

نقش آناندامید در تعدیل اثرات محرومیت مزمن از خواب بر حافظه، امواج مغزی و نوروهای هیپوکامپ در موش بزرگ آزمایشگاهی نر

رفیعه بلالی^{۱*}، یعقوب فرهود، علیرضا سرکاکلی، سید علی مرد^۱، سید اسماعیل خوشنام^۲، کوثر باورصاد^۱

۱. گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران.

۲. مرکز تحقیقات فیزیولوژی خلیج فارس، پژوهشکده علوم پایه پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۶/۱۷

تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۰۶/۳۱

چکیده

مقدمه: محرومیت از خواب با تغییر عملکرد سیستم اندوکannabinoid باعث اختلال در عملکرد حافظه می‌شود. در مطالعه حاضر، اثرات تجویز اندوکannabinoid آناندامید^۱ بر حافظه و یادگیری، امواج تتا و بتای قشری و حفاظت نورونی در هیپوکامپ در مدل محرومیت از خواب مزمن^۲ در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی بررسی گردید.

روش: در این مطالعه موش‌های بزرگ آزمایشگاهی نر بالغ نژاد ویستار (۲۰۰-۲۵۰ گرم) به طور تصادفی به سه گروه: کنترل + حامل دارو (کنترل)، SD + حامل دارو (SD) و AEA 20 mg/kg+ SD (SD + A) تقسیم شدند. برای القای SD، موش‌ها روزانه به مدت ۱۸ ساعت (۷ صبح تا ۱ بامداد) به مدت ۲۱ روز در یک دستگاه محرومیت از خواب نگهداری شدند. توان الکتریکی امواج تتا و بتا در EEG قشر مغز بررسی شد و آزمون‌های حافظه فضایی درون ماز آبی موریس، حافظه اجتنابی غیرفعال، برای ارزیابی یادگیری و حافظه مورد استفاده قرار گرفت.

یافته‌ها: یافته‌های الکتروفیزیولوژیک نشان داد که محرومیت از خواب باعث افزایش معنادار توان الکتریکی امواج تتا و بتا در لوب گیجگاهی ($p < 0.05$) مغز شد که با اختلالات شناختی مرتبط است. تجویز AEA توانست این افزایش توان را به طور معناداری در لوب‌های پاریتال ($p < 0.01$)، گیجگاهی ($p < 0.05$) و پس‌سری ($p < 0.05$) کاهش دهد.

نتیجه‌گیری: در مجموع، اگرچه AEA توانست الگوی غیرطبیعی امواج مغزی را تعدیل کند، اما در دوز و پروتکل استفاده شده در این مطالعه، نتوانست نقش محافظتی قابل‌ملاحظه‌ای در بهبود نقایص شناختی و مرگ نورونی ناشی از محرومیت مزمن از خواب ایفا کند. به نظر می‌رسد اثرات AEA وابسته به دوز است و ممکن است در سطوح مختلف، نتایج متضادی داشته باشد.

کلیدواژه: محرومیت از خواب، آناندامید (AEA)، حافظه و یادگیری، الکتروانسفالوگرافی (EEG).

*نویسنده مسئول: رفیعه بلالی، ایمیل: belalirafie@gmail.com

ارجاع: بلالی، رفیعه، فرهود، یعقوب، سرکاکلی، علیرضا، مرد، سید علی، خوشنام، سید اسماعیل، باورصاد، کوثر. نقش آناندامید در تعدیل اثرات محرومیت مزمن از خواب بر حافظه، امواج مغزی و نوروهای هیپوکامپ در موش بزرگ آزمایشگاهی نر. مجله دانشکده علوم پزشکی ساوه، ۱۴۰۴؛ (۲): 231933. e231933.

doi: 10.22034/jsavchums.2025.545928.1057

مقدمه

گسترده در سراسر مغز و بدن توزیع شده‌اند (۱۰). تراکم بالایی از گیرنده‌ی CB1 در هیپوکامپ گزارش شده است که توسط نوروهای پیش سیناپسی به‌ویژه در سیناپس‌های گابارژیک بیان می‌شود و به‌طور منفی انتقال عصبی مهاری را کنترل می‌کنند و در نتیجه انعطاف‌پذیری سیناپسی و فرآیندهای شناختی را تعدیل می‌کنند (۱۱). تغییرات بیان CB1R و سایر عناصر سیستم اندوکانابینوئید در بیماری آلزایمر مشاهده شده است. آناندامید (AEA)^۲ اولین لیگاند شناخته شده برای گیرنده‌های CBRS است و به‌عنوان یک آگونیست درون‌زا، یعنی اندوکانابینوئید، عمل می‌کند (۱۲). AEA خواب REM^۳ و هم خواب NREM^۴ را تقویت می‌کند (۱۳). مانند سایر کانابینوئیدها اثرات متفاوتی از AEA بر حافظه و شناخت گزارش شده است (۱۴). نشان داده شد که کانابینوئیدها و آگونیست‌های گیرنده CB1 عملکرد حافظه را با تأثیر بر تثبیت حافظه تعدیل می‌کنند. یک بررسی پیش بالینی نشان داد که تزریق URB597، یک مهارکننده آنزیم اسید چرب آمید هیدرولاز (FAAH)^۵، به‌طور انتخابی سطوح AEA را در کمپلکس قاعده جانبی آمیگدال (BLA)^۶، هیپوکامپ و قشر پره فرونتال میانی (mPFC)^۷ افزایش می‌دهد و در نتیجه حافظه را تقویت می‌کند، که نقش حیاتی AEA آزاد شده درون‌زا را در تثبیت حافظه نشان می‌دهد (۱۵). در مدل‌های محرومیت مزمن خواب در موش‌ها، تجویز AEA سبب تعدیل بیان گیرنده CB1 و کاهش نشانگرهای التهاب عصبی مانند اینترلوکین-۶ (IL-6) و فاکتور نکروز توموری آلفا (TNF- α) می‌گردد که می‌تواند برخی از نقص‌های عصبی رفتاری ناشی از محرومیت مزمن خواب را کاهش دهد (۱۶).

AEA با تنظیم نوروزنز، فرآیندهای شناختی و التهاب نورونی در میان‌سال بر پیشرفت بیماری آلزایمر تأثیر می‌گذارد و

کمبود خواب و اختلالات مربوط به مکانیسم خواب‌بیداری از شایع‌ترین مشکلات جهان کنونی است (۱). آمارها نشان می‌دهد ۷۰.۶٪ از دانشجویان دانشگاه‌های ایالات متحده کمتر از ۷ ساعت در طول روز می‌خوابند (۲). همچنین ۵۶٪ از دانشجویان دانشگاه‌های ایران دچار کمبود خواب هستند (۳). افزایش استفاده از اینترنت و رسانه‌های اجتماعی، بهداشت خواب نامناسب، مصرف الکل و نوشیدنی‌های کافئین‌دار قبل از خواب، تعداد امتحانات و پیچیدگی برنامه درسی، همگی از متغیرهایی هستند که در کمبود خواب نقش دارند (۴). شواهد تجربی فراوانی وجود دارد که اثبات می‌کند محرومیت از خواب باعث اختلال در احساسات، یادگیری و حافظه می‌شود (۵، ۶). هیپوکامپ یکی از نواحی مغز است که مسئول فعالیت‌های عصبی عالی‌تر مانند یکپارچگی عاطفی، شناخت و حافظه است و همچنین نقش مهمی در جهت‌یابی فضایی و تثبیت اطلاعات از حافظه کوتاه‌مدت به بلندمدت دارد. رفتارهای شناختی که به هیپوکامپ بستگی دارند به‌طور ویژه‌ای به محرومیت از خواب حساس هستند (۷، ۸). محرومیت از خواب طولانی‌مدت با مهار تکثیر سلول‌های هیپوکامپ، کاهش نوروزنز و بقای سلولی، به‌نوبه خود منجر به زوال و اختلال در عملکرد عصبی مانند شناخت و حافظه می‌گردد (۸). علاوه بر این محرومیت از خواب می‌تواند متاپلاستیسیته هیپوکامپ را مختل کند (۵). در مطالعات پیشین، نقش حیاتی سیستم کانابینوئیدی و گیرنده‌های آن (CBRs)^۱ در فرآیندهای حافظه به تفصیل شرح داده شده است (۹، ۱۰). سیستم کانابینوئیدی شامل دو زیرگروه قابل توجه از گیرنده‌های جفت‌شده با پروتئین G، یعنی CB1 و CB2 است. نقش اندوکانابینوئیدها بر فرآیندهای شناختی عمدتاً بر گیرنده‌های CB1 متمرکز شده است که به طور

¹ Cannabinoid Receptors

² Anandamide

³ Rapid Eye Movement

⁴ Non-rapid eye movement sleep

⁵ Fatty acid amide hydrolase

⁶ Basolateral amygdala

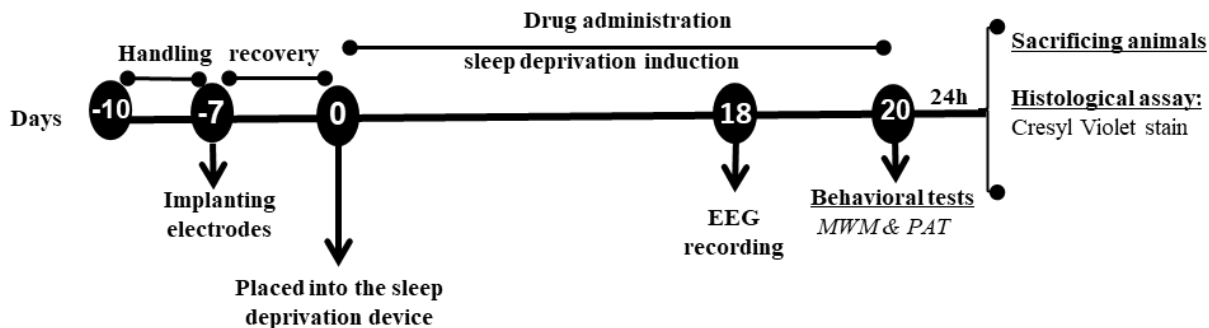
⁷ medial Prefrontal Cortex

مطالعه، تغییرات در توان الکتریکی امواج تتا و بتا در قشر مغز مورد بررسی قرار گرفت.

روش حیوانات

در این مطالعه از ۴۲ سر موش‌های بزرگ آزمایشگاهی بالغ نر (Rat)، نژاد ویستار با محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم استفاده شد. این حیوانات از مرکز تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز تهیه شده بودند. در مدت آزمایش، موش‌ها در شرایط نوری ۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی، دما و رطوبت کنترل شده (23 + 2 °C) و قفس‌های پلاستیکی مخصوص با دسترسی کامل به آب و غذا نگهداری شدند. علاوه بر این، آزمایش‌ها در مرحله نور (بین ساعت ۷ صبح تا ۷ بعدازظهر) انجام شد. نحوه‌ی انجام پروتکل مطالعه در شکل ۱ قابل مشاهده است.

مشخص شده است که سطوح کاهش یافته AEA در مدل‌های حیوانی و بیماران مبتلا به آلزایمر، با نقایص شناختی مرتبط است (۱۷). بررسی ثبت‌های الکتروفیزیولوژی نیز نشان می‌دهد که محرومیت از خواب، قدرت نسبی امواج تتا (۴-۸ هرتز) را افزایش می‌دهد، به‌ویژه در نواحی پس‌سری و گیجگاهی مغز، که نشان‌دهنده افزایش خواب‌آلودگی و کاهش هوشیاری در موش‌ها است. افزایش فعالیت امواج تتا با محرومیت از خواب به خوبی اثبات شده است و با کاهش هوشیاری و عملکرد شناختی مرتبط است. مطالعات افزایش قدرت امواج بتا (۱۳-۳۰ هرتز) را به عنوان شاخص احتمالی تلاش برای حفظ بیداری گزارش می‌کنند (۱۸، ۱۹). بنابراین، در مطالعه‌ی حاضر تلاش شده است، این موضوع بررسی شود که آیا گاوژ روزانه ۲۰ mg/kg AEA در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی پس از القای محرومیت از خواب مزمن به مدت ۲۱ روز، با حفاظت از نوروهای هیپوکمپ در بهبود وضعیت یادگیری و حافظه‌ی آن‌ها، موثر است؟ همچنین در این



شکل ۱. پروتکل طراحی شده برای القای محرومیت از خواب مزمن توسط دستگاه شوک دهنده و انجام آزمون‌های رفتاری به صورت شماتیک نشان داده شده است. در روز منفی ده هندلینگ حیوانات آغاز شد و الکتروودگذاری در روز منفی هفت انجام شد. پس از گذشت ۷ روز دوره ی بهبودی، حیوانات در روز صفر در دستگاه محرومیت از خواب قرار گرفتند. ثبت‌های الکتریکی از و کورتکس در روز هجدهم و آزمایش‌های رفتاری نیز در روز بیستم انجام شد. حیوانات در روز بیست و یکم برای بررسی‌های بافت‌شناسی قربانی شدند. PAT: آزمون اجتنابی غیرفعال، MWM: ماز آبی موریس.

گروه‌بندی حیوانات

حیوانات به طور تصادفی در ۳ گروه قرار داده شدند.

(۱) گروه کنترل + حامل دارو (n = 14): (Control)

در این گروه هر روز حیوانات به مدت ۲۱ روز بدون اعمال فرآیند محرومیت از خواب در دستگاه محرومیت از خواب قرار گرفتند. قبل از شروع چرخه تاریکی حیوان، ۱ ml/kg روغن ذرت (حامل دارو) به مدت ۲۱ روز گاوژ شد.

هفت سر موش از هر گروه انتخاب شد و پس از اینکه سر حیوان به درستی در دستگاه استریوتاکس تراز شد، به وسیله‌ی مته دندانپزشکی پنج سوراخ در جمجمه برای کاشت الکترودها ایجاد شد. روی هر کدام از قشرهای فرونتال، آهیانه، گیجگاهی و پس‌سری سمت چپ جمجمه یک پیچ عینک درون استخوان جمجمه و روی سخت‌شامه کاشته شد، همچنین یک پیچ از جنس استیل زنگ نزن روی استخوان آهیانه در طرف مقابل به‌عنوان زمین کاشته شد. هر پیچ به یک پین هدر نظامی لحیم شده بود (۲۱). از آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین برای درمان پوست سر و سیمان اکریلیک دندان‌ی برای تثبیت کل ساختار روی جمجمه استفاده شد.

حیوانات از طریق یک کابل اعطاف‌پذیر به سیستم ثبت متصل شدند و سپس فعالیت عصبی در ناحیه کورتکس توسط نرم‌افزار LabChart نسخه ۸ و تقویت‌کننده زیستی ML-135 با تقویت ۱۰۰۰، ضبط نمونه ۴۰۰ هرتز و باند گذر ۰/۳ تا ۷۰ هرتز به مدت پنج دقیقه ثبت شد و به‌صورت آفلاین پردازش شد. واگرایی در توان الکتریکی گروه‌ها در سه بازه ۵ ثانیه‌ای در باندهای فرکانسی مختلف مقایسه شد: بتا (۱۲-۳۸ Hz) و تتا (۴ تا ۸ Hz). علاوه بر این، توان الکتریکی باندهای فرکانسی به‌صورت $\mu V^2/Hz$ گزارش شد.

القای محرومیت از خواب مزمن

پس از جراحی، به حیوانات یک هفته فرصت داده شد تا قبل از رفتن به دستگاه محرومیت از خواب کامل (REM +) (NREM)، دوره‌ی بهبودی از جراحی را طی نمایند. برای ایجاد محرومیت از خواب مزمن (SD) در موش‌ها، حیوانات در قفس‌های استاندارد که کف آن با یک توری استیل ضدزنگ پوشیده شده بود و شوک الکتریکی را منتقل می‌کرد، قرار گرفتند. این دستگاه با وارد کردن شوک الکتریکی مکرر خفیف (۰/۳ تا ۱/۵ میلی‌آمپر به مدت ۳-۵ ثانیه) به کف پای حیوان، هر ۱۰ دقیقه، حیوان را بیدار نگه می‌داشت. حیوانات در یک دوره‌ی ۲۱ روزه به مدت ۱۸ ساعت در روز، از ساعت ۷ صبح تا ۱ بامداد در دستگاه محرومیت از خواب کامل قرار گرفتند، درحالی‌که به آن‌ها اجازه استراحت و خواب ۶ ساعته بین

(۲) گروه القای محرومیت از خواب مزمن + حامل دارو (SD): (n = 14)

موش‌های بزرگ آزمایشگاهی به مدت ۲۱ روز در دستگاه محرومیت از خواب کلی قرار گرفتند و در شروع چرخه تاریکی حیوان، روزانه ۱ ml/kg روغن ذرت (حامل دارو) به مدت ۲۱ روز از طریق گاوژ تجویز شد (۲۰). گروه القای محرومیت مزمن از خواب + AEA (n = 14): (SD + A)

حیوانات به‌مانند گروه‌های اول و دوم در دستگاه محرومیت از خواب کلی قرار گرفتند. در شروع چرخه تاریکی حیوان، روزانه ۲۰ mg/kg پودر آناندامید در ۱ ml/kg روغن ذرت حل شده و به‌صورت خوراکی به مدت ۲۱ روز گاوژ شد (۲۰).

جراحی استریوتاکسی

با استفاده از کتامین هیدروکلراید به میزان ۱۰۰ mg/kg و مخلوط کردن آن با زایلازین به میزان ۱۰ mg/kg و تزریق آن به‌صورت داخل صفاقی^۱ (IP)، حیوانات بیهوش شدند. وضعیت بیهوشی با فشاردادن ملایم دم ارزیابی شد. برای جلوگیری از خشک‌شدن قرنیه، چشم‌ها با پنبه خیس شده با سالین نرمال پوشانده شد. دمای بدن آن‌ها در طول جراحی با استفاده از یک پد گرم در محدوده طبیعی حفظ شد. حیوانات در دستگاه استریوتاکس قرار داده شدند و سر آنها فیکس شد، بعد از تراشیدن موی سر حیوان، از ناحیه بین دو چشم تا ناحیه بین دو گوش با بتادین تمیز شده، به طول ۱/۵ تا ۲ سانتی‌متر روی پوست سر در خط وسط از محاذات پشت دو چشم تا محاذات جلوی دو گوش برش داده شد. سپس غشاها و پریوست جمجمه در ناحیه موردنظر کنار زده شد و محل برگما و لامبدا مشخص گردید. با تعیین فاصله بین برگما و لامبدا و با استفاده از اطلس پاکسینوس (Paxinos & Watson (1986) مختصات محل کاشت الکترودها به‌صورت زیر تعیین گردید.

کاشت الکتروده جهت ثبت الکتروانسفالوگرافی (EEG) از قشر مغز و پردازش سیگنال

¹Intraperitoneal

تاریک (Residence in dark compartment) ثبت شد. زمان آزمون ۳۰۰ ثانیه بود و هیچ شوک الکتریکی وجود نداشت (۶).

تست حافظه‌ی فضایی (MWM)

حافظه‌ی فضایی با استفاده از ماز آبی موریس ارزیابی شد. تانک شنا یک مخزن فلزی حلقوی با دیواره سیاه رنگ به قطر ۱۴۰ و ارتفاع ۸۰ سانتی‌متر است که با آبی به عمق ۳۰ سانتی‌متر پر شده است. دمای آب 25 ± 2 سانتی‌گراد بود. تانک شنا توسط یک سیستم ویدئویی که در سقف و بالای مخزن تعبیه شده است به چهار قسمت تقسیم شد. یک سکوی فلزی تیره به قطر ۱۰ سانتی‌متر در ربع اول دو سانتی‌متر زیر آب پنهان شد. موش‌ها برای یافتن سکوی پنهان ۴ روز متوالی آموزش دیدند. هر روز یک جلسه و هر جلسه شامل ۴ مرحله‌ی ۶۰ ثانیه‌ای بود. هر بار بطور تصادفی از یک ربع به عنوان نقطه شروع استفاده شد و موش‌ها به آرامی از ناحیه‌ی دم درون آب و رو به سمت دیواره تانک قرار گرفتند به گونه‌ای که دچار استرس نشوند. در صورت پیدا کردن سکو اجازه داده شد به مدت ۳۰ ثانیه روی سکو باقی بماند و بین هر مرحله به حیوان ۶۰ ثانیه استراحت داده شد. زمان لازم برای پیدا کردن سکو توسط حیوان، مسافت طی شده و سرعت شناکردن توسط نرم‌افزار ثبت شد. روز پنجم Probe trial سکوی پنهان حذف شد و مدت‌زمان صرف شده در ربع هدف، بین گروه‌های مختلف بررسی گردید (۲۳).

رنگ آمیزی نیسل

جهت بررسی بافت‌شناسی، ۵ سر موش از هر گروه انتخاب گردید. حیوانات توسط دوز بالای کتامین (۱۰۰-۱۱۰ mg/kg) و زایلازین به میزان ۱۰ mg/kg به طور عمیق بیهوش شدند. سر حیوانات با استفاده از گیوتین جدا شده و بلافاصله مغز حیوان را با شکستن استخوان‌های جمجمه خارج و توسط نرمال سالین سرد شستشو داده شد. سپس مغز را روی کیف یخ قرار داده و پس از جدا نمودن مخچه و پیاز بویایی، مغز حیوان در محلول فیکساتیو (فرمالین ۱۰٪) و در یخچال نگهداری شد. جهت پارافینه کردن، بافت به دستگاه Tissue processor منتقل گردید، پس از تهیه بلوک پارافینه، توسط

ساعت ۱ بامداد تا ۷ صبح داده شد (۲۲). دستگاه محرومیت از خواب مورد استفاده در این مطالعه توسط مرکز تحقیقات فیزیولوژی خلیج فارس توسط دکتر علیرضا سرکاکی طراحی و توسط شرکت تجهیزات پزشکی امید ایرانیان، تهران ساخته شده بود.

رفتار اجتنابی غیرفعال (PAT)

رفتار اجتنابی غیرفعال به عنوان شاخصی از یادگیری و حافظه‌ی اجتنابی است. دستگاه شاتل باکس، جعبه‌ای از جنس پلکسی گلاس و به ابعاد $20 \times 80 \times 20$ سانتی‌متر دارای یک محفظه روشن و یک محفظه تاریک است. کف هر دو اتاق از میله‌های فولادی ضدزنگ (قطر ۳ میلی‌متر) بافاصله ۱ سانتی‌متر ساخته شده است. شوک الکتریکی از طریق یک ژنراتور شوک به پای حیوان اعمال می‌گردد. ابتدا برای آشنایی حیوان با دستگاه، به مدت ۵ دقیقه در محفظه روشن درحالی که درب بین دو محفظه باز است، قرار داده شد تا آزادانه در فضای شاتل باکس جستجو کند. مرحله آموزش: حیوان درون محفظه روشن (محفظه امن) قرار داده شد، بعد از ۱۰ ثانیه درب گیوتینی بین دو محفظه باز شد و زمان تأخیر اولیه (Initial latency=IL) یعنی زمانی که طول می‌کشد تا حیوان از محفظه‌ی روشن وارد محفظه‌ی تاریک شود، یادداشت شد. ملاک ورود حیوان به محفظه‌ی تاریک پاهای عقبی حیوان بود. در این هنگام درب بین محفظه‌ها بسته شد و شوک الکتریکی (۷۵ ولت، ۱/۵ میلی‌آمپر و مدت‌زمان ۳ ثانیه) به کف پای حیوان اعمال گردید. پس از ۶۰ ثانیه، حیوان با آرامی و با احتیاط به قفس برگردانده شد. مرحله یادگیری: آزمون بعد از ۲ دقیقه تکرار گردید و به هر حیوان ۱۲۰ ثانیه در محفظه‌ی روشن زمان داده شد در صورت ورود حیوان به محفظه‌ی تاریک شوک تکرار گردید. زمان تأخیر ورود به محفظه تاریک به عنوان مرحله‌ی یادگیری (Step-through latency=STL learning) در نظر گرفته شد. مرحله بازیابی: جهت ارزیابی بازیابی حافظه، ۲۴ ساعت بعد، حیوان مجدداً درون محفظه روشن قرار داده شد و پس از مدت ۱۰ ثانیه درب بین دو محفظه باز شد. این بار زمان تأخیر ورود به محفظه تاریک به عنوان حافظه اجتنابی (Step-through latency=STL retention) و زمان صرف شده در محفظه

یافته‌ها

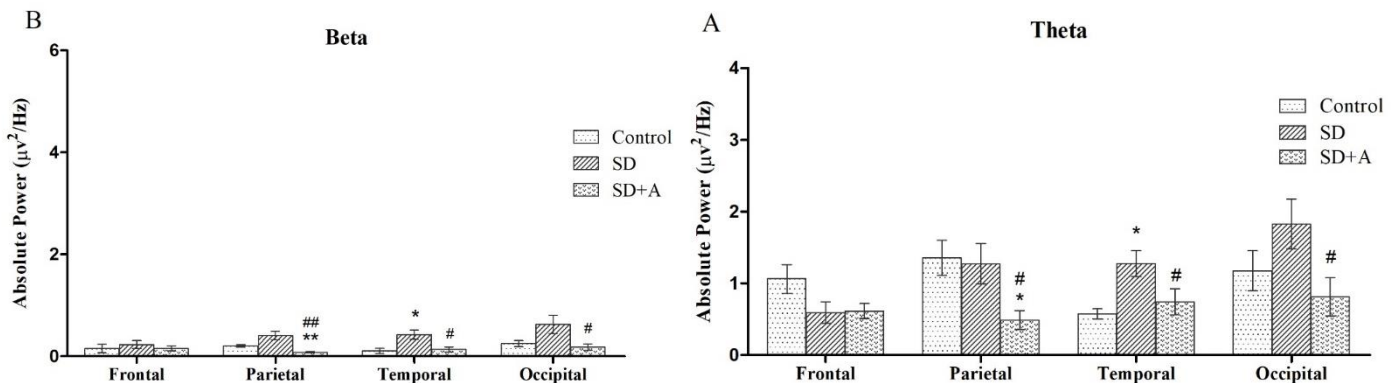
اثر AEA در تعدیل توان الکتریکی امواج بتا و تتا در قشر مغز

تغییرات در توان الکتریکی امواج تتا و بتا در چهار لوب مغز در شکل 2 (A-B) نشان داده شده است. در لوب فرونتال، تفاوت معنی‌داری در مقادیر توان الکتریکی امواج تتا و بتا بین گروه‌های کنترل، SD و SD+A دیده نشد ($p > 0.05$). در لوب پرییتال، توان الکتریکی امواج تتا و بتا تفاوت معنی‌داری بین گروه کنترل و SD نشان نداد ($p > 0.05$). تجویز AEA در گروه SD+A توانست به طور قابل توجهی توان تتا را نسبت به گروه SD و گروه کنترل به شکل معنی‌داری (به ترتیب $p < 0.05$ و $p < 0.05$) و توان الکتریکی امواج بتا را نسبت به گروه SD و گروه کنترل (به ترتیب $p < 0.01$ و $p < 0.01$) کاهش دهد. تغییرات در قدرت الکتریکی امواج EEG لوب تمپورال نشان داد که در مقایسه با گروه کنترل، محرومیت از خواب مزمن در این لوب به طور قابل توجهی توان الکتریکی، تتا ($p < 0.05$) و بتا ($p < 0.05$) را افزایش داده است. در مقایسه با گروه SD، درمان با AEA توانست قدرت تتا ($p < 0.05$) و توان بتا ($p < 0.05$) را کاهش دهد. داده‌های لوب پس‌سری نیز نشان داد تجویز AEA سبب کاهش توان الکتریکی امواج تتا و بتا در گروه SD+A نسبت به گروه SD می‌گردد (به ترتیب $p < 0.05$ و $p < 0.05$).

دستگاه میکروتوم برش‌هایی به ضخامت ۳-۵ میکرون از ناحیه هیپوکامپ در فاصله مختصات (۱.۲- تا ۲- خلف برگما) تهیه شد. سپس پنج برش از هر مغز، موم‌زدایی و دوباره هیدراته شد، با محلول کرزیل و بوله ۰.۱٪ (حل شده در ۰.۱٪ اسید استیک گلاسیال) در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه رنگ‌آمیزی شده و به صورت میکروسکوپی مورد بررسی قرار گرفت. نورون‌های زنده با بزرگنمایی ۲۰۰ برابر تعیین کمیت شده و میانگین تعداد سلول‌های زنده در نواحی CA1 و CA3 محاسبه شد، همچنین قطر لایه ی سلولی دندیت جایروس (DG) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

تحلیل آماری

جهت آنالیز آماری داده‌ها و بررسی معنی‌دار بودن آن‌ها از نرم‌افزار IBM SPSS نسخه ۲۴ استفاده شد. مقایسه‌ی داده‌ها توسط ANOVA یک‌طرفه با آزمون تعقیبی LSD و Kruskal-Wallis برای داده‌های ناپارامتریک انجام شد و همچنین از ANOVA یک‌طرفه با اندازه‌گیری مکرر برای بررسی داده‌های تست یادگیری و حافظه فضایی استفاده شد. تمام داده‌ها به صورت Mean \pm SEM بیان شدند، نتایج آزمون اندازه‌گیری‌های مکرر به صورت mean \pm SD بیان شد و مقادیر $P < 0.05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

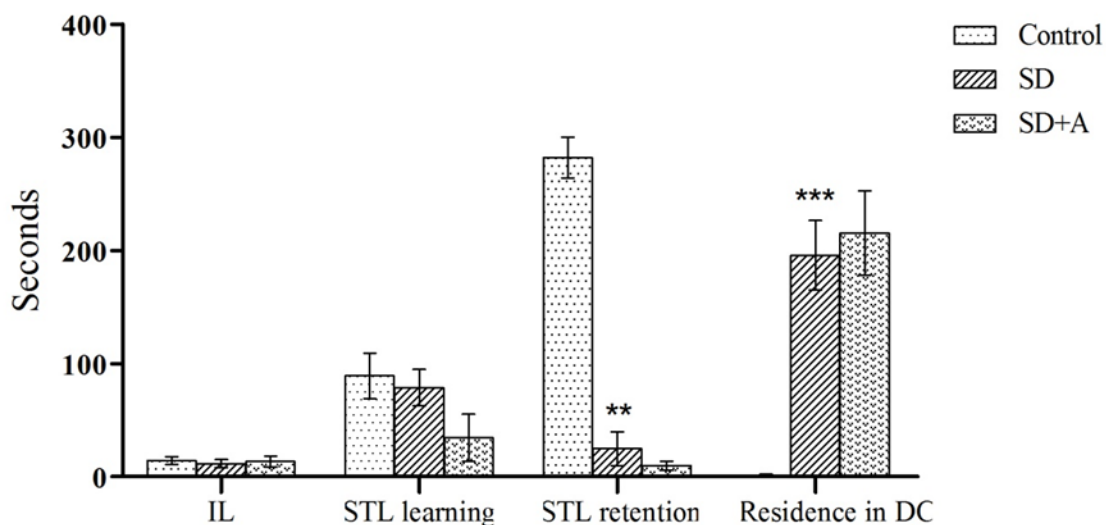


شکل ۲. توان الکتریکی امواج تتا (۴ تا ۸ هرتز) و بتا (۱۲-۳۸ هرتز) در طیف فرکانسی EEG در چهار لوب مغز (تعداد = ۷ سر موش در هر گروه) را نشان می‌دهد. به ترتیب شکل A: تغییرات توان امواج تتا ($\mu V^2/Hz$) و شکل B: تغییرات توان امواج بتا ($\mu V^2/Hz$) را در قشر فرونتال، پاریتال، تمپورال و پس‌سری نمایش می‌دهند. SD، محرومیت از خواب مزمن؛ A، آناندامید. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه و سپس آزمون تعقیبی LSD انجام شد. داده‌ها با توزیع غیر نرمال نیز توسط Kruskal-Wallis مورد آزمون قرار گرفت. نتایج به صورت میانگین \pm SEM ارائه شده است. $p < 0.05$ ، $p < 0.01$ * در مقایسه با گروه کنترل، $p < 0.05$ #، $p < 0.01$ ## در مقایسه با گروه SD.

اثر AEA در بازیابی حافظه و یادگیری

در بررسی حافظه اجتنابی غیرفعال توسط شاتل باکس (شکل ۳) مشخص شد که زمان تأخیر در ورود به بخش تاریک در میان گروه‌های مختلف در زمان پایه (IL) یکسان است ($p > 0.05$). ۲ دقیقه پس از اعمال شوک نیز اختلاف معناداری بین گروه‌ها در زمان تأخیر در ورود به بخش تاریک (STL) دیده نشد ($p > 0.05$). زمان تأخیر در ورود به بخش تاریک پس از ۲۴ ساعت (STL retention) در گروه SD نسبت به گروه کنترل با اختلاف معناداری کاهش یافته است ($p < 0.01$). بین گروه SD و SD+A نیز اختلاف معنی‌داری دیده نشد ($p > 0.05$). مدت‌زمان سپری‌شده در بخش تاریک شاتل باکس در هر گروه بعد از ۲۴ ساعت پس از دریافت شوک نشان داد که گروه SD نسبت به گروه کنترل به صورت معناداری تمایل بیشتری به ماندن در بخش تاریک دستگاه دارند ($p < 0.001$). میان گروه SD و SD+A نیز اختلاف معنی‌داری دیده نشد ($p > 0.05$).

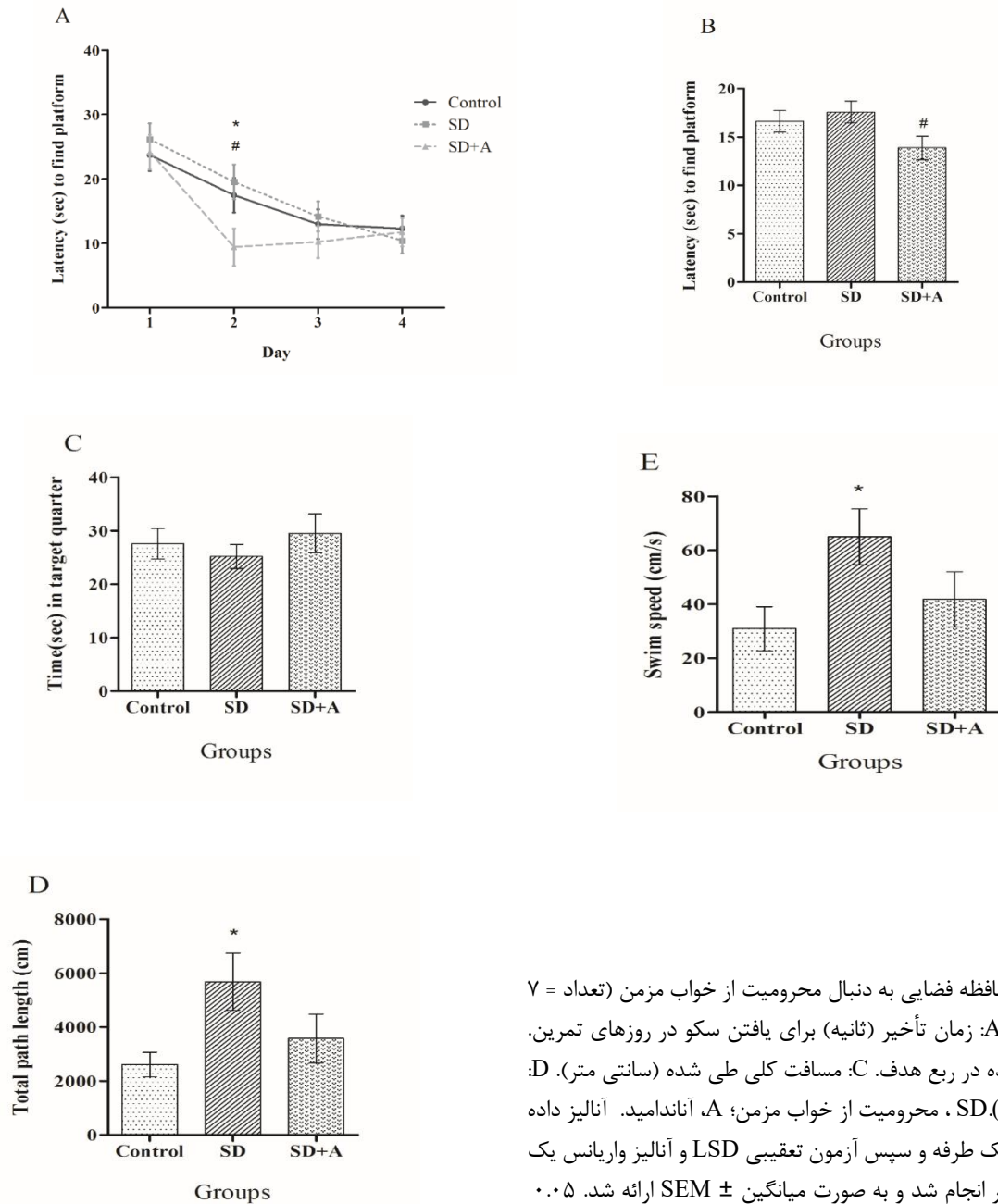
در بررسی حافظه اجتنابی غیرفعال توسط شاتل باکس (شکل ۳) مشخص شد که زمان تأخیر در ورود به بخش تاریک در میان گروه‌های مختلف در زمان پایه (IL) یکسان است ($p > 0.05$). ۲ دقیقه پس از اعمال شوک نیز اختلاف معناداری بین گروه‌ها در زمان تأخیر در ورود به بخش تاریک (STL) دیده نشد ($p > 0.05$). زمان تأخیر در ورود به بخش تاریک پس از ۲۴ ساعت (STL retention) در گروه SD نسبت به گروه کنترل با اختلاف معناداری کاهش یافته است ($p < 0.01$). میان گروه SD و SD+A نیز اختلاف معنی‌داری دیده نشد ($p > 0.05$).



شکل ۳. اثر AEA بر حافظه اجتنابی غیرفعال به دنبال محرومیت از خواب مزمن (تعداد = ۷ سر موش در هر گروه): SD، محرومیت از خواب مزمن؛ A، آنانامید. داده‌ها توسط ANOVA یک‌طرفه و سپس آزمون تعقیبی LSD مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. جهت مقایسه ی داده‌ها با توزیع غیر نرمال از آزمون Kruskal-Wallis استفاده شد. و به‌صورت میانگین \pm SEM ارائه شده است. $p < 0.01$ **، $p < 0.001$ *** در مقایسه با گروه کنترل.

که اختلاف معنی‌داری در بین گروه‌ها دیده نشد ($p > 0.05$). نمودار ۴-C نشان می‌دهد که گروه SD در مقایسه با گروه کنترل مسافت بیشتری طی کرده است ($p = 0.038$). میان مسافت طی شده در گروه SD و SD+A اختلاف معنی‌داری دیده نشد ($p > 0.05$). مقایسه میانگین سرعت بین گروه‌ها در نمودار ۴-D قابل مشاهده است. سرعت شناکردن در گروه SD در مقایسه با گروه کنترل به میزان معنی‌داری افزایش یافته است ($p = 0.02$). میان گروه SD و SD+A اختلاف معنی‌داری در سرعت شناکردن مشاهده نشد ($p > 0.05$).

در شکل ۴ (A-E) نتایج آنالیز اندازه‌گیری مکرر و آنالیز واریانس یک‌طرفه بین گروه‌های مورد مطالعه در آزمون MWM نشان داده شده است. شکل ۴-A زمان رسیدن به سکو در ۴ روز Training آورده شده است. مقایسه بین گروه‌ها در ۴ روز نشان داد که تنها در روز دوم اختلاف معنی‌داری بین گروه SD و SD+A وجود دارد ($p < 0.05$) و میان گروه کنترل و SD اختلاف معنی‌داری دیده نشد ($p > 0.05$). نمودارهای ۴-B (D) مربوط به روز Probe Trail است. نمودار ۴-B به مقایسه مدت‌زمان سپری شده در ربع هدف میان گروه‌ها مربوط است

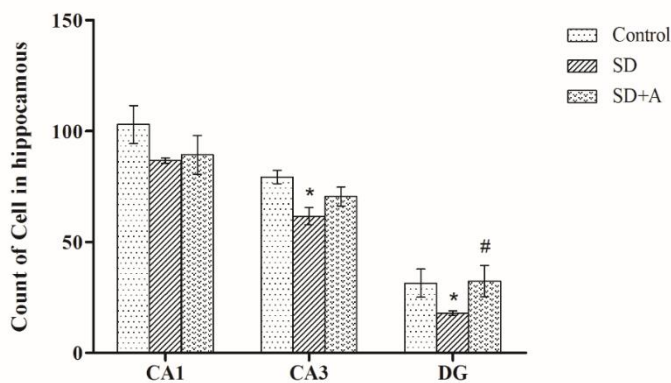
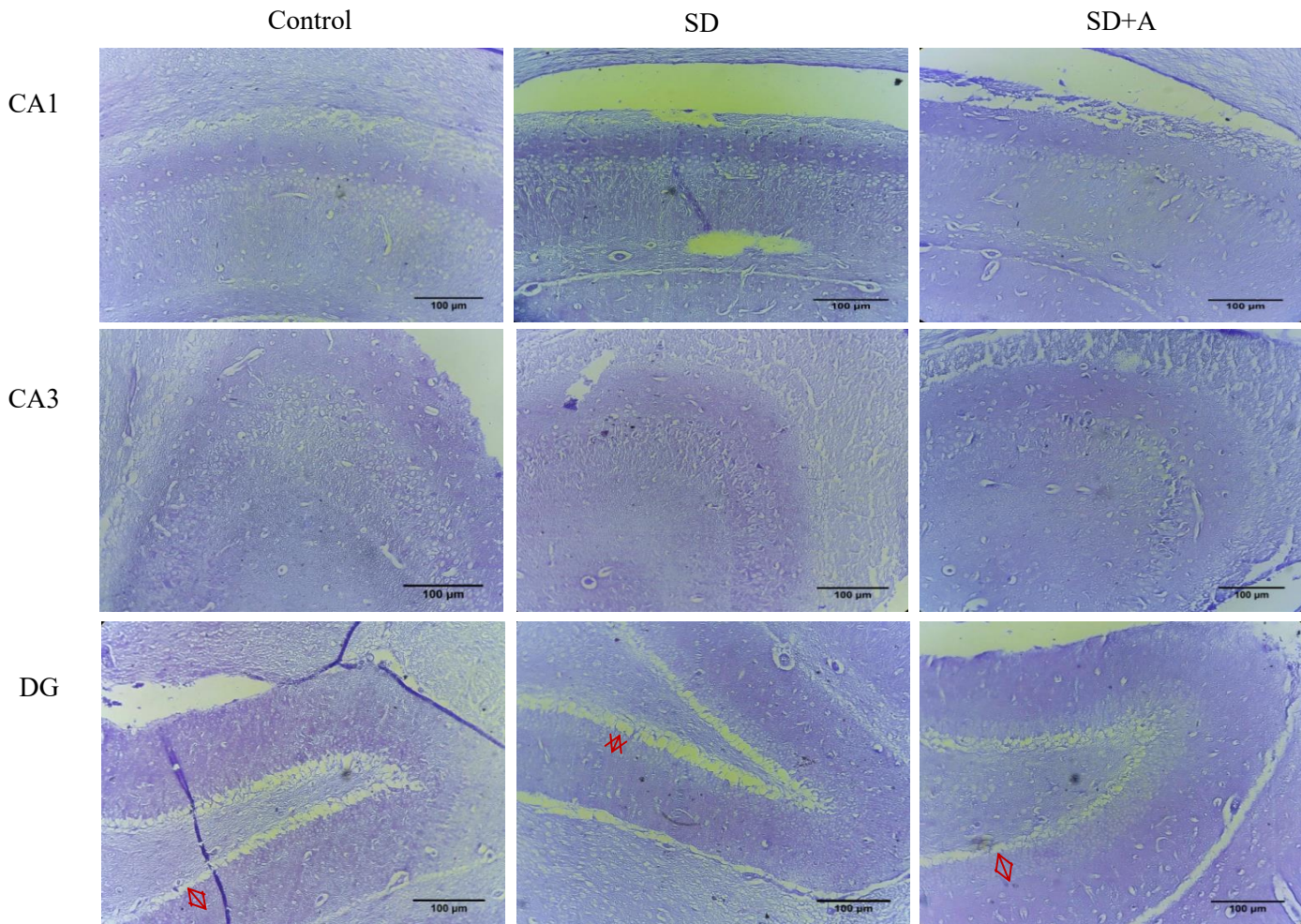


نمودار ۴. اثر AEA بر حافظه فضایی به دنبال محرومیت از خواب مزمن (تعداد = ۷ سر موش در هر گروه): A: زمان تأخیر (ثانیه) برای یافتن سکو در روزهای تمرین. B: زمان (ثانیه) صرف شده در ربع هدف. C: مسافت کلی طی شده (سانتی متر). D: سرعت شنا کردن (cm/s). SD، محرومیت از خواب مزمن؛ A، آناندامید. آنالیز داده ها توسط آنالیز واریانس یک طرفه و سپس آزمون تعقیبی LSD و آنالیز واریانس یک طرفه با اندازه گیری مکرر انجام شد و به صورت میانگین \pm SEM ارائه شد. $p < 0.05$. * $p < 0.05$ در مقایسه با گروه کنترل، # $p < 0.05$ در مقایسه با گروه SD.

اثر AEA بر حفاظت نورونی در هیپوکامپ

ملاحظه ای را در نواحی CA1 و CA3 از خود نشان نمیدهد ($p > 0.05$)، تنها به طور قابل توجهی از نورون‌ها در ناحیه DG محافظت می‌کند ($p < 0.05$).

پس از ۲۱ روز محرومیت از خواب، کاهش معنی دار ($p < 0.05$) سلولی در نواحی CA3 و DG در رنگ‌آمیزی کرزیل ویولت مشاهده شد. شمارش تعداد سلول‌های زنده در ناحیه CA1 تغییر معنی داری را نشان نداد ($p > 0.05$). شکل ۵ همچنین نشان می‌دهد که درمان با AEA محافظت نورونی قابل



شکل ۵. تأثیر تجویز AEA بر تعداد نورون‌های سالم در هیپوکامپ (نواحی CA1، CA3 و DG) در رت‌ها پس از ۲۱ روز محرومیت از خواب در رنگ‌آمیزی کرزیل ویولت (n = 4) در هر گروه. نشانگر قرمز نشان دهنده قطر لایه سلولی DG است. SD؛ محرومیت از خواب، A؛ آناندامید. داده‌ها به صورت میانگین \pm SEM ارائه شده‌اند. با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه و به دنبال آن آزمون تعقیبی LSD و کروسکال-والیس تجزیه و تحلیل شدند $p < 0.05$ * در مقابل کنترل، $p < 0.05$ # در مقابل SD. نوار مقیاس برابر با ۱۰۰ میکرومتر با بزرگنمایی ۲۰۰ برابر است.

بحث

می‌دهد (۳۱). هرچند مشاهدات ما نشان داد این تغییرات در EEG قشر مغز در هر چهار لوب به طور یکنواخت رخ نمی‌دهد.

تحقیقات گسترده اثرات دوگانه و متضاد نوروپروتکتیو/نوروتوکسیک کانابینوئیدها را در مطالعات *in vivo* نشان داده است (۳۲). گیرنده‌های کانابینوئیدی در هر دو سیناپس گلوتاماترژیک و گابا-ارژیک بیان می‌شوند، که اغلب اثرات متضادی بر حافظه دارند (۳۳). فعال شدن گیرنده CB1 توسط کانابینوئیدها، از جمله AEA، بسته به زمینه و سطح فعال‌سازی، می‌تواند هم حافظه را تقویت و هم مختل کند. عواملی مانند دوز، زمان تجویز و شرایط فیزیولوژیکی می‌توانند در این مورد دخیل باشند. (۳۴). به عنوان مثال کانابینوئیدهای درون‌زا مانند AEA، با تعدیل دقیق سیگنالینگ مهاری گلبارژیک، می‌تولند فرآیندهای خاص حافظه را تقویت کند و پلاستیسیته سیناپسی مانند LTP را تسهیل کند (۳۴، ۳۵) AEA درون زاد از طریق فعال سازی مسیر سیگنالینگ CNR1/PI3K/AKT سبب بهبود حافظه ی فضایی، عملکرد حافظه و یادگیری پس از القاء محرومیت از خواب در موش‌ها می شود و اثرات حفاظت نورونی را در هیپوکامپ اعمال می کند (۸). برعکس، تجویز فارماکولوژیکال از طریق فعال‌سازی بیش از حد یا سراسری CB1R با مختل کردن مسیرهای سیگنالینگ سیناپسی، تجمع cAMP در نورون‌ها، آزادسازی گلوتامات و جریان‌های کلسیم فعال شده با ولتاژ را مهار می کند و از این طریق تحریک‌پذیری نورون‌های هیپوکامپ را کاهش می دهد و به نوبه خود، از انتقال عصبی می کاهد در نتیجه تشکیل حافظه، LTP^{۱۲} و عملکرد حافظه را مختل می‌کند. در مجموع، این یافته‌ها نشان می‌دهند که افزایش فارماکولوژیکال AEA فراتر از غلظت‌های طبیعی، برای پاسخ‌های فیزیولوژیکی زمینه‌ای مضر است (۳۵-۳۷). یافته های ما در آزمون MWM و PA نیز نشان داد که AEA در بهبود اختلال یادگیری فضایی، حافظه بلند مدت و کوتاه مدت ناشی از محرومیت از خواب مزمن، نقش مفیدی ایفا نمی کند، همچنین AEA قادر به القاء محافظت نورونی در

همانطور که در مطالعات گذشته نشان داده شده است، محرومیت از خواب سبب اختلال در حافظه‌ی اجتنابی غیر فعال، تثبیت حافظه و حافظه‌ی فضایی می‌شود (۲۴). یکپارچگی مدارهای هیپوکامپ برای عملکرد حافظه ضروری است و این یکپارچگی به شدت تحت تأثیر کیفیت و کمیت خواب قرار دارد. در هیپوکامپ تغییر در سطوح طبیعی AEA و کاهش بیان CB1R به دنبال محرومیت طولانی مدت از خواب، عملکرد گیرنده NMDA¹¹ را محدود می‌کند و رهاسازی گابا را افزایش می‌دهد و با کاهش تکثیر سلولی، نورون‌ها و پلاستیسیته سیناپسی نورون‌های هیپوکامپ، سبب نقص در حافظه می‌گردد (۲۵، ۲۶). نتایج مطالعه‌ی ما نیز مطابق با مطالعات گذشته، نشان داد که ۲۱ روز محرومیت از خواب کامل سبب مرگ سلولی در نواحی CA3 و DG می‌گردد (۲۷) و سبب اختلال در یادگیری و بازیابی حافظه در دستگاه شاتل باکس می‌شود. در آزمون ماز آبی موریس، مدت زمان حضور موش‌ها در ربع هدف در گروه SD نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری را نشان نمی‌دهد، به نظر می‌رسد افزایش سرعت شنا کردن در موش‌های گروه SD علت افزایش مسافت طی شده و به طبع آن، افزایش زمان حضور موش‌ها در ربع هدف گردیده است. منطبق با یافته‌های ما مطالعات گذشته نیز نشان دادند که اختلال در یادگیری و علائم آلزایمر با افزایش توان الکتریکی امواج تتا و بتا در لوب گیجگاهی و پس‌سری مرتبط است (۲۸). مطالعات تائید کرده‌اند که افزایش توان موج بتا در لوب فرونتال منعکس‌کننده فعالیت مغز مرتبط با استرس است (۲۹). به نظر می‌رسد این الگوهای غیر عادی در فعالیت الکتریکی با عدم تعادل بین تحریک، مهار و بیش‌فعالی در قشر مغز مرتبط است که حافظه را مختل می‌کند و باعث استرس، اضطراب و افسردگی می‌شود (۳۰). محرومیت از خواب با کاهش بیان CB1R در مغز و حذف مهار پیش سیناپسی از اینترنورون‌های گابارژیک با اسپایک آهسته و سریع، فعالیت الکتریکی امواج با فرکانس پایین (دلتا و تتا) و امواج با فرکانس بالا (بتا و گاما) را در EEG قشر مغز افزایش

¹² long-term potentiation

¹¹N-methyl-D-aspartate receptor

نمی‌کند. دستیابی به این نتیجه متفاوت نسبت به مطالعات دیگر ممکن است به دلیل تفاوت در مدل‌سازی SD، دوز AEA یا تکنیک تجویز AEA باشد. دوز یا پروتکل استفاده‌شده در این مطالعه قادر به ایجاد سطوح بهینه اندوکانبینوئیدی برای اعمال اثرات مفید بر حافظه نبوده است؛ بنابراین، برای روشن‌شدن دقیق‌تر نقش درمانی AEA، مطالعات آتی با دوزهای مختلف، روش‌های تجویز گوناگون و ارزیابی‌های مکانیسم‌های مولکولی دقیق‌تر پیشنهاد می‌شود.

نتیجه‌گیری

به طور خلاصه، یافته‌های ما نشان داد که تجویز AEA در مدل محرومیت از خواب مزمن باعث کاهش توان الکتریکی تتا، بتا در EEG قشر مغز کورتکس و حفاظت نورونی در ناحیه DG می‌گردد؛ اما سبب بهبود نقایص شناختی ناشی از محرومیت از خواب مزمن نمی‌شود و نتایج مطالعات رفتاری در آزمون MWM و PAT را تحت‌تأثیر قرار نمی‌دهد.

تشکر و قدردانی

این مقاله به‌عنوان بخشی از پایان‌نامه رفیعه بلالی (دانشجوی دکترا) استخراج شده است. این کار با حمایت معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز (شماره کمک‌هزینه APRC-0004 و در پژوهشکده علوم پایه پزشکی و مرکز تحقیقات فیزیولوژی خلیج فارس انجام شده است.

ملاحظات اخلاقی

حیوانات مطابق با دستورالعمل مراقبت از حیوانات آزمایشگاهی مطابق با دستورالعمل‌های مؤسسه ملی بهداشت (NIH شماره ۸۰-۲۳) و طبق پروتکل تأییدشده توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز (AJUMS) (کد اخلاق: IR.AJUMS.ABHC.REC.1400.035) نگهداری و تحت درمان قرار گرفتند.

کد اخلاق

IR.AJUMS.ABHC.REC.1400.035

ناحیه ی CA3 در مدل محرومیت از خواب مزمن نیست و تنها در ناحیه ی DG قادر به بازگردانی لایه ی سلول های نورونی و جلوگیری از نورودژنراسیون است. مطالعات پیشین ما نیز نشان داد که AEA با افزایش بیان CB1R در ناحیه ی DG پس از القاء محرومیت از خواب مزمن در ایجاد اثرات نوروپروتکتیو در این ناحیه موثر است (۱۶).

بر اساس شواهد موجود در برخی از مطالعات، اندوکانبینوئیدها ممکن است با روشی وابسته به دوز، خلق و خو، رفتار و شناخت را تعدیل کنند. به همین خاطر است که آگونیست ها و آنتاگونیست های CB1R اثرات مشابهی در برخی از ارزیابی های رفتاری نشان می دهند (۶، ۳۶، ۳۸). هم راستا با مطالعات ما، یافته های عمر عبدالسلام و همکارانش در سال ۲۰۱۹ نیز مشخص کرد که AEA کاملاً به شیوه ای وابسته به دوز اثرات محافظتی خود را از نورون های هیپوکامپ اعمال می کند (۳۹). به نظر می رسد، AEA بسته به اینکه کدام گیرنده ها یا آبشارهای انتقال سیگنال را فعال کند، اقدامات متضادی را در رابطه با تعدیل مرگ سلولی نشان می دهد (۴۰).

افزایش و کاهش غیرطبیعی در قدرت امواج تتا و بتا می‌تولند موجب اختلال در حافظه شود. نکته کلیدی تعادل و هماهنگی بین این امواج در نواحی مختلف مغز است (۴۱). مطالعه ی ما نیز نشان داد که افزایش توان الکتریکی امواج تتا و بتا در لوب گیجگاهی و پس‌سری پس از محرومیت از خواب با اختلال حافظه مرتبط است. تجویز AEA، با بازگرداندن بیان گیرنده CB1 در بیشتر نواحی مغز، توانست توان الکتریکی امواج تتا و بتا در لوب پریتال، گیجگاهی و پس‌سری را کاهش دهد. بنابراین، کاهش توان امواج مغزی پس از تجویز AEA نتیجه مستقیم فعال شدن گیرنده CB1 است که تحریک‌پذیری قشر مغز را در این نواحی تعدیل می‌کند (۴۲).

اگر چه نتایج مطالعه ما نشان داد که تجویز AEA با دوز 20 mg/kg در روز قادر به تعدیل توان الکتریکی امواج تتا و بتا تثب شده از کورتکس و حفاظت نورونی در ناحیه DG پس از القاء محرومیت از خواب مزمن می‌باشد؛ اما نتایج آزمون‌های رفتاری از اثربخشی آن در بهبود حافظه حمایت

تضاد منافع

تمامی نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ تضاد منافعی وجود ندارد.

حمایت مالی

این طرح از نظر مالی توسط معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز، اهواز، ایران حمایت مالی شده‌اند.

سهم نویسندگان

رفیعه بلالی: مفهوم‌سازی، تحلیل داده‌ها، تحقیق در منابع، نگارش پیش‌نویس اصلی.
 یعقوب فریود: نگارش، بررسی و ویرایش، نظارت.
 علیرضا سرکاکی: مفهوم‌سازی، روش‌شناسی، نگارش - بررسی و ویرایش، مدیریت پروژه.
 سید علی مرد، سید اسماعیل خوشنام و کوثر باورصاد: نظارت و روش‌شناسی.
 همه نویسندگان در تدوین مقاله مشارکت نمودند و نسخه نهایی را مطالعه و تایید کردند.

References:

1. Barati Dowom P, Roshanaei K, Darvishi M. Neurophysiological Mechanism of Sleep and Wakefulness Regulation. *The Neuroscience Journal of Shefaye Khatam*. 2015;3(3):121-35.
2. Lankrew Ayalew T, Wale BG, Haile KE. Prevalence and associated factors of sleep deprivation among Haramaya University students, Ethiopia, 2021: cross-sectional study. *Sleep Science and Practice*. 2022;6(1):11.
3. Ranjbaran M. Prevalence of poor sleep quality in college students of Iran: Systematic review and Meta-analysis. *Razi Journal of Medical Sciences*. 2016;23(143):1-7.
4. Hershner SD, Chervin RD. Causes and consequences of sleepiness among college students. *Nat Sci Sleep*. 2014;6:73-84.
5. Zhang M, Tillman D, An S. Global prevalence of sleep deprivation in students and heavy media use. *Education and Information Technologies*. 2017;22.
6. Rezaie M, Nasehi M, Vaseghi S, Alimohammadzadeh K, Islami Vaghar M, Mohammadi-Mahdiabadi-Hasani MH, et al. The interaction effect of sleep deprivation and cannabinoid type 1 receptor in the CA1 hippocampal region on passive avoidance memory, depressive-like behavior and locomotor activity in rats. *Behav Brain Res*. 2021;396:112901.
7. Yu J, Ren L, Min S, Lv F, Luo J, Li P, et al. Inhibition of CB1 receptor alleviates electroconvulsive shock-induced memory impairment by regulating hippocampal synaptic plasticity in depressive rats. *Psychiatry research*. 2021;300:113917.
8. Li Z-H, Cheng L, Wen C, Ding L, You Q-Y, Zhang S-B. Activation of CNR1/PI3K/AKT Pathway by Tanshinone IIA Protects Hippocampal Neurons and Ameliorates Sleep Deprivation-Induced Cognitive Dysfunction in Rats. *Frontiers in pharmacology*. 2022;13:823732.
9. Wise LE, Thorpe AJ, Lichtman AH. Hippocampal CB(1) receptors mediate the memory impairing effects of Delta(9)-tetrahydrocannabinol. *Neuropsychopharmacology*. 2009;34(9):2072-80.
10. Loprinzi PD, Zou L, Li H. The Endocannabinoid System as a Potential Mechanism through which Exercise Influences Episodic Memory Function. *Brain Sciences*. 2019;9(5):112.

11. Loureiro M, Kramar C, Renard J, Rosen LG, Laviolette SR. Cannabinoid Transmission in the Hippocampus Activates Nucleus Accumbens Neurons and Modulates Reward and Aversion-Related Emotional Salience. *Biological psychiatry*. 2016;80(3):216-25.
12. Zou S, Kumar U. Cannabinoid Receptors and the Endocannabinoid System: Signaling and Function in the Central Nervous System. *Int J Mol Sci*. 2018;19(3).
13. Scherma M, Masia P, Satta V, Fratta W, Fadda P, Tanda G. Brain activity of anandamide: a rewarding bliss? *Acta Pharmacologica Sinica*. 2019;40(3):309-23.
14. Niloy N, Hediya TA, Vichitra C, Sonali S, Chidambaram SB, Gorantla VR, et al. Effect of Cannabis on Memory Consolidation, Learning and Retrieval and Its Current Legal Status in India: A Review. *Biomolecules*. 2023;13(1):162.
15. Morena M, Roozendaal B, Trezza V, Ratano P, Peloso A, Hauer D, et al. Endogenous cannabinoid release within prefrontal-limbic pathways affects memory consolidation of emotional training. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2014;111(51):18333-8.
16. Belali R, Mard SA, Khoshnam SE, Bavarsad K, Sarkaki A, Farbood Y. Anandamide Attenuates Neurobehavioral Deficits and EEG Irregularities in the Chronic Sleep Deprivation Rats: The Role of Oxidative Stress and Neuroinflammation. *Neurochem Res*. 2024;49(6):1541-55.
17. Moreira-Silva D, Carrettiero DC, Oliveira ASA, Rodrigues S, Dos Santos-Lopes J, Canas PM, et al. Anandamide Effects in a Streptozotocin-Induced Alzheimer's Disease-Like Sporadic Dementia in Rats. *Frontiers in neuroscience*. 2018;12:653.
18. Verweij IM, Romeijn N, Smit DJ, Piantoni G, Van Someren EJ, van der Werf YD. Sleep deprivation leads to a loss of functional connectivity in frontal brain regions. *BMC neuroscience*. 2014;15:88.
19. Spiegelhalder K, Regen W, Feige B, Holz J, Piosczyk H, Baglioni C, et al. Increased EEG sigma and beta power during NREM sleep in primary insomnia. *Biological psychology*. 2012;91(3):329-33.
20. Aguirre C, Castillo V, Llanos M. Oral Administration of the Endocannabinoid Anandamide during Lactation: Effects on Hypothalamic Cannabinoid Type 1 Receptor and Food Intake in Adult Mice. *J Nutr Metab*. 2017;2017:2945010.
21. Kondo S, Najm I, Kunieda T, Perryman S, Yacubova K, Lüders HO. Electroencephalographic characterization of an adult rat model of radiation-induced cortical dysplasia. *Epilepsia*. 2001;42(10):1221-7.
22. Rangel-López E, Colín-González AL, Paz-Loyola AL, Pinzón E, Torres I, Serratos IN, et al. Cannabinoid receptor agonists reduce the short-term mitochondrial dysfunction and oxidative stress linked to excitotoxicity in the rat brain. *Neuroscience*. 2015;285:97-106.
23. Farbood Y, Sarkaki A, Badavi M. Preventive effect of Grape Seed hydroalcoholic extract on Dementia type of Alzheimer's disease in aged male rats. *Int J Pharm*. 2009;5.
24. Wang JH, van den Buuse M, Tian SW, Ma YY. Effect of paradoxical sleep deprivation and stress on passive avoidance behavior. *Physiology & behavior*. 2003;79(4-5):591-6.
25. Subbanna S, Shivakumar M, Psychoyos D, Xie S, Basavarajappa BS. Anandamide-CB1 receptor signaling contributes to postnatal ethanol-induced neonatal neurodegeneration, adult synaptic, and memory deficits. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2013;33(15):6350-66.

26. Murata Y, Oka A, Iseki A, Mori M, Ohe K, Mine K, et al. Prolonged sleep deprivation decreases cell proliferation and immature newborn neurons in both dorsal and ventral hippocampus of male rats. *Neuroscience Research*. 2018;131:45-51.
27. Konakanchi S, Raavi V, Ml HK, Shankar Ms V. Impact of chronic sleep deprivation and sleep recovery on hippocampal oligodendrocytes, anxiety-like behavior, spatial learning and memory of rats. *Brain Research Bulletin*. 2023;193:59-71.
28. Ehrhardt NM, Fietz J, Kopf-Beck J, Kappelmann N, Brem A-K. Separating EEG correlates of stress: Cognitive effort, time pressure, and social-evaluative threat. *European Journal of Neuroscience*. 2022;55(9-10):2464-73.
29. Babiloni C, Binetti G, Cassetta E, Cerboneschi D, Dal Forno G, Del Percio C, et al. Mapping distributed sources of cortical rhythms in mild Alzheimer's disease. A multicentric EEG study. *NeuroImage*. 2004;22(1):57-67.
30. Wu Z, Zhong X, Lin G, Peng Q, Zhang M, Zhou H, et al. Resting-state electroencephalography of neural oscillation and functional connectivity patterns in late-life depression. *Journal of Affective Disorders*. 2022;316:169-76.
31. Sherif MA, Cortes-Briones JA, Ranganathan M, Skosnik PD. Cannabinoid-glutamate interactions and neural oscillations: implications for psychosis. *The European journal of neuroscience*. 2018;48(8):2890-902.
32. Sarne Y, Asaf F, Fishbein M, Gafni M, Keren O. The dual neuroprotective–neurotoxic profile of cannabinoid drugs. *British Journal of Pharmacology*. 2011;163(7):1391-401.
33. Loprinzi PD, Zou L, Li H. The Endocannabinoid System as a Potential Mechanism through which Exercise Influences Episodic Memory Function. *Brain Sci*. 2019;9(5).
34. Ratano P, Palmery M, Trezza V, Campolongo P. Cannabinoid Modulation of Memory Consolidation in Rats: Beyond the Role of Cannabinoid Receptor Subtype 1. *Frontiers in Pharmacology*. 2017;Volume 8 - 2017.
35. Basavarajappa BS, Nagre NN, Xie S, Subbanna S. Elevation of endogenous anandamide impairs LTP, learning, and memory through CB1 receptor signaling in mice. *Hippocampus*. 2014;24(7):808-18.
36. Goonawardena AV, Sesay J, Sexton CA, Riedel G, Hampson RE. Pharmacological elevation of anandamide impairs short-term memory by altering the neurophysiology in the hippocampus. *Neuropharmacology*. 2011;61(5-6):1016-25.
37. Prospero-García O, Rueda-Orozco P, Amancio-Belmont O, Ruiz-Contreras A, Méndez-Díaz M. An integrative overview of the cannabinergic system and mental health. *Salud Mental*. 2017;40:119-28.
38. Castellano C, Cabib S, Palmisano A, Di Marzo V, Puglisi-Allegra S. The effects of anandamide on memory consolidation in mice involve both D1 and D2 dopamine receptors. *Behavioural pharmacology*. 1997;8(8):707-12.
39. Abdel-Salam O, Sleem A, Elbaset Mohamed Sayed M, Youness E, Shaffie N. Neuroprotective Effects of Low Dose Anandamide in Pentylene-tetrazole-Induced Kindling in Rats. *Biomedical and Pharmacology Journal*. 2019;11:25-40.
40. Cernak I, Vink R, Natale J, Stoica B, Lea PMt, Movsesyan V, et al. The "dark side" of endocannabinoids: a neurotoxic role for anandamide. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2004;24(5):564-78.
41. Tan E, Troller-Renfree SV, Morales S, Buzzell GA, McSweeney M, Antúnez M, et al. Theta activity and cognitive functioning: Integrating evidence from resting-state and task-related developmental

electroencephalography (EEG) research. *Developmental Cognitive Neuroscience*. 2024;67:101404.

42. Ameri A, Wilhelm A, Simmet T. Effects of the endogenous cannabinoid,

anandamide, on neuronal activity in rat hippocampal slices. *Br J Pharmacol*. 1999;126(8):1831-9.

The Role of Anandamide in Modulating the Effects of Chronic Sleep Deprivation on Memory, brain waves, and Hippocampal Neurons in Male Wistar Rats

Rafie Belali¹, Yaghoob Farbood¹, Alireza Sarkaki¹, Seyyed Ali Mard¹, Seyyed Esmail Khoshnam², Kowsar Bavarsad¹

1. Department of Physiology, Medicine Faculty, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran
2. Persian Gulf Physiology Research Center, Basic Medical Sciences Research Institute, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

Received 08/09/2025

ePublished: 22/09/2025

ABSTRACT:

Introduction: Sleep deprivation impairs memory function by altering the function of the endocannabinoid system. In the present study, the effects of administering the endocannabinoid anandamide (AEA) on memory and learning, cortical theta and beta waves, and neuroprotection in the hippocampus were investigated in a chronic sleep deprivation (SD) model in adult male rats.

Methods: Adult male Wistar rats (200-250 g) were randomly assigned to three groups: Control + vehicle (Control), SD + vehicle (SD), and SD + 20 mg/kg AEA (SD + A). To induce SD, the rats were placed in a sleep deprivation apparatus daily for 18 hours (7:00 AM to 1:00 AM) for 21 consecutive days. The electrical power of cortical theta and beta waves was assessed via EEG. Spatial memory tests in the Morris water maze and the passive avoidance test were used to evaluate learning and memory.

Results: Electrophysiological findings revealed that sleep deprivation caused a significant increase in the electrical power of theta and beta waves in the temporal lobe ($p < 0.05$), which is associated with cognitive impairments. Administration of AEA significantly reduced this increased power in the parietal ($p < 0.01$), temporal ($p < 0.05$), and occipital ($p < 0.05$) lobes.

Conclusion: In summary, although AEA was able to modulate the abnormal brain wave pattern, at the dose and protocol used in this study, it could not exert a significant protective role in ameliorating cognitive deficits and neuronal death induced by chronic sleep deprivation. The effects of AEA appear to be dose-dependent and may yield contrasting outcomes at different levels.

Keyword: Sleep deprivation, Anandamide (AEA), Memory and learning, Electroencephalography (EEG).

*Corresponding Author: Rafie Belali, e-mail: belalirafie@gmail.com

CITATION: Belali,R.,Farbood,Y.,Sarkaki,A.,Mard,S. A.,Khoshnam,S. E.,Bavarsad,K. The Role of Anandamide in Modulating the Effects of Chronic Sleep Deprivation on Memory, brain waves, and Hippocampal Neurons in Male Wistar Rats. *Saveh University of Medical Sciences Journal*, 2025; 1(2): e231933.

doi: [10.22034/jsavehums.2025.545928.1057](https://doi.org/10.22034/jsavehums.2025.545928.1057)