اثر محرومیت مزمن از خواب بر روی تغییرات ساختاری هسته‌های جلویی تالاموس و اجسام پستانی در موش صحرایی نر: یک مطالعه استریولوژیک

ابراهیم رحمانی مقدم[1]، سعید کربلائی دوست[2]، مهرناز قلاوندی[3]، محبوبه عرفانی زاده[2]، محمدرضا نام آور[4*]

۱- کارشناس ارشد، گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

۲- استادیار، گروه علوم تشریحی و مرکز تحقیقات هیستومورفومتری و استریولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

۳- دانشجوی دکتری، گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

۴- دانشیار، گروه علوم تشریحی و مرکز تحقیقات نورولوژی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

یافته / دوره ۲۶ / شماره ۲ / تابستان ۱۴۰۳ / مسلسل ۱۰۰

چکیده

دریافت مقاله: ۱۴۰۳/۱/۲۴ پذیرش مقاله: ۱۴۰۳/۴/۲۳

مقدمه: محرومیت از خواب رایج در زندگی مدرن، می‌تواند سبب افزایش استرس اکسیداتیو و پاسخ‌های التهابی شده و در نتیجه اثرات منفی بر اعمال شناختی داشته باشد. این آسیب‌ها ممکن است در نتیجه تغییرات سلولی و مولکولی در برخی نواحی مغز مثل هسته جلویی تالاموس و اجسام پستانی باشد که توجه جدی به آن‌ها شده است. این هسته‌ها در یادگیری، حافظه و عملکردهای هیجانی (و به تازگی در خواب) شرکت می‌کنند. هدف از مطالعه حاضر بررسی تغییرات ساختاری این هسته‌ها در اثر بی‌خوابی مزمن است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه ۲۱ موش صحرایی نر در سه گروه کنترل، کنترل با کف مشبک و محرومیت مزمن از خواب به مدت ۲۱ روز مورد بررسی قرار گرفتند. در پایان مطالعه پس از بیرون آوردن مغز، ثبوت با بافرفرمالین، آماده‌سازی بافتی، برش و رنگ‌آمیزی با گیمسا، حجم همراه با تعداد نورون‌ها و غیرنورون‌ها در این هسته‌ها به روش بدون تورش استریولوژی برآورد گردید.

یافته‌ها: یافته‌های این مطالعه نشان داد که بی‌خوابی مزمن سبب کاهش معنی دار حجم هر سه زیر هسته جلویی تالاموس و اجسام پستانی هیپوتالاموس نسبت به گروه‌های کنترل گردید ($P<0/05$). این مشکل بی‌خوابی مزمن در این حیوانات همچنین سبب کاهش تعداد نورون‌ها و غیرنورون‌ها در همه این ساختمان‌ها گردید.

بحث و نتیجه‌گیری: بی‌خوابی مزمن به هر دلیلی اثرات جدی برروی دستگاه عصبی مرکزی و سیستم لیمبیک و حتی هسته‌های جلویی تالاموس که پیش‌تر معتقد بودند در خواب دخیل نیستند را دارد. این اثرات می‌تواند به صورت کاهش تعداد سلول (نورون و غیرنورون) باشد که سبب کاهش عملکرد این دستگاه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: محرومیت از خواب، هسته جلویی تالاموس، سیستم لیمبیک، اجسام پستانی، استریولوژی.

*آدرس مکاتبه: شیراز، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، دانشکده پزشکی، گروه علوم تشریحی.

پست الکترونیک: namavarm@sums. ac. ir

مقدمه

محرومیت از خواب به حالتی گفته می‌شود که کمیت یا کیفیت خواب ناکافی باشد و یکی از مشکلات رایج جوامع مدرن است (۱). محرومیت از خواب می‌تواند سبب القاء اثرات بیولوژیکی متفاوتی مانند افزایش استرس اکسیداتیو، پاسخ‌های التهابی، آسیب حافظه (۲) و تغییر در سیستم عصبی خودکار شود (۳). مطالعات متعددی ارتباط نزدیک بین محرومیت از خواب و اعمال شناختی در حیوانات و انسان‌ها را نشان داده‌اند (۴). مشخص شده که محرومیت از خواب اثرات منفی بر انواع حافظه‌ها و اعمال شناختی دیگر و همچنین نوسازی (plasticity) سیناپسی دارد و این آسیب‌های شناختی به دنبال محرومیت از خواب ممکن است در نتیجه تغییرات سلولی و مولکولی مانند تغییرات در واسطه‌های شیمیایی عصبی (neurotransmitters)، فاکتورهای رشد و مولکول‌های سیگنال کننده مثل AMPA (۵-۷)، NMDA (۵-۱۰) یا کاهش در نسبت NMDA به AMPA در سلول‌های تالاموسی (۱۱) و تغییر BNDF (۱۲-۱۴) در برخی نواحی مغز باشد.

محرومیت از خواب نه تنها سبب آسیب DNA (۱۵) و مرگ سلولی و کاهش تعداد سلول‌ها در قسمت‌های مختلف دستگاه عصبی مرکزی می‌شود بلکه گزارش‌ها نشان داده که این معضل سبب کاهش نورون زایی (۱۶) و کاهش تعداد نورون‌ها و همچنین تغییر آرایش فضایی نورون‌ها در گانگلیون‌های محیطی سمپاتیک (۱۷) و سلولهای هیپوتالاموس شده است (۱۸).

بی خوابی کشنده فامیلی (Fatal Familial Insomnia, FFI) یک اختلال منحصر به فرد پریون (Prion) است. مطالعات اولیه گرفتاری انتخابی هسته‌های جلویی تالاموسی در این بیماری را نشان می‌دهد (۱۹).

هسته‌های جلویی تالاموس (Anterior thalamic nuclei, ANT) یک سری از هسته‌های مغزی هستند که در انتهای جلویی (Rostral) تالاموس واقع شده‌اند که از بقیه تالاموس توسط ورقه داخلی ماده سفید Y شکل (Internal medullary lamina) جدا شده‌اند (۲۰،۲۱). این هسته یکی از اجزاء کلیدی سیستم لیمبیک است (۲۰) که از سه زیرهسته جلویی شکمی (Anteroventral, AV)، جلویی پشتی (Anterodorsal, AD) و جلویی داخلی (Anteromedial, AM) تشکیل می‌گردد که AV بزرگترین آن است (۱۹). هر یک از سه زیر هسته مشخصه‌های بیولوژیکی متفاوتی مانند مدار مشخص، جمعیت سلولی و محتوی نوروترانسمیتر مشخص خود را دارد (۲۰). هر قسمت از ANT الگوی ارتباطی متفاوتی دارد. مثلا" AM تنها قسمت ANT است که ارتباطات گسترده دوطرفه با قشر سینگولیت جلویی و قشر اوربیتوفرونتال پره فرونتال دارد که در عملکردهای اجرایی و هیجانی دخیل است. AV گسترده‌ترین واکنش‌های متقابل با قشر سابیکولوم و رترواسپلنیال دارد و با اجسام پستانی پلاستیسیته سیناپتیک را در مدار هیپوکمپی پیش می‌برد. AD به هسته خارجی پستانی، پشت سابیکولوم و قشر رترواسپلنیال ارتباط دارد که جزیی از مداری است که سیگنال‌های جهت سر (Head-direction signals) مورد نیاز برای کنترل فضایی را حمل می‌نماید (۱۹،۲۲). ATN مسئول بیشتر از انتقال ساده اطلاعات به ساختمان‌های کلیدی دیگر در شبکه حافظه است. مطالعات متعدد نشان داده‌اند که هسته‌های مختلف تالاموسی نقش‌های بسیار متفاوتی در تشنج‌های موضعی لیمبیک بازی می‌کنند. درحالی که به نظر می‌رسد هسته ANT مستقیما" در گسترش تشنج شرکت می‌کند (۲۳)، تحریک عمقی مغز در این هسته تکرر تشنج در مطالعات حیوانی و انسانی را کاهش می‌دهد. این هسته به عنوان یک هدف مناسب برای تحریک عصبی در بیماران با صرع مقاوم است (۲۴،۲۳،

۱۹). نقش ادغامی هسته‌های جلویی تالاموس بین ساختمان‌های قشری و دیگر ساختمان‌های ساقه مغزی و دیانسفالن مسئول خواب با ملاحظات آناتومیکی پشتیبانی می‌شود (۲۵). مطالعات جدید بر نقش این هسته‌ها در خواب نیز تاکید دارند. مثلا" Simor و همکارانشان که الگوهای فعالیت الکتریکی هسته‌های جلویی تالاموس را بررسی نمودند، مشاهده نمودند که عدم یکنواختی یا ناهمگونی خواب REM محدود به فعالیت قشری ناست بلکه با پتانسیل‌های زمینه موضعی (Local field potentials, LFP) هسته جلویی تالاموس و همزمان‌سازی تالاموکورتیکال ظاهر می‌شود (۲۶). به طور خلاصه داده‌های مطالعات جدید نقش تالاموس خصوصا" ANT را به عنوان یک عامل فعال در پیوند نوسانات مرتبط به خواب بین نواحی مغز ذکر می‌نمایند که به موجب آن تثبیت حافظه را تسهیل می‌نماید. در مجموع، فعالیت مرتبط به ANT ممکن است عملکرد حافظه خواب را تنظیم نماید (۲۹-۲۷).

اجسام پستانی (Mammillary body, MB) هیپوتالاموس ساختمان‌هایی هستند که در قسمت پشتی و پایین هیپوتالاموس واقع شده‌اند و قسمتی از سیستم لیمبیک هستند. این ساختمان‌ها همچنین در انتهای جلویی فورنیکس قرار می‌گیرند (۳۰). آنها به عنوان تقویت کننده آوران‌های پیام از هسته بادامی شکل یا آمیگدالا (Amygdala) و هیپوکمپ عمل می‌نمایند (۳۱). اجسام پستانی و وابران‌های‌شان به هسته جلویی تالاموس از طریق راه پستانی-تالاموسی نقش برجسته‌ای در حافظه بازی می‌کنند (۲۰،۳۲) و احتمالا" همانند هسته جلویی تالاموس در مسیر خواب هم نقشی دارد (۳۳،۳۴).

با توجه به مطالعات جدید مبنی بر شرکت هسته‌های جلویی تالاموس (و شاید اجسام پستانی هیپوتالاموس) در خواب، هدف مطالعه حاضر، بررسی تغییرات حجم این هسته‌ها و همچنین تعداد نورون و سلول‌های غیرنورونی که در یادگیری، حافظه و عملکردهای هیجانی نقش دارند در موش‌های صحرایی که از خواب محروم شده را نسبت به حیوانات طبیعی بوده است.

مواد و روش‌ها

حیوانات

بیست و یک موش صحرایی نر بالغ نژاد اسپراگ-داولی (Sprague-Dawley) با وزن ۳۰۰-۲۵۰ گرم از مرکز پزشکی مقایسه‌ای و تجربی دانشگاه علوم پزشکی شیراز انتخاب شدند. همه فرآیندها براساس راهنماهای مراقبت استاندارد از حیوانات انجام شد و این طرح توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی شیراز تثبیت شد (کد اخلاق: IR. SUMS. REC. 1396. S630). همه حیوانات تحت شرایط استاندارد شامل درجه حرارت ۲۴-۲۲ درجه سانتی‌گراد و چرخه نور-تاریکی ۱۲: ۱۲ با دسترسی آزاد به آب و خوراک در طی ۲۱ روز آزمایش قرار گرفتند.

طراحی مطالعه

حیوانات به صورت تصادفی به سه گروه (۷ حیوان در هر گروه) تقسیم شدند که شامل گروه کنترل (Control)، گروه کنترل با کف مشبک (Grid floor-control) و گروه محروم از خواب (Sleep deprivation) هستند. موش‌های گروه کنترل در قفس‌های شیشه‌ای قرار گرفتند. موش‌های گروه محروم از خواب در تانک آبی با کف‌های متعدد تغییر شکل داده شده قرار داده شدند تا محرومیت از خواب مزمن (Chronic sleep deprivation, CSD) القاء نماید. حیوانات گروه کنترل با کف مشبک در تانک آبی با یک شبکه‌ای از فولاد ضد زنگ که کف مشبکی را تشکیل می‌دهند قرار داده می‌شدند (۳۵). دوره آزمایش ۲۱ روز بود.

القاء محرومیت خواب مزمن

گروه محروم از خواب در تانک‌های آب جداگانه قرار داده شدند و در معرض محرومیت پارادوکس

(Paradoxical sleep deprivation) با استفاده از روش پلتفورم متعدد تغییر شکل داده شده (Modified multiple platform method, MMPM) قرار گرفتند. محرومیت از خواب مزمن با قرار دادن هفت موش در تانک آبی تلق شیشه‌ای (Plexiglass) با ابعاد ۱۲۵ ×۴۵×۴۵ سانتی متر که دارای پلتفورمی با ۱۴ سوراخ به قطر ۶/۵ سانتی متر برروی آب القاء می‌شد و وقتی حیوان به خواب می‌افتاد، در طی نبود تونیسیته ماهیچه‌ای خواب REM درون آب می‌افتاد و از خواب می‌پرید و به بالای پلتفورم می‌آمد (۳۶). در این مطالعه، MMPM طوری طراحی گردید تا استرس فردی کاهش یابد و شامل پنجره زمانی بهبودی بود و ارتباطات اجتماعی در بین حیوانات بدون مانع حرکت آزاد را فراهم می‌نمود (۳۵). CSD برای ۲۱ روز تحمیل می‌شد که از طریق آن حیوانات روزانه به مدت ۱۸ ساعت، از ۴ عصر تا ۱۰ صبح، در تانک قرار می‌گرفتند. روز بعد حیوانات به قفس‌های‌شان که آب و خوراک تمیز داشتند، برگردانده شده که در اینجا حیوان اجازه ۶ ساعت (از ۱۰ صبح تا ۴ عصر) خواب داشتند. تانک برای MMPM به دقت تمیز شده و با آب تا یک سانتی متر زیر سطح پلتفورم یا شبکه با درجه حرارت ۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد قبل از ساعت ۴ عصر پر می‌شد. طرح نور و روشنایی برای جعبه‌های CSD مشابه با چرخه روشنایی/تاریکی حیوانات گروه‌های کنترل و کنترل با کف مشبک بود. گروه کنترل کف مشبک گروه کنترل برای CSD بود و حیوانات در تانک قرار می‌گرفتند که شبکه فولاد ضد زنگ که سیم‌های آن ۲/۳ سانتی متر از یکدیگر فاصله داشتند (۳۷). برای عادت کردن حیوانات، هر موش به مدت ۳۰ دقیقه برای پنج روز قبل از آزمایش CSD در دستگاه قرار داده می‌شد. موش‌های گروه کنترل به صورت معمول در قفس‌های شیشه‌ای در همان اتاق قرار داده می‌شد.

آماده‌سازی بافتی

پس از القاء بیهوشی عمیق، حیوانات با رعایت اصول اخلاقی کشته شدند. جمجمه موش با استفاده از روش پس سری باز شد. کل مغز به روش غوطه وری در بافرفرمالین به مدت دو ماه قرارداده شد تا ثبوت آن انجام شود. نیمکره‌های راست و چپ از سطح میانی از هم جداشده و توسط سری‌های الکل اتیلیک آب گیری شده، در زایلن شفاف شده، درون پارافین قالب گیری شد. نمونه‌های نیمکره راست با ضخامت ۲۶ میکرومتر برش داده شده و با رنگ آمیزی گیمسا که کمی تغییر داده شده بود رنگ آمیزی گردید تا مورفولوژی هسته‌ای به وضوح نشان داده شود (۳۸).

مطالعات استریولوژیکی

برآورد حجم

پس از برش به ضخامت ۲۶ میکرومتر و رنگ آمیزی با گیمسا، هسته‌های جلویی-پشتی (AD)، جلویی-شکمی (AV) و جلویی-داخلی (AM) تالاموس و هسته‌های اجسام پستانی (MB) هیپوتالاموس بر طبق اطلس مغز موش صحرایی مشخص شدند (۳۹). حجم ساختمان‌ها با استفاده از شمارش نقطه‌ای و براساس اصل کاوالیری (Cavalieri's principle) برآورد گردید. نمونه‌گیری تصادفی سیستماتیک برروی برش‌ها بکار برده شد تا ۸ تا۱۲ برش برای هر هسته بدست آید. با استفاده از میکروسکوپ متصل به دوربین، تصویر هر برش در بزرگ نمایی نهایی ۴۲ با استفاده از نرم‌افزار طراحی شده در دانشگاه علوم پزشکی شیراز (StereoLite, SUMS, Iran) ارزیابی گردید. حجم هر ساختمان (حجم هسته، $V_{nucleus}$) با استفاده از فرمول زیر برآورد شد:

$$V_{nucleus} = \sum A\ (sections) \times d$$

که $\sum A$ مجموعه نواحی برش‌ها و d فاصله بین برش‌های نمونه‌گیری شده است (۴۰).

برآورد تعداد نورون و غیرنورون

تعداد نورون‌ها و غیرنورون‌ها در برش‌های انتخابی از هریک از سه هسته جلویی تالاموس و هسته‌های اجسام پستانی، با استفاده از روش دیسکتور نوری (Optical disector) برآورد گردید. در این مطالعه، نورون‌های کوچک و بزرگ هسته‌های تالاموسی و اجسام پستانی را از غیرنورون‌ها توسط هسته‌های گرد یا بیضی شکل‌شان که دارای سیتوپلاسم مشخص بازوفیلیک در اطراف و زواید عصبی و هسته‌های روشن (Euchromatin) و یک هستک واضح تشخیص داده شد (۴۱). همچنین غشاء هسته‌ای نورون‌ها دارای دندانه و چین خوردگی هستند که در سلول‌های غیرنورونی در میکروسکوپ نوری دیده نمی‌شوند. بعلاوه، نورون‌ها لبه نازکی از سیتوپلاسم دارند که هسته را احاطه نموده که امکان تشخیص نورون‌های کوچک را از غیرنورون فراهم می‌نمایند (۴۲). غیرنورون‌ها شامل سلول‌های گلیال و اندوتلیال عروق هستند که با توجه به اینکه از ایمینوهیستوشیمی استفاده نشده، همه این سلول‌ها به عنوان غیرنورون نام گذاری شد. یک کامپیوتر به یک میکروسکوپ نوری (نیکون، E200، ژاپن) با عدسی روغن ایمرسیون (×۴۰) برای برآورد تعداد کل نورون‌ها و غیرنورون‌ها بکار برده شد. بر طبق تکنیک دیسکتور نوری، میدان‌های میکروسکوپی توسط حرکت پایه میکروسکوپ با فاصله مساوی در جهت‌های X و Y اسکن و نمونه‌برداری شده تا نمونه‌گیری تصادفی یکنواخت سیستماتیک انجام شود (۴۳). حرکت پایه میکروسکوپ در محور عمودی (Z-axis) با استفاده از میکروکیتور (MT12، هایدنهایم، آلمان) که برروی پایه نصب شده بود اندازه‌گیری می‌شد (۴۴). چارچوب‌های شمارش بدون-تورش (Unbiased counting frames) با ناحیه (a/f) ۱۱۳۳/۴میکرومترمربع برای شمارش نورون‌ها و غیرنورون‌ها استفاده شد. برای بدست آوردن ناحیه محافظ (Guard area) مناسب و ارتفاع دیسکتور (h)، طبق مطالعات پیشین صورت گرفت (۱۷،۱۸). تراکم عددی نورون‌ها و غیرنورون‌ها (Nv) با استفاده از فرمول زیر بدست آمد:

$$Nv(cells\ /\ unit\ volume) = \left[\frac{\Sigma Q^{-}}{\Sigma P \times \left({}^{a}/_{f}\right) \times h} \times \frac{t}{BA}\right]$$

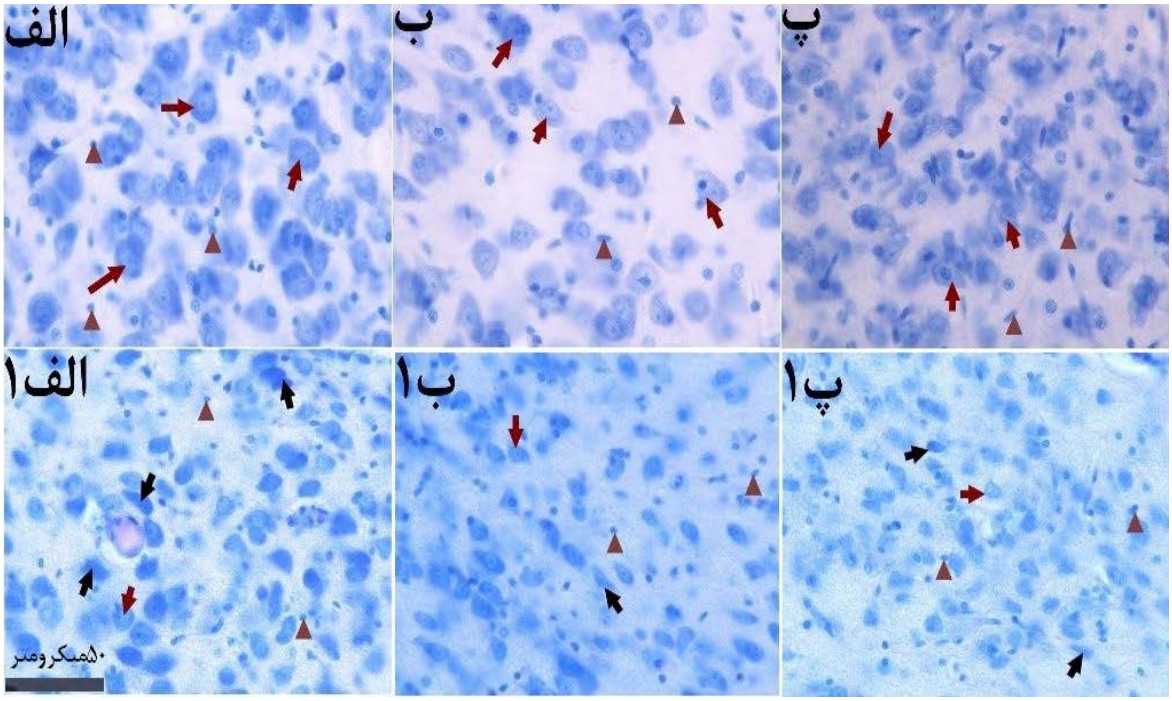
که "ΣQ−" تعداد کل هسته‌ی سلولی که در سرتاسر ارتفاع دیسکتور به فوکوس می‌آمدند، "ΣP" تعداد کل چارچوب‌های شمارش در همه میدان‌های شمارش شده، "h" ارتفاع دیسکتور، "a/f" ناحیه چارچوب، "t" میانگین ضخامت برش که توسط میکروکیتور محاسبه شده و "BA" ضخامتی که با میکروتوم بلوک برش داده است (۲۶ میکرومتر) است. تعداد کل سلول با ضرب تراکم عددی (Nv) در حجم ناحیه مربوطه بدست می‌آید (۱۷،۴۳). ضریب خطای (Coefficient of error, CE) برای حجم و تعداد براساس مطالعات پیشین صورت گرفت (۴۲).

تجزیه و تحلیل آماری

پس از بررسی توزیع نرمال داده‌ها با آزمون Kolmogorov-Smirnov، داده‌ها از طریق آزمون آنالیز واریانس یک طرفه تجزیه و تحلیل گردید. P-value کمتر از ۰/۰۵ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد. آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۲۲، آمریکا) انجام شد. نمودارها توسط نرم افزار گراف پد پریسم (نسخه ۸/۱، IBM، آمریکا) رسم گردید.

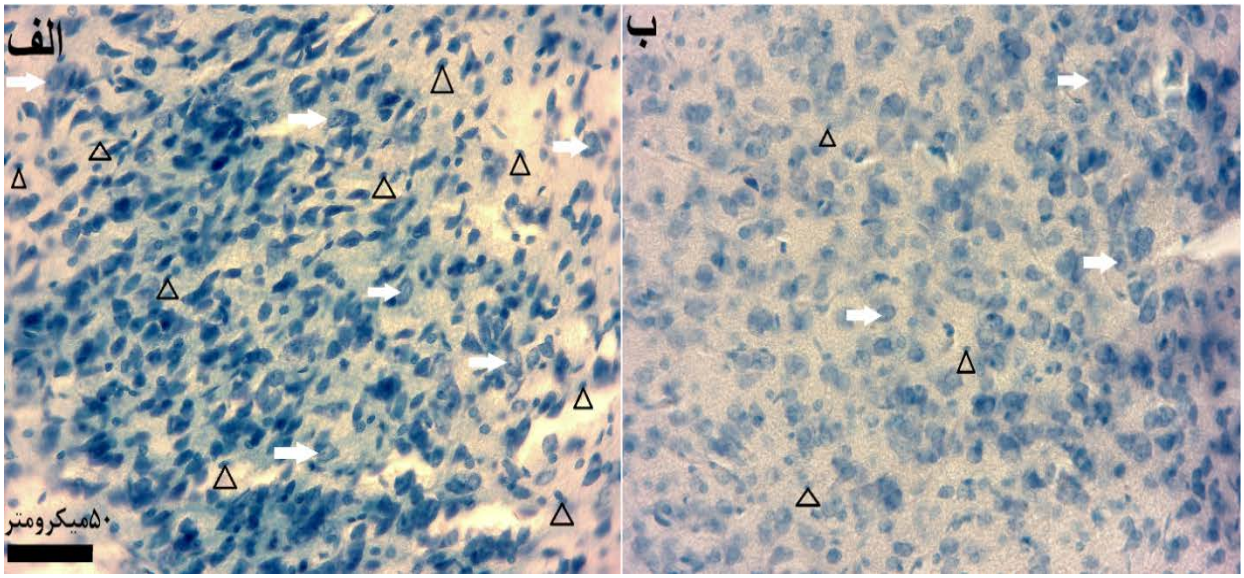
یافته‌ها

یافته‌های میکروسکوپی در هر سه زیرهسته جلویی تالاموس در گروه کنترل (شکل ۱، الف تا پ)، نورون‌ها را به صورت طبیعی با هسته روشن و اجسام نیسل در سیتوپلاسم و همچنین زواید سلولی نشان داد. در گروه محرومیت از خواب به نظر می‌رسد تراکم و توزیع سلول‌ها تغییر نموده و تعدادی سلول تیره مشاهده شد که می‌تواند نشانه سلول مرده باشد (شکل ۱، الف۱ تا پ۱).



شکل ۱. نمونه تصاویر هسته‌های جلویی پشتی (الف و الف۱)، جلویی داخلی (ب و ب۱) و جلویی شکمی (پ وپ۱) تالاموس با رنگ آمیزی گیمسا. تصاویر ردیف بالا (الف، ب و پ) از گروه کنترل و ردیف پایین از حیوانی است که از خواب محروم شده است (الف۱، ب۱وپ۱). نورون‌های طبیعی (پیکان‌های قرمز) به مقدار فراوان خصوصا" در ردیف بالایی مشاهده می‌شود. در ردیف پایین تعداد سلول تیره (پیکان سیاه) مشاهده می‌شود که نشان دهنده مرگ سلولی است. سلول‌های غیرنورونی به صورت سر پیکان نمایش داده شده است.

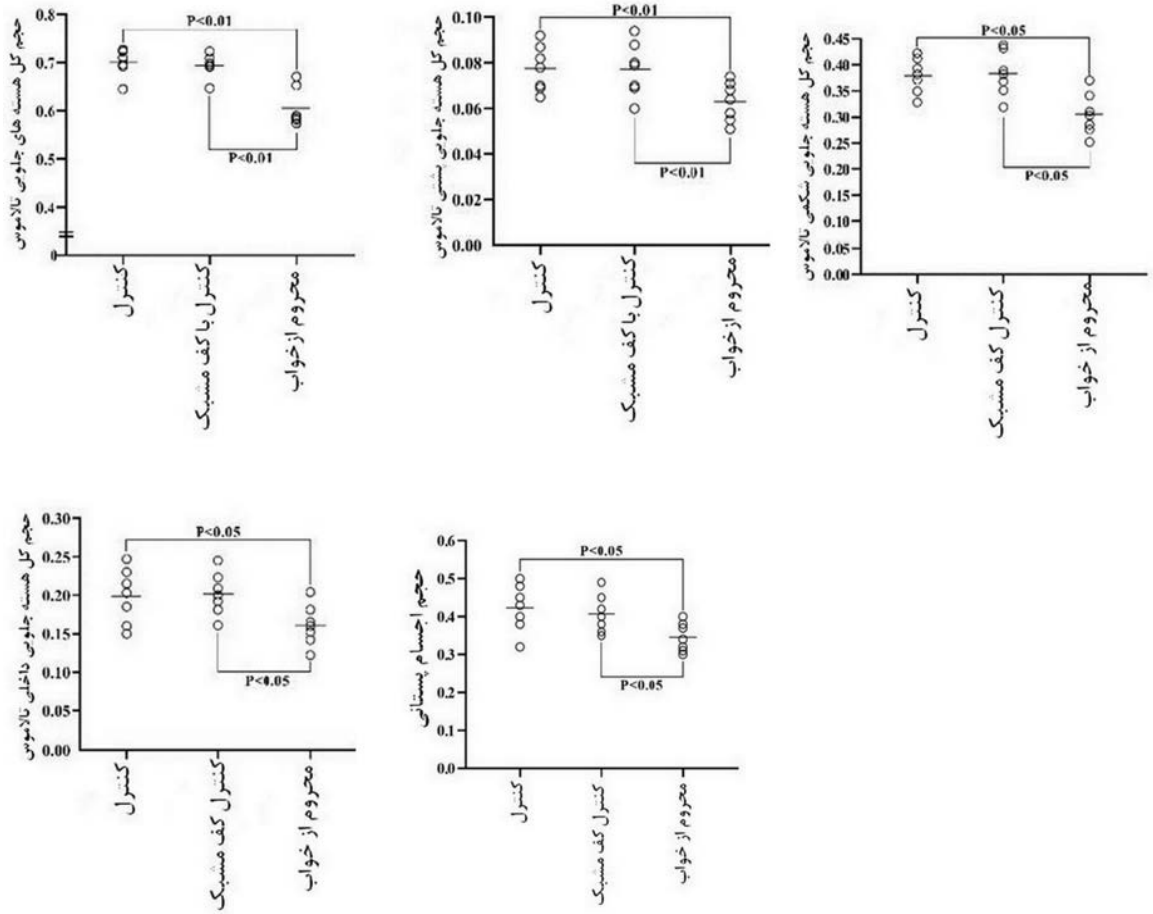
در مورد اجسام پستانی هیپوتالاموس نیز در گروه کنترل تراکم سلولی (شامل نورون‌ها و غیرنورون ها) بسیار بالا است (شکل ۲ الف) در حالی که در گروه محروم از خواب تراکم سلولی کاهش یافته و فضای بین سلول‌ها کمی گسترده‌تر به نظر می‌رسد (شکل ۲ ب).



شکل ۲. نمونه تصاویر اجسام پستانی هیپوتالاموس در حیوانات طبیعی (الف) و در گروه محروم از خواب (ب). پیکان‌ها نشان دهنده نورون‌ها و سر پیکان‌ها نشان دهنده سلول‌های غیرنورونی است. در حیوان محروم از خواب به نظر می‌رسد که تراکم سلولی کاهش یافته است.

برآورد حجم

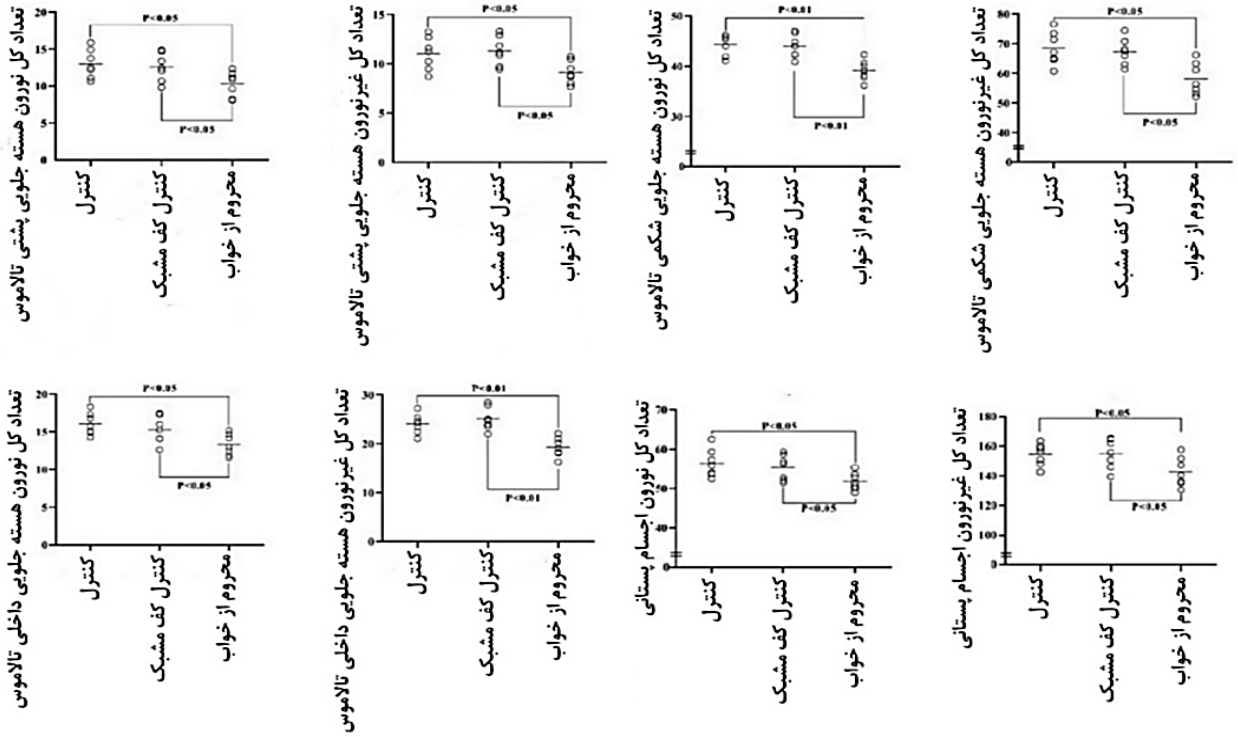
بررسی حجم در تمام هسته‌های مورد بررسی تفاوت قابل ملاحظه‌ای بین گروه‌های کنترل و گروه کنترل با کف مشبک نشان نداد. ولی در هسته تالاموسی جلویی و هر سه قسمت آن (جلویی پشتی، جلویی شکمی و جلویی داخلی) و همچنین اجسام پستانی، محرومیت از خواب سبب کاهش معنی‌داری حجم این ساختمان‌ها نسبت به گروه‌های کنترل شده است ($P<0/05$)، شکل ۳. این نتایج نشان می‌دهند که محرومیت از خواب سبب کاهش حجم همه ساختمان‌های مورد بررسی شده است و حجم یک پارامتر مهم در دستگاه مغز و اعصاب است.



شکل ۳. میانگین و انحراف معیار حجم (میلی متر مکعب) هسته‌های جلویی، جلویی پشتی، جلویی شکمی و جلویی داخلی تالاموس و اجسام پستانی در گروه‌های مورد مطالعه. در تمام گروه‌ها محرومیت از خواب سبب کاهش حجم معنی‌داری نسبت به گروه‌های کنترل شده است ($P<0/05$).

برآورد تعداد نورون و غیرنورون

بررسی آماری در تمام هسته‌های مورد بررسی تفاوت قابل‌ملاحظه‌ای در تعداد نورون یا غیرنورون بین گروه‌های کنترل و گروه کنترل با کف مشبک نشان نداد. ولی در هر سه قسمت هسته تالاموسی جلویی (جلویی پشتی، جلویی شکمی و جلویی داخلی) و همچنین اجسام پستانی، محرومیت از خواب سبب کاهش معنی‌داری در تعداد نورون‌ها و غیرنورون‌های این ساختمان‌ها نسبت به گروه‌های کنترل شدند ($P<0/05$)، شکل ۴). این یافته‌ها با تغییر تراکم سلولی (شکل‌های ۱و۲) و همچنین افزایش سلول مرده در بررسی بافتی (شکل۱) هم‌خوانی دارند.



شکل ۴. میانگین و انحراف معیار تعداد کل نورون و غیرنورون (۱۰۰۰×) در هسته‌های جلویی پشتی، جلویی شکمی و جلویی داخلی تالاموس و اجسام پستانی در گروه‌های مورد مطالعه. در تمام گروه‌ها، محرومیت از خواب سبب کاهش معنی‌داری در تعداد سلول نسبت به گروه‌های کنترل شده است (P<۰/۰۵).

بحث و نتیجه گیری

هسته ANT تالاموس یک ساختمان پیچیده و کلیدی در مدارهای هیپوکمپی برای حافظه حادثه‌ای است و واکنش‌های متقابل بین تشکیلات هیپوکمپی و قشر رترواسپلنیال دخیل در مکانیسم تشخیص فضایی و حافظه بینایی و قشر سینگولیت جلویی و پره فرونتال داخلی دخیل در کنترل هیجان و اجرایی است (۱۹). توجه روزافزونی به ساختمان و عملکرد هسته جلویی تالاموس (ANT) شده است (۲۹). درحالی که تالاموس منطقه کلیدی مسئول نگهداری خواب در نظر گرفته می‌شود، ANT را به صورت سنتی در این عملکرد دخیل نمی‌دانستند.

آزمایشات اخیر و اطلاعات انسانی امکان نقش ANT در فرآیند خواب را مدنظر می‌گیرند. یافته‌ها نقش فعال هسته جلویی تالاموس در سازمان دهی ریتم‌های خواب در نئوکورتکس را نشان می‌دهد و تنوع عملکردی هسته‌های تالاموسی در انسان را برجسته می‌نماید. اگرچه مکانیسم‌ها هنوز واضح نیستند (۲۷،۲۹). همچنین ANT یک هدف ثابت شده برای تحریک عمقی مغز ضد صرعی برای بیش از یک دهه بوده است (۲۹). دانش محدودی در مورد عملکردهای فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی ANT موجود است ولی مدارهای خواب و صرع جنبه‌های مشترکی دارند و چند پارامتر خواب به عنوان نامزد بیومارکر صرع در نظر گرفته شده‌اند. مطالعه‌ای نشان داد که ۳۰ دقیقه تحریک عمقی ANT یک‌طرفه به صورت معنی‌داری حرکت سریع چشم (REM) را در طی خواب افزایش داد، درحالی‌که قدرت فرکانس‌های پایین در طی خواب Non-REM را کاهش داد. علی رغم نظرات پیشین مبنی بر عدم دخالت این هسته‌ها در خواب، مشخص شده که تالاموس نقش مهمی در تنظیم ورودی حسی و خواب پستانداران بازی می‌کند.

در حال حاضر اطلاعات انسانی وجود ندارد که ثابت نماید هسته ANT آوران‌هایی از هسته رتیکولار دریافت می‌نماید که تفسیر نوسان‌های خواب Non-REM را در این منطقه تفسیر نماید. یک فرضیه توجیهی این است که

ناحیه زونا اینسرتا (Zona incerta) ممکن است جایگزین هسته رتیکولار شده و فیبرهایی بفرستد که سبب هیپرپولاریزاسیون نورون‌های ANT گردیده و منجر به دوک خواب (Sleep spindle) در ANT گردد.

تالاموگرامها و خصوصا" آنهایی که از ANT ثبت شده‌اند اطلاعات خوبی برای مکانیسم‌های اختصاصی خواب-بیداری فراهم می‌نمایند، اما هنوز مطالعات پراکنده و برروی نمونه‌های کمی وجود دارند. تالاموس یکی از مهمترین مناطق در حفظ خواب است، لیکن، ANT در این فرآیند در نظر گرفته نمی‌شد. براساس آزمایشات و اطلاعات انسانی جدید، این فرضیه در حال رد شدن هست و ما می‌توانیم برای ANT نقشی در نوسان‌های نورونی اختصاصی حالت خواب در نظر بگیریم. فعالیت ANT در طی خواب Non-REM با ظهور دوک‌های خواب و امواج کوتاه مشخص می‌شود که با نوسان‌های قشری متفاوت هستند. بنابراین، ANT با فرآیندهای خاص شناختی که به عملکرد خواب مرتبط هستند، توجه انتخابی و حافظه، دخیل است. حتی می‌توان فرض نمود که آن بین فرآیندهای خواب، توجه و حافظه نقش تنظیمی دارد (۲۹).

Schreiner و همکارانش نشان دادند که فعالیت هسته جلویی تالاموس ممکن است نقش عملکردی در هماهنگی ریتم‌های خواب اصلی (Cardinal sleep) در انسان بازی کند. مخصوصا" آنها دریافتند که نوسان‌های آهسته ثبت شده در ANT انسان قبل از ثبت نئوکورتیکی‌شان صورت می‌گیرد. آنها معتقدند نوسانات آهسته ضربان ساز (Pacemaker) زمانی تثبیت حافظه را ارایه می‌دهد و این در مدل‌های جوندگان و خواب انسان مطالعه شده‌اند. در مجموع یافته‌های آنها مدارکی برای ANT به عنوان یک مرکز اصلی (Major hub) برای هماهنگی نوسان‌های مرتبط به خواب Non-REM اصلی را فراهم می‌کند. بنابراین ANT ممکن است به عنوان بازیگر کلیدی در اداره پردازش دوباره حافظه در طی خواب Non-REM باشد (۲۷).

Voges و همکاران نشان دادند که تحریک عمقی مغز (Deep brain stimulation, DBS) هسته ANT خواب را وابسته به ولتاژ قطع می‌نماید. آنها معتقدند که ANT توسط ساختمان‌های درون تالاموسی با سیستم رتیکولار صعودی بیداری (ARAS, ascending reticular arousal system) مرتبط می‌شوند. لیکن، ARAS خواب و بیداری را تنظیم می‌نماید و هر دو اختلال عاطفه‌ای و حافظه‌ای نتیجه کلینیکی اختلالات خواب هستند. چون برخی از بیماران صرعی که با ANT-DBS درمان شده‌اند، مشکلات خواب شدیدی گزارش نموده‌اند. هسته‌های رتیکولار تالاموسی و لامینای درون تالاموسی با گروه هسته‌های درون تالاموسی به ARAS تعلق دارند و در نزدیکی یا ارتباط آناتومیکی به ANT هستند (۲۸).

مطالعه حاضر مشخص نمود که محرومیت از خواب سبب کاهش حجم هر سه زیر هسته جلویی تالاموس و اجسام پستانی گردید. این کاهش حجم می‌تواند به سبب کاهش نورون زایی یا افزایش مرگ سلولی در این نواحی گردد. در این مطالعه ما از تکنیک‌های اختصاصی نورون زایی استفاده ننموده‌ایم، اگر چه در مطالعات پیشین این مورد گزارش شده است (۱۶)؛ لیکن برآورد تعداد نورون و غیرنورون در مطالعه حاضر نشان از کاهش این سلول‌ها در هسته‌های مورد نظر دارد که به احتمال زیاد به سبب مرگ سلولی ناشی از محرومیت از خواب است. مطالعات پیشین هم افزایش مرگ سلولی به سبب محرومیت از خواب را تایید می‌نمایند (۱۸،۴۵). تخریب سلولی و کاهش شدید نورونی هسته تالاموسی AV نیز در بیمارانی که از بی‌خوابی کشنده فامیلی رنج می‌برند گزارش شده است (۲۵،۴۶). داده‌های بالینی و الکتروفیزیولوژیکی با موارد پاتولوژیکی به نقشی که تالاموس در سیکل‌های سیرکادین و خواب-بیداری بازی می‌کند تاکید می‌کند (۲۵).

در مورد نقش هسته‌های پستانی هیپوتالاموس در خواب نیز مطالعاتی صورت گرفته است. مثلا" Dillingham و همکارانش نشان دادند که تغییرات فیزیولوژیکی در هسته‌های پستانی در طی خواب رخ می‌دهد (۳۴). همچنین کومار و همکاران گزارش نمودند که در بیماران با آپنه انسدادی حجم هسته‌های اجسام پستانی هیپوتالاموس کاهش یافته و سبب اختلال در حافظه می‌شود. این پژوهشگران این اختلال حافظه را به محرومیت از خواب همراه این سندرم نسبت می‌دهند (۳۳).

هسته جلویی تالاموس (ANT) یک مرکز آناتومیکی کلیدی درون سیستم هیپوکمپی-دیانسفالی-قشری بازی می‌کند. موافق با این، آسیب به محور اجسام پستانی-ANT همراه با مثال‌های فراموشی بالینی است. مدارک آسیب آناتومیکی، بالینی و آزمایشی نیز نشان می‌دهند که ANT یک مرکز (Hub) زیر قشری مهمی درون شبکه هیپوکمپی-دیانسفالی-قشری تشکیل می‌دهد که عملکرد حافظه را پشتیبانی می‌نماید (۲۴).

به‌طورخلاصه داده‌های مطالعات نقش تالاموس خصوصا" ANT را به عنوان یک عامل فعال در پیوند نوسانات مرتبط به خواب بین نواحی مغز نشان می‌دهد که به موجب آن تثبیت حافظه را تسهیل می‌نماید. در مجموع، فعالیت مرتبط به ANT ممکن است عملکرد حافظه خواب را تنظیم نماید (۲۹-۲۷). همچنین اختلال خواب می‌تواند سبب آسیب به این مسیر که شامل افزایش مرگ سلول‌ها و سبب اختلال حافظه و عملکردهای هیجانی شود. با توجه به جدید بودن دخالت هسته ANT در خواب، پیشنهاد می‌گردد که بررسی‌های مولکولی و تغییرات واسطه‌های شیمیایی به دنبال بی‌خوابی در این هسته‌ها بررسی گردد.

مطالعه حاضر نشان داد که محرومیت از خواب مزمن ۱۸ ساعت در روزبه مدت ۲۱ روز در موش‌های صحرایی نر منجر به کاهش حجم و کاهش تعداد نورون‌ها و غیرنورون‌ها در هسته‌های جلویی تالاموس و اجسام پستانی هیپوتالاموس که هر دو در مسیر سیستم لیمبیک، حافظه و به احتمال زیاد خواب قرار دارند می‌شود. به طور کلی محرومیت از خواب به هر دلیلی می‌تواند سبب آسیب به دستگاه عصبی مرکزی شود. این اثرات همانطور که در این مطالعه مشخص گردید، حداقل می‌تواند به سبب کاهش تعداد سلول‌ها (نورون‌ها و غیرنورون ها) باشد. این اثرات می‌توانند سبب آسیب‌های جدی برروی عملکرد این دستگاه خصوصا" یادگیری، حافظه و عملکردهای هیجانی شود.

تشکر و قدردانی

پژوهش این مقاله در مرکز تحقیقات هیستومورفومتری و استریولوژی دانشگاه علوم پزشکی شیراز صورت گرفته است و بدین وسیله از آن مرکز تشکر و قدردانی می‌گردد.

تعارض منافع

نویسندگان مقاله تصریح می‌کنند که هیچ گونه تضاد منافعی در مطالعه حاضر وجود ندارد.

حمایت مالی

این مقاله به طرح پژوهشی تعلق دارد که توسط دانشگاه علوم پزشکی شیراز تثبیت شده است (شماره طرح پژوهشی۱۳۶۳۷-۰۱-۰۱-۹۵).

مشارکت نویسندگان

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

ملاحظات اخلاقی

این مقاله با کد اخلاق در پژوهش IR. SUMS. REC. 1396. S630 در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی شیراز ثبت شده است.

References

1. Stevens RG, Brainard GC, Blask DE, Lockley SW, Motta ME. Breast cancer and circadian disruption from electric lighting in the modern world. CA: a cancer journal for clinicians. 2014;64(3):207-18.
2. Alzoubi KH, Khabour OF, Albawaana AS, Alhashimi FH, Athamneh RY. Tempol prevents chronic sleep-deprivation induced memory impairment. Brain research bulletin. 2016;120:144-50.
3. Castro-Diehl C, Diez Roux AV, Redline S, Seeman T, McKinley P, Sloan R, et al. Sleep duration and quality in relation to autonomic nervous system measures: the multi-ethnic study of atherosclerosis (MESA). Sleep. 2016;39(11):1927-40.
4. Killgore WD. Effects of sleep deprivation on cognition. Progress in brain research. 185: Elsevier; 2010. p. 105-29.
5. Banerjee A, Larsen RS, Philpot BD, Paulsen O. Roles of presynaptic NMDA receptors in neurotransmission and plasticity. Trends in neurosciences. 2016;39(1):26-39.
6. Raven F, Van der Zee EA, Meerlo P, Havekes R. The role of sleep in regulating structural plasticity and synaptic strength: Implications for memory and cognitive function. Sleep Medicine Reviews. 2018;39:3-11.
7. Yu Y, Huang Z, Dai C, Du Y, Han H, Wang YT, et al. Facilitated AMPAR endocytosis causally contributes to the maternal sleep deprivation-induced impairments of synaptic plasticity and cognition in the offspring rats. Neuropharmacology. 2018;133:155-62.
8. Havekes R, Vecsey CG, Abel T. The impact of sleep deprivation on neuronal and glial signaling pathways important for memory and synaptic plasticity. Cellular signalling. 2012;24(6):1251-60.
9. Wolf E, Kuhn M, Normann C, Mainberger F, Maier JG, Maywald S, et al. Synaptic plasticity model of therapeutic sleep deprivation in major depression. Sleep medicine reviews. 2016;30:53-62.
10. Sahin L, Cevik OS, Koyuncu DD, Kocahan S. Caffeine as a potential arousal enhancer: altered NMDA subunit gene expression without improving cognitive performance in REM sleep deprived rats. Cellular and molecular biology (Noisy-le-Grand, France). 2019;65(2):63-8.
11. Wang X-P, Ye P, Lv J, Zhou L, Qian Z-Y, Huang Y-J, et al. Expression changes of NMDA and AMPA receptor subunits in the hippocampus in rats with diabetes induced by streptozotocin coupled with memory impairment. Neurochemical research. 2019;44(4):978-93.
12. Abd Rashid N, Hapidin H, Abdullah H, Ismail Z, Long I, editors. Acute nicotine treatment attenuates learning and memory impairment in REM sleep deprivation through modulation of CREB and BDNF protein expression in rat's hippocampus2017: CNS.
13. Grant LK, Cain SW, Chang A-M, Saxena R, Czeisler CA, Anderson C. Impaired cognitive flexibility during sleep

deprivation among carriers of the Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF) Val66Met allele. Behavioural brain research. 2018;338:51-5.
14. Miao S, Liu Y, Zhang L, Shan M, Miao Z. Effects of MAPK/ERK pathway on learning and memory in sleep deprivation rats. Int J Clin Exp Med. 2018;11:9160-6.
15. Carroll JE, Cole SW, Seeman TE, Breen EC, Witarama T, Arevalo JM, et al. Partial sleep deprivation activates the DNA damage response (DDR) and the senescence-associated secretory phenotype (SASP) in aged adult humans. Brain, behavior, and immunity. 2016;51:223-9.
16. Cui L, Xue R, Zhang X, Chen S, Wan Y, Wu W. Sleep deprivation inhibits proliferation of adult hippocampal neural progenitor cells by a mechanism involving IL-17 and p38 MAPK. Brain Research. 2019;1714:81-7.
17. Erfanizadeh M, Noorafshan A, Namavar MR, Karbalay-Doust S, Talaei-Khozani TJBR. Curcumin prevents neuronal loss and structural changes in the superior cervical (sympathetic) ganglion induced by chronic sleep deprivation, in the rat model. 2020;53(1):1-15.
18. Erfanizadeh M, Noorafshan A, Namavar MR, Karbalay-Doust S, Talaei-Khozani T. Curcumin mitigates the sleep-deprivation impacts on rat hypothalamic paraventricular nucleus. IBRO Neuroscience Reports. 2023;15:395-404.
19. Child ND, Benarroch EEJN. Anterior nucleus of the thalamus: functional organization and clinical implications. 2013;81(21):1869-76.
20. Safari V, Nategh M, Dargahi L, Zibaii ME, Khodagholi F, Rafiei S, et al. Individual subnuclei of the rat anterior thalamic nuclei differently affect spatial memory and passive avoidance tasks. 2020;444:19-32.
21. Vertes RP, Linley SB, Groenewegen HJ, Witter MP. Thalamus. The rat nervous system: Elsevier; 2015. p. 335-90.
22. Venkatesh P, Wolfe C, Lega BJCRiN. Neuromodulation of the anterior thalamus: Current approaches and opportunities for the future. 2023:100109.
23. Feng L, Motelow JE, Ma C, Biche W, McCafferty C, Smith N, et al. Seizures and sleep in the thalamus: focal limbic seizures show divergent activity patterns in different thalamic nuclei. 2017;37(47):11441-54.
24. Barnett SC, Parr-Brownlie LC, Perry BA, Young CK, Wicky H, Hughes SM, et al. Anterior thalamic nuclei neurons sustain memory. 2021;2:100022.
25. Tinuper P, Montagna P, Medori R, Cortelli P, Zucconi M, Baruzzi A, et al. The thalamus participates in the regulation of the sleep-waking cycle. A clinico-pathological study in fatal familial thalamic degeneration. 1989;73(2):117-23.
26. Simor P, Szalárdy O, Gombos F, Ujma PP, Jordán Z, Halász L, et al. REM sleep microstates in the human anterior thalamus. 2021;41(26):5677-86.
27. Schreiner T, Kaufmann E, Noachtar S, Mehrkens J-H, Staudigl TJNC. The

human thalamus orchestrates neocortical oscillations during NREM sleep. 2022;13(1):5231.
28. Voges BR, Schmitt FC, Hamel W, House PM, Kluge C, Moll CK, et al. Deep brain stimulation of anterior nucleus thalami disrupts sleep in epilepsy patients. 2015;56(8):e99-e103.
29. Szabó JP, Fabó D, Pető N, Sákovics A, Bódizs RJER. Role of anterior thalamic circuitry during sleep. 2022;186:106999.
30. Tagliamonte M, Sestieri C, Romani GL, Gallucci M, Caulo M. MRI anatomical variants of mammillary bodies. Brain Structure and Function. 2015;220(1):85-90.
31. Dillingham CM, Frizzati A, Nelson AJ, Vann SD. How do mammillary body inputs contribute to anterior thalamic function? Neuroscience & Biobehavioral Reviews. 2015;54:108-19.
32. Vann SD. Re-evaluating the role of the mammillary bodies in memory. Neuropsychologia. 2010;48(8):2316-27.
33. Kumar R, Birrer BV, Macey PM, Woo MA, Gupta RK, Yan-Go FL, et al. Reduced mammillary body volume in patients with obstructive sleep apnea. Neuroscience letters. 2008;438(3):330-4.
34. Dillingham CM, Wilson JJ, Vann SD. Electrophysiological Properties of the Medial Mammillary Bodies across the Sleep–Wake Cycle. Eneuro. 2024;11(4).
35. Kamali A-M, Noorafshan A, Karimi F, Karbalay-Doust S, Nami M. The impact of chronic sleep restriction on neuronal number and volumetric correlates of the dorsal respiratory nuclei in a rat model. Sleep. 2017;40(8).
36. Machado RB, Tufik S, Suchecki D. Role of corticosterone on sleep homeostasis induced by REM sleep deprivation in rats. PLoS One. 2013;8(5):e63520.
37. Noorafshan A, Karimi F, Kamali A-M, Karbalay-Doust S, Nami M. Could curcumin protect the dendritic trees of the CA1 neurons from shortening and shedding induced by chronic sleep restriction in rats? Life sciences. 2018;198:65-70.
38. Ferreira-Medeiros M, Mandarim-de-Lacerda C, Correa-Gillieron E. Pineal Gland Post-natal Growth in Rat Revisited. Anatomia, histologia, embryologia. 2007;36(4):284-9.
39. Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates: hard cover edition: Elsevier; 2006.
40. Uylings H, Malofeeva L, Bogolepova I, Jacobsen A, Amunts K, Zilles K. No postnatal doubling of number of neurons in human Broca's areas (Brodmann areas 44 and 45)? A stereological study. Neuroscience. 2005;136(3):715-28.
41. Bagheri F, Safari A, Namavar MR. Effect of dimethyl fumarate on the changes in the medial prefrontal cortex structure and behavior in the poly (I: C)-induced maternal immune activation model of schizophrenia in the male mice. Behavioural Brain Research. 2022;417:113581.
42. Namavar M, Ghalavandi M, Bahmanpour S. The effect of glutathione and buserelin

on the stereological parameters of the hypothalamus in the cyclophosphamide-treated mice. Journal of Chemical Neuroanatomy. 2020;110:101871.

43. Deniz ÖG, Altun G, Kaplan AA, Yurt KK, von Bartheld CS, Kaplan S. A concise review of optical, physical and isotropic fractionator techniques in neuroscience studies, including recent developments. Journal of neuroscience methods. 2018;310:45-53.
44. Kristiansen SLB, Nyengaard JR. Digital stereology in neuropathology. Apmis. 2012;120(4):327-40.
45. Biswas S, Mishra P, Mallick B. Increased apoptosis in rat brain after rapid eye movement sleep loss. Neuroscience. 2006;142(2):315-31.
46. Luppi M, Cerri M, Di Cristoforo A, Hitrec T, Dentico D, Del Vecchio F, et al. c-Fos expression in the limbic thalamus following thermoregulatory and wake–sleep changes in the rat. 2019;237(6):1397-407.

Effect of chronic sleep deprivation on the structural changes of the anterior nucleus of the thalamus and mammillary bodies in male rats: A stereological study

Rahmani Moghadam E[1], Karbalay-doust S[2], Ghalavandi M[3], Erfanizadeh M[2], Namavar MR[4*]
1. M.Sc, Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
2. Assistant Professor, Department of Anatomical Sciences and Histomorphometry and Stereology Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
3. Ph.D. Student, Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
4. Associate Professor, Clinical Neurology Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran, namavarm@sums. ac. ir

Received: *2024/4/12* Accepted: *2024/7/13*

Abstract

Background: Sleep deprivation, a common problem in modern life, can induce oxidative stress and inflammatory responses, exerting adverse effects on cognitive functions. These injuries may be the result of cellular and molecular changes in some areas of the brain, such as the frontal nucleus of the thalamus and mammary bodies, which have received assiduous attention. These nuclei participate in learning, memory, and emotional (and recently sleep) functions. The present study aimed to assess the effect of chronic sleep deprivation on structural changes in these areas.

Materials and Methods: A total of 21 adult male rats were randomly assigned to three groups: control, control-grid, and sleep deprivation, and examined for 21 days. Brains were removed and fixed with buffered formalin. Brains were serially and systematically cut and stained with Giemsa. The total volume of nuclei and their total number of neurons and non-neurons were unbiasedly estimated by stereological methods.

Results: The findings of this study demonstrated that chronic sleep deprivation reduced the total volume of all nuclei (anterior nuclei of the thalamus and mammillary bodies of the hypothalamus) when compared with control groups ($P<0.05$). Moreover, the total number of neurons and non-neurons in these structures significantly decreased in sleep-deprived animals when compared with control groups.

Conclusion: Chronic sleep deprivation has detrimental effects on the central nervous system and limbic system, as well as on the anterior nucleus of the thalamus, which, until recently, was believed to be not involved in sleep. These effects could be partly due to a decrease in cell (neuron and non-neuron) number, resulting in functional loss of this system.

Keywords: Anterior nucleus of the thalamus, Limbic system, Mammillary bodies, Sleep deprivation, Stereology.

Citation: Rahmanian Moghadam E, Karbalay-doust S, Ghalavandi M, Erfanizadeh M, Namavar MR. Effect of chronic sleep deprivation on the structural changes of the anterior nucleus of the thalamus and mammillary bodies in male rats: A stereological study. Yafte. 2024; 26(2):71-85.