

## Изменения структуры сна у крыс после искусственного гипометаболического состояния

UDC 612.821.7.08:612.53:615.832.9

A.V. SHILO\*, O.A. VENTSKOVSKA, G.A. BABYCHUK

## Changes of Sleep Structure in Rats after Artificial Hypometabolic State

Изучали влияние искусственного гипометаболического состояния (ИГМС) на представленность и суточное распределение медленноволнового (МВС) и парадоксального сна (ПС) у крыс. Выход из ИГМС сопровождался тотальной депривацией сна с последующим компенсаторным увеличением МВС и ПС. При этом ИГМС не приводило к стойким продолжительным изменениям в цикле сон-бодрствование и не влияло на суммарную длительность сна в течение суток. Структура и цикличность сна восстанавливались на протяжении 24 ч.

**Ключевые слова:** искусственное гипометаболическое состояние, медленноволновой сон, парадоксальный сон, терморегуляция, крыса.

Вивчали вплив штучного гіпометаболічного стану (ШГМС) на представленість і добовий розподіл повільнохвильового (ПХС) і парадоксального сну (ПС) у щурів. Вихід з ШГМС супроводжувався тотальною депривацією сну з подальшим компенсаторним збільшенням ПХС і ПС. При цьому ШГМС не викликав стійких тривалих змін у циклі сон-неспання і не впливав на сумарну тривалість сну протягом доби. Структура і циклічність сну відновлювалися протягом 24 ч.

**Ключові слова:** штучний гіпометаболічний стан, повільнохвильовий сон, парадоксальний сон, терморегуляція, щур.

The influence of artificial hypometabolic state (AHMS) on slow wave sleep (SWS) and paradoxical sleep (PS) occurrence and their daily distribution was studied. Awakening from AHMS was accompanied by total sleep deprivation with the following compensatory increase in SWS and PS amounts. Moreover AHMS caused no prolonged or stable changes in the sleep-wake cycle and did not effect daily total sleep duration. Sleep structure and sleep cyclicity were restored within 24 hrs.

**Key words:** artificial hypometabolic state, slow wave sleep, paradoxical sleep, thermoregulation, rat.

Способность некоторых млекопитающих самопроизвольно погружаться в гипометаболические состояния является предметом многолетних фундаментальных исследований [11, 12]. Показано, что животные в торпидном состоянии устойчивы к гипотермии, гипоксии, ишемии, реперфузионному повреждению органов и тканей, невосприимчивы к инфекциям, травматическим поражениям мозга, облучению, развитию раковых опухолей и нейродегенеративных заболеваний, что обуславливает чрезвычайный интерес к этому состоянию животных с точки зрения медицинского применения [11].

Следует отметить, что для достижения искусственного гипометаболического состояния (ИГМС) используют потенциально опасные факторы (гипоксия, гиперкапния, гипотермия, газовые смеси, H<sub>2</sub>S и др.) [11], реакции организма, и особенно ЦНС, но которые остаются до конца не выясненными.

Еще в середине прошлого века британский врач-исследователь Йен Освальд сформулировал гипотезу, согласно которой в период естественного сна восстанавливается “резервный” потенциал клеток. Причем в период медленноволнового сна (МВС)

The ability of some mammals to fall into a hypometabolic state spontaneously has been a subject of fundamental inquiries for many years [11, 12]. Animals in a torpid state were shown to be resistant to hypothermia, hypoxia, ischemia, infections, brain traumas, irradiation, cancer development and neurodegenerative diseases, which makes this state of animals extremely interesting in the view of medical application [11].

It should be noted that potentially dangerous factors such as hypoxia, hypercapnia, hypothermia, gas mixtures, H<sub>2</sub>S and others [11] are used in order to achieve artificial hypometabolic state (AHMS), while the organism and particularly CNS responses to them remain still unclear.

In the middle of the previous century the British doctor and researcher Ian Oswald came out with a hypothesis according to which “reserve” potential of cells is restored during natural sleep. During slow wave sleep (SWS) anabolic processes in the whole organism including brain take place, and during paradoxical sleep (PS) synthetic processes predominantly in CNS occur [16]. Hence one can assume that extent of injuries and recovering rate of functional state of the brain

Институт проблем криобиологии и криомедицины  
НАН Украины, г. Харьков

\* Автор, которому необходимо направлять корреспонденцию:  
ул. Переяславская, 23, г. Харьков, Украина 61015; тел.: (+38 057) 373-30-07, факс: (+38 057) 373-30-84, электронная почта:  
cryo@online.kharkov.ua

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

\* To whom correspondence should be addressed: 23, Pereyaslavskaya str., Kharkov, Ukraine 61015; tel.:+380 57 373 3007, fax: +380 57 373 3084, e-mail: cryo@online.kharkov.ua

происходят анаболические процессы во всем организме, включая головной мозг, а в период парадоксального сна (ПС) – синтетические процессы преимущественно в ЦНС [16]. Исходя из этого, можно предположить, что степень повреждения и скорость восстановления функционального состояния мозга и организма в целом после охлаждения можно оценить по изменению цикла сон-бодрствование.

Сон – особое, сложноорганизованное функциональное состояние мозга, во время которого отмечаются выраженные физиологические изменения практически во всех отделах мозга [1]. У млекопитающих выделяют два типа сна, как правило чередующихся и определяющих его цикличность: МВС и ПС. Важным критерием сна является его гомеостатическая регулируемость, что означает увеличение потребности во сне (“тяги” ко сну) после его длительного отсутствия и последующей “отдачи” – компенсаторного увеличения длительности сна. В результате активного взаимодействия различных отделов ЦНС [1, 19] во время МВС активность переднего мозга снижается по сравнению со спокойным бодрствованием, что существенно влияет на уменьшение общего потребления энергии. В биоэлектрической активности (БЭА) мозга в основном доминируют высокоамплитудные низкочастотные колебания (0–4 Гц).

В ПС отмечается выраженная активация моторных систем мозга, однако на поведении это не отражается ввиду блокады спинальных эффекторных механизмов. У многих видов животных БЭА практически не отличается от таковой в период бодрствования, а у крыс характеризуется регулярным  $\theta$ -ритмом (4–8 Гц), характерным для поисковой активности.

Таким образом, согласно анаболической гипотезе о роли сна [2, 16] функциональное состояние мозга и организма в целом после действия различных нагрузок, а возможно и после пребывания в гипометаболическом состоянии можно оценить по изменению цикла сон-бодрствование и отдельных его стадий.

Цель работы – изучение влияния ИГМС на структуру сна у крыс.

### Материалы и методы

Эксперименты были проведены в соответствии с “Общими принципами экспериментов на животных”, одобренными III Национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2007) и согласованными с положениями “Европейской Конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей” (Страсбург, 1985 г.).

Работа выполнена на 7–8-месячных крысах-самцах линии Вистар массой 250–300 г, которых

and the organism in general after cooling can be assessed by changes in sleep-wake cycles.

Sleep is a singular, compound functional state of brain, during which conspicuous physiological changes are observed in all brain regions [1]. Two types of sleep are distinguished in mammals: SWS and PS. As a rule they alternate and determine its cyclicity. An important criterion of sleep is that it is homeostatically regulated, which means an increased need in sleep (“drive” towards sleep) after its prolonged deprivation and the following “rebound” – a compensatory prolongation of sleep. As a result of active interactions between different structures of CNS [1, 19] the forebrain activity decreases during SWS as compared to quiet wakefulness, which results in a significant reduction in total energy consumption. High-amplitude low-frequency (0–4 Hz) oscillations dominate in brain bioelectrical activity (BEA).

A conspicuous activation of brain motor systems is observed during PS, however it is not reflected in behavior because of spinal effector block. BEA of many animal species is practically the same as that during wakefulness periods; and the rat has the regular  $\theta$ -rhythm (4–8 Hz), which is typical for the exploration activity.

Thus, according to the anabolic hypothesis about the sleep role [2, 16] the functional state of brain and organism in general after different stresses, possibly including hypometabolic state, can be assessed by changes in the sleep-wake cycle and its separate stages.

The aim of the work is studying AHMS influence on the sleep structure in rats.

### Materials and methods

The experiments were carried out according to the “General ethical principles of experiments in animals”, approved by the 3<sup>rd</sup> National Congress on Bioethics (Kiev, 2007) and coordinated with the statements of European convention for the “Protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes” (Strasbourg, 1985).

The work was performed on 7–8-month old rat males of Wistar line with the weight of 250–300 g. Before the experiments they were divided into groups by 4–5 animals in each and kept in the vivarium at the natural photoperiod. 1–2 months prior to the experiments the animals were placed in a sound-attenuated chamber with a regulated light-dark regimen (light: dark – 12:12) and the average temperature of 22–24°C, where they were in separate cages with easy access to water and food.

Cortical leads are the most frequently used for brain BEA registration during sleep (if no special aims are purposed), since they are less traumatic for brain, but not less informative for determination of beginning and ending sleep stages than electrodes implanted in brain

до начала эксперимента содержали группами по 4–5 животных в условиях вивария при естественном фотопериоде. За 1–2 месяца до начала экспериментов животных помещали в звукопроницаемую камеру с регулируемым световым режимом (свет:темнота – 12:12, средняя температура 22–24°C), где они находились в отдельных клетках со свободным доступом к воде и пище.

Для регистрации БЭА во время сна (если не преследуются специальные цели) наиболее часто используют корковые отвердения, которые менее травматичны для мозга и не менее информативны для определения начала и окончания фаз сна, чем электроды, вводимые в глубокие структуры мозга. Поэтому электроды для регистрации БЭА мозга были имплантированы во фронтальную и париентальную кору (индифферентный электрод располагался в носовой кости). Электроды для регистрации активности мышц, т. е. электромиограммы (ЭМГ) размещали в мышцах шеи. Электроды для регистрации БЭА мозга (шурпы,  $d = 1,6$  мм) и ЭМГ (серебряные проволочки,  $d = 0,5$  мм) имплантировались животным на фоне глубокой анестезии (внутрибрюшинного введения смеси тиопентала и оксибутирата натрия из расчета 30 и 100 мг/кг массы соответственно). Через 5–7 суток после операции животных помещали в экспериментальную камеру, подсоединяли к компьютерному электроэнцефалографу (“Нейрософт”, Россия) через вращающийся токосъемник (“Моог”, Великобритания), не ограничивающий двигательную активность животных, и проводили длительную, непрерывную регистрацию БЭА мозга и мышечной активности (2-е до и 3-е суток после выхода из ИГМС).

Стадирование записи (определение начала и окончания стадий сна) осуществляли по общепринятым критериям [13] по 4-секундным интервалам с помощью специально разработанной программы, написанной в математическом пакете Matlab. Бодрствование (Б) характеризовалось высокочастотной и низкоамплитудной активностью мозга, а также высоким уровнем мышечной активности, МВС – высокоамплитудной регулярной БЭА мозга в  $\delta$ -диапазоне частот (0,5–4 Гц) и сниженной ЭМГ, а ПС – регулярным  $\theta$ -ритмом на фоне полного подавления мышечной активности. По окончании процедуры стадирования сна рассчитывали суммарный спектр БЭА для каждого состояния (Б, МВС, ПС), суммарную длительность каждой стадии и количество эпизодов, процентное соотношение стадий для каждого часа регистрации, периодов компенсаторного увеличения стадий сна, темного и светлого времени суток, а также строили сомнограммы – последовательность чередования во времени фаз бодрствования и сна.

deep structures. That is why electrodes for brain BEA registration were implanted into frontal and pariental cortex, an indifferent electrode – into the nasal bone. Electrodes for muscle BEA, *i. e.* electromyogram (EMG) registration were placed into cervical muscles. Electrodes for brain BEA (screws,  $d = 1.6$  mm) and EMG (silver wires,  $d = 0.5$  mm) registration were implanted into deeply anaesthetized animals (intraperitoneal injection of thiopental sodium-oxybutyrate sodium mixture calculated as 30 and 100 mg/kg of an animal’s weight respectively). 5–7 days after the operation the animals were placed into the experimental chamber, connected to a computer electroencephalograph (Neurosoft, Russia) through a counter balanced swivel (Moog, Great Britain) that allowed free movement of the animals about the cage. Long-term and continuous registration of brain BEA and EMG was carried out for 2 days prior to and 3–4 days after AHMS.

The vigilance stages were scored according to the common criteria [13] by 4-second intervals with the help of a specially designed program written in the mathematical package Matlab. Wakefulness (W) was characterized by low-amplitude high-frequency brain activity as well as by high level of muscle activity; SWS – by high-amplitude regular brain BEA in  $\delta$  frequency band (0.5–4 Hz) and by lowered EMG; and PS – by regular  $\theta$ -rhythm on the background of complete inhibition of muscle activity. After sleep had been divided into stages, brain BEA summarized spectrum for each state (W, SWS, PS), summarized duration of each stage and episode numbers, percentage of stages for each registration hour, percentage of periods of compensatory prolongation of sleep stages during light and dark periods were calculated; hypnograms – a schematic representation of sleep dynamics as a sequence of stages along the day were graphed.

The artificial hypometabolic state was achieved by Bakhmet’ev-Anjus-Giaya method (“closed tank” model) [3]: 2.5 hours after stay in darkness at the temperature 2–4°C on the background of enhancing hypoxia and hypercapnia the animals fell into artificial hypometabolism ( $T_r = 16 \pm 1^\circ\text{C}$ ), which is similar to natural hibernation by a number of physiological indices. The animals rewarm from AHMS by themselves under the conditions of normal gas composition of air and the average environmental temperature 22–24°C.

The experimental data were statistically processed with the Student pair test and Wilcoxon nonparametric test.

## Results and discussion

The daily distribution of sleep in rats under the normal conditions was characterized by its amount of about 65% during the light period and 50% during the dark one. Herewith on average 56% (43% during the

Искусственное гипометаболическое состояние достигали с помощью метода Анджуса-Бахметьева-Джайя (модель “закрытого сосуда”) [3]: через 2,5 ч пребывания в темноте при температуре 2–4°C на фоне нарастающей гипоксии и гиперкапнии животные впадали в состояние искусственного гипометаболизма ( $T_p = 16 \pm 1^\circ\text{C}$ ), сходное по ряду физиологических показателей с естественной гibernацией. Животные самостоятельно выходили из ИГМС в условиях с нормальным газовым составом воздуха и средней температурой среды 22–24°C.

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с помощью парного критерия Стьюдента и непараметрического критерия Уилкоксона.

### Результаты и обсуждение

Суточное распределение сна у крыс в норме характеризовалось его представленностью около 65% в светлое время и 50% в темное время суток, при этом на долю МВС в среднем приходилось 56% (43% в темное время суток), а на долю ПС – 8% (5% в темное время суток) от общего времени записи, что согласуется с данными [5].

Первые эпизоды МВС у крыс после ИГМС появлялись в конце 2-го часа наблюдения и процентная доля МВС в течение этого часа была ниже ( $44,8 \pm 7,1\%$ ), чем у контрольных животных ( $68,4 \pm 8,4\%$ ) (рис. 1).

На 3–5-м часе регистрации представленность МВС увеличивалась, но он был сильно фрагментирован (часто прерывался короткими периодами бодрствования). С 6-го часа записи наблюдали достоверное увеличение представленности МВС по сравнению с контролем (с  $58,7 \pm 3,3$  до  $72,1 \pm 4,3\%$ ) (так называемую “отдачу” МВС, которая продолжалась до 10-го часа регистрации). При этом увеличивалась доля МВС и в начале темного времени суток, что не характерно для крыс как для животных с преимущественно ночным типом активности. В дальнейшем достоверных изменений продолжительности МВС обнаружено не было.

В зависимости от времени появления первых

dark period) belonged to SWS, and 8% (5% during the dark period) – to PS related to the total time of registration, which agrees with the data [5].

The first SWS episodes appeared in rats after AHMS at the end of the 2<sup>nd</sup> hour of observation, SWS percentage during this hour was lower ( $44.8 \pm 7.1\%$ ) than that in the control animals ( $68.4 \pm 8.4\%$ ) (Fig. 1).

SWS occurrence increased within the 3<sup>rd</sup>–5<sup>th</sup> hours of registration, but it was considerably segmented (interrupted frequently by short wakefulness periods). Since the 6<sup>th</sup> hour the significant rise in SWS occurrence (from  $58.7 \pm 3.3$  to  $72.1 \pm 4.3\%$ ), so called SWS “rebound” lasting till the 10<sup>th</sup> hour of registration, has been observed in comparison with the control. Herewith SWS amount also increased at the beginning of the dark period, which is uncharacteristic to rats, since they are nocturnal animals. Thereafter no significant changes in SWS duration were revealed.

The animals were divided in two groups depending on the time of the first PS episode occurrence during recovery after AHMS.

In the animals of group 1 awaking from AHMS the first PS episodes were registered after 6 hours of observation (Fig. 2): PS percentage has increased progressively since the 8<sup>th</sup> hour of observation, and from the 12<sup>th</sup> till the 17<sup>th</sup> hour of recording a significant rise in PS amount (from  $2.4 \pm 1.4$  to  $10.1 \pm 2.3\%$ ) as compared to the control was observed.

Herewith during the light period PS percentage decreased drastically (from  $8.4 \pm 0.2$  to  $1.1 \pm 0.3\%$ ) (Fig. 3, a) due to the reduction in the episode number from  $28 \pm 1$  to  $6 \pm 2$  (Table 1), while their duration remained unchanged. During the dark period the increase

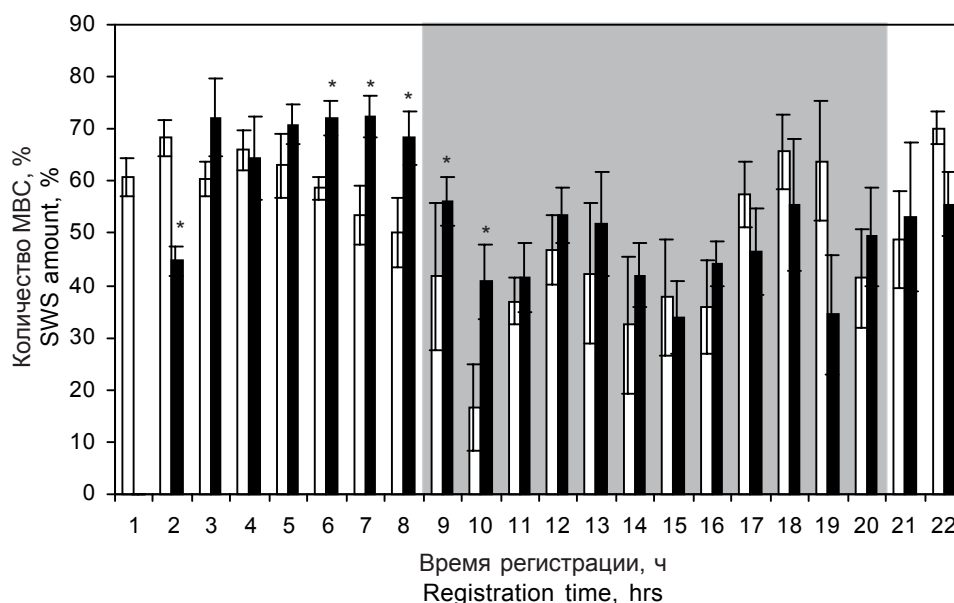
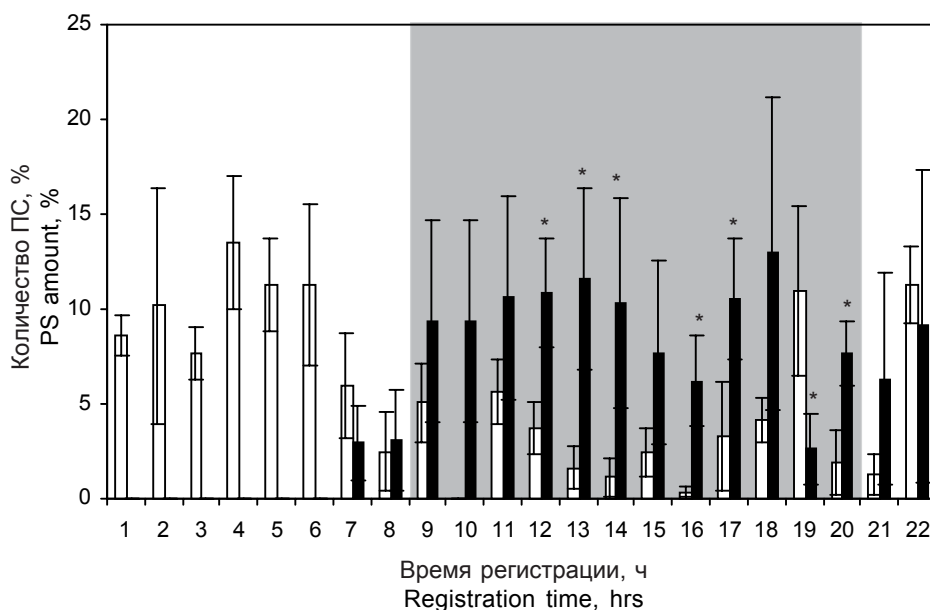


Рис. 1. Представленность МВС у крыс после ИГМС (n = 6): \* – p < 0,05; □ – контроль; ■ – ИГМС; затемненная область – темное время суток.

Fig. 1. SWS occurrence in rats after AHMS (n = 6): \* – p < 0.05; □ – control; ■ – AHMS; shaded area is dark period.



**Рис. 2.** Представленность ПС у крыс после ИГМС (группа 1, n = 3): \* – p<0,05; □ – контроль; ■ – ИГМС; затемненная область – темное время суток.

**Fig. 2.** PS occurrence in rats after AHMS (group 1, n = 3): \* – p< 0.05; □ – control; ■ – AHMS; Shaded area is dark period.

эпизодов ПС в период восстановления после ИГМС животные были разбиты на 2 группы.

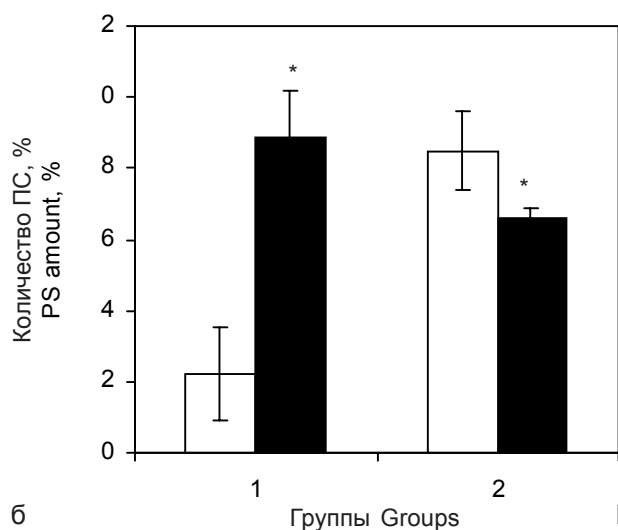
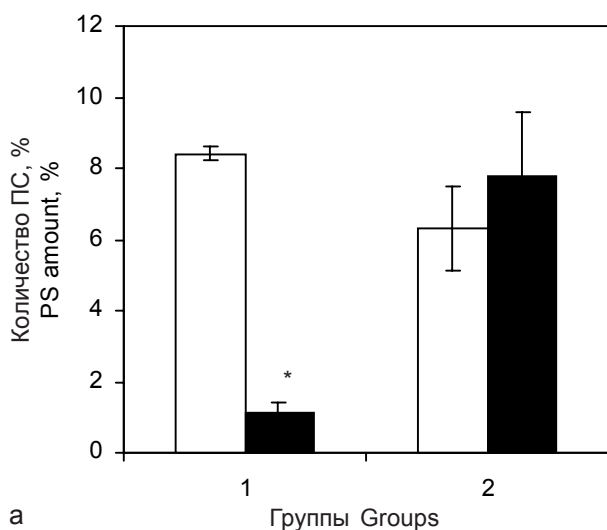
У животных группы 1 во время выхода из ИГМС первые эпизоды ПС появлялись после 6-го часа наблюдения (рис. 2): процентная доля ПС прогрессивно повышалась, начиная с 8-го часа наблюдения, а с 12-го по 17-й часы записи отмечено достоверное увеличение представленности ПС по сравнению с контролем с  $2,4 \pm 1,4$  до  $10,1 \pm 2,3\%$ .

При этом в светлое время суток доля ПС резко уменьшалась (с  $8,4 \pm 0,2$  до  $1,1 \pm 0,3\%$ ) (рис. 3, а) за счет снижения количества его эпизодов с  $28 \pm 1$  до  $6 \pm 2$  (табл. 1) при неизменной их длительности.

due to the increase in the PS episode number (from  $2.5 \pm 0.4$  to  $4.5 \pm 0.5$ ) and owing to the increase in their duration (from  $97.6 \pm 9.0$  to  $117.5 \pm 6.3$  sec) (Table 2). Thereafter no significant changes in PS occurrence were revealed.

During the dark period a tendency towards the reduction in PS percentage (from  $8.5 \pm 1.1$  to  $6.6 \pm 0.3\%$ ) (Fig. 3, b) was noted in the animals of group 2.

Thus, AHMS led to changes in the daily distribution of sleep stages in the rats during the 1<sup>st</sup> day of observation. The first SWS episodes were registered as early as during the 2<sup>nd</sup> hour of rewarming with the following “rebound” from the 6<sup>th</sup> till 10<sup>th</sup> hour of recording



**Рис. 3.** Представленность ПС после ИГМС в светлое (а) и темное (б) время суток у крыс (n = 6): \* – p<0,05; □ – контроль; ■ – ИГМС.

**Fig. 3.** PS occurrence in rats after AHMS during the light (a) and dark (b) periods (n = 6): \* – p<0.05; □ – control; ■ – AHMS.

В темное же время суток в группе 1 было отмечено увеличение представленности ПС ( $с 2,2 \pm 1,3$  до  $8,9 \pm 1,3\%$ ) (рис. 3, б) за счет роста количества его эпизодов во время “отдачи” ПС с  $1,7 \pm 0,3$  до  $2,9 \pm 0,4$ . Длительность эпизодов ПС увеличивалась недостоверно (табл. 2).

У животных группы 2 первые эпизоды ПС регистрировали уже на 4-м часе записи после выхода из ИГМС (рис. 4). При этом его доля до 6-го часа не превышала контрольных значений, а затем отмечался постепенный рост представленности ПС. С 7-го по 9-й час регистрации наблюдалась “отдача” фазы ПС ( $с 6,2 \pm 1,1$  до  $15,9 \pm 0,7\%$ ) как за счет увеличения количества ( $с 2,5 \pm 0,4$  до  $4,5 \pm 0,5$ ), так и длительности ( $с 97,6 \pm 9$  до  $117 \pm 6,3$  с) его эпизодов (табл. 2). В дальнейшем достоверных изменений в представленности ПС обнаружено не было.

В темное время суток у животных группы 2 отмечали тенденцию к снижению доли ПС с  $8,5 \pm 1,1$  до  $6,6 \pm 0,3\%$  (рис. 3, б).

Таким образом, ИГМС приводило к изменению суточного распределения стадий сна у крыс в первые сутки наблюдения. Первые эпизоды МВС отмечались уже в течение 2-го часа саморазогревания с последующей “отдачей” с 6-го по 10-й час записи, включая темное время суток. Изменялось также суточное распределение ПС. “Отдача” ПС животных группы 1 наступала лишь на 12-м часе наблюдения в темное время суток, в группе 2 – компенсаторное увеличение ПС наступало еще в светлое время суток на 7-м часе записи. При этом изменение представленности ПС происходило за счет увеличения количества и длительности его эпизодов.

Известно, что гипоксия и гиперкапния приводят к смещению установочной точки температурного гомеостаза, последующему подавлению терморегуляции и снижению температуры тела [7]. Холодовой фактор на этом фоне усиливает гипометаболизм и приводит к тотальной депривации сна. Отмеченные нами изменения структуры сна во время выхода крыс из ИГМС, вероятнее всего, опосредованы особенностями функционирования системы терморегуляции в процессе саморазогревания животного, особенностями терморегуляторных реакций в различные стадии сна и, возможно, степенью нарушения функций ЦНС и организма.

Известно, что ПС и МВС имеют различные функции и регулируются независимо друг от друга [10]. При этом во время МВС происходит контролируемое/регулируемое снижение температуры тела и мозга [15, 18] вследствие снижения установочной точки температурного гомеостаза гипоталамуса [17, 18]. В то же время, интенсификация

**Таблица 1.** Представленность ПС после ИГМС (n = 6)

**Table 1.** PS occurrence after AHMS (n = 6)

Группы животных Groups of animals	Количество эпизодов ПС PS episode number		Длительность эпизодов ПС, с PS episode duration, sec	
	Время суток Period of day		Время суток Period of day	
	Светлое Light	Темное Dark	Светлое Light	Темное Dark
Контроль Control	$28 \pm 0,6$	$25 \pm 5,2$	$99,9 \pm 5,9$	$97,8 \pm 5,7$
Группа 1 Group 1	$5,7 \pm 1,5^*$	$35,7 \pm 7,5$	$97,7 \pm 16,3$	$113,6 \pm 5,2^*$
Группа 2 Group 2	$24,3 \pm 1,5$	$32,5 \pm 6,5$	$106,5 \pm 6,2$	$128,4 \pm 6,6^*$

**Примечание:** \* – различия достоверны по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ).

**Note:** \* – significant difference as compared to the control ( $p < 0.05$ ).

including the dark period. The daily PS distribution was also changed. PS “rebound” in the animals of group 1 only occurred within the 12<sup>th</sup> hour of observation during the dark period; in the animals of group 2 a compensatory PS enhancement occurred as early as within the 7<sup>th</sup> hour of recording during the light period. Here-with the changes in PS occurrence was due both to the increase in the number of PS episodes and to their prolongation.

It is known that hypoxia and hypercapnia cause a shift of the “set point” of temperature homeostasis,

**Таблица 2.** Представленность ПС после ИГМС во время периода компенсаторного увеличения ПС (n = 6)

**Table 2.** PS occurrence after AHMS during compensatory PS enhancement (n = 6)

Группы животных Groups of animals	Количество эпизодов ПС PS episode number	Длительность эпизодов ПС, с PS episode duration, sec
Контроль группы 1 Control for group 1	$1,7 \pm 0,3$	$101,1 \pm 10,4$
Группа 1 Group 1	$2,9 \pm 0,4^*$	$117,6 \pm 6,6$
Контроль группы 2 Control for group 2	$2,5 \pm 0,4$	$97,6 \pm 9$
Группа 2 Group 2	$4,5 \pm 0,5^{\#}$	$117 \pm 6,3^{\#}$

**Примечание:** \* – различия достоверны по сравнению с контролем,  $p < 0,05$  (группа 1); # – различия достоверны по сравнению с контролем,  $p < 0,05$  (группа 2).

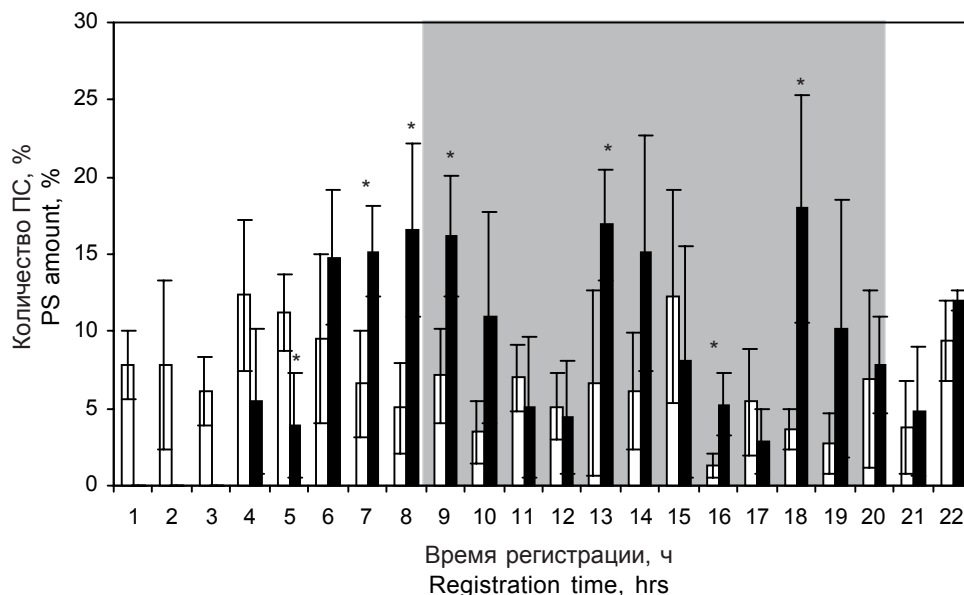
**Note:** \* – significant difference as compared to the control,  $p < 0.05$  (group 1); # – significant difference as compared to the control,  $p < 0.05$  (group 2).

метаболических процессов и быстрое повышение температуры тела, связанное с выходом организма из состояния ИГМС, могут создать риск развития гипертермии. Поэтому появление именно МВС на конечном этапе выхода из гипометаболизма и последующее увеличение его представленности можно рассматривать как часть терморегуляторного процесса, препятствующего развитию гипертермии. Необходимо отметить, что подобное увеличение процентной представленности МВС наблюдается и при пробуждении животных от зимней спячки [14].

Кроме того, увеличение доли МВС в цикле сон-бодрствование после холодной депривации способствует быстрому восстановлению функционирования ЦНС [5]. Именно во время МВС происходят усиленный синтез и накопление функциональных белков [19], и чем выше метаболические затраты во время бодрствования, тем более длительные периоды МВС необходимы для восстановления ЦНС [4, 9]. Можно предположить, что интенсификация метаболических процессов во время выхода из ИГМС приводит к быстрому истощению пула функциональных белков ЦНС, в норме защищающих нервные и глиальные клетки от окислительного стресса, в результате чего растет доля МВС.

В то же время ПС характеризуется потерей гомеостатической регуляции температуры тела и особой чувствительностью к изменению условий окружающей среды, в частности к низкой температуре [5, 6, 20], чем, возможно, и объясняется длительное (4–6 ч) отсутствие ПС в период выхода после ИГМС. Кроме того, подобные экстремальные условия могут создавать предпосылки для включения гомеостатических механизмов регуляции внутренней среды организма, направленных на блокирование ПС и переход в другое функциональное состояние.

Так как развитие ПС связано с инактивацией терморегуляторных реакций организма, опосредованных гипоталамусом [17, 18], то можно предположить, что выход из ИГМС сопровождается конфликтом между восстановлением температурного



**Рис. 4.** Представленность ПС у крыс после ИГМС (n = 3): \* – p < 0,05 (группа 2); □ – контроль; ■ – ИГМС; затемненная область – темное время суток.

**Fig. 4.** PS occurrence in rats after AHMS (group 2, n = 3): \* – p < 0.05; □ – control; ■ – AHMS; shaded area is dark period.

with the following inhibition of thermoregulation and the body temperature decline [7]. On this background cold aggravates hypometabolism and results in total sleep deprivation. The changes in sleep structure observed by us while rats were awaking from AHMS are most likely to be mediated by peculiarities of thermoregulation system functioning in the process of rewarming of an animal, peculiarities of thermoregulation responses during different sleep stages and, perhaps, by extent of CNS and the organism disfunctioning.

PS and SWS are known to have different functions and to be regulated independently on each other [10]. Herewith a controlled/regulated decline in body and brain temperatures occurs during SWS [15, 18] owing to a decrease in the “set point” of temperature homeostasis of hypothalamus [17, 18]. At the same time intensification of metabolic processes and a rapid rise in the body temperature connected with awaking the organism from AHMS can place a risk of developing hyperthermia. That is why onset of namely SWS at the final stage of awaking from hypometabolism and further increase in its amount can be considered as a part of thermoregulative process preventing the hyperthermia development. It is necessary to note that a similar increase in SWS percentage is also observed while animals are awaking from hibernation [14].

Besides an increase in SWS percentage in the sleep-wake cycle after cold deprivation promotes a rapid recovery of CNS functions [5]. Intensive synthesis and accumulation of functional proteins takes place *viz.* during SWS [19]; the higher metabolic consumption during wakefulness is, the longer SWS periods necessary for CNS recovery are [4, 9]. One

гомеостаза и потребностью организма в ПС. Гипоталамус при этом препятствует переходу организма в ПС. В условиях гипотермии подобная депрессия ПС, согласно [8], может рассматриваться как проявление адаптационной терморегуляторной реакции организма. По мере восстановления температурного гомеостаза и повышения давления ПС стволовые структуры, ответственные за развитие ПС, начинают “ускользать” от влияния гипоталамуса и появляются первые эпизоды ПС. Исходя из этого можно предположить, что именно в зависимости от скорости восстановления температурного гомеостаза животные разделились на 2 группы: с медленным (появление ПС не ранее 6-го часа саморазогревания) и более быстрым восстановлением (появление ПС в начале 4-го часа саморазогревания) температуры тела.

Длительное отсутствие ПС, обнаруженное нами у крыс при выходе из ИГМС, может свидетельствовать о том, что в первую очередь организм нуждается в восстановлении не структурных (чему способствует ПС), а функциональных белков, синтез которых происходит в МВС.

В этой связи можно предположить, что кратковременное компенсаторное увеличение сна, развивающееся в течение первых часов после выхода из ИГМС, согласно гипотезе об анаболической роли сна [2, 16], способствует интенсификации восстановительных процессов как в ЦНС, так и в организме. Кроме того, МВС может играть важную роль в восстановлении температурного гомеостаза.

### Выводы

Восстановление температурного гомеостаза после выхода из ИГМС сопровождается тотальной депривацией сна с последующим компенсаторным увеличением МВС и ПС. “Отдача” ПС обусловлена увеличением как количества, так и длительности его эпизодов. Структура и цикличность сна восстанавливаются в течение 24 ч. При этом ИГМС не приводит к стойким продолжительным изменениям в цикле сон-бодрствование и не влияет на суммарную длительность сна в течение суток.

### Литература

1. Вейн А.М., Хехт К. Сон человека, физиология и патология. – М., 1989. – 272 с.
2. Логинов В.В., Дорохов В.Б., Ковальзон В.М. Парадоксальный сон и восстановительные функции мозговой ткани // Нейронауки. – 2007. – Т. 2, №10. – С. 29–32.
3. Мельничук С.Д. Гиперкапния как фактор регуляции обмена веществ у животных в состоянии естественного и искусственного гипобоза: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Киев, 1995. – 16 с.

can assume that intensification of metabolic processes during awaking from AHMS leads to a rapid depletion of CNS functional proteins, which under the normal conditions protect nervous and glial cells against oxidative stress whereby SWS amount increases.

At the same time PS is characterized by a loss of homeostatic regulation of body temperature and by a peculiar sensitivity to changes of environment, particular to low temperature [5, 6, 20], which may explain the prolonged (4–6 hrs) absence of PS during awaking from AHMS. Besides similar extreme conditions can precondition the triggering homeostatic mechanisms of the organism directed to PS block and transition to another functional state.

Since PS development is associated with inactivation of thermoregulatory reactions of the organism mediated by hypothalamus [17, 18], one can assume that awaking from AHMS is accompanied by a conflict between the restoration of temperature homeostasis and the organism’s need in PS. Here hypothalamus prevents the organism from transiting to PS. Under hypothermic conditions a similar depression of PS according to [8] can be considered as manifestation of adaptive thermoregulatory reactions of the organism. As temperature homeostasis restores and PS pressure rises, PS brain stem mechanisms escape hypothalamus control and the first PS episodes appear. On this basis one can assume that namely depending on the temperature homeostasis restoration rate the animals split up into 2 groups: with slow (PS onset not earlier than within the 6<sup>th</sup> hour of rewarming) and fast (PS onset at the beginning of the 4<sup>th</sup> hour of rewarming) restoration of the body temperature.

The prolonged absence of PS observed by us in rats awaking from AHMS can attest to the fact that the organism needs in the first place restoration of functional proteins, which are synthesized during SWS, not structural ones, restoration of which is promoted by PS.

In this regard one can assume that a brief compensatory increase in sleep amount developing during the first hours after awaking from AHMS according to the hypothesis of the anabolic role of sleep [2, 16] promotes intensification of recovery processes both in CNS and in the organism. Besides SWS can be of vital importance for temperature homeostasis restoration.

### Conclusions

Temperature homeostasis restoration after awaking from AHMS is accompanied by the total sleep deprivation with the following compensatory increase in SWS and PS amounts. PS “rebound” is attributed both to the increase in the episode number and to their prolongation. Sleep structure and cyclicity are restored within 24 hrs. Herewith AHMS causes no steady prolonged changes in the sleep-wake cycle and has no effects on the total sleep duration during the day.



4. Пастухов Ю.Ф. Роль медленного сна в экономии энергии и восстановлении нервной системы // Всерос. конф. "Сон – окно в мир бодрствования": Тезисы докладов.– М., 2007.– С. 79–81.
5. Amici R., Zamboni G., Perez E., Parmeggiani L. The influence of a heavy thermal load on REM sleep in the rat // Brain Res.– 1998.– Vol. 781, N1–2.– P. 254–258.
6. Amici R., Cerri M., Ocampo-Garces A. et al. Cold exposure and sleep in the rat: REM sleep homeostasis and body size // Sleep.– 2008.– Vol. 31, N5.– P. 708–715.
7. Barros R.C.H., Abe A.S., Cárnio E.C., Branco L.G.S. Regulation of breathing and body temperature of a burrowing rodent during hypoxic-hypercapnia // Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.– 2004.– Vol. 138, N1.– P. 97–104
8. Berger R., Palca J., Walker J. Humans sleeping in cold: thermoregulatory and metabolic aspects // Living in the Cold. Physiological and Biochemical Adaptations. Seventh international symposium on natural mammalian hibernation.– 1985.– P. 523–529.
9. Berger R., Philips N. Sleep and energy conservation // News Physiol Sci.– 1993.– Vol. 8.– P. 276–281.
10. Borbely A. Processes underlying sleep regulation // Horm. Res.– 1998.– Vol. 49, N3–4.– P. 114–117.
11. Carey H., Andrews M., Martin S. Mammalian hibernation: cellular and molecular responses to depressed metabolism and low temperature // Physiol. Rev.– 2003.– Vol. 83, N4.– P. 1153–1181.
12. Drew K.L., Buck C.L., Barnes B.M. et al. Central nervous system regulation of mammalian hibernation: implications for metabolic suppression and ischemia tolerance // J. Neurochem.– 2007.– Vol. 10, N6.– P. 1713–1726.
13. Franken P., Dijk D. J., Tobler I., Borbely A.A. Sleep deprivation in the rat: effects on EEG power spectra, vigilance states, and cortical temperature // Am. J. Physiol.– 1991.– Vol. 261, N1, Pt. 1.– R198–R208.
14. Heller H., Ruby N. Sleep and circadian rhythms in mammalian torpor // Annu. Rev. Physiol.– 2004.– Vol. 66.– P. 275–289.
15. Kumar V.M. Interrelation between thermoregulation and sleep regulation // Proc. Indian Nat. Sci. Acad.– 2003.– Vol. 69, N4.– P. 507–524.
16. Oswald I. The function of sleep // Postgrad. Med. J.– 1976.– Vol. 52, N603.– P. 15–18.
17. Parmeggiani P.L. Thermoregulation and sleep // Front. Biosci.– 2003.– Vol. 8.– P. 557–567.
18. Parmeggiani P.L. Interaction between temperature and sleep regulation // Living in the Cold. Physiological and Biochemical Adaptations. Seventh international symposium on natural mammalian hibernation.– 1985.– P. 177–183.
19. Siegel J.M. Clues to the functions of mammalian sleep // Nature.– 2005.– Vol. 437, N7063.– P. 1264–1271.
20. Zamboni G., Amici R., Perez E. et al. Pattern of REM sleep occurrence in continuous darkness following the exposure to low ambient temperature in the rat // Behav. Brain Res.– 2001.– Vol. 122, N1.– P. 25–32.

*Поступила 02.02.2010  
Рецензент Л.И. Релина*

## References

1. Wein A.M., Hecht K. Sleep in humans, physiology and pathology.– Moscow, 1989.– 272 p.
2. Loginov V.V., Dorokhov V.B., Kovalzon V.M. Paradoxical sleep and recovery functions of brain tissue // Neuronauki.– 2007.– Vol. 2, N10.– P. 29–32.
3. Melnichuk S.D. Hypercapnia as a factor of metabolism regulation in animals in the states of natural and artificial hypobiosis: Author's abstract of Candidate of Biological Sciences.– Kiev, 1995.– 16 p.
4. Pastukhov Yu. F. A role of slow sleep in energy economy and nervous system recovery // Abstract book of the All-Russian conference "Sleep is a Window to the Wakefulness World".– Moscow, 2007.– P. 79–81.
5. Amici R., Zamboni G., Perez E., Parmeggiani L. The influence of a heavy thermal load on REM sleep in the rat // Brain Res.– 1998.– Vol. 781, N1–2.– P. 254–258.
6. Amici R., Cerri M., Ocampo-Garces A. et al. Cold exposure and sleep in the rat: REM sleep homeostasis and body size // Sleep.– 2008.– Vol. 31, N5.– P. 708–715.
7. Barros R.C.H., Abe A.S., Cárnio E.C., Branco L.G.S. Regulation of breathing and body temperature of a burrowing rodent during hypoxic-hypercapnia // Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.– 2004.– Vol. 138, N1.– P. 97–104
8. Berger R., Palca J., Walker J. Humans sleeping in cold: thermoregulatory and metabolic aspects // Living in the Cold. Physiological and Biochemical Adaptations. Seventh international symposium on natural mammalian hibernation.– 1985.– P. 523–529.
9. Berger R., Philips N. Sleep and energy conservation // News Physiol Sci.– 1993.– Vol. 8.– P. 276–281.
10. Borbely A. Processes underlying sleep regulation // Horm. Res.– 1998.– Vol. 49, N3–4.– P. 114–117.
11. Carey H., Andrews M., Martin S. Mammalian hibernation: cellular and molecular responses to depressed metabolism and low temperature // Physiol. Rev.– 2003.– Vol. 83, N4.– P. 1153–1181.
12. Drew K.L., Buck C.L., Barnes B.M. et al. Central nervous system regulation of mammalian hibernation: implications for metabolic suppression and ischemia tolerance // J. Neurochem.– 2007.– Vol. 10, N6.– P. 1713–1726.
13. Franken P., Dijk D. J., Tobler I., Borbely A.A. Sleep deprivation in the rat: effects on EEG power spectra, vigilance states, and cortical temperature // Am. J. Physiol.– 1991.– Vol. 261, N1, Pt. 1.– R198–R208.
14. Heller H., Ruby N. Sleep and circadian rhythms in mammalian torpor // Annu. Rev. Physiol.– 2004.– Vol. 66.– P. 275–289.
15. Kumar V.M. Interrelation between thermoregulation and sleep regulation // Proc. Indian Nat. Sci. Acad.– 2003.– Vol. 69, N4.– P. 507–524.
16. Oswald I. The function of sleep // Postgrad. Med. J.– 1976.– Vol. 52, N603.– P. 15–18.
17. Parmeggiani P.L. Thermoregulation and sleep // Front. Biosci.– 2003.– Vol. 8.– P. 557–567.
18. Parmeggiani P.L. Interaction between temperature and sleep regulation // Living in the Cold. Physiological and Biochemical Adaptations. Seventh international symposium on natural mammalian hibernation.– 1985.– P. 177–183.
19. Siegel J.M. Clues to the functions of mammalian sleep // Nature.– 2005.– Vol. 437, N7063.– P. 1264–1271.
20. Zamboni G., Amici R., Perez E. et al. Pattern of REM sleep occurrence in continuous darkness following the exposure to low ambient temperature in the rat // Behav. Brain Res.– 2001.– Vol. 122, N1.– P. 25–32.

*Accepted in 02.02.2010*