

## *Cinnamaldehyde Antagonizes REM Sleep Reduction Induced by Immobilization Stress in Rats*

Fatemeh Erfani Sharifian<sup>1,2</sup>,  
Farideh Bahrami<sup>1,2</sup>,  
Shahin Zekri<sup>3</sup>,  
Hedayat Sahraei<sup>4</sup>

<sup>1</sup> MSc Student in Physiology, Neuroscience Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>2</sup> Assistant Professor, Department of Physiology and Medical Physics, Faculty of Medicine, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>3</sup> Medical Student, Student Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>4</sup> Professor, Neuroscience Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received December 15, 2018 ; Accepted April 23, 2019)

### **Abstract**

**Background and purpose:** Sleep and stress are linked in a bidirectional manner. Immobilization stress is a simple model that could be used easily in animal studies for understanding the neurobiology of stress-sleep relationship. Cinnamaldehyde as a herbal medicine with antioxidant activities could be investigated in modulating sleep-stress interaction.

**Materials and methods:** In the present study, we examined the effects of immobilization stress combined with physical stress on sleep stages in male Wistar rats. Sleep stages were evaluated through EEG and EMG signals before and after stress induction during three consecutive days. The rats received Cinnamaldehyde orally by gavage at the dose level of 20 mg/kg/day. The treatment was started one week before surgery and lasted for 18 days.

**Results:** Findings showed that immobilization stress decreased the rapid eye movement (REM) sleep ( $P= 0.01$ ). In the stress exposed group treated with Cinnamaldehyde not only there were no decrease in REM sleep but also there were increase in REM and non-rapid eye movement (NREM) sleep.

**Conclusion:** Cinnamaldehyde could improve sleep and repair REM sleep disturbance induced by stress.

**Keywords:** sleep, REM, NREM, immobilization stress, Cinnamaldehyde

J Mazandaran Univ Med Sci 2019; 29 (175): 14-24 (Persian).

\* **Corresponding Author:** Farideh Bahrami - Faculty of Medicine, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran (E-mail: F.Bahrami@bmsu.ac.ir)

## تقابل سینامالدهید با کاهش خواب REM ایجاد شده بر اثر استرس بی حرکتی در رت

فاطمه عرفانی شریفیان<sup>۱</sup>،<sup>۲</sup>

فریده بهرامی<sup>۱</sup>

شاهین ذکری<sup>۳</sup>

هدایت صحرایی<sup>۴</sup>

### چکیده

**سابقه و هدف:** خواب و استرس پدیده‌هایی هستند که به صورت دوجانبه با یکدیگر مرتبط بوده و یکدیگر را تحت تاثیر قرار می‌دهند. در این میان استرس بی حرکتی روشی قابل اجرا در مدل‌های حیوانی است که می‌توان به وسیله آن به نورویولوژی ارتباط استرس و خواب پی برد. سینامالدهید به عنوان یک داروی گیاهی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی است که استفاده از آن در جهت تیمار اختلالات خواب مرتبط با استرس قابل بررسی است.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه اثرات استرس بی حرکتی توام با استرس فیزیکی به صورت تنگی جا بر مراحل خواب رت‌های نژاد ویستار بررسی شده است. مراحل خواب از طریق ثبت EEG و EMG قبل و بعد از استرس طی سه روز متوالی اندازه گیری شدند. رت‌ها توسط سینامالدهید با دوز ۲۰ mg/kg/day به صورت گاواژ تیمار شدند. این تیمار از یک هفته قبل از جراحی آغاز و تا پایان آزمایش به مدت ۱۸ روز تداوم داشت.

**یافته‌ها:** نتایج نشان دادند که مدل استرس بی حرکتی به کار برده شده در این مطالعه منجر به کاهش اندک اما معنی‌دار خواب REM در رت‌ها می‌شود ( $P=0/01$ ). همچنین تیمار با سینامالدهید نه تنها توانست از کاهش خواب REM پس از استرس ممانعت به عمل آورد بلکه به طور معنی‌داری میزان خواب REM و NREM را افزایش نیز داد.

**استنتاج:** یافته‌های این مطالعه حاکی از اثر مفید سینامالدهید در پیش برد مراحل خواب بوده و این ماده قادر به اصلاح کاهش خواب REM پس از استرس بی حرکتی می‌باشد.

**واژه های کلیدی:** خواب، REM، NREM، استرس بی حرکتی، سینامالدهید

### مقدمه

جایی مشخص می‌شود که اختلال در این فرایند مهم می‌تواند شرایط ابتلا به انواع بیماری‌ها از جمله بیماری‌های عصبی، قلبی عروقی، سرطان و ... را فراهم کند (۲). برهم ریختگی خواب به ویژه در دراز مدت

خواب به عنوان یک فرایند فیزیولوژیک طبیعی در بین تمام موجودات زنده حتی حشرات دیده می‌شود (۱) و نقش مهمی در عملکرد طبیعی بدن موجود زنده دارد. اهمیت خواب در حفظ سلامتی موجودات زنده از آن

E- mail F.Bahrami@bmsu.ac.ir

**مؤلف مسئول:** فرید بهرامی: تهران، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی و فیزیولوژی پزشکی

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، تهران، ایران

۲. استادیار، گروه فیزیولوژی و فیزیولوژی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، تهران، ایران

۳. دانشجوی پزشکی، مرکز تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، تهران، ایران

۴. استاد، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۹/۲۴ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۷/۱۰/۴ تاریخ تصویب: ۱۳۹۸/۲/۸

استرس و ایجاد اختلال در مراحل خواب از روشی استفاده شد که استرس بی حرکتی توام با استرس فیزیکی (تنگی جا) نیز باشد. با توجه به اثرات مخرب عوامل استرس‌زا در برهم ریختگی هموستاز و سیستم‌های نوروترانسمیتری و همچنین افزایش عوامل اکسیدانی در بدن (۱۰، ۱۱) و در پی آن اختلال در فرایندهای فیزیولوژیک همچون خواب (۱۲) در این مطالعه ما از ماده سینامالدهید که به عنوان یک آنتی‌اکسیدان شناخته شده است و نقش آن در ترمیم اختلالات نورومتابولیک مطرح است (۱۳) جهت تیمار استفاده کرده‌ایم. سینامالدهید ماده موثر گیاه دارچین است. دارچین یکی از قدیمی‌ترین ادویه‌هاست که به عنوان چاشنی غذایی به وفور استفاده می‌شود. این ماده حاوی سینامالدهید، اوژنول، اسید سینامیک و سایر ترکیبات است (۱۴). هرچند امروزه محققین در صدد کشف مکانیسم‌های ضد دیابتی و محافظت نورونی این ماده بر آمده‌اند و نشان داده‌اند که سینامالدهید احیاناً از طریق خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی و افزایش نوروترانسمیترهای مورد نیاز می‌تواند نقش مفید در تیمار بیماری‌های دیابت و آلزایمر ایفا کند (۱۷-۱۵) اما تاکنون مطالعه برجسته و مشخصی در مورد اثرات این ماده بر مراحل خواب ارائه نشده است و به ویژه هیچ مطالعه‌ای به اثرات این ماده بر تغییرات خواب پس از استرس نپرداخته است. ما در مطالعه خود بر آن شدیم تا ضمن روشن کردن اثرات سینامالدهید بر مراحل خواب REM (NREM) و REM و بیداری در رت، نقش این ماده بر تداخل دو پدیده استرس و خواب را مورد ارزیابی قرار دهیم.

## مواد و روش‌ها

تعداد ۲۱ موش رت نر، نژاد ویستار به وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم و سن حداکثر ۲-۳ ماه از حیوانخانه دانشگاه بقیه‌الله تهیه شده و در شرایط ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی و دمای ۲۴-۲۲ درجه سانتیگراد

در سیستم عصبی منجر به تغییرات خلق و خو و ایجاد اختلالات ذهنی می‌شود و اثرات مضر را در عملکردهای شناختی به وجود می‌آورد (۳). پژوهشگران نشان داده‌اند که یکی از عوامل مؤثر بر خواب، استرس است. در واقع استرس واکنش بدن به هر گونه تغییری است که نیازمند سازگاری یا پاسخ است (۴). در سال‌های اخیر مطالعات زیادی بر روی اثر استرس بر الگوهای خواب در حیوانات انجام شده است. در این مطالعات انواع متفاوتی از استرسورها به کار رفته و نتایج متفاوتی گزارش شده است (۵). بی‌حرکتی یا Immobilization یکی از روش‌های معمول القای استرس در جوندگان است و مطالعاتی که اثر استرس روی خواب را بررسی می‌کنند به شکل‌های مختلف (حاد و مزمن) از این نوع استرس استفاده کرده‌اند. این روش به عنوان یک مدل قابل اجرا و آسان برای ایجاد استرس سایکولوژیک و فیزیکی استفاده می‌شود (۶). بررسی برخی از مطالعات حیوانی نشان می‌دهند که استرس بی‌حرکتی میزان خواب با امواج آهسته (Slow Wave Sleep (SWS را کاهش و خواب با حرکت سریع چشم (REM) را افزایش می‌دهد. این تغییرات می‌تواند به دلیل تغییرات در ترشح کورتیکوسترون و یا ریتم سیرکادین باشد (۷). گروه دیگری از مطالعات تغییرات خواب به دنبال استرس بی‌حرکتی را با کاهش زمان امواج دلتا در خواب، تأخیر در وقوع خواب REM و یا افزایش آن و همچنین منقطع شدن خواب گزارش کرده‌اند (۸). Bonnet و همکارانش نشان دادند در موش‌هایی که به مدت ۴ ساعت در طی ۳ روز بی‌خوابی در شرایط استرس بی‌حرکتی قرار گرفتند، میزان خواب REM کاهش پیدا می‌کند (۷). همچنین نشان داده شده است که دوره‌های طولانی مدت بی‌حرکتی می‌تواند همراه با کاهش خواب REM و خواب SWS باشد (۹). در مجموع به نظر می‌رسد که طول دوره استرس و مدت زمان آن و نوع استرس به کار رفته در نتایج به دست آمده موثر هستند. در این مطالعه به منظور بررسی نقش

نگهداری شدند و در این آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند. همچنین لازم به ذکر است که مراحل انجام شده در این آزمایش با مجوز کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله با کد (IR.BMSU.REC.1396.393) صورت پذیرفته است.

#### روش جراحی و الکتروود گذاری

برای بررسی خواب و تشخیص ۳ مرحله خواب REM و NREM و بیداری حداقل ثبت دو موج EEG و EMG لازم هستند. بدین منظور پس از بیهوش کردن حیوان توسط مخلوط کتامین ۶۵ mg/kg و ۱۴g/kg رامپون آن را در دستگاه استروتاکی قرار داده و جهت ثبت EEG، ۳ پیچ ریز از جنس Stainless steel در ناحیه جمجمه کاشته شدند. دو پیچ به عنوان الکترودهای فعال در دو ناحیه قدامی آهیانه‌ها (۳ میلی متر عقب تر از برگما و ۳ میلی متر به سمت جانبی) و یک پیچ به عنوان الکتروود اتصال به زمین در ناحیه خلفی یک آهیانه (۷ میلی متر عقب تر از برگما و سه میلی متر به سمت جانب). سپس این سه پیچ از طریق سیم‌های ظریف روکشدار به ۳ پین مربوط به کانکتور متصل می‌شدند. جهت دستیابی به سیگنال EMG از دو الکتروود از جنس Stainless steel روکشدار استفاده شد که توسط سوزن هادی به داخل عضلات پس سر فرو برده شدند و سر دیگر الکترودها از پس سر خارج شده و در بالای جمجمه به دو پین دیگر کانکتور ۵ پینه متصل شدند و در نهایت کانکتور توسط آکریل دندانپزشکی در سطح جمجمه‌ی حیوان ثابت شد (۱۸).

#### مراحل ثبت و آنالیز خواب رت

ثبت امواج EEG و EMG یک هفته پس از الکتروود گذاری (دوره recovery) توسط دستگاه e Wave (ساخت ایران) تهیه شده از شرکت پرتو دانش (Science beam) انجام شد. فرکانس نمونه برداری ۳ kHz بود. برای آنالیز مراحل خواب حیوان حداقل ثبت

همزمان دو پارامتر EEG و EMG مورد نیاز است. در مرحله بیداری فعالیت مغزی امواج بیداری و یا بتا (فرکانس ۳۰ Hz و دامنه کم تر از ۱۰۰ میکروولت) را نمایش می‌دهند و در این هنگام فعالیت عضلانی بسته به میزان حرکت حیوان و به ویژه حرکت سر فعالیت بالایی را نشان می‌دهد (بروز دامنه‌های بالاتر از ۲۰۰ میکروولت و فرکانس‌های چند صد هرتز). هنگام ورود حیوان به مراحل خواب به تدریج در ثبت EEG امواج آهسته با دامنه بلند و فرکانس آهسته آشکار می‌شوند. ابتدا دوک‌های خواب (فرکانس ۱۰ تا ۲۰ هرتز و دامنه ۱۰۰ میکروولت) و سپس امواج آهسته دلتا (دامنه ۱۵۰ میکروولت و فرکانس ۰/۵ تا ۴ هرتز). در این هنگام امواج EMG، هم به لحاظ دامنه و هم فرکانس کاهش می‌یابند. با ورود حیوان به یک دوره از خواب REM امواج EEG به امواجی شبیه به بیداری تغییر پیدا می‌کنند و تغییر آن‌ها به صورت دامنه کوتاه تر از دامنه‌ی امواج خواب NREM و فرکانسی بالاتر است. کلید تشخیص این مرحله از بیداری افت بسیار شدید امواج EMG می‌باشد (تصاویر شماره ۲ و ۱). در کلیه مراحل نرم افزار eWave از طریق انجام آنالیز فوریر ترانسفورم حوزه‌های فرکانسی مختلف تشکیل دهنده سیگنال EEG را استخراج و به صورت اسکوپ و نمودار جداگانه‌ای نمایش می‌داد. این امر می‌توانست به شناخت وقوع امواج بلند و آهسته خواب و همچنین امواج کوتاه و سریع بیداری کمک نماید. لازم به ذکر است همان‌طور که در تصویر شماره ۱ نشان داده شده است کلیه مراحل آنالیز و استخراج مراحل خواب REM و NREM و بیداری با انطباق سیگنال‌های EEG و EMG به طور همزمان و چشمی صورت می‌پذیرفت (تصویر شماره ۱).

در رت دوره‌های خواب NREM حدود ۱۲-۱۰ دقیقه و خواب REM ۳-۱ دقیقه مشاهده شدند. البته امکان وقوع دوره‌های بسیار کوتاه از خواب REM و بیداری بسیار کوتاه مدت (کم تر از یک دقیقه) نیز وجود دارد که به یک نمونه در تصویر شماره ۱ با فلش

ایجاد استرس دارای ابعاد  $7 \times 7 \times 15$  سانتی متر و جنس آن از پلکسی گلاس مات بود به طوری که حیوان قادر به مشاهده بیرون نبود. کف این جعبه توسط سنگ‌های ناهموار پوشیده شده بود که محیط تنگ و ناهموار برای حیوان ایجاد می‌کرد. زمان استرس به مدت ۲ ساعت روز از ساعت ۱۰ تا ۱۲ در ۳ روز پیاپی بود که بعد از ثبت خواب پایه اجرا می‌شد.

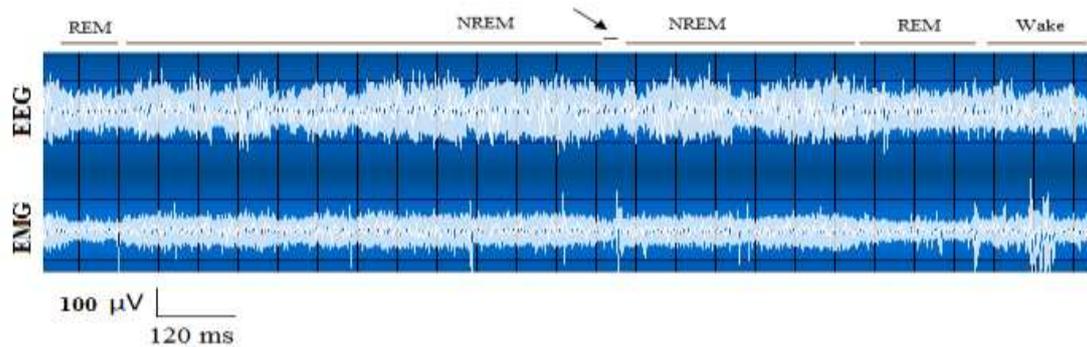
#### تیمار حیوانات توسط سینامالدهید

بر اساس بررسی مطالعات انجام شده، در این مطالعه از دوز ۲۰ میلی گرم از سینامالدهید به ازای هر کیلوگرم وزن حیوان به مدت ۳ هفته به صورت خوراکی (گاواژ) استفاده شد. این مقدار دوز حداقل به مدت ۳ هفته می‌توانست تحت تاثیر اثر گذر اول کبدی

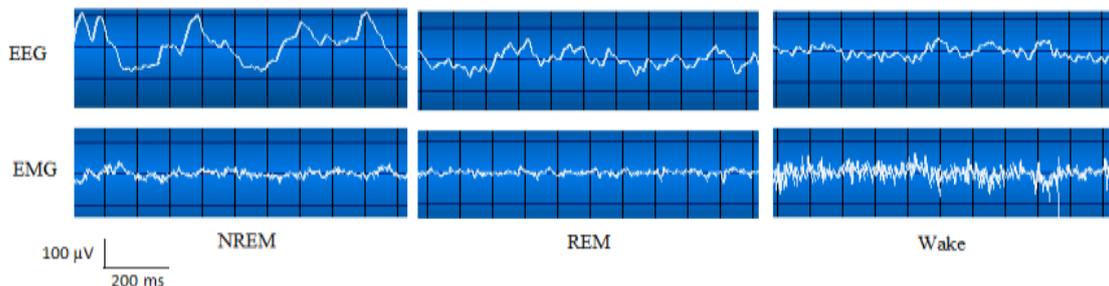
اشاره شده است. در هر حیوان، سیگنال خواب و بیداری به مدت سه روز هر روز از ساعت ۸ تا ۱۰ صبح و در فاز روشنایی ثبت می‌شد و سپس با برقراری میانگین بین این سه روز میزان درصد خواب REM و NREM به عنوان میزان خواب پایه حیوان در نظر گرفته می‌شد. همچنین هر روز پس از اجرای پروتکل استرس نیز مراحل ثبت خواب حداقل ۲ ساعت و در طی ۳ روز پیاپی انجام می‌شد.

پروتکل استرس چندگانه (بی حرکتی در جایگاه باریک و بستر ناهموار)

برای قرار دادن حیوانات در شرایط استرس بی حرکتی از روش ارائه شده توسط Hoheisel و همکاران در سال ۲۰۱۵ با مختصری تغییر استفاده شد (۱۹). محفظه



تصویر شماره ۱: نمایش تغییرات امواج EEG و EMG در مراحل خواب. امواج خواب آهسته در مرحله ی NREM با دامنه بلند به صورت فشرده در ثبت EEG قابل مشاهده هستند. کاهش دامنه EEG همراه با بیش ترین افت در فعالیت EMG، دلالت بر وقوع خواب REM دارند. در هنگام بیداری امواج EMG فعالیت شدید نشان می دهند در حالی که امواج مغزی همچنان شباهت به امواج REM دارند. علامت فلش نشان دهنده وقوع یک دوره بسیار کوتاه از خواب REM و در پی آن یک بیداری خیلی کوتاه دارد.



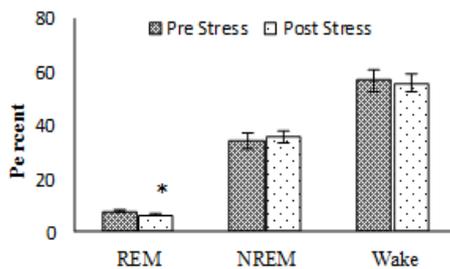
تصویر شماره ۲: نمایش تغییرات امواج EEG و EMG با سرعت بالا در مراحل خواب. در مرحله ی خواب NREM امواج آهسته بفرکانس پایین قابل مشاهده هستند، در هنگام خواب REM این امواج به امواجی شبیه به بیداری (بتا) با سرعت و فرکانس بالا تبدیل شده و همانطور که ملاحظه می‌گردد در این شرایط فعالیت EMG به حداقل مقدار رسیده و با بیدار شدن حیوان فعالیت EMG افزایش یافته در حالی که در نوار EEG امواج پر فرکانس بتا قابل مشاهده هستند.

بیداری قبل از اعمال استرس (میانگین ۳ روز) و پس از استرس (میانگین ۳ روز) از روش آماری paired-t-test استفاده شد. همچنین برای بررسی تاثیر سینامالد هید به تنهایی بر میزان خواب REM و NREM و بیداری بین داده‌های گروه دریافت کننده سینامالد هید و گروه دریافت کننده حلال (Vehicle) از آزمون Independent Samples t-test استفاده شد. لازم به ذکر است که اجرای آزمون ks بیانگر توزیع نرمال داده‌ها بود.

## یافته‌ها

### تاثیر استرس بر روی مراحل خواب و بیداری

نتایج مقایسه میزان مراحل خواب و بیداری قبل و بعد از استرس (در گروه vehicle) نشان داد که مدل استرس بی حرکتی به کار رفته در این مطالعه (بی حرکتی در جای تنگ با بستر ناهموار سنگی) منجر به کاهش معنی دار خواب REM از میانگین  $0.4 \pm 0.1$  درصد به میانگین  $0.43 \pm 0.06$  می‌شود. در حالی که افزایش و یا کاهش معنی داری در مراحل خواب NREM و بیداری مشاهده نشد (نمودار شماره ۱).



نمودار شماره ۱: تاثیر استرس بی حرکتی بر میزان خواب REM و NREM و بیداری این نوع استرس منجر به کاهش معنی دار خواب REM شد. در حالی که تاثیر معنی داری بر میزان خواب NREM و بیداری نشان نداد ( $p < 0.05$ ).

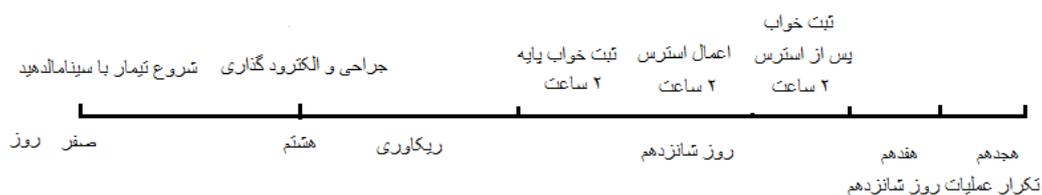
(hepatic first pass effect) قرار نگرفته (۲۰) و اثرات اصلاح کننده رفتاری و همچنین نوروترانسمیتری نیز داشته باشد و از طرفی سمیت نیز نداشته باشد (۲۱). گروه‌های شاهد (Vehicle) نیز فقط حلال روغنی (روغن ذرت مازولا) دریافت می‌کردند. خوراندن سینامالد هید از یک هفته قبل از جراحی تا آخرین روزی که تحت آزمایش قرار داشتند به مدت ۱۸ روز انجام می‌شد.

### گروه بندی و روند مطالعه

گروهی از حیوانات تحت تیمار با سینامالد هید قرار گرفتند ( $n=7$ ) گروه دیگر تحت تیمار با سینامالد هید بوده و وارد پروسه اعمال استرس نیز شدند و میزان خواب آن‌ها قبل و بعد از استرس اندازه گیری شد ( $n=7$ ). گروهی نیز به عنوان گروه کنترل شاهد (vehicle) که حلال سینامالد هید (روغن ذرت) دریافت می‌نمودند و میزان خواب آن‌ها قبل و بعد از استرس اندازه گیری شد ( $n=7$ ). طی ۳ روز هر بار پس از ثبت خواب پایه‌ی روزانه (از ساعت ۸ تا ۱۰ صبح) رت‌ها تحت شرایط استرس‌زا به مدت ۲ ساعت نیز قرار می‌گرفتند. در این گروه از حیوانات پس از هر دوره استرس مجدداً به مدت ۲ ساعت ثبت خواب به عمل می‌آمد (دیاگرام شماره ۱). کلیه مراحل ثبت خواب و یا اعمال استرس در فاز روشنایی انجام شدند. همچنین لازم به ذکر است به منظور جلوگیری از اثرات تشنگی و گرسنگی قبل و بعد از ثبت خواب و یا اعمال استرس آب و غذا در اختیار حیوان قرار می‌گرفت.

### روش‌های آماری

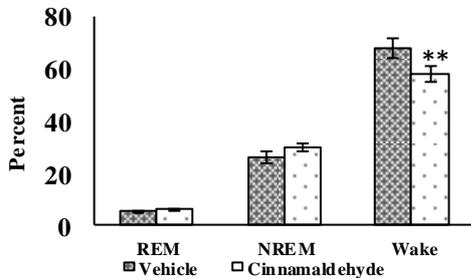
جهت مقایسه مراحل خواب REM و NREM و



دیاگرام شماره ۱:

## تیرسینامالدهید خوراکی بر خواب رات

افزایش یافت ( $p < 0.05$ ). در مقابل میزان بیداری در این حیوانات از میانگین  $61/04 \pm 4/3$  درصد به  $50/06 \pm 3$  کاهش یافت (نمودار شماره ۳).

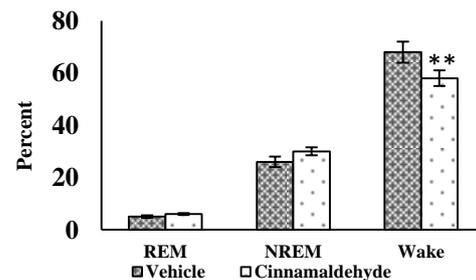


نمودار شماره ۳: تاثیر استرس بر مراحل خواب در شرایط تیمار با سینامالدهید. عدم کاهش میزان خواب REM در شرایط استرس بی حرکتی و در مقابل افزایش میزان خواب REM و NREM به طور معنی دار نشان داده شده است. همچنین کاهش معنی دار میزان بیداری مشاهده می شود ( $p < 0.01$ ) و  $p^* < 0.05$

## بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که به کارگیری استرس بی حرکتی همراه با شرایط فیزیکی نامناسب همچون بستری تنگ و ناهموار در رت می تواند منجر به کاهش میزان خواب REM هر چند کم اما معنی دار در فاز روشنایی شود. همچنین تیمار حیوانات با سینامالدهید از یک هفته قبل از شروع آزمایش و در طی آزمایش نشان داد که در این گروه از حیوانات نه تنها به کارگیری استرس منجر به کاهش خواب REM نمی شود بلکه برعکس افزایش در میزان خواب حیوانات چه در مرحله خواب REM و چه مرحله خواب NREM به وجود می آید و در مقابل از بیداری آن ها کاسته می شود. استفاده از سینامالدهید به تنهایی نیز منجر به افزایش خواب حیوان و در مقابل کاهش بیداری آن ها شد. استرس به صورت مستقیم و همچنین از طریق القا بیماری ها می تواند فرایند فیزیولوژیک خواب را تحت تاثیر قرار دهد. این پدیده به صورت حاد یا مزمن و با مکانیزم های سایکولوژیک و فیزیولوژیک می تواند بر خواب اثر بگذارد. Immobilization یکی از روش های

نتایج نشان دادند که تیمار ۱۸ روزه حیوانات با سینامالدهید با دوز  $20 \text{ mg/kg/day}$  می تواند به طور معنی دار منجر به کاهش بیداری از میانگین  $68 \pm 4$  درصد در گروه دریافت کننده حلال (vehicle) به میانگین  $58 \pm 3$  درصد برسد، که این کاهش بیداری با ( $p < 0.01$ ) معنی دار بود. به طور طبیعی کاهش میزان بیداری به معنی افزایش میزان خواب می باشد. هر چند میزان افزایش دوره های خواب REM و NREM در گروه تیمار شده با سینامالدهید هر یک به تنهایی معنی دار نبودند اما به نظر می رسد که مجموع آن ها به طور معنی دار عمل کرده و با کاهش بیداری میزان خواب حیوان را افزایش داده باشد (نمودار شماره ۲).



نمودار شماره ۲: تاثیر سینامالدهید خوراکی بر میزان خواب و بیداری. مراحل خواب و بیداری حیوانات تحت تیمار با سینامالدهید ( $20 \text{ mg/kg/day}$ ) در مقایسه با خواب پایه در گروه (vehicle)، کاهش معنی دار در بیداری را نشان داد ( $p < 0.01$ )\*\*

تاثیر تیمار با سینامالدهید بر تغییرات خواب ناشی از استرس نتایج مربوط به اندازه گیری مراحل خواب و بیداری در حیواناتی که تحت تیمار با سینامالدهید بوده و همچنین در شرایط استرس زا نیز قرار گرفته بودند نشان داد که میزان خواب REM به طور معنی دار از میانگین  $6/6 \pm 0/5$  درصد قبل از اعمال استرس به  $10/4 \pm 0/9$  پس از استرس افزایش یافت ( $P < 0.01$ ). همچنین میزان خواب NREM نیز در این گروه از حیوانات به طور معنی دار از میانگین  $31/75 \pm 3/2$  درصد قبل از اعمال استرس به  $2/6 \pm 38/3$  پس از آن

معمول القای استرس در جوندگان است. محققین ضمن استفاده از اشکال مختلف این نوع استرس از آن به عنوان استرس سایکولوژیک نیز یاد کرده‌اند (۲۲). در مطالعه حاضر استرس بی‌حرکتی به صورت تلفیق با استرس فیزیکی تنگی جا و بستر ناهموار اجرا شد. در این شرایط کاهش معنی‌دار در خواب REM حیوانات ایجاد شد اما افزایش یا کاهش معنی‌داری در میزان خواب NREM به وجود نیامد. همچنین این شرایط تاثیر قابل توجهی بر بیداری حیوان نیز نداشت. در مطالعه انجام شده در این زمینه توسط Rampin و همکارانش (۱۹۹۱) نشان داده شد که بی‌حرکتی به مدت ۲ ساعت در فاز تاریک، خواب REM را افزایش می‌دهد، در حالی که بر روی خواب NREM اثری ندارد (۲۳).

همچنین Gonzalez (۱۹۹۵) در مطالعه خود اثر بی‌حرکتی ۱ ساعته را با افزایش خواب REM و NREM زارش داد (۲۴).

مطالعه دیگری که توسط Bonnet و همکارانش (۲۰۰۰) در زمینه‌ی استرس بی‌حرکتی انجام شد نشان داد در موش‌هایی که به مدت ۲ ساعت در شرایط استرس قرار گرفتند، خواب REM افزایش پیدا می‌کند اما با افزایش زمان بی‌حرکتی به ۴ ساعت، میزان خواب REM کاهش می‌یابد (۷). همچنین مطالعات نشان دادند که دوره‌های طولانی مدت بی‌حرکتی (۲۲ ساعت در روز به مدت ۴ روز) همراه با کاهش خواب REM و SWS است (۹). لذا مدت زمان استرس بی‌حرکتی از عوامل تعیین کننده در چگونگی اثر آن بر مراحل خواب می‌باشد. از طرف دیگر مطالعات نشان می‌دهند که استرس فیزیکی و استرس سایکولوژیک نیز اثرات متفاوتی بر خواب رت دارند.

در مطالعه انجام شده توسط محققین شوک الکتریکی (Foot Shock) روش رایج استرس فیزیکی در جوندگان، باعث کاهش خواب REM شده (۲۵)، در حالی که در شرایط استرس سایکولوژیک خواب REM افزایش پیدا می‌کند (۲۶). در مجموع این مطالعات

نشان می‌دهند که استرس می‌تواند اثرات قابل توجه و متناقضی بر خواب و مراحل آن داشته باشد که اثرات آن با نوع، شدت و مدت زمان عامل استرس زا تغییر می‌کند (۹). علاوه بر این نژاد حیوان نیز در چگونگی پاسخ حیوان به شرایط استرس زا تاثیر گذار هست (۲۷). لازم به ذکر است که نوروترانسمیترها و همچنین مراکز مشترکی در مغز هستند که در کنترل مراحل خواب و فرایند استرس نقش دارند. در این مورد می‌توان به سیستم لوکوس سرولئوس و محور هیپوتالاموس - هیپوفیز - آدرنال (HPA) اشاره کرد. فعالیت محور HPA با کاهش خواب REM منجر به افزایش بیداری شده و سیستم لوکوس سرولئوس نیز هم در کنترل مراحل خواب و هم در فرایند استرس نقش دارد (۲۸، ۲۹). هرچند عمده مطالعات انجام شده بر روی سینامالدهید حاکی از ویژگی‌های ضد دیابت و ضد آلزایمر و محافظت نورونی این ماده می‌باشد و این ویژگی‌ها نیز متوجه خاصیت آنتی اکسیدانی و ضد التهابی آن است، اما در سال ۲۰۱۶ Akshay و همکاران مطالعه خود را معطوف بر اثرات این ماده بر سطح نوروترانسمیترهای استیل کولین و گابا و گلوتامات در مغز (قشر و هیپوکامپ) داشتند. ایشان در مطالعه خود نشان دادند که سینامالدهید می‌تواند با کاهش فعالیت کولین استراز در حیوانات دیابتی میزان نوروترانسمیتر استیل کولین را در سطح سیناپس‌های مغزی افزایش دهد. همچنین این ماده می‌تواند سطح گلوتامات در مغز را در حیوانات دیابتی افزایش داده و سیکل گابا- گلوتامین- گلوتامات را تنظیم نماید (۱۳). لازم به ذکر است که در هنگام خواب REM نیز فعالیت نواحی هیپوکامپ و به ویژه پونتین تگمنتوم که کولینرژیک می‌باشد و ژنراتور خواب REM محسوب می‌شود، افزایش می‌یابد (۸). از طرفی شواهد بسیاری وجود دارد مبنی بر این که تنظیم خواب، ناشی از تداخل بین مکانیزم‌های هوموستاتیک و سیرکادین است (۳۰، ۳۱). مطالعات نشان می‌دهند که به هنگام خواب SWS و خواب REM میزان جذب

REM و NREM می‌نماید. با توجه به این که در زمینه‌ی تاثیر سینامالدهید بر خواب مطالعات اختصاصی مشاهده نشده است لذا معرفی اثر احتمالی این ماده جهت بهبود کیفیت خواب به ویژه در شرایط استرس زا می‌تواند حائز اهمیت باشد.

### سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله مراتب قدردانی و تشکر خود را از حمایت‌های معاونت هم‌هانگ کنندۀ دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله جناب آقای دکتر متولیان و همچنین معاونت آموزش جناب آقای دکتر عبادی در جهت فراهم آوردن امکانات آزمایشگاهی و ست آپ ثبت خواب اعلام می‌دارند.

گلوکز توسط نواحی لیمبیک (آمیگدال، هیپوکامپ و هیپوتالاموس) افزایش می‌یابد (۳۳،۳۲). لذا شاید بتوان گفت سینامالدهید از طریق کمک به مکانیزم‌های Neurometabolic Coupling (NMC) و تنظیم مصرف متابولیت‌های حامل انرژی باعث عملکرد صحیح سیناپس‌ها و رهایش مناسب نوروترانسمیترها و اجرای صحیح سیکل خواب و بیداری شود (۳۴).

در مجموع نتایج این مطالعه نشان داد که استرس بی‌حرکتی همراه با استرس فیزیکی تنگی جا و بستر ناهموار که حداقل سه روز پیاپی تداوم داشته باشد می‌تواند منجر به اختلال و کاهش خواب REM شود و تیمار مداوم حیوانات با سینامالدهید به صورت خوراکی مانع اثر استرس شده و کمک به حفظ و بروز خواب

### References

1. Helfrich-Förster C. Sleep in insects. *Annu Rev Entomol* 2018;7(63): 69-86
2. Gopalakrishnan A, Ji LL, Cirelli C. Sleep deprivation and cellular responses to oxidative stress. *Sleep* 2004; 27(1): 27-35.
3. Walker MP, Stickgold R. Sleep-dependent learning and memory consolidation. *Neuron* 2004; 44(1): 121-133.
4. Van Reeth O, Weibel L, Spiegel K, Leproult R, Dugovic C, Maccari S. Physiology of sleep (review)—interactions between stress and sleep: from basic research to clinical situations. *Sleep Med Rev* 2000; 4(2): 201-219.
5. Li Xh, Liu NB, Zhang MH, Zhou YL, Liao JW, Liu XQ, et al. Effects of chronic multiple stress on learning and memory and the expression of Fyn, BDNF, TrkB in the hippocampus of rats. *Chin Med J (Engl)* 2007; 120(8): 669-674.
6. Radahmadi M, Hosseini Dastgerdi A, Fallah N, Alaei H. The effects of acute, sub-chronic and chronic psychical stress on the brain electrical activity in male rats. *Physiol Pharm* 2017; 21(3): 185-192.
7. Bonnet C, Marinesco S, Debilly G, Kovalzon V, Cespuoglio R. Influence of a 1-h immobilization stress on sleep and CLIP (ACTH18–39) brain contents in adrenalectomized rats. *Brain Res* 2000; 853(2): 323-329.
8. Armitage R. Sleep and circadian rhythms in mood disorders. *Acta Psychiatr Scand Suppl* 2007; 433: 104-115.
9. Pawlyk AC, Morrison AR, Ross RJ, Brennan FX. Stress-induced changes in sleep in rodents: models and mechanisms. *Neurosci Biobehav Rev* 2008; 32(1): 99-117.
10. Austin AW, Wissmann T, von Kanel R. Stress and Hemostasis: An Update 2013; 39(8): 902-912.
11. Carraro E, Schilirò T, Biorci F, Romanazzi V, Degan R, Buonocore D, et al. Physical Activity, Lifestyle Factors and Oxidative Stress in Middle Age Healthy Subjects. *Int J*

- Environ Res Public Health 2018; 15(6): E1152.
12. Hill VM, O'Connor RM, Sissoko GB, Irobunda IS, Leong S, Canman JC, et al. A bidirectional relationship between sleep and oxidative stress in Drosophila, PLoS Biol 2018; 16(7): e2005206.
  13. Jawale A, Datusalia AK, Bishnoi M, Sharma SS. Reversal of diabetes-induced behavioral and neurochemical deficits by cinnamaldehyde, Phytomedicine 2016; 23(9): 923-930.
  14. Nandam SS, Prakash S, Vangalapati M. Optimization of physico-chemical parameters for the extraction of phenolic components from cinnamon species. J Academia Indus Res 2012; 1(4): 183-185.
  15. Suryanti V, Wibowo FR, Khotijah S, Andalucki N. Antioxidant Activities of Cinnamaldehyde Derivatives. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering; 2018: IOP Publishing.
  16. Modi KK, Roy A, Brahmachari S, Rangasamy SB, Pahan K. Cinnamon and its metabolite sodium benzoate attenuate the activation of p21<sup>rac</sup> and protect memory and learning in an animal model of Alzheimer's disease. PloS one 2015; 10(6): e0130398.
  17. Jana A, Modi KK, Roy A, Anderson JA, Van Breemen RB, Pahan K. Up-regulation of neurotrophic factors by cinnamon and its metabolite sodium benzoate: therapeutic implications for neurodegenerative disorders. J Neuroimmune Pharmacol 2013; 8(3): 739-755.
  18. Oishi Y, Takata Y, Taguchi Y, Kohtoh S, Urade Y, Lazarus M. Polygraphic Recording Procedure for Measuring Sleep in Mice. J Vis Exp 2016; 25(107): e53678-e.
  19. Hoheisel U, Vogt MA, Palme R, Gass P, Mense S. Immobilization stress sensitizes rat dorsal horn neurons having input from the low back. Eur J Pain 2015; 19(6): 861-870.
  20. Gowder SJ1, Devaraj H. Effect of the Food Flavour Cinnamaldehyde on the Antioxidant Status of Rat Kidney. Basic Clin Pharmacol Toxicol 2006, 99(5): 379-382.
  21. Gowder SJT, Halagowder D. Cinnamaldehyde Induces Behavioral and Biochemical Changes in the Male Albino Wistar Rat. J Med Sci 2010; 3(2): 101-109.
  22. Cui R, Li B, Suemaru K, Araki H. Differential effects of psychological and physical stress on the sleep pattern in rats. Acta Med Okayama. 2007;61(6):319-327.
  23. Rampin C, Cespuglio R, Chastrette N, Jouvet M. Immobilisation stress induces a paradoxical sleep rebound in rat. Neurosci Lett 1991; 126(2): 113-118.
  24. Gonzalez MM, Debilly G, Valatx JL, Jouvet M. Sleep increase after immobilization stress: role of the noradrenergic locus coeruleus system in the rat. Neurosci Lett 1995; 202(1-2): 5-8.
  25. Maclean RR, Datta S. The relationship between anxiety and sleep-wake behavior after stressor exposure in the rat. Brain Res 2007; 1164: 72-80.
  26. Kim EJ, Dimsdale JE. The effect of psychosocial stress on sleep: a review of polysomnographic evidence. Behav Sleep Med 2007; 5(4): 256-278.
  27. Meerlo P, Easton A, Bergmann BM, Turek FW. Restraint increases prolactin and REM sleep in C57BL/6J mice but not in BALB/cJ mice. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2001; 281(3): R846-R54.
  28. Ulrich-Lai YM, Herman JP. Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses. Nat Rev Neurosci 2009; 10(6): 397-409.

29. Suchecki D, Tiba PA, Machado RBD. REM sleep rebound as an adaptive response to stressful situations. *Front Neurol* 2012; 3: 41.
30. Borbély AA, Achermann P. Sleep homeostasis and models of sleep regulation. *J Biol Rhythms* 1999; 14(6): 557-568As.
31. Magistretti PJ, Allaman I. A cellular perspective on brain energy metabolism and functional Imaging. *Neuron* 2015; 86(4): 883-901.
32. Rasch B, Born J. About sleep's role in memory. *Physiol Rev* 2013; 93(2): 681-766.
33. Peyrache A, Battaglia FP, Destexhe A. Inhibition recruitment in prefrontal cortex during sleep spindles and gating of hippocampal inputs. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108(41): 17207-17212.
34. Petit JM, Burlet-Godinot S, Magistretti PJ, Allaman I. Glycogen metabolism and the homeostatic regulation of sleep. *Meta Brain Dis* 2015; 30(1): 263-279.