:PMC5561843
38. Dubey H, Gulati K, Ray A. Effects of Nitric Oxide (NO) modulators on cognitive function and brain oxidative stress in experimental model of Alzheimer's Disease in rats. *J Pharmacol Rep* 2017;2(126):2.
39. Huang Y-Y, Pittenger C, Kandel ER. A form of long-lasting, learning-related synaptic plasticity in the hippocampus induced by heterosynaptic low-frequency pairing. *PNAS* 2004; 101(3): 859-64. doi:10.1073/pnas.2237201100 PMID:14711997 PMCid:PMC321771



40. Austin SA, Santhanam AV, Hinton DJ, Choi DS, Katusic ZS. Endothelial nitric oxide deficiency promotes Alzheimer's disease pathology. *J Neurochem* 2013; 127(5): 691-700. doi:10.1111/jnc.12334 PMID:23745722 PMCID:PMC3825764
41. Krause MS, McClenaghan NH, Flatt PR, de Bittencourt PIH, Murphy C, Newsholme P. L-arginine is essential for pancreatic  $\beta$ -cell functional integrity, metabolism and defense from inflammatory challenge. *J Endocrinol* 2011;211(1):87-97. doi:10.1530/JOE-11-0236 PMID:21784771
42. Silva Jr E, Borges LdS, Mendes-da-Silva C, Hirabara SM, Lambertucci RH. L-Arginine supplementation improves rats' antioxidant system and exercise performance. *Free Radical Res* 2017; 51(3):281-93. doi:10.1080/10715762.2017.1301664 PMID:28277983
43. Yehuda S, Sredni B, Carasso RL, Kenigsbuch-Sredni D, Research C. REM sleep deprivation in rats results in inflammation and interleukin-17 elevation. *J Interferon Cytokine Res* 2009;29(7):393-8. doi:10.1089/jir.2008.0080 PMID:19450150
44. Zhu B, Dong Y, Xu Z, Gompf HS, Ward SA, Xue Z, et al. Sleep disturbance induces neuroinflammation and impairment of learning and memory. *Neurobiol Dis* 2012;48(3):348-55. doi:10.1016/j.nbd.2012.06.022 PMID:22776332 PMCID:PMC3461115
45. Anaigoudari A, Shafei MN, Soukhtanloo M, Sadeghnia HR, Reisi P, Nosratabadi R, et al. The effects of L-arginine on spatial memory and synaptic plasticity impairments induced by lipopolysaccharide. *Adv Biomed Res* 2015; 4.
46. Weyerbrock A, Walbridge S, Saavedra JE, Keefer LK, Oldfield EH. Differential effects of nitric oxide on blood-brain barrier integrity and cerebral blood flow in intracerebral C6 gliomas. *Neuro-oncology* 2011;13(2):203-11. doi:10.1093/neuonc/noj161 PMID:21041233 PMCID:PMC3064621
47. Goldsmith HS. Alzheimer's disease: a decreased cerebral blood flow to critical intraneuronal elements is the cause. *J Alzheimers Dis* 2022;85(4):1419-22. doi:10.3233/JAD-215479 PMID:34958043 PMCID:PMC8925103
48. Ogoh S, Tsukamoto H, Hirasawa A, Hasegawa H, Hirose N, Hashimoto T. The effect of changes in cerebral blood flow on cognitive function during exercise. *Physiol Rep* 2014;2(9):e12163. doi:10.14814/phy2.12163 PMID:25263210 PMCID:PMC4270220
49. Sauvet F, Florence G, Van Beers P, Drogou C, Lagrume C, Chaumes C, et al. Total sleep deprivation alters endothelial function in rats: a nonsympathetic mechanism. *Sleep Med* 2014;37(3):465-73. doi:10.5665/sleep.3476 PMID:24587568 PMCID:PMC3920311
50. Jiang J, Gan Z, Li Y, Zhao W, Li H, Zheng J-P, et al. REM sleep deprivation induces endothelial dysfunction and hypertension in middle-aged rats: roles of the eNOS/NO/cGMP pathway and supplementation with L-arginine. *PloS one* 2017; 12(8):e0182746. doi:10.1371/journal.pone.0182746 PMID:28809932 PMCID:PMC5557538

**How to Cite this Article:**

Bodagh M, Taati M. Effects of Nitric Oxide on spatial learning and memory deficit in Rapid Eye Movement (REM) sleep deprived rat. *Feyz Med Sci J.* 2023;27(4):416-24. doi:10.48307/FMSJ.2023.27.4.416