

ارزیابی رفتاری و بیوشیمیایی اثر نانو اکسید منیزیم بر تخریب حافظه القا شده با محرومیت از خواب در موش صحرائی نر

مرتضی زارعی ^{۱*} Ph.D. Student، لطف اله خواجه پور ^۱ Ph.D.، مهناز کسمتی ^۱ Ph.D.، حسین نجفزاده ^۲ Ph.D.

- ۱- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
 ۲- گروه فارماکولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

* پست الکترونیک نویسنده مسئول: mzaree503503@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۹/۱۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۷/۲۳

چکیده

هدف: در این مطالعه اثر نانو اکسید منیزیم بر یادگیری و حافظه و تغییرات بیوشیمیایی هیپوکمپ در موش‌های صحرائی محروم شده از خواب، مورد ارزیابی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه از موش‌های نر در گروه‌های کنترل، محرومیت از خواب و دریافت کننده‌های نانو اکسید منیزیم با دوزهای ۱ و ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، استفاده شد. جهت ارزیابی حافظه احترازی غیرفعال از دستگاه استپ ثرو استفاده شده است. جهت بررسی بیوشیمیایی از کیت آزمایشگاهی و بررسی قند خون از گلوکومتر استفاده شد.

نتایج: نتایج نشان داد که نانو اکسید منیزیم با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، باعث بهبود حافظه در موش‌ها می‌شود که به وسیله محرومیت از خواب دچار نقص حافظه شده بودند. علاوه بر تغییرات رفتاری فوق، مشاهده شد که محرومیت از خواب باعث کاهش سطح آمینواسید تاورین و افزایش قند خون و افزایش فعالیت آنزیم کولین استراز می‌شود و تاثیر معنی‌داری بر فاکتور رشد مشتق از مغز نداشت. با به‌کارگیری نانو اکسید منیزیم، میزان قند خون و فعالیت آنزیم کولین استراز، کاهش یافت ولی میزان آمینواسید تاورین تغییر نکرد.

نتیجه‌گیری: یافته‌ها نشان می‌دهند که نانو اکسید منیزیم علاوه بر اثرات رفتاری باعث تغییر در میزان فاکتورهای بیوشیمیایی موثر بر حافظه می‌شود. بنابراین برای یافتن نحوه اثر مثبت این ماده بر حافظه، لازم است اثر این ماده بر سایر فاکتورهای موثر بر حافظه، نیز مورد بررسی قرار گیرد.

واژگان کلیدی: نانو اکسید منیزیم، حافظه محرومیت از خواب

مقدمه

یادگیری فرآیندی است که طی آن اطلاعاتی درباره دنیای پیرامون کسب می‌کنیم و حافظه مکانیسمی برای کدبندی، ذخیره‌سازی و فراخوانی دوباره این اطلاعات است (۱). حافظه در واقع بازتاب و انعکاس تجربه‌ها در مغز است.

حافظه تحت تاثیر عوامل مختلفی است. یکی از این عوامل، خواب می‌باشد و کاهش میزان خواب می‌تواند باعث تخریب حافظه شود. خواب پدیده ایست که در مهره‌داران فقدانش با رفتارهای غیرعادی مرتبط است (۲) شرایط زندگی ماشینی و کاهش میزان خواب در افراد بزرگسال باعث آسیب رساندن به فرآیند حافظه شده است. ارتباط نزدیکی میان حافظه و خواب وجود دارد. خواب برای تثبیت حافظه حیاتی می‌باشد (۳) محرومیت از خواب باعث تخریب حافظه کوتاه مدت و بلند مدت می‌شود (۴). از طرف دیگر، منیزیم چهارمین کاتیون مهم بدن است که نقش‌های متعددی را در بدن برعهده دارد. از جمله در ارتباط با گیرنده‌های هورمونی، دریچه کانال کلسیمی، جریان یونی غشا، فعالیت‌های عصبی و آزادسازی نوروترانسمیترها نقش داشته و عمل اصلی آن در مغز، تعدیل بلوک وابسته به ولتاژ گیرنده‌های NMDA می‌باشد (۵، ۶). در انسان کمتر از یک درصد آن در سرم وجود دارد و عمده آن در استخوان و بافت‌های نرم وجود دارد (۷). آسیب‌های ناشی از ایسکمی در مغز می‌تواند به وسیله استفاده از آنتاگونیست‌های NMDA همچون کتامین و منیزیم کاهش یابد (۸). همچنین منیزیم نقش مهمی در آزاد سازی نوروترانسمیترها، قابلیت تحریک‌پذیری نورونی و انعطاف‌پذیری سیناپسی ایفا می‌کند (۹). عبدالله زاده و همکارانش (۱۰) نشان دادند که تجویز نانو اکسید منیزیم موجب بهبود حافظه دراز مدت می‌گردد و اثر قابل ملاحظه‌ای در جلوگیری از فراموشی ناشی از مورفین اعمال می‌نماید. سرقلی و همکاران (۱۱) نیز نشان دادند که نانو اکسید منیزیم در

دوزهای ۲/۵ و ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم، باعث بهبودی حافظه در مدل یادگیری اجتنابی غیرفعال تا یک هفته می‌گردد. نشان داده شده که اتصالات سیناپسی و Long-Term Potentiation (LTP) نقش مهمی در فرآیند حافظه دارند (۱۲). بنابراین هر فاکتور محیطی که میزان اتصالات را افزایش دهد باعث بهبود حافظه می‌شود. از میان فاکتورهای محیطی می‌توان از منیزیم نام برد که در درون مغز یکی از اعمال آن، تعدیل مسدود شدن وابسته به ولتاژ گیرنده NMDA می‌باشد که به نوبه خود، در انعطاف‌پذیری سیناپسی نقش دارد (۱۳). علاوه بر موارد ذکر شده، مطالعات نشان می‌دهند که محرومیت از خواب، فعالیت آنزیم کولین‌استراز که غیرفعال‌کننده استیل‌کولین در شکاف سیناپسی می‌باشد (۱۴) را در ساقه مغزی افزایش می‌دهد (۱۵). M.A.C. Bedito و همکارانش نیز در سال ۲۰۰۰ نشان دادند که محرومیت ۹۲ ساعته از خواب REM باعث افزایش فعالیت آنزیم کولین‌استراز در پل مغزی و مدولا می‌شود. نوپان و همکارانش با بررسی آناتومیکی و رنگ‌آمیزی در مغز موش‌های صحرایی که ۱۲۰ ساعت محرومیت از خواب داشتند، نشان دادند که در ناحیه پری اپتیک آن‌ها، مقدار فعالیت این آنزیم نسبت به گروه کنترل افزایش یافته است. Taurine نیز یکی از آمینواسیدهای درون‌زاد است که به‌طور وسیعی در بدن انسان از جمله پلاسما، قلب و بافت‌های عصبی دیده می‌شود. این آمینواسید دارای اثرات محافظت‌کنندگی در برابر اثرات سمیت تحریکی گلوتامات می‌باشد (۱۶). مشاهده شده که مکمل‌های Taurine در فرآیند تولید سیناپس جدید مفید بوده و پیشنهاد می‌کند که باعث افزایش تغییر پذیری سیناپسی و بهبود حافظه می‌شود (۱۷). مشخص شده که این آمینواسید اثرات حفاظتی را در بسیاری از حالات پاتولوژی همچون بیماری‌های آلزایمر و هانتینگتون اعمال می‌کند (۱۸، ۱۹). این آمینواسید جهت نمو طبیعی سیستم عصبی مورد نیاز می‌باشد (۲۰). اطلاعات زیادی در ارتباط با اثرات محافظت‌کنندگی آن

در برابر آسیب‌های سلولی در شرایط هیپوکسی و ایسکمی وجود دارد (۲۱). همچنین اطلاعات زیادی در ارتباط با اثرات محافظتی آن بر اعمال شناختی وجود دارد (۲۲). Wenig I نشان داد که (۲۳) Taurine می‌تواند اثرات تخریب حافظه ناشی از آلومینیوم را درمان کند. اکنون روشن شده است که بی‌خوابی باعث اختلال متابولیسمی از جمله دیابت و چاقی می‌گردد. مطالعات نشان می‌دهند که کم‌خوابی ممکن است باعث شود تا تحمل به گلوکز پایین بیاید و باعث افزایش قند خون شود. مشخص شده که هومئوستازی گلوکز در انسان، به‌عنوان فاکتور مهمی برای عملکرد سیستم عصبی عمل می‌نماید. نشان داده شده که افزایش و کاهش قند خون با بیماری‌های عصبی محیطی و مرکزی در ارتباط می‌باشد. همچنین نشان دادند که محرومیت از خواب تولید فاکتور رشد مشتق از مغز (BDNF) که با حافظه رابطه مستقیمی دارد (۲۴) را کاهش می‌دهد که علت آن را اثرات التهابی ناشی از محرومیت از خواب و همچنین اثرات کورتیکوسترون (که در هنگام محرومیت از خواب افزایش می‌یابد) بر بیان mRNA و پروتئین‌سازی می‌دانند. افزایش غلظت گلوکز مغز باعث تولید رادیکال‌های آزاد می‌شود که آن هم باعث نقص در تولید BDNF می‌گردد. BDNF نقش حیاتی در بقا نورون‌ها دارد که در رشد آن‌ها و تشکیل و عملکرد سیناپس‌ها بسیار مهم می‌باشد (۲۵). به‌طوری‌که بدون آن و دیگر فاکتورهای رشد مغزی، نورون‌ها از بین می‌روند. با توجه به اثرگذاری BDNF بر پلاستی سیتی و ارتباط بخش بین نورون‌ها و اثر تغییرات آن بر یادگیری و حافظه، BDNF نقش مهمی در حافظه و یادگیری دارد (۲۶). همچنین مشخص شده که BDNF در شرایط محرومیت از خواب در مغز و سرم کاهش می‌یابد (۲۴). بین میزان BDNF و حافظه رابطه مستقیمی وجود دارد. کاهش آن در سرم افراد دچار بیماری آلزایمر و در استرس اکسیداتیو و پس از محرومیت از خواب دیده شده است (۲۷). Alzoubi و همکارانش نیز نشان دادند که

محرومیت از خواب سطح BDNF را کاهش داده و حافظه را مختل می‌نماید (۲۸). هدف از تحقیق: به‌دلیل اثرات خواب بر حافظه، به‌بررسی اثر محرومیت از خواب بر حافظه و همزمان به‌بررسی میزان چند فاکتور مهم در حافظه یعنی قند خون، آمینواسید تاورین، فعالیت آنزیم کولین‌استراز و فاکتور رشد مشتق از مغز، در حالت محرومیت از خواب و در زمان به‌کارگیری نانواکسید منیزیم، پرداخته شد. در این مطالعه موش‌ها قبل از انجام آموزش، دوره ۷۲ ساعته محرومیت از خواب را گذرانده‌اند.

مواد و روش‌ها

حیوانات و مواد: پژوهش حاضر از نوع تجربی با طرح پیش‌آزمون (همراه با گروه کنترل) و به‌شیوه آزمایشگاهی انجام خواهد شد. در این پژوهش از موش صحرایی نر بالغ با وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم استفاده شده است. موازین اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی که مورد تایید کمیته اخلاق گروه زیست‌شناسی دانشگاه شهید چمران اهواز بود، هنگام کار با موش‌ها رعایت شد. موش‌ها به‌مدت ۷۲ ساعت از خواب متناقض، محروم شده‌اند و سپس مراحل سازگاری و آموزش انجام گرفته و پس از آن دارو دریافت کرده‌اند. داروی مورد استفاده، نانواکسید منیزیم (در سه دوز ۱، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بوده که به‌صورت درون‌صفاقی و یک‌بار درست بعد از آموزش تزریق شده است.

گروه‌بندی موش‌ها: در این مطالعه موش‌ها در گروه‌های شش‌تایی به‌شرح زیر قرار گرفته‌اند.

گروه ۱- گروه کنترل. این گروه از خواب محروم نشده‌اند. به‌عبارت دیگر چرخه خواب و بیداری عادی داشته‌اند.
گروه ۲- گروه محرومیت از خواب. این گروه به‌مدت ۷۲ ساعت از خواب متناقض محروم شده‌اند و دارویی دریافت نکرده‌اند

(MER) وارد می‌شود، محرومیت از خواب اعمال می‌شود، زیرا با از دست رفتن تنوس عضلانی موش با آب تماس پیدا کرده و باعث بیدار شدن آن می‌شود. در طول مطالعه، موش دسترسی به بطری‌های تمیز آب و مواد غذایی موجود بر بالای محفظه دارد. در پژوهش حاضر، محرومیت از خواب به مدت ۲۷ ساعت القا شد (۰۳).

ارزیابی بیوشیمیایی:

اندازه گیری گلوکز: در این تحقیق برای سنجش میزان قند خون از دستگاه گلوکومتر استفاده شده است. بعد از اعمال محرومیت از خواب با ایجاد زخم در ناحیه دم حیوان، یک قطره خون گرفته می‌شد و به وسیله گلوکومتر، قند خون اندازه‌گیری می‌شد.

تاورین: اندازه‌گیری تاورین به وسیله کیت آزمایشگاهی: کیت الایزا، آزمونی است که با استفاده از آنتی‌بادی‌ها و تغییر رنگ، ماده‌ی مورد نظر شناسایی می‌شود. در ارتباط با کیت تاورین (MBS744370 محصول شرکت Mybiosource) اساس سنجش، تکنیک ایمنی رقابتی آنزیم به کمک یک آنتی‌بادی ضد Taurine و یک کونژوگیت (ترکیب جفت) Taurine-HRP می‌باشد.

اندازه گیری میزان فعالیت آنزیم کولین استراز: برای سنجش میزان آنزیم کولین استراز، از روش المن که روشی سریع برای ارزیابی میزان فعالیت آنزیم می‌باشد، استفاده شده است (۳۱). در این روش از یک بافر (فسفات ۰/۱ مولار در PH برابر ۸) و استیل تیوکولین یا اس-بوتریل تیوکولین به عنوان سوبسترا، استفاده شده است.

اندازه‌گیری BDNF در این ارتباط، BDNF مربوط به هیپوکامپ را پس از هموژنیزه کردن بافت هیپوکامپ، با استفاده از کیت الایزا (CK-E30666 محصول East Bio pharm) اندازه‌گیری گردید. به طور کل، الایزا روش بیوشیمیایی است که با استفاده از یک آنزیم ایمونواسی فاز جامد (EIA) برای تشخیص حضور یک ماده، معمولا یک آنتی ژن، در یک نمونه مایع استفاده می‌گردد.

گروه ۳- گروه محروم شده از خواب که نانو اکسید منیزیم در دوز ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت درون صفاقی دریافت کرده‌اند.

گروه ۴- گروه محروم شده از خواب که نانو اکسید منیزیم در دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت درون صفاقی دریافت کرده‌اند.

گروه ۵- گروه محروم شده از خواب که نانو اکسید منیزیم در دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت درون صفاقی دریافت کرده‌اند.

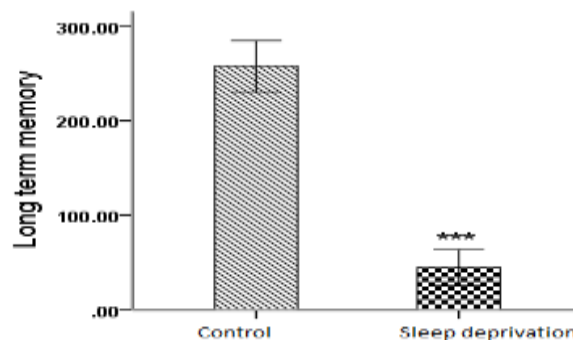
بررسی رفتاری: در این تحقیق، جهت ارزیابی حافظه احترازی غیر فعال از دستگاه Shuttle box استفاده شده است. این دستگاه متشکل از دو بخش روشن و تاریک می‌باشد. در این روش یادگیری، آزمایش‌ها در سه مرحله انجام می‌گیرد. ۱- مرحله اول سازگاری که در آن حیوان با دستگاه آشنا می‌شود. ۲- مرحله دوم آموزش که بعد از ۳۰ دقیقه حیوان را مجدداً به بخش روشن منتقل شده و پس از گذشت ده ثانیه، دریچه باز می‌شود. بلافاصله پس از ورود حیوان به بخش تاریک، دریچه بسته شده و شوک الکتریکی به شدت یک و نیم میلی‌آمپر به مدت سه ثانیه با فرکانس ۵۰ هرتز، به دست و پای حیوان داده می‌شود. ۳- مرحله سوم آزمون حافظه بلند مدت: ۲۴ ساعت پس از آموزش، زمان تاخیر ورود حیوان به بخش تاریک ثبت می‌گردد (۲۹).

محرومیت از خواب: جهت محرومیت از خواب از روش پلت فرم چندتایی برای القای محرومیت از خواب استفاده شد. این دستگاه (۹۵ سانتی‌متر × ۴۴ سانتی‌متر × ۴۴ سانتی‌متر) حاوی ۰۱ ستون (۰۱ سانتی‌متر ارتفاع، ۷ سانتی‌متر قطر، ۲ سانتی‌متر بالاتر از سطح آب واقع شده) است که در دو ردیف طراحی شده‌اند و ۰۱ سانتی‌متر از هم فاصله دارند (لبه به لبه). دستگاه اجازه حرکت موش از یک پلت فرم به پلت فرم دیگر را می‌دهد. حیوان بر روی پلت فرم کوچک قرار داده می‌شد (شکل ۵ و ۶). هنگامی که حیوان به خواب با حرکات سریع چشم

بررسی اثر محرومیت از خواب بر حافظه

مطابق شکل ۱، آنالیز آماری T-test نشان می‌دهد که محرومیت از خواب ۷۲ ساعته باعث کاهش حافظه طولانی مدت می‌شود. ($p < 0.001$; $t(10) = 6.47$) تفاوت معنی‌دار میان گروه کنترل و گروه محرومیت از خواب وجود دارد ($p < 0.001$).

آنالیز آماری در این تحقیق از نرم افزار spss استفاده شده است که در آن از آزمون T-test برای بررسی تفاوت بین گروه کنترل و گروه محروم شده از خواب استفاده شد و برای بررسی تفاوت بین گروه محروم شده از خواب و گروه‌هایی که دوزهای مختلفی از نانو اکسید منیزیم دریافت کرده بودن، از آنالیز ANOVA یک طرفه استفاده شده است.

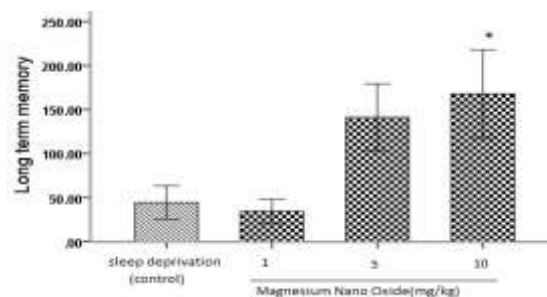
نتایج

شکل ۱: اثر محرومیت بر حافظه بلند مدت. محرومیت از خواب به صورت معنی‌داری ($p < 0.001$) باعث کاهش حافظه شده است. گروه کنترل، تحت بی‌خوابی قرار نگرفته‌اند اما گروه محروم از خواب، به مدت ۷۲ ساعت از خواب REM محروم شده‌اند.

همان‌طور که مشاهده می‌شود دوزهای ۱ و ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم، اثری بر حافظه تخریب شده، نداشته این در حالی است که دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آن می‌تواند باعث بهبود حافظه بلند مدت شود ($p < 0.05$; $f(3,32) = 4.30$).

بررسی اثر دوزهای مختلف نانو اکسید منیزیم بر**حافظه تخریب شده به وسیله محرومیت از خواب**

شکل ۲ آنالیز ANOVA یک طرفه را در ارتباط با اثر دوزهای مختلف نانو اکسید منیزیم بر حافظه تخریب شده به وسیله محرومیت از خواب را نشان می‌دهد و



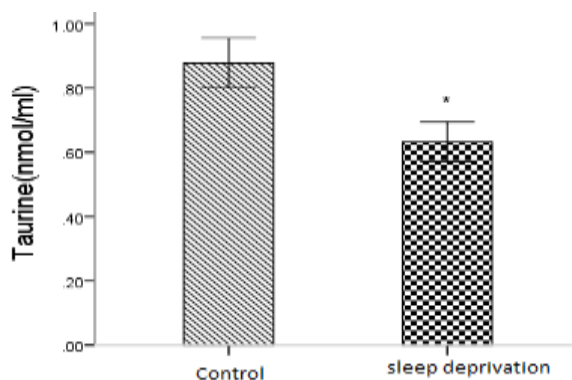
شکل ۲: بررسی اثر دوزهای مختلف نانو اکسید منیزیم بر حافظه تخریب شده به وسیله محرومیت از خواب. دوزهای ۱ و ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم، نانو اکسید منیزیم اثر معنی‌داری بر تخریب حافظه نداشته‌اند. اما دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، باعث شده تا حافظه بلند مدت نسبت به گروهی که تحت بی‌خوابی قرار گرفته و دارویی دریافت نکرده‌اند، بهبود یابد. در این‌جا علاوه بر گروه کنترل که به مدت ۷۲ ساعت از خواب REM محروم شده‌اند، بقیه گروه‌هایی هم که دارو دریافت کرده‌اند همگی به مدت ۷۲ ساعت از خواب REM محروم شده‌اند.

بررسی اثر محرومیت از خواب بر میزان آمینواسید

تاورین هیپوکمپ

در شکل ۳، آنالیز آماری T-test نشان می‌دهد که محرومیت از خواب ۷۲ ساعته باعث کاهش میزان

آمینواسید تاورین هیپوکمپ در گروه محروم شده از خواب در مقایسه با گروه کنترل شده است ($p < 0.05$).



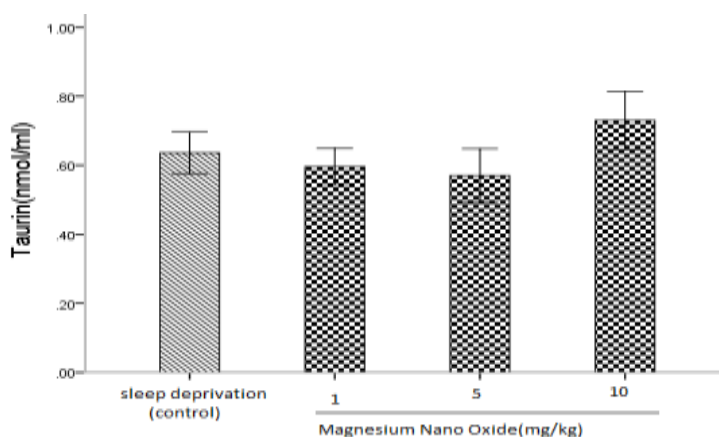
شکل ۳: اثر محرومیت از خواب بر روی آمینواسید تاورین موجود در هیپوکمپ را نمایش می‌دهد. میزان این آمینواسید در هیپوکمپ گروه محروم شده از خواب نسبت به گروه کنترل، دچار کاهش شده است ($p < 0.05$). گروه کنترل، تحت بی‌خوابی قرار نگرفته‌اند اما گروه محروم از خواب، به مدت ۷۲ ساعت از خواب REM محروم شده‌اند.

بررسی اثر دوزهای مختلف نانو اکسید منیزیم بر

میزان آمینواسید تاورین هیپوکمپ

شکل ۴ آنالیز آماری ANOVA یک‌طرفه میزان آمینواسید تاورین هیپوکمپ را بعد از اثر دوزهای مختلف نانو اکسید بر گروه محرومیت از خواب را نشان می‌دهد.

که نشان می‌دهد اختلاف معنی‌داری بین گروه محروم شده از خواب و گروه‌های محروم شده از خوابی که دوزهای مختلف نانو اکسید منیزیم را دریافت کرده‌اند، دیده نمی‌شود.

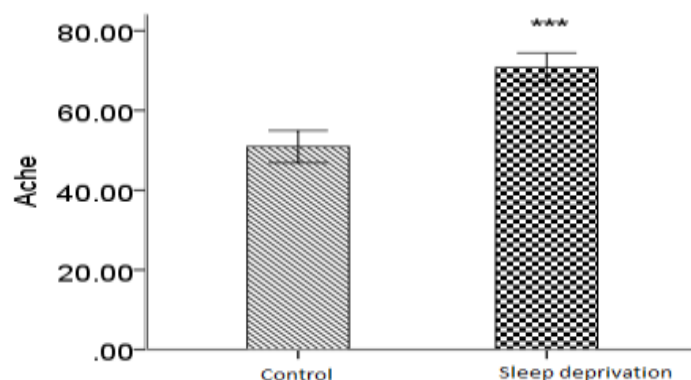


شکل ۴: اثر دوزهای مختلف نانو اکسید منیزیم بر آمینواسید تاورین در هیپوکمپ را نشان می‌دهد. این نمودار نشان می‌دهد که استفاده از نانو اکسید منیزیم اثرات معنی‌داری بر میزان این آمینواسید ندارند. همه گروه‌ها به مدت ۷۲ ساعت از خواب REM محروم شده‌اند. اما گروه کنترل دارویی دریافت نکرده است ولی بقیه گروه‌ها دوزهای مختلفی از نانو اکسید منیزیم را دریافت کرده‌اند.

بررسی اثر محرومیت از خواب بر میزان فعالیت آنزیم کولین استراز در هیپوکمپ

شکل ۵، آنالیز آماری T-test رانسان می دهد که همان طور که دیده می شود، محرومیت از خواب ۷۲ ساعته

باعث افزایش فعالیت این آنزیم در هیپوکمپ در گروه محروم شده از خواب در مقایسه با گروه کنترل شده است ($p < 0.001$).

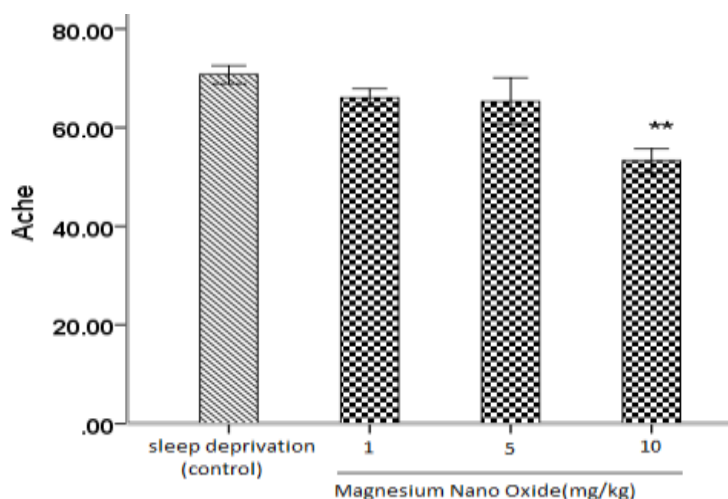


شکل ۵: اثرات بی خوابی بر فعالیت آنزیم کولین استراز (Ache) را نشان می دهد که نشان می دهد گروه محروم شده از خواب دچار افزایش چشم گیری در فعالیت این آنزیم نسبت گروه کنترل، شده است. گروه محروم از خواب، به مدت ۷۲ ساعت از خواب REM محروم شده اند. این در حالی است که گروه کنترل چرخه خواب-بیداری عادی داشته اند.

بررسی اثر دوزهای مختلف نانو اکسید منیزیم بر میزان فعالیت آنزیم کولین استراز هیپوکمپ

همان طوری که شکل ۶ نشان می دهد به کارگیری دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم نانو اکسید منیزیم باعث کاهش

فعالیت آنزیم کولین استراز شده است ($p < 0.001$):
 $(f(3,14) = 8.42)$

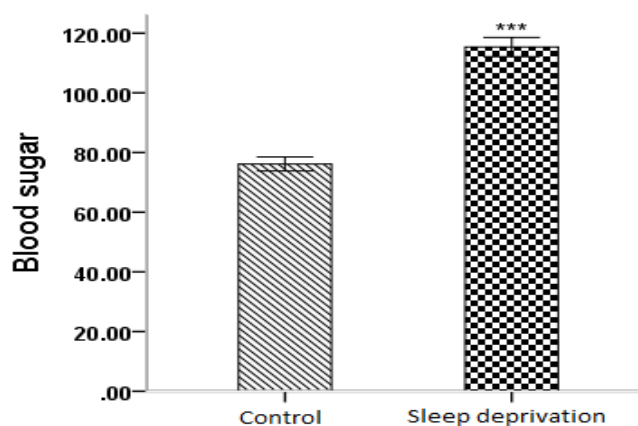


شکل ۶: اثر دوزهای مختلف نانو اکسید منیزیم بر فعالیت آنزیم کولین استراز (Ache) را نشان می دهد که البته فقط دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم توانسته است. باعث کاهش مجدد ($p < 0.001$) آنزیم کولین استراز شود. در این جا علاوه بر گروه کنترل که به مدت ۷۲ ساعت از خواب REM محروم شده اند، بقیه گروه هایی هم که دارو دریافت کرده اند همگی به مدت ۷۲ ساعت از خواب REM محروم شده اند.

بررسی اثر محرومیت از خواب بر میزان قند خون

در شکل ۷ آنالیز T-test اختلاف معنی‌دار میان گروه محروم شده از خواب و گروه کنترل از نظر میزان قند

خون را نشان می‌دهد و همان‌طور که مشاهده می‌شود، محرومیت ۷۲ ساعته سبب افزایش قند خون ($p < 0.001$) شده است.

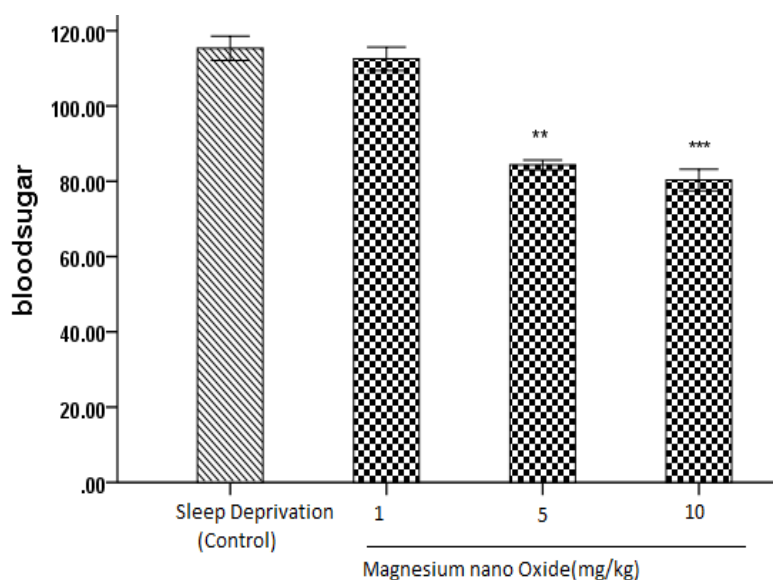


شکل ۷: اثر محرومیت از خواب بر قند خون را نشان می‌دهد. همان‌طور که نشان داده شده است، محرومیت از خواب باعث افزایش معنی‌داری در قند خون شده است ($p < 0.001$). گروه محروم از خواب، به مدت ۷۲ ساعت از خواب REM محروم شده‌اند. این در حالی است که گروه کنترل چرخه خواب-بیداری عادی داشته‌اند.

بررسی اثر دوزهای مختلف نانو اکسید منیزیم بر میزان قند خون

شکل ۸ اثر دوزهای مختلف نانو اکسید منیزیم را بر میزان قند خون موش‌های محروم شده از خواب را نمایش

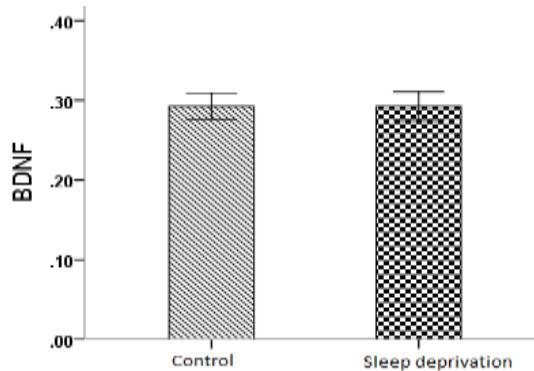
می‌دهد. همان‌طور که دیده می‌شود دوزهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانو اکسید منیزیم باعث کاهش معنی‌داری در میزان قند خون موش‌های محروم شده از خواب شده‌اند ($p < 0.001$).



شکل ۸: اثر دوزهای مختلف نانو اکسید منیزیم بر روی قند خون را نشان می‌دهد: در این جا دوز ۱ نانو اکسید منیزیم اثر معنی‌داری بر قند خون نداشته. اما دوز ۵ با $p < 0.001$ و دوز ۱۰ با $p < 0.001$ باعث کاهش معنی‌داری در میزان قند خون می‌شود $p < 0.001$ همه گروه‌ها به مدت ۲۷ ساعت از خواب MER محروم شده‌اند. اما گروه کنترل دارویی دریافت نکرده است ولی بقیه گروه‌ها دوزهای مختلفی از نانو اکسید منیزیم را دریافت کرده‌اند.

بررسی اثر محرومیت از خواب بر میزان فاکتور رشد مشتق شده از مغز، (BDNF) در هیپوکمپ

شکل ۹ نشان می‌دهد که محرومیت از خواب اثر معنی‌داری بر میزان این فاکتور رشد در هیپوکمپ نمی‌گذارد.

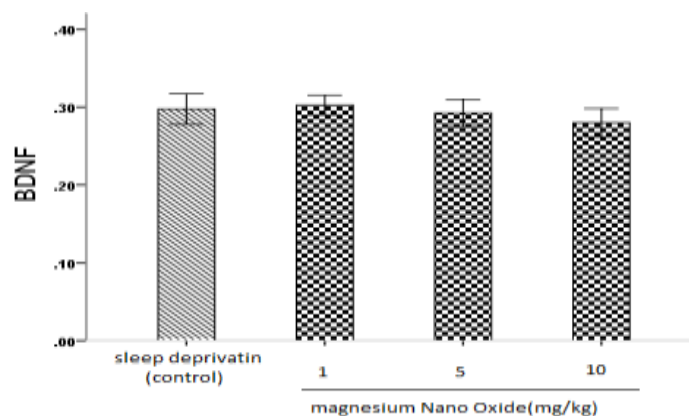


شکل ۹: اثر محرومیت از خواب بر فاکتور رشد مشتق شده از مغز (BDNF) را نشان می‌دهد که مشخص می‌سازد محرومیت ۷۲ ساعته از خواب متناقض اثر معنی‌داری بر این فاکتور نداشته است. گروه کنترل به اندازه کافی در طول شبانه روز خوابیده اند اما گروه محروم از خواب به مدت ۷۲ ساعت بیدار مانده‌اند.

بررسی اثر دوزهای مختلف نانو اکسید منیزیم بر میزان فاکتور رشد مشتق شده از مغز، (BDNF) هیپوکمپ)

دوزهای مختلف نانو اکسید منیزیم را دریافت کرده‌اند را نشان می‌دهد که اثر معنی‌داری بر میزان این فاکتور نداشته‌اند.

شکل ۱۰ آنالیز ANOVA یک‌طرفه را میان گروه محروم شده از خواب و گروه‌های محروم شده از خوابی که



شکل ۱۰: اثر دوزهای مختلف نانو اکسید منیزیم را بر فاکتور رشد مشتق شده از مغز (BDNF) در هیپوکمپ را نشان می‌دهد که اثر معنی‌داری را نشان نمی‌دهند. همه گروه‌ها به مدت ۷۲ ساعت از خواب REM محروم شده‌اند. اما گروه کنترل دارویی دریافت نکرده است ولی بقیه گروه‌ها دوزهای مختلفی از نانو اکسید منیزیم را دریافت کرده‌اند.

بررسی تعدادی از فاکتورهای موثر بر حافظه، مشخص گردید که محرومیت از خواب باعث تغییراتی در میزان این فاکتورها در درون خون و هیپوکمپ شده است. از طرفی با به‌کارگیری نانو اکسید منیزیم، نه تنها از نظر

بحث

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که محرومیت از خواب به مدت ۷۲ ساعت باعث تخریب حافظه شده و با

رفتاری، حافظه دچار بازگشت نسبی شد بلکه فاکتورهای مورد نظر نیز تغییرات مثبتی در جهت بهبود حافظه پیدا کردند. منیزیم به طور گسترده ای در درون بدن یافت می شود و عمل کردهای مختلفی دارا می باشد. پتانسیل بلند مدت (LTP) ارتباط بسیار مهمی با فرایند حافظه دارد و افزایش آن باعث تقویت حافظه (۳۲) و کاهش آن سبب نقص حافظه می شود (۳۳) مطالعات قبلی نشان داده اند که افزایش منیزیم خارج سلولی باعث افزایش انعطاف پذیری سیناپسی و افزایش LTP در شبکه نورونی هیپوکمپ در شرایط *In Vitro* می شود (۳۴) در مطالعه اخیر هم مشاهده کردیم که حافظه تخریب شده به وسیله محرومیت از خواب با استفاده از نانو اکسید منیزیم، بازگردانده شد. در این مطالعه مشاهده کردیم که محرومیت از خواب باعث افزایش قند خون می شود که با مطالعات قبلی مطابقت دارد که بیان می کنند بین محرومیت از خواب و بروز مقاومت به انسولین و همین طور بروز دیابت ارتباط وجود دارد در واقع بی خوابی باعث اختلال متابولیکی از جمله دیابت و چاقی می گردد (۲۳). مطالعات نشان می دهند که کم خوابی ممکن است باعث شود تا تحمل به گلوکز پایین بیاید و باعث افزایش قند خون شود (۳۵). مشخص شده که همئوستازی گلوکز در انسان، به عنوان فاکتور مهمی برای عملکرد سیستم عصبی عمل می نماید. روشن شده که افزایش و کاهش قند خون با بیماری های عصبی محیطی و مرکزی در ارتباط می باشد و مشاهده شده که استفاده از نانو اکسید منیزیم باعث کاهش قند خون می شود (۳۶) بنابراین می توان یکی از علت های اثر مثبت نانو اکسید منیزیم بر بازگشت حافظه، همین کاهش دادن قند خون باشد. منیزیم کوفاکتور بیش از ۳۰۰ آنزیم می باشد که برخی از آنها در ارتباط با متابولیسم گلوکز می باشند. از جمله در اکسیداسیون گلوکز و انتقال گلوکز و همچنین آزادسازی انسولین می باشند (۳۷). از طرفی مطالعات قبلی نشان از اثرات مثبت آمینو اسید تاورین بر روی حافظه دارند و در این

مطالعه مشخص گردید که محرومیت از خواب باعث کاهش سطح این آمینو اسید در درون هیپوکمپ می شود. به این صورت علت دیگر اثرات تخریبی حافظه به وسیله محرومیت از خواب را می توان به کاهش سطح این فاکتور مهم دانست. نکته مهم دیگر اثر محرومیت از خواب بر فعالیت آنزیم کولین استراز می باشد که باعث افزایش فعالیت این آنزیم شده است. با توجه به اینکه این آنزیم تجزیه کننده استیل کولین است و افزایش فعالیت آن، باعث کاهش سطح استیل کولین می شود و از طرفی استیل کولین نقش مهمی در حافظه دارد، پس می توان نتیجه گیری کرد که دلیل دیگر تخریب حافظه به وسیله محرومیت از خواب، افزایش فعالیت این آنزیم باشد. جالب این که نانو اکسید منیزیم توانست سطح فعالیت این آنزیم را کاهش دهد و به این صورت باعث بهبود حافظه گردید.

نتیجه گیری

محرومیت از خواب به مدت ۲۷ ساعت باعث تخریب حافظه می شود و به کارگیری نانو اکسید منیزیم باعث بازگرداندن حافظه تخریب شده به وسیله محرومیت از خواب می شود و علاوه بر آن باعث تغییرات بیوشیمیایی در جهت بهبود حافظه می شود. به طوری که دوز ۰۱ میلی گرم بر کیلوگرم آن سبب کاهش قند خون و کاهش سطح فعالیت آنزیم کولین استراز شده که همین تغییرات به شکلی باعث بهبود حافظه تخریب شده به وسیله محرومیت از خواب می شود.

تشکر و قدردانی

این تحقیق در آزمایشگاه دانشکده های علوم و دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز انجام گرفته است و بدین وسیله از کلیه عزیزانی که ما را در انجام آن یاری کرده اند به خصوص جناب آقای دکتر شهرپاری که آزمایشگاه بیوشیمی را در اختیار ما قرار دادند نهایت تشکر و قدردانی را داریم.

10. Abdolazadeh-Dashty M, Kesmati M, Khaje-poor L, Najafzadeh Varzi H. The preventative role of mgo nanoparticles in amnesia induced by morphine in mouse. *Iran Vet J*. 2014; 10(3): 55-64.
11. Barnes CA. Memory deficits associated with senescence: a neurophysiological and behavioral study in the rat. *J Comp Physiol Psychol*. 1979; 93(1): 74-104.
12. Morris RG, Anderson E, Lynch GS, Baudry M. Selective impairment of learning and blockade of long-term potentiation by an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, AP5. *Nature*. 1986; 319: 774-776.
13. Nowak L, Bregestovski P, Ascher P, Herbet A, et al. Magnesium gates glutamate-activated channels in mouse central neurons. *Nature*. 1984; 307: 462-465.
14. Brimijoin S. Molecular forms of acetyl cholinesterase in brain, nerve and Muscle: Nature, localization and dynamics. *Prog Neurobiolo*. 1983; 21(4): 291-322.
15. Thakkar M, Mallick BN. Effect of REM sleep deprivation on rat brain acetylcholine esterase. *Pharmacol Biochem Behav*. 1991; 39(1): 211-214.
16. Leon R, Wu H, Jin Y, Wel J, et al. Protective function of Taurine in glutamate-induced apoptosis in cultured neurons. *J neurosci Res*. 2009; 87(5): 1185-119.
17. Lu X-Y, Shivraj MC, Marcy G, Ryu JR, et al. Taurine induces proliferation of neural stem Cells and Synapse Development in the developing Mouse Brain. *plos ONE*. 2012; 7(8): e42935.
18. Fordahi Sc, Anderson JG, Cooney PT, Weaver TL, Manganese exposure inhibits the clearance of extracellular GABA and influences Taurine homeostasis in the striatum of developing rats. *neurotoxicology*. 2010; 31(6): 639-646.
- منابع
1. Kandel E, Schwartz Jh, Jessell Tm. Principles of Neural Science. Edition F, editor: McGraw-Hill; 2000.
2. Boykin C J. Physiological and Biochemical Consequences of Sleep Deprivation. Digital Archive of Research .scholarship and creative Work: University Honors program Theses. 2014.
3. Born J, Rasch B, Gains Sleep to remember. *Neuroscientist*. 2006. 12(5): 410-24
4. Chee MW, Chuah LY. Functional neuroimaging insights into how sleep and sleep deprivation affect memory and cognition. *curropin neural*. 2008; 21: 417-423.
5. Altura BM. Importance of Mg in Physiology and Medicine and the need for ion selective electrodes. *scand J clin lab invest*. 1994; 217: 5-9.
6. Iseri LT, French JH. Magnesium: Natures' physiological calcium blocker. *Am Heart J*. 1984; 108(1): 188-94.
7. Elin RJ. Magnesium: The fifth but forgotten electrolyte. *Am J Clin Patol* 1994; 102: 616-22
8. Hoffman DJ, Marro PJ, McGowan, Mishra OP et al. Protective effect of Mgso4 infusion on NMDA receptor binding charastrindic during cerebral cortical hypoxia in the newborn piglet. *Braine res*. 1994; 644(1):144-9.
9. Slutsky I, Abu Maria N, Wu L-J, Huang C, et al. Enhancement of learning and memory by elevating brain magnesium. *neuron*. 2010;65(2): 165-77.
19. Wright CE, Tallan Hh, Lin Yy: Taurine :Biological Updat. *Annu Rev Biochem* 1986; 55(1): 427-453.
20. Neuringer M, Sturman J. Visual acuity loss in rhesus monkey infant fed a Taurine

- free human infant formula. *J neurosci res* 1987; 18(4): 597-601.
21. Saransaari P, Ojai SS. Enhanced Taurine release in cell-damaging conditions in the developing and ageing mouse hippocampus. *Neuro sci.* 1997; 79(3): 847-54.
22. Dawson R Jr, Pellemounter MA, Cullen MJ, Gollub M, et al. An age - related decline in striatal Taurine is correlated with a loss of dopamine markers. *Brain Res Bull.* 1999; 48 (3): 319-24.
- 23-Bass J, Turek FW. Sleepless in America: A pathway to obesity and the metabolic syndrome. *am intern med.* 2005; 165(1): 15-16.
24. Torabi-Nami M, Nasehi M, Razavi S, Zarrindast R M .Aversive memory ,Anxiety -related behaviors and serum Neurochemical levels in a rat model of laboratory sleep loss. *Shiraz E-Medical Journal.* 2014;15(3):1-10.
25. Blurton-Jonesa M, Kitazawaa M, Martinez-Coriaa H, Castelloa NA, et al. Neural stem cells improve cognitive via BDNF in atransgenic model of Alzheimer disease *PNASA.* 2009; (32a): 13594-13599.
26. Kodl ChT, Seaquist ER. Cognitive Dysfunction and Diabetes Mellitus. *Endocr Rev.* 2008; 29(4): 494-511.
27. Saadati H, Sheibani V, Esmaeili-mahani S, Darvishzadeh-Mahani F, et al. prior regular exercise reverse the decreased effects of sleep deprivation brain-derived neurotrophic factor levels in the hippocampus of ovariectomized female rat. *regulatory peptides.* 2014: 194-195:11-15.
28. Alzoubi KH, Khabour O, Rashid BA, Damaj IM, et al. The neuroprotective effect of vitamin E on chronic sleep deprivation induced memory impairment: the role of oxidative stress. *Behav Brain Res.* 2012;226(1):205-10.
29. Azami NS, Jahanshahi M, Babapour V. The role of CA1 adrenoceptor on scopolamine induced memory impairment in male rats. *Physiol Pharmacol.* 2010; 14(1): 66-77
30. Saadati H, Sheibani V, Esmaeili-Mahani S, Darvishzadeh-Mahani F, et al. Prior regular exercise reverses the decreased effects of sleep deprivation on brain-derived neurotrophic factor levels in the hippocampus of ovariectomized female rats. *Regul Pept.* 2014; 194-195: 11-5.
31. Ellman GL, Courtney KD, Andres J, Feather-Stone RM. A new and rapid colorimetric determination of Acetylcholinstras activity. *Biochim pharmacol.* 1961; 7: 88-95.
32. Lee YS, Silva AJ. The molecular and cellular biology of Enhanced cognition. *Nat Rev Neurosci.* 2009; 10(2): 126-140.
33. Martin SJ, Grim wood PD, Morris R.G. Synaptic plasticity and Memory: an evaluation of the hypothesis. *Annu Rev Neurosci.* 2000; 23: 649-711.
34. Slutsky I, Sadeghpour S, Li B, Liu G. Enhancement of synaptic Plasticity through chronically reduced Ca²⁺ flux during uncorrelated activity. *Neuron.* 2004; 44(5): 835-849.
35. Chaput JP, Disperse JP, Bouchard C, Tremblay A. Association of sleep duration with type 2 diabetes and impaired glucose tolerance. *Diabetologia.* 2007; 50(11): 2298-304.
36. Naghsh N, Kazemi SH. Effect of nano-magnesium oxide on glucose concentration. *Iran J Pharm.* 2014; 10(3): 63- 68.
37. Olatunji LA, Soladoye AO. Increased magnesium intake prevents hyperlipidemia

and insulin resistance and reduces lipid peroxidation in fructose-fed rats. Pathophysiology. 2007; 14(1): 11-15.

Behavioral and biochemical evaluation of the effect of magnesium Nano oxide on memory impaired by paradoxical sleep deprivation in male rats

Zarei M, Ph.D.Student.^{1*}, Khajehpour LA, Ph.D.¹, Kesmati M, Ph.D.¹, Najafzadeh H, Ph.D.²

1. Department of Biology, Faculty of Science, Shahid chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
2. Department of pharmacology, Faculty of Veterinary medicine, Shahid chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

* Email corresponding author: mzaree503503@gmail.com

Received: 15 Oct. 2019

Accepted: 3 Dec. 2019

Abstract

Aim: The aim of the current study was to evaluate the effect of magnesium Nano Oxide on learning and memory and biochemical changes in the hippocampus of sleep-deprived rats.

Material and Methods: In this study, male rats were used in control groups whereas others used rats were sleep deprived and the rats receiving Magnesium Nano Oxide with doses of 1, 5, and 10 mg/kg. Step-through apparatus was used to evaluate passive avoidance memory. Laboratory kit and glucometer were used for biochemical evaluation.

Results: The results showed that the magnesium Nano oxide in 10 mg/kg/rat can result in increasing efficiency of memory in male rats that experienced memory impaired resulted from sleep deprivation. In addition to afore-mentioned behavioral changes, the investigator found that sleep deprivation decreases the level of Taurine Amino Acid. However, it can increase the blood sugar and cholinesterase enzyme activity. In addition, it didn't have significant effect on Brain-derived Neurotrophic factor. Upon application of Magnesium Nano oxide, the amount of blood sugar and collinstrase enzyme activity lowered, but the amount of Taurine Amino Acid remained unchanged.

Conclusion: The findings show that in addition to behavioral effects, magnesium Nano oxide causes a change in the amount of biochemical factors affecting memory. That needs to be further investigated.

Keywords: Magnesium Nano Oxide, Memory, Sleep Deprivation