The Journal of Qazvin Univ. of Med. Sci.
Vol. 9, No. 3, Autumn 2005

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی قزوین
سال نهم، شماره ۳ (پی‌درپی ۳۶)، پاییز ۱۳۸۴

نقش قشر اوربیتوفرونتال در زمان و دوره خواب در موش

دکتر عباسعلی وفایی*

Assessing the role of rat's orbitofrontal cortex on sleeping time and duration

AA.Vafaei✡

✸Abstract

Background: Sleeping is a biological rhythm controlled by many structures and neurotransmitter systems in brain. Previous evidences suggested that Orbitofrontal Cortex (OFC) is probably involved in sleeping time and the duration.

Objective: The aim of this study was to determine the role of OFC area in duration and the time of sleeping by electrical lesions.

Methods: Male Wistar rats were used in this experimental study. Rats were surgically implanted bilaterally guided cannulae aimed at the OFC by stereotaxic instrument. One week after recovery, a primary assessment of sleeping duration was made by Angel behavioral method followed by lesioning of OFC using a lesion-maker (electrical electrode). Measuring the behavioral manifestations continued for time and the sleeping duration.

Findings: The data found in our study was indicative of a significantly increased sleeping time ($P<0.01$) following the electrical lesioning of OFC.

Conclusion: Our findings showed that OFC of rat's brain may play an important role in regulating the sleeping process.

Keywords: Orbitofrontal, Sleep, Nervous System

✸ چکیده

زمینه : خواب یک فرایند زیست‌شناختی و فعال عصبی است که تحت تأثیر مراکز و سیستم‌های میانجی عصبی مغز قرار دارد. شواهد قبلی احتمال داده‌اند که قشراوربیتوفرونتال مغز در فرایندهای خواب و بیداری دخالت داشته باشد.

هدف : مطالعه به منظور ارزیابی نقش ناحیه قشراوربیتوفرونتال در زمان و دوره خواب در موش انجام شد.

مواد و روش‌ها : این مطالعه تجربی در سال ۱۳۸۰ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان بر روی ۱۲ سر موش نر آلبینو نژاد ویستار انجام شد. ابتدا به دنبال بی‌هوشی و ثابت کردن سر حیوان در دستگاه استریوتاکسی به صورت دو طرفه، روی ناحیه قشراوربیتوفرونتال کانول راهنما قرار داده شد. یک هفته بعد، به دنبال بهبودی بعد از جراحی، با روش رفتاری انگل دوره خواب در آنها ارزیابی و سپس با کمک الکترود تحریکی الکتریکی، ناحیه مزبور تخریب الکتریکی شد و سپس دوباره دوره خواب با روش فوق ارزیابی شد. نتایج قبل و بعد از تخریب با هم مقایسه و با آزمون آماری تی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها : تخریب الکتریکی ناحیه قشر اوربیتوفرونتال به طور قابل توجهی دوره خواب را در مقایسه با گروه شاهد افزایش داد($p<۰/۰۱$).

نتیجه‌گیری : یافته‌های فوق نشان می‌دهد که ناحیه قشر اوربیتوفرونتال نقش بسیار مهمی در زمان و دوره خواب و بیداری دارد.

کلید واژه‌ها : اوربیتوفرونتال، خواب، دستگاه اعصاب

* استادیار مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی سمنان
آدرس مکاتبه : سمنان، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، تلفن ۳۳۳۲۰۸۰- ۰۲۳۱

✡Email: aavaf43@yahoo.com

*** مقدمه :**

خواب یک حالت منظم، تکرار شونده، برگشت‌پذیر و از فرایندهای زیست‌شناختی است که از ماه سوم زندگی شروع‌می‌شود. از مشخصه های آن آرامش نسبی و بالا رفتن آستانه تحریک نسبت به محرک‌های خارجی، در مقایسه با بیداری است. خواب یک فرآیند دوره ای و فعال عصبی است که توسط نواحی پراکنده‌ای در ساقه مغز و با ارتباط با سایر مناطق مغز حفظ و کنترل می‌شود. در پستانداران دو حالت خواب شامل خواب با امواج آهسته و خواب با حرکت های‌سریع چشم و امواج سریع شناخته شده است.[۱و۲] هر یک از این حالت‌ها به طور متفاوت تحت تأثیر سیستم‌های میانجی عصبی موجود در دستگاه اعصاب مرکزی قرار می‌گیرند. این سیستم‌های میانجی عصبی شامل سیستم‌سروتونرژیک، دوپامینرژیک، گاباارژیک و غیره هستند.[۳و۴و۵]

عوامل تنظیم کننده خواب و بیداری عبارتند از: عوامل‌داخلی شامل هورمون ها و فعالیت های عصبی و عوامل‌خارجی شامل طلوع و غروب آفتاب و فعالیت جسمانی واستراحت، زمان غذاخوردن و ترکیبات غذا، محرک های‌اجتماعی و محیطی مانند افزایش صدای ترافیک صبحگاهی.[۶]

یکی از ساختارهای مهم و ضروری برای رویدادهای خواب و بیداری قشراوربیتوفرونتال است. به طوری که نتایج بررسی خواب با حرکت‌های سریع چشم نشان داد که فعالیت نواحی‌ارتباطی بینایی افزایش، اما فعالیت قشر بینایی اولیه‌کاهش می‌یابد. همچنین نتایج توموگرافی با کمک انتشار پوزیترون نشان داد که میزان جریان خون برخی مراکز مغزی به ویژه قشراوربیتو فرونتال طی دوره خواب و بیداری به شدت افزایش می‌یابد.[۷]

مطالعه دیگری در زمینه بررسی محرومیت خواب نشان داد که قشر اوربیتوفرونتال در محرومیت خواب دخیل است ودر پاسخ‌های درمانی نقش مهمی دارد.[۳و۸و۹]

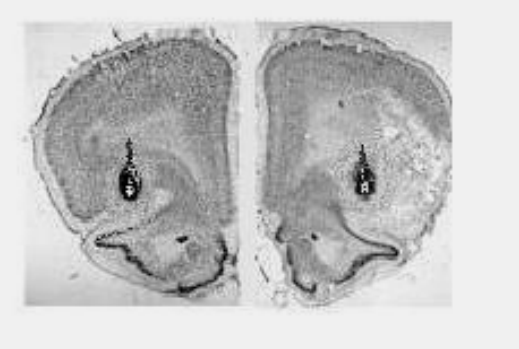
مواد میانجی متعددی از جمله سیستم‌های دوپامینرژیک و نورآدرنرژیک، کلی نرژیک و غیره در تغییر دوره‌های خواب نقش دارند و شواهد متعدد حضور این سیستم‌ها در ناحیه قشراوربیتوفرونتال را تأیید می‌نمایند.[۱۰و۱۱] از طرفی وجود ارتباط آوران و وابران عصبی این ناحیه با قشرگیجگاهی و دیگر نواحی قشری و سیستم لیمبیک شاهدی برنقش احتمالی این ناحیه در خواب از طریق سیستم های میانجی عصبی است.[۱۱] در افرادی که‌دچار فراموشی می شوند نوعی قطع ارتباط بین تالاموس و قشر اوربیتوفرونتال دیده می شود. در بیماران الزایمر که سیستم کولینرژیک در ناحیه قشر اوربیتوفرونتال دچار اختلال می شود، فراموشی و اختلال در دوره‌های خواب مشاهده می‌شود.[۳] هدف مطالعه حاضر ارزیابی نقش قشر اوربیتوفرونتال در دوره‌های خواب و بیداری است.

*** مواد و روش‌ها :**

این مطالعه تجربی در سال ۱۳۸۰ در بخش فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان بر روی ۱۲سر موش نر آلبینو نژاد ویستار با وزن ۲۲۰ تا ۲۵۰گرم انجام شد. موش‌ها در قفس‌های چهارتایی و درجه حرارت ۲۲ درجه سانتی‌گراد و ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی، در حالی‌که غذا و آب به طور آزادانه در اختیار داشتند، نگه‌داری می‌شدند.

روش قراردادن کانول به این صورت بود که ۱۰ دقیقه قبل از بی هوشی و جراحی داروی سولفات آتروپین (۰/۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) به صورت داخل صفاقی‌تزریق می‌شد. سپس موش‌ها با تزریق داخل صفاقی داروی تیوپنتال سدیم (۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) بی‌هوش می‌شدند. پس از بی‌هوش شدن، جمجمه موش در دستگاه استریوتاکسی ثابت شده و دو کانول ازجنس استیل (شماره ۲۲ و با طول ۱۰ میلی‌متر) بر اساس اطلس پاکسینوس و واتسون در سوراخ‌های ایجاد شده در جمجمه، هر دو طرف مغز بالای ناحیه قشر

اوربیتوفرونتال (۳ میلی‌متر جلوی نقطه برگما و ۳ میلی‌متر به طرفین و عمق ۳ میلی‌متر از سطح‌جمجمه) قرار داده شد.[۱۲] در ضمن فاصله انتراورال ۳/۳- میلی‌متر بود. کانول‌ها با کمک دوپیچ عینک و اکریل‌دندان پزشکی به جمجمه ثابت شدند. برای باز نگه داشتن‌کانول از سیم مسی که به روغن معدنی آغشته شده بود و در داخل کانول قرار می‌گرفت، استفاده شد. بلافاصله پس ازجراحی برای جلوگیری از عفونت، پنی سیلین، به میزان۱۵۰۰۰تا۳۰۰۰۰ واحد به صورت عضلانی تزریق شد. موش‌ها تا زمان به هوش آمدن در درجه حرارت کنترل شده‌قرار داشتند. بعد از پایان جراحی حداقل ۷ روز به موش‌ها استراحت داده شد تا بهبود یابند و استرس جراحی از بین برود و سپس آزمایش‌های مربوطه انجام گرفت(شکل شماره ۱).



شکل ۱- فتوگراف رنگ‌آمیزی شده از محل تخریب بافت

به دنبال بهبودی بعد از جراحی، ابتدا موش‌ها به عنوان گروه شاهد انتخاب و دوره خواب در آنها با روش رفتاری انگل ارزیابی شد. سپس به دنبال تخریب ناحیه مزبور، همین گروه به عنوان گروه آزمون ارزیابی شد.

با توجه به این که زمان خواب طبیعی موش‌ها محدود به ساعت ۱۰ صبح تا ۴ بعدازظهر است، تمام آزمایش‌ها فقط در این محدوده زمانی انجام گرفت. سعی شد فواصل زمانی ثابت و مشخص در هر موش رعایت شود و هرموش چهار بار، هر بار به مدت یک ساعت، در چهار روز متوالی و طی دو مرحله قبل از تخریب و بعد از تخریب ارزیابی شود.

برای بررسی دوره و زمان خواب ابتدا حیوان در داخل‌قفسه مخصوصی که روی آن با سیم‌های نرم و نازک پوشیده شده‌بود قرار گرفت و این قفسه بر روی کیسه‌های لاستیکی‌مخصوص پر شده از آب که توسط رابط به هم راه داشتند و ازیک طرف به مبدل متصل بود قرار داده شد. مبدل از طرف دیگر به دستگاه فیزیوگراف (مدل Beckman) اتصال داشت. قبل از این که آزمایش شروع شود به حیوان اجازه داده می‌شد به مدت نیم ساعت در این‌حالت در داخل قفسه بماند تا ترس و اضطرابش از بین رفته و نسبت به محیط آشنا شود. سپس دستگاه فیزیوگراف روشن می‌شد. دستگاه فیزیوگراف دارای قلمی است که باسرعت ۰/۱ میلی متر بر ثانیه بر روی کاغذ اسپیرومتر که دردستگاه تعبیه شده حرکت می‌کند. عملکرد این سیستم طوری است که هر نوع حرکتی از طرف حیوان ازطریق کیسه‌های لاستیکی به مبدل و از آنجا به‌دستگاه فیزیوگراف انتقال پیدا می‌کند. بنابر این در تمام‌مدتی که حیوان در حال خواب باشد خط مستقیمی توسط قلم دستگاه بر روی کاغذ اسپیرومتری رسم می‌شود و پایان‌خواب و بیدار شدن حیوان توسط قلم ثبات بر روی کاغذاسپیرومتری ثبت می‌شود.[۱۳و۱۴] لازم به یادآوری است که در تمام مدت آزمایش شرایط محیطی شامل نور، دما و غیره‌ثابت نگه داشته می‌شد.

موش‌ها در زمان های مورد نظر از طریق کانول‌های تعبیه شده به طور دو طرفه تحت تخریب الکتریکی با کمک تخریب ساز قرار گرفتند. تحریک تخریب کننده به میزان ۵ میلی‌آمپر در هر طرف با الکترود نقره‌ای به طول ۱۲ میلی متر تعبیه شده در کانول شماره ۲۷ و

حاوی دو قطب مثبت و منفی در مدت ۶ ثانیه داده می‌شد.

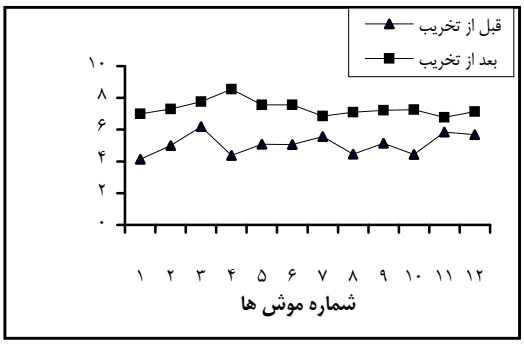
بعد از کامل شدن آزمون‌های رفتاری، موش‌ها با ۱/۵ گرم به ازای کیلوگرم اورتان بی‌هوش شدند و بعد از پرفیوژن سالین، مغز آنها خارج و برای ۴۸ ساعت در فرمالین۱۰ درصد قرار داده شد. سپس مقاطع۴۰ میکرومتری تهیه و با کریستال ویولت رنگ‌آمیزی شد. برای پی بردن به جایگاه کانول‌ها، بافت در زیر میکروسکوپ نوری مشاهده و مواردی که کانول‌ها در هسته مورد نظر قرار نگرفته بود، از بررسی آماری حذف شد.

نتایج با آزمون‌های آماری غیر پارامتریک من‌ویتنی و تی تجزیه و تحلیل شدند. اختلاف $p<۰/۰۵$ بین گروه‌های مورد آزمایش از نظرآماری معنی‌دار در نظر گرفته شدند.

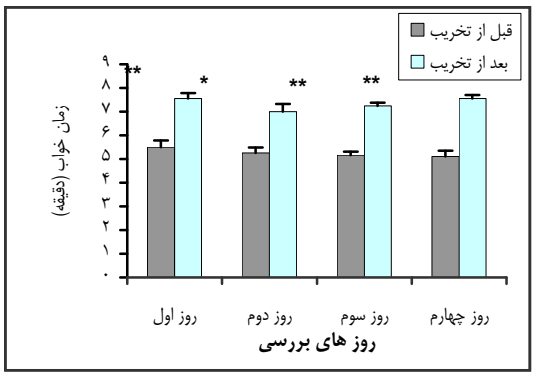
* یافته‌ها :

تجزیه و تحلیل و مقایسه میانگین زمان و دوره خواب در تک تک موش ها (طی چهار مرحله) و در روزهای مختلف (طی چهار روز متوالی که زمان و دوره خواب در آنها ارزیابی شده بود) در طی زمان قبل از تخریب (کنترل) و بعد ازتخریب نشان داد که تخریب قشراوربیتوفرونتال موجب طولانی شدن دوره وزمان خواب می‌شود ($p<۰/۰۰۱$)(نمودارهای شماره ۱و۲).

نمودار ۱- مقایسه میانگین زمان و دوره خواب تک تک موش‌ها در روزهای مختلف قبل و بعد از تخریب



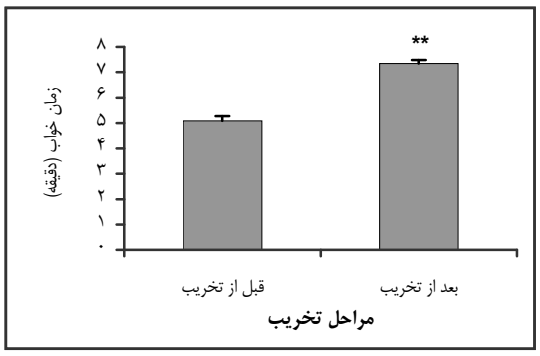
نمودار ۲- مقایسه میانگین زمان و دوره خواب موش‌ها قبل و بعد از تخریب قشر اوربیتوفرونتال



$p<۰/۰۰۱$ ** $p<۰/۰۱$ *

همچنین مقایسه میانگین زمان و دوره خواب در همه موش ها حاکی از این بود که تخریب ناحیه‌قشراوربیتوفرونتال در مقایسه با زمان قبل از تخریب به طورمعنی‌داری دوره خواب را افزایش داده است($p<۰/۰۰۱$)(نمودار شماره ۳).

نمودار ۳- مقایسه میانگین زمان خواب در همه موش‌ها قبل و بعد از تخریب



* بحث و نتیجه‌گیری :

یافته‌های این مطالعه نشان داد که تخریب و غیرفعال‌سازی ناحیه قشراوربیتوفرونتال موجب افزایش دوره خواب وکاهش زمان بیداری می‌شود. این یافته‌ها با مطالعه‌های قبلی بر روی‌گربه که نشان داده بود به دنبال تزریق توکسین در قشر اوربیتوفرونتال تغییرات آسیب‌شناسی درخواب ایجاد می‌شود و دوره بیداری کوتاه و دوره امواج‌آهسته و فاز متناقض‌خواب پیشرفت پیدا می‌کند، همخوانی دارد.[۱۵و۱۶] همچنین نتایج مطالعه

دیگری نشان داد، تحریک الکتریکی قسمت های مشخصی ازقشر مغز میمون موجب افزایش فعالیت سیستم مشبک و بروز علائم بیداری و برانگیختگی در الکتروانسفالوگرام می‌شود و مؤثرترین مناطق قشرمغز شکنج گیجگاهی فوقانی و ناحیه اوربیتوفرونتال هستند، که تحریک این نواحی حیوان را بیدار می‌کند.[۶] در مطالعه دیگری با کمک توموگرافی و انتشار پوزیترون، دیده شد که در هنگام بیداری میزان گلوکوز و جریان خون ناحیه اوربیتو فرونتال به شدت افزایش یافته و در هنگام خواب کاهش می‌یابد و غیرفعال‌سازی ناحیه موجب خواب عمیق می‌شود که این نکته تأیید دیگری بر یافته تحقیق حاضر است.[۱۶]

مشخص نیست که افزایش دوره خواب به دنبال تخریب ناحیه‌اوربیتوفرونتال، ناشی از تغییر فعالیت نورون‌های دخیل درخواب است یابه علت غیرفعال شدن فیبرهای عبوری از میان این‌ناحیه. احتمال می‌رود تخریب این ناحیه بر فیبرهای عبوری اثرکرده و از این طریق سبب تغییر در دوره خواب شده باشد. مطالعه های قبلی نشان داده است که‌شبکه‌ای از فیبرهای عصبی خروجی از قشر مغز به‌تشکیلات مشبک می‌روند و مسیری را ایجاد می‌کنند که به‌وسیله آن وقایع داخل قشری می‌توانند موجب بروز بیداری شوند.[۶و۱۱]

نکته مهم و مورد تأیید این مطالعه آن است که احتمالاً یک سیستم مهارکننده زمان خواب یا یک سیستم تحریک و فعال کننده که در بیداری و هوشیاری نقش دارد دراین ناحیه فعالیت می‌کندکه به دنبال تخریب این ناحیه، فعالیت آن سیستم مهار و اثرات آن به شکل طولانی شدن دوره خواب ظاهر می‌شود. در بررسی خواب با حرکت‌های سریع چشم با کمک‌آزمایش توموگرافی با انتشار پوزیترون در زمینه در دسترس قرار گرفتن گلوکز طی دوره خواب، نتایج نشان داد که یک فعالیت نسبی همراه با افزایش مصرف گلوکز در ناحیه اوربیتوفرونتال مشاهده شده که می‌تواند ناشی از فعالیت این ناحیه طی دوره خواب باشد.[۱۷]

از آنجا که یکی از عوامل داخلی تنظیم کننده خواب و بیداری هورمون‌ها و فعالیت سیستم‌های میانجی عصبی هستند و همچنین با توجه به حضور سیستم های میانجی عصبی دوپامینرژیک، نور آدرنرژیک و کلی‌نرژیک در ناحیه قشر اوربیتوفرونتال که در تغییر دوره های خواب نقش دارند، احتمال دارد این ناحیه از طریق دخالت در سیستم‌های میانجی عصبی بر زمان و دوره خواب اثر گذارد.[۱۰و۱۱] به ویژه شواهد نشان داده است که تزریق‌آنتاگونیست سیستم نورآدرنرژیک به داخل ناحیه مزبور موجب تغییرات دوره‌های خواب و بیداری می‌شود.[۳]

به طور کلی این مطالعه نشان داد که قشر اوربیتوفرونتال در تنظیم دوره‌های خواب و بیداری نقش مهمی بازی می‌کند و احتمالاً این اثر وابسته به نواحی دیگر تأثیرگذار بر روی این قسمت است. البته برای تعیین دیگر سیستم‌های میانجی عصبی درگیر و دیگر عوامل، مطالعه‌های بیش‌تری لازم است.

*** سپاسگزاری :**

از راهنمایی‌های ارزنده آقای دکتر علایی تقدیر می‌شود.

*** مراجع :**

1. Guyton AC, Hall JE. Textbook of medical physiology, 9th ed, Philadelphia, Saunders Co, 2000, 689-93

2. Maquet P, Degueldre C, Delfiore G, Aerts J,Peters JM, Luxen A, Franck G. Functional neuroanatomy of human slow wave sleep. J Neurosci 1997; 17(8): 2807-12

3. Zald DH, Pardo JV. Emotion, olfaction and the human amygdala: amygdala activation during aversive olfactory stimulation. Proc Natl Acad Sci USA 1997; 94: 4119-24

4. Volk SA, Kaendler SH, Hertel A, Maul FD, Manoocheri R, Weber R, Georgi K, Pflug B, Hor G. Can response to partial sleep

deprivation in depressed patients be predicted by regional changes of cerebral blood flow? Psychiatry Res 1997; 75(2): 67-74

5. Zald DH. Aversive gustatory stimulation activates limbic circuits in humans Brain 1998; 121: 1143-54

6. Ganong WF Review of medical physiology. 19th ed, Appelton & Lange Co, 1999, 185-90

7. Kryzhanovskii GN, Makul'kin RF, Gun AA. Prolongation of sleep following creation of a generator of pathologically enhanced excitationin the orbital cortex. Bull Eksp Biol Med 1977; 84(11): 531-4

8. Hofle N, Paus T, Reutens D, Fiset P, Gotman J, Evans AC, Jones BE. Regional cerebral blood flow changes as a function of delta and spindle activity during slow wave sleep in humans. J Neurosci 1997; 17(12): 4800-8

9. Cortelli P, Gambetti P, Montagna P, Lugaresi E. Fatal familial insomnia: clinical features and molecular genetics. J Sleep Res 1999; 8: 23-9

10. Zald DH, Kim SW. Anatomy and function of the orbital frontal cortex 1: anatomy, neurocircuitry and obsessive-compalsive disorder. J Neuropsychiatry, 1996; 8: 125-38

11. Zald DH, Kim SW. Anatomy and function of the orbital frontal cortex, 2: function and relevance to obsessive-compalsive disorder. J Neuropsychiatry 1996; 8: 249-61

12. Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinate. 2nd ed, Orlando, Academic Press, 1997, 1-20

۱۳. علایی ح. اثرات ۵- هیدروکسی تریپتوفان و آیدازوکسان بر روی زمان خواب به دو روش الکتروفیزیولوژی و رفتاری. مجله دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد، شماره ۶۳، بهار ۱۳۷۸: ۶۳-۵۵

14. Angel A. An evaluation of adrenergic systemon sleeping time. J Physiology 1988; 34: 45-7

15. Batrak GE, Khrustalev SI, Makarenko AN. Effect of the orbitofrontal zone of the rat cerebral cortex on the resistance of the supraoptic nuclei of the hypothalamus to either. Farmacol Toksikol, 1981; 44(1): 25-30

16. Kajimura N, Uchiyama M, Takayama Y, Uchida S, Uema T, Kato M. Activity of midbrain reticular formation and neocortex during the progression of human non-rapid eye movement sleep. J Neurosci 1999; 19(22): 10056-73

17. Nofzinger EA, Mintun MA, Wiseman M, Kupfer DJ, Moore RY. Forebrain activation in REM sleep: an FDG PET study. Brain Res 1997 Oct; 770(1-2): 192-201