

Сон после ритмических холодовых воздействий

UDC 591.128.4:612.821.7.014.43

O.A. VENTSKOVSKA*, O.V. SHYLO#, G.A. BABIYCHUK

Sleep after Rhythmic Cold Effects

Изучали влияние ритмических холодовых воздействий (РХВ) на цикл сон-бодрствование. После РХВ происходило изменение почасовой динамики распределения состояний сна и бодрствования: в оставшееся светлое время суток (18.00–21.00) отмечалась "отдача" парадоксального сна (ПС) (увеличение его количества) как в первый, так и во второй день после воздействия. Подобные изменения представленности ПС наблюдались на фоне снижения количества бодрствования. Что касается медленноволнового сна (МВС), то ни после первой, ни после второй серии РХВ суммарное время пребывания животных в этом состоянии не отличалось от контрольных значений. Наряду с этим, наблюдалось значительное увеличение длительности эпизодов МВС на фоне снижения их количества как в светлое, так и темное время. В течение восстановительных суток (на следующий день после окончания 2-й серии РХВ) динамика представленности МВС не отличалась от контроля. Первые часы светлого времени суток характеризовались повышенными значениями ПС. В ночное время наблюдалось уменьшение количества ПС за счет прироста количества бодрствования. Тем не менее суммарное время, проведенное животными в различных функциональных состояниях как в светлое, так и темное время суток, не отличалось от контрольных значений, что может свидетельствовать о сохранности функциональной активности задействованных в регуляцию сна систем мозга после РХВ.

Ключевые слова: ритмические холодовые воздействия, медленноволновой сон, парадоксальный сон, терморегуляция, крыса.

Вивчали дію ритмічних холодових впливів (РХВ) на цикл сон-неспанья. Після РХВ відбувалася зміна погодинної динаміки розподілу станів сну і неспанья: у решту світлового періоду доби (18.00–21.00) спостерігалась "віддача" парадоксального сну (ПС) (збільшення його кількості) як в перший, так і другий день спостереження. Подібні зміни представленості ПС спостерігалися на тлі зниження кількості неспанья. Що стосується повільнохвильового сну (ПХС), то ні після першої, ні після другої серії РХВ сумарний час, проведений тваринами в цьому стані, не відрізнявся від контрольних значень. Поряд з цим спостерігалось значне збільшення тривалості епізодів ПХС на тлі зниження їх кількості як в світлий, так і в темний періоди. Протягом періоду відновлювання (наступний день після закінчення 2-ї серії РХВ) динаміка представленості ПХС не відрізнялася від контролю. Перші години світлого часу доби характеризувалися підвищеними значеннями ПС. У нічний же час спостерігалось зменшення кількості ПС на тлі збільшення кількості неспанья. Однак сумарний час, проведений тваринами в різних функціональних станах як в світлий, так і темний періоди доби, не відрізнявся від контрольних значень, що може свідчити про збереження функціональної активності задіяних в регуляцію сну систем мозку після РХВ.

Ключові слова: ритмічні холодові впливи, повільнохвильовий сон, парадоксальний сон, терморегуляція, щур.

There were investigated the rhythmic cold effects (RCE) on the sleep-wake cycle. After RCE the hourly dynamics change of sleep and wakefulness state distribution occurred: in the remaining light period (18.00–21.00) there was noted the rapid eye movement (REM) sleep "rebound" (the increase of its amount) during the first day as well as during the second one after the influence. Similar changes of REM sleep occurrence were observed on the background of the wakefulness amount decrease. As for slow-wave sleep (SWS), neither after the first nor after the second RCE series the total time of animal being in this state did not differ from the control level. Furthermore, the significant increase of SWS episode duration was observed on the background of their amount decrease during the light as well as during the dark period. During recovery period (the next day after finishing the 2nd RCE series) the dynamics of SWS occurrence did not differ from the control. The first hours of light period were characterized by the elevated REM sleep amount. The decreased amount of REM sleep was observed in the night time due to increase of wakefulness. Nevertheless, the total time spent by animals in different functional states during the light as well as during the dark period did not differ from the control indices testifying to preservation of functional activity of brain systems involved in sleep regulation after RCE.

Key words: rhythmic cold effects, slow-wave sleep, rapid eye movement sleep, thermoregulation, rat.

Сон гомеотермов, включая человека, чувствителен даже к небольшим колебаниям температуры окружающего воздуха: при температурах ниже и выше термонейтральной зоны уменьшается длительность сна и изменяется его временная организация [3, 13]. Из немногочисленных исследований по изучению эффектов длительного влияния низких

Sleep of homeotherms including the human is sensitive even to slight alternations of environmental temperature: during temperatures either lower or higher of thermoneutral zone, sleep duration decreases and its temporary organization changes [3, 13]. Some investigations for the studying of continuous low temperature effects (comparable with "non-typical" regi-

Институт проблем криобиологии и криомедицины
НАН Украины, г. Харьков

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

* # Авторы, которым необходимо направлять корреспонденцию:
ул. Перейславская, 23, г. Харьков, Украина 61015; тел.: (+380 57) 373-30-39, факс: (+380 57) 373-30-84, электронная почта:
* elena.vens@gmail.com, # avshilo@list.ru

* # To whom correspondence should be addressed: 23, Pereyaslavskaya str., Kharkov, Ukraine 61015; tel.:+380 57 373 3039, fax: +380 57 373 3084, e-mail: * elena.vens@gmail.com, # avshilo@list.ru

температур (сопоставимой с "нетипичными" режимами долговременной акклимации) на цикл сон-бодрствование известно, что происходит увеличение общего времени сна за сутки, причем за счет глубокого медленноволнового сна (МВС). Эта адаптационная особенность отражает, по-видимому, высокую потребность во сне как физиологическом механизме, способствующем периодическому существенному снижению энерготрат в условиях их длительного повышения во время акклимации [3, 7].

К настоящему времени повторяющиеся кратковременные охлаждения организма [4], учитывающие биоритмичность процессов любой формы природной адаптации [1], которые также повышают устойчивость к холоду, что выявлено у различных лабораторных и диких животных [4], получают все большее распространение. Формирование подобных адаптивных изменений направлено на ослабление стрессового компонента первоначальной реакции, угнетение реакции "тревоги", уменьшение дрожи, болевых ощущений, дискомфорта, реакций сердечно-сосудистой и вегетативной нервной систем. Причем эти изменения происходят при участии центральных нервных механизмов.

Если роль цикла сон-бодрствование при длительном действии низкой температуры была определена в ряде исследований [3–5, 7], то какую функцию выполняет этот цикл при повторяющихся кратковременных (ритмических) холодových воздействиях до настоящего времени неизвестно.

Цель работы – изучение влияния ритмических холодových воздействий (РХВ) на цикл сон-бодрствование крыс.

Материалы и методы

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

Эксперименты проведены на 7–8-месячных крысах-самцах линии Вистар (масса 220–250 г), находящихся в звукопоглощающей камере с контролируемой длительностью светового дня (свет:темнота 12:12) и температурой окружающей среды (22–24°C) в отдельных клетках со свободным доступом к воде и пище.

Электроды для регистрации биоэлектрической активности (БЭА) мозга (винты, $d = 1,6$ мм) и электромиограмм мышц (серебряные проволочки,

mens of long-term acclimation) on sleep-wake cycle report that the total sleep time per day increases due to the deep SWS. This adaptation feature obviously reflects a high need in the sleep as physiological mechanism assisted to the periodical significant decrease of energy expenditure under the conditions of their long-term increase during acclimation [3, 7].

To the present time the repeated short-term organism coolings [4] considering biorhythmicity of any natural adaptations [1] also enhancing the cold resistance that was noted in different laboratory and wild animals [4], are extended rapidly. The formation of similar adaptive changes is aimed to the weakening of initial reactive stress component, "alarm" reaction suppression, shivering decrease, pain senses, discomfort, cardiovascular and vegetative nervous system reactions. Furthermore these changes occur with participation of the central nervous mechanisms.

Whereas the role of sleep-wake cycle during long-term low temperature effect was determined in the range of investigations [3–5, 7] it is unclear till now what the function this cycle performs during repeated short-term rhythmic cold effects (RCE). The research aim is to study the influence of RCE on sleep-wake cycle in rats.

Materials and methods

Experiments were carried-out according to the General Ethic Principles of Experiments in Animals approved by the 3rd National Congress for Bioethics (2007, Kiev, Ukraine) and agreed with the regulations of "European Convention on the Protection of Vertebrates Used for Experimental and Other Scientific Purposes" (Strasbourg, 1985).

Experiments were carried-out in 7–8 month old Wistar male rats (220–250 g body weight) being in sound-attenuated chamber with controlled light-dark regimen (light:dark as 12:12) and environmental temperature of 22–24°C in separate cages with water and food *ad libitum*.

Electrodes for the bioelectrical activity (BEA) recording of brain (screws, $d = 1.6$ mm) and muscles (electromyogram, silver wires, $d = 0.5$ mm) were implanted into anesthetized animals (intraperitoneal injection of thiopental sodium – oxybutyrate sodium mixture calculated as 30 and 100 mg/kg of an animal weight, correspondingly). Electrodes for BEA recording were implanted into the frontal and parietal cortex, reference electrode was implanted into the nasal bone, electrodes for electromyogram recording were located in the neck muscles. In 5–7 days after operation the animals were placed into experimental chamber, were connected to the computer electroencephalograph (Neurosoft, Russia) through counter balanced swivel (Moog, Great Britain) not restricting the animal mov-

$d = 0,5$ мм) имплантировали наркотизированным животным (внутрибрюшинное введение смеси тиопентала и оксибутирата натрия из расчета 30 и 100 мг/кг массы соответственно). Электроды для регистрации БЭА вживляли во фронтальную и париетальную области коры, индифферентный электрод – в носовую кость, электроды для регистрации электромиограммы размещали в мышцах шеи. Через 5–7 дней после операции животных помещали в экспериментальную камеру, подсоединяли к компьютерному электроэнцефалографу (“Нейрософт”, Россия) через вращающийся токосъемник (“Moog”, Великобритания), не ограничивающий двигательную активность животных, и проводили длительную, непрерывную регистрацию БЭА мозга и мышц.

Начало и окончание стадий сна (стадирование записи) определяли по общепринятым критериям [8] по 4-секундным интервалам с помощью специально разработанной программы, написанной в математическом пакете Matlab. По окончании процедуры стадирования сна рассчитывали суммарный спектр БЭА для каждого состояния (бодрствование, 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.

Ритмические холодовые воздействия проводили по методу [4], а именно: в течение первых 15 мин каждого часа животные находились в холодовой камере с температурой -12°C , последующие 45 мин – вне холодовой камеры при температуре окружающей среды $22-24^{\circ}\text{C}$. Все экспериментальные воздействия начинались в 9.00 и заканчивались в 17.15, после чего производили регистрацию цикла сон-бодрствование. На следующий день процедуру РХВ повторяли. Исходя из методики проведения холодовых воздействий, основными компонентами РХВ являются холод и смена светового режима, поэтому для выявления роли холодового фактора была проведена дополнительная серия экспериментов по ритмической мягкой депривации сна (РМТДС): в течение 15 мин каждого часа животных подвергали мягкой депривации сна (предоставление для исследовательской деятельности кусочков пластика, оберток, опилок и другого материала вместе со слабой акустической стимуляцией в виде постукиваний по камере), последующие 45 мин животное предоставлялось самому себе.

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили методом однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA).

ing activity and long-term continuous recording of brain and muscle BEA was carried-out.

The beginning and the end of sleep phases (record scoring) were determined by the generally accepted criteria [8] in 4 sec intervals by means of specially designed program written in Matlab mathematical software. At the end of vigilance stage scoring the BEA total spectrum for each state (wakefulness, SWS, REM sleep), total duration of each stage and episode number, percentage ratio of stages for each recording hour, periods of sleep stage compensatory increase, dark and light period were assessed.

Rhythmic cold effects were carried-out by the method [4], viz. during the first 15 min of each hour the animals were kept in cold chamber at -12°C , the following 45 min they were outside the cold chamber at environmental temperature of $22-24^{\circ}\text{C}$. All experimental influences began at 9.00 and finished at 17.15, then sleep-wake cycle was recorded. The next day RCE was repeated. Since the basis of the methodology of the cold exposure, the main components of the RCE were the cold and the changing light conditions, then to identify the role of the cold factor an additional series of experiments on the rhythmic gentle dark sleep deprivation (RGDSD) was performed. The group of animals were subjected to 15 min sleep restriction by providing them for their exploratory activity the pieces of plastic, wrappings, cuttings and another material and/or performing the slight acoustic stimulation with knocking on the chamber every hour during the day for a total nine sleep restrictions. The remaining 45 min of the every hour the animal was left alone.

The statistical significance of the influence of RCE and RGDSD was analyzed using one-way analysis of variance (ANOVA).

Results and discussion

In our experiments the wakefulness period during the control day was 38.1 ± 7.7 and sleep period was 61.9%, where SWS and REM sleep comprised $54.8 \pm 7\%$ and $7 \pm 0.7\%$, correspondingly, that was in accordance with the data of Amici *et al.* [8–10]. Rhythmic cold effects did not change the percentage distribution of functional states (Table 1).

Furthermore, the daily distribution of sleep and wakefulness in the norm was characterized by greater representation of both SWS and REM sleep during light period (about 60%), and the wakefulness period was 30%. At night time the animals were predominantly in wakefulness state (70%). Herewith, the REM sleep period during light time occupied more time (8%) than during dark time (not more than 3%).

During the first and the second experimental days after RCE the hourly dynamics changes in sleep and

Результаты и обсуждение

В наших экспериментах на долю бодрствования в течение контрольных суток приходилось $38,1 \pm 7,7$, а на долю сна – $61,9 \pm 7,7\%$: из них $54,8 \pm 7\%$ составил МВС и $7 \pm 0,7\%$ – ПС, что согласуется с данными Amici R. и соавт. [8–10]. Ритмические холодовые воздействия не изменяли процентного распределения функциональных состояний (табл. 1).

Кроме того, суточное распределение состояний сна и бодрствования в норме характеризовалось большей представленностью как МВС, так и ПС в дневное время суток (около 60%), а на долю бодрствования приходилось около 30%. В ночное время суток животные преимущественно пребывали в состоянии бодрствования (70%). При этом на долю ПС в дневное время суток приходилось большее количество времени (8%), чем в ночное (не более 3%).

В течение первых и вторых экспериментальных суток после РХВ происходило изменение почасовой динамики распределения состояний сна и бодрствования. В оставшееся светлое время суток (18.00–21.00) после первой серии РХВ наблюдалась так называемая "отдача" ПС – увеличение количества ПС с $6,2 \pm 1,2$ до $13,7 \pm 1,7\%$ (рис. 1, 2) за счет увеличения длительности его эпизодов с $95,6 \pm 9,3$ до $125,4 \pm 7,6$ с (табл. 2). Подобные изменения представленности ПС наблюдались на фоне снижения количества бодрствования с $47,4 \pm 11,1$ до $22,3 \pm 2,5\%$ (рис. 1). В темное время суток отмечались периоды с увеличенной представленностью ПС (рис. 2). Тем не менее суммарное время, проведенное животными в ПС в темное время суток, не отличалось от контроля (табл. 3).

Во второй экспериментальный день в оставшееся светлое время суток также наблюдалось

wakefulness states distribution occurred. In the remaining light period (18.00–21.00) after the first RCE series there was observed so-called REM sleep "rebound", *i. e.* the increase of REM sleep amount from 6.2 ± 1.2 up to $13.7 \pm 1.7\%$ (Fig. 1, 2) due to the increase of their episode duration from 95.6 ± 9.3 up to 125.4 ± 7.6 (Table 2). The changes of REM sleep occurrence were observed on the background of wakefulness amount decrease from 47.4 ± 11.1 down to $22.3 \pm 2.5\%$ (Fig. 1). During the dark time the periods with an increased REM sleep occurrence were noted (Fig. 2). Nevertheless, the total time that animals spent in REM sleep during dark time did not differ from the control.

In the second experimental day during the remaining light period there was also observed the compensatory increase of REM sleep from 6.2 ± 1.2 up to $12 \pm 1.5\%$ by means of rise in episode duration from 95.6 ± 9.32 up to 154 ± 9.2 (Table 2) on the background of the reduced wakefulness amount from 47.4 ± 11.1 down to $26.7 \pm 3.6\%$ (Fig. 1). During the dark time there were also noted the periods of REM sleep "rebound" (Fig. 3), furthermore, the total time of being in REM sleep during the night did not differ from the control indices.

As for SWS, neither after the first nor after the second RCE series the total duration of this state did not differ from the control indices during all the time of recording except several hours (Fig. 4, 5) during which the appearance of significant differences may be hardly referred to the RCE influence.

At the same time, the significant increase of SWS episode duration was noted on the background of the decrease of their amount during both the light and dark periods of both experimental days (Table 4).

During the recovery day (the next day after the second RCE series) the dynamics of SWS occurrence

Таблица 1. Суточное количество бодрствования, МВС и ПС в контроле и после РХВ ($n = 10$)
Table 1. Daily amount of wakefulness, SWS and REM sleep in the control and after RCE ($n = 10$)

Условия эксперимента Experimental conditions	Количество, % Amount, %			
	бодрствования wakefulness	сна sleep	МВС SWS	ПС REM sleep
Контроль Control	$38,1 \pm 7,7$	$61,9 \pm 7,7$	$54,8 \pm 7$	$7 \pm 0,7$
Первая серия РХВ First RCE series	$43,7 \pm 1,8$	$56,3 \pm 1,8$	$47,9 \pm 1,8$	$8,5 \pm 0,5$
Вторая серия РХВ Second RCE series	$45,7 \pm 2,3$	$54,3 \pm 2,3$	$44,9 \pm 2$	$9,3 \pm 0,9$
Восстановительные сутки Recovery day	$49,8 \pm 1,5$	$50,2 \pm 1,5$	$43,6 \pm 1,8$	$6,6 \pm 0,7$

компенсаторное увеличение ПС с $6,2 \pm 1,2$ до $12 \pm 1,5\%$ за счет увеличения длительности эпизодов с $95,6 \pm 9,32$ до $154 \pm 9,2$ с (табл. 2) на фоне сокращения времени пребывания в состоянии бодрствования с $47,4 \pm 11,1$ до $26,7 \pm 3,6\%$ (рис. 1). В темное время суток также отмечались периоды “отдачи” ПС (рис. 3), при этом суммарное время пребывания в ПС за ночь не отличалось от контрольных значений.

Что касается МВС, то ни после первой, ни после второй серии РХВ суммарное время пребывания в этом состоянии не отличалось от контрольных значений на протяжении всего времени регистрации, за исключением нескольких часов (рис. 4, 5), появление достоверных отличий в которых вряд ли может быть отнесено к влиянию РХВ.

Наряду с этим, отмечалось значительное увеличение длительности эпизодов МВС на фоне снижения их количества как в светлое, так и в темное время суток (табл. 4).

В течение восстановительных суток (на следующий день после окончания второй серии РХВ) динамика представленности МВС не отличалась от контроля (рис. 6). Первые часы светлого времени суток характеризовались повышенными значениями ПС: с 12.00 до 15.00 отмечалось увеличение его количества с $7,3 \pm 1,2$ до $14,2 \pm 1,8\%$. В ночное время (с 22.00 до 3.00) наблюдалось уменьшение количества ПС с $8,1 \pm 0,9$ до $2,3 \pm 0,6\%$ (рис. 7) за счет прироста количества бодрствования. Чем вызвано подобное уменьшение сна, остается непонятным. Тем не менее суммарное время, проведенное животными в различных функциональных состояниях в темное время суток, не отличалось от контрольных значений.

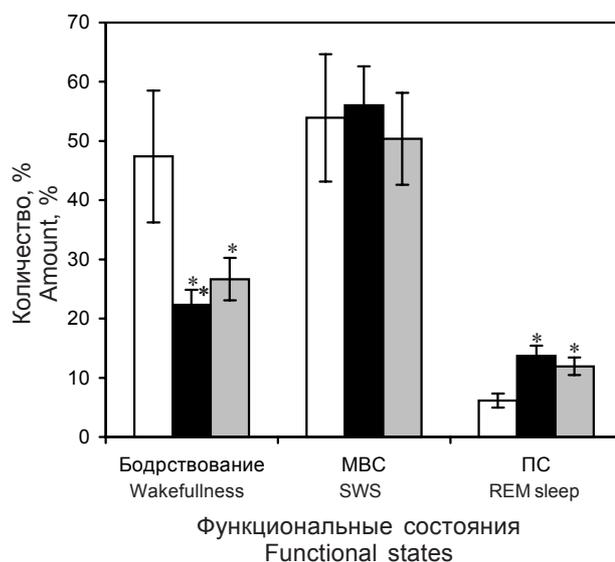


Рис. 1. Изменение количества бодрствования (Б), МВС и ПС в светлое время суток после первой (■) и второй (▣) серий РХВ; □ – контроль; $n = 10$, * – $p < 0,05$.

Fig. 1. The change of wakefulness, SWS and REM sleep amount in light period after the first (■) and the second (▣) RCE series; □ – control; $n = 10$, * – $p < 0.05$.

did not differ from the control (Fig. 6). The first hours of light period were characterized by the elevated REM sleep indices: from 12.00 to 15.00 the increase of its amount from 7.3 ± 1.2 up to $14.2 \pm 1.8\%$ was noted. In night time (from 22.00 to 3.00) the decrease of REM sleep amount from 8.1 ± 0.9 down to $2.3 \pm 0.6\%$ was observed (Fig. 7) due to the increase of wakefulness amount. What caused such a sleep reduction is still unclear. Nevertheless, the total time which animals spent in various functional states during dark time did not differ from the control indices.

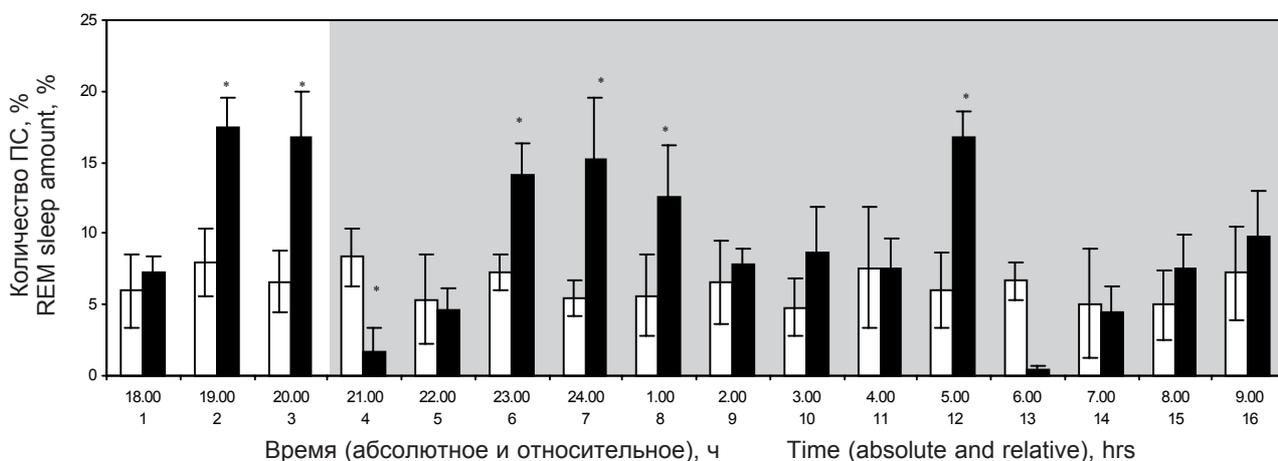


Рис. 2. Представленность ПС после первой серии РХВ по сравнению с контролем в соответствующее время суток ($n = 10$); □ – контроль; ■ – РХВ; * – $p < 0,05$.

Fig. 2. REM sleep occurrence after the first RCE series as compared with the control in corresponding day time ($n = 10$); □ – control; ■ – RCE; * – $p < 0.05$.

Таблица 2. Изменение длительности и количества эпизодов ПС после РХВ ($n = 10$)**Table 2.** Changes in REM sleep episode duration and amount after RCE ($n = 10$)

Условия эксперимента Experimental conditions	Количество эпизодов ПС, % REM sleep episode amount, %		Длительность эпизодов ПС, с REM sleep episode duration, sec	
	Светлое время Light period	Темное время Dark period	Светлое время Lightperiod	Темное время Dark period
Контроль Control	3,4 ± 0,8	2 ± 0,4	95,6 ± 9,3	96,8 ± 6,4
Первая серия РХВ First RCE series	3,3 ± 0,3	2,2 ± 0,2	125,4 ± 7,6*	120 ± 6*
Вторая серия РХВ Second RCE series	3,6 ± 0,4	2,1 ± 0,2	154 ± 9,2*	132,8 ± 7,6*

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

Note: * – the changes are significant, comparing to the control, $p < 0.05$.

Таблица 3. Количество бодрствования, МВС и ПС в темное время суток после РХВ ($n = 10$)**Table 3.** Wakefulness, SWS and REM sleep amount during the dark period after RCE ($n = 10$)

Условия эксперимента Experimental conditions	Количество, % Amount, %		
	бодрствования wakefulness	МВС SWS	ПС REM sleep
Контроль Control	44,3 ± 12,3	49,6 ± 10,6	6 ± 1,7
Первая серия РХВ First RCE series	45,4 ± 4,6	45,3 ± 3,9	8 ± 1,8
Вторая серия РХВ Second RCE series	49,4 ± 1,9	41,3 ± 1,4	8,3 ± 0,9
Восстановительные сутки Restorative day	61,3 ± 3,1	34 ± 3	4,8 ± 0,2

Таблица 4. Изменение длительности и количества эпизодов МВС после РХВ ($n=10$)**Table 4.** Change in SWS episode duration and amount after RCE ($n=10$)

Условия эксперимента Experimental conditions	Количество эпизодов МВС, % SWS episode amount, %		Длительность эпизодов МВС, с SWS episode duration, sec	
	Светлое время Light period	Темное время Dark period	Светлое время Light period	Темное время Dark period
Контроль Control	12,8 ± 1,9	9,6 ± 0,7	152 ± 15,6	188,8 ± 8
Первая серия РХВ First RCE series	5,8 ± 0,5*	4,2 ± 0,2*	392,8 ± 26,8*	344,8 ± 2,9*
Вторая серия РХВ Second RCE series	5,4 ± 0,5*	4,9 ± 0,4*	308 ± 9,2*	299,6 ± 16,8*

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

Note: * – the changes are significant, comparing to the control, $p < 0.05$.

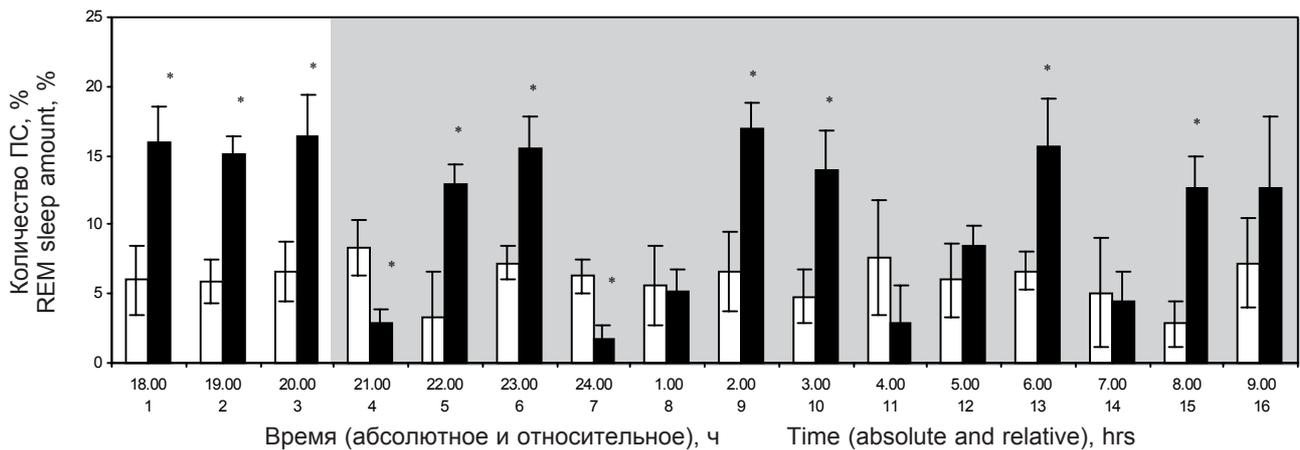


Рис. 3. Представленность ПС после второй серии РХВ по сравнению с контролем в соответствующее время суток ($n = 10$); □ – контроль; ■ – РХВ; * – $p < 0,05$.

Fig. 3. REM sleep occurrence after the second RCE series in contrast to the control during corresponding day time ($n = 10$); □ – control; ■ – RCE; * – $p < 0.05$.

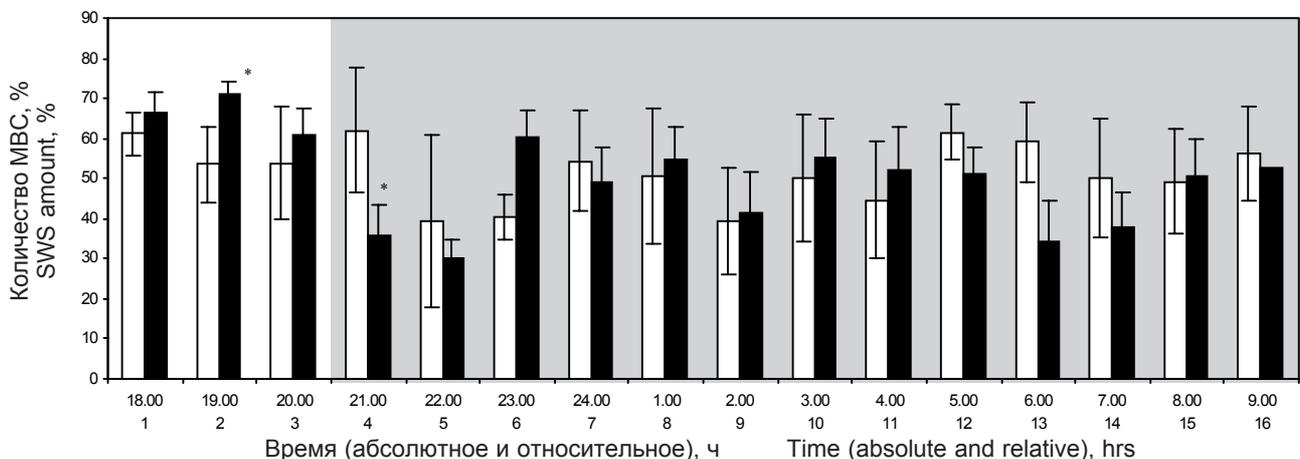


Рис. 4. Представленность МВС после первой серии РХВ по сравнению с контролем в соответствующее время суток ($n = 10$); □ – контроль; ■ – РХВ; * – $p < 0,05$.

Fig. 4. SWS occurrence after the first RCE series as compared to the control during corresponding day time ($n = 10$); □ – control; ■ – RCE; * – $p < 0.05$.

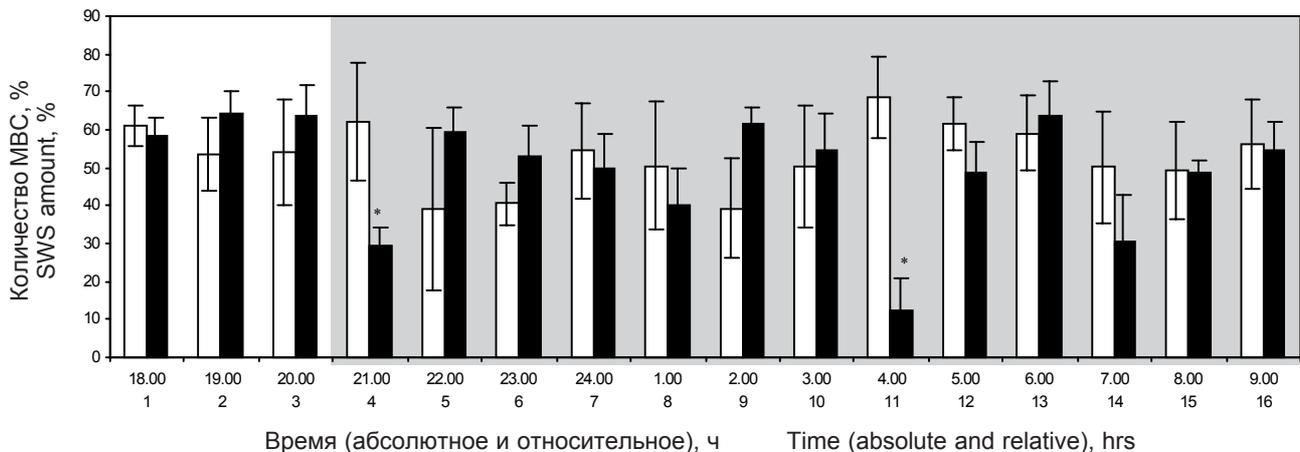


Рис. 5. Представленность МВС после второй серии РХВ по сравнению с контролем в соответствующее время суток ($n = 10$); □ – контроль; ■ – РХВ; * – $p < 0,05$.

Fig. 5. SWS occurrence after the second RCE series as compared to the control during corresponding day time ($n = 10$); □ – control; ■ – RCE; * – $p < 0.05$.

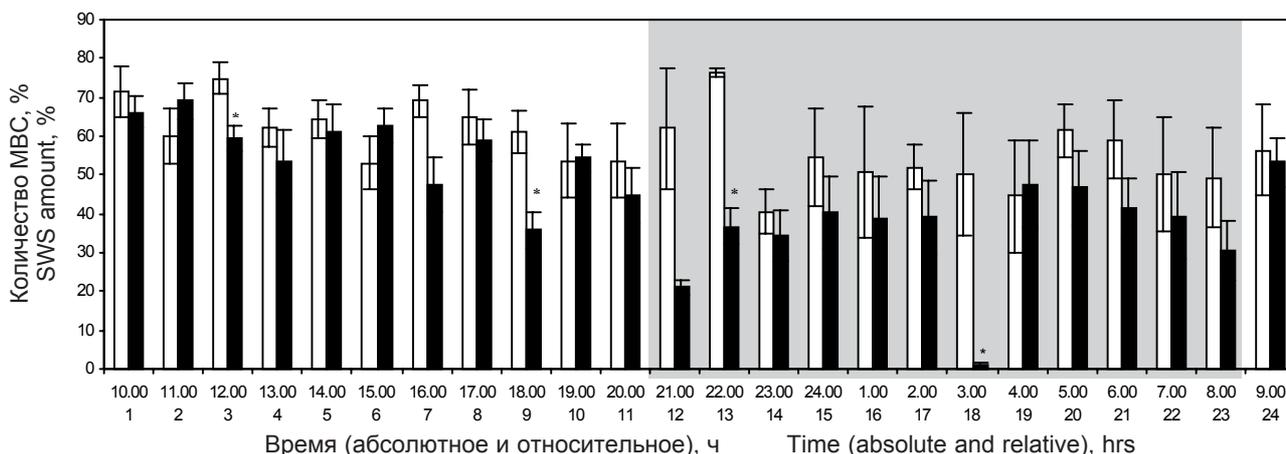


Рис. 6. Представленность МВС в восстановительные сутки после РХВ по сравнению с контролем в соответствующее время суток ($n = 10$); □ – контроль; ■ – РХВ; * – $p < 0,05$.

Fig. 6. SWS occurrence in recovery day after RCE in contrast to the control during the corresponding day time ($n = 10$); □ – control; ■ – RCE; * – $p < 0.05$.

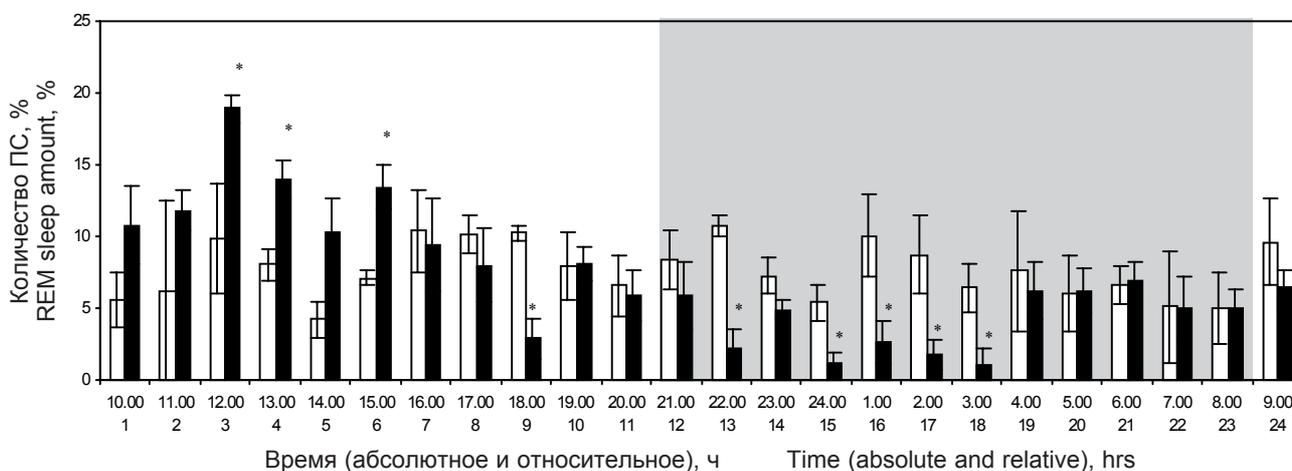


Рис. 7. Представленность РС в восстановительные сутки после РХВ по сравнению с контролем в соответствующее время суток ($n = 10$); □ – контроль; ■ – РХВ; * – $p < 0,05$.

Fig. 7. REM sleep occurrence in recovery day after RCE in contrast to the control during the corresponding day time ($n = 10$); □ – control; ■ – RCE; * – $p < 0.05$.

Как отмечалось выше, методика проведения РХВ включает два основных фактора воздействия: холода и смены светового режима. Для выявления роли холодового фактора была проведена серия экспериментов по ритмической мягкой темновой депривации сна (РМТДС).

Ритмическая мягкая темновая депривация сна в отличие от РХВ не приводила к существенным изменениям в количестве и суточном распределении стадий сна и бодрствования (табл. 5). Достоверных отличий в динамике распределения стадий сна после РМТДС также обнаружено не было, что позволяет отнести отмеченные выше изменения сна после РХВ на счет специфичности влияния холодового фактора на сон.

Сон находится под контролем двух механизмов регуляции: гомеостатического и циркадного [11]. Любая депривация сна обычно вызывает измене-

As it was mentioned above, the method of RCE combines two basic affecting factors, the cold and the change of light regimen. For revealing the role of the cold factor the experimental series on rhythmic gentle dark sleep deprivation (RGDSD) were performed.

Rhythmic gentle dark sleep deprivation unlike the RCE did not lead to the significant changes in amount and daily distribution of sleep and wakefulness stages (Table 5). No significant changes in dynamics of sleep stage distribution after RGDSD were noted too, allowing to consider the above mentioned sleep changes after RCE as specific effect of cold factor on sleep.

The sleep is under the control of two regulation mechanisms, homeostatic and circadian ones [11]. Any sleep deprivation usually causes the changes in structure of sleep-wake cycle due to the activation of homeostatic regulation mechanisms leading to the compensatory increase of sleep duration and depth [11].

Таблица 5. Количество бодрствования, МВС и ПС в светлое и темное время суток после РТДС ($n = 10$)

Table 5. Wakefulness, SWS and REM sleep amount in dark period after RGDS (n = 10)

Условия эксперимента Experimental conditions	Количество, % Amount, %					
	бодрствования wakefulness		МВС SWS		ПС REM sleep	
	Светлое время Light period	Темное время Dark period	Светлое время Light period	Темное время Dark period	Светлое время Light period	Темное время Dark period
Контроль Control	47,4 ± 11,1	44,3 ± 12,3	53,9 ± 10,7	49,6 ± 10,8	6,2 ± 1,2	6 ± 1,7
Первая серия РХВ First RCE series	27,7 ± 7	54,1 ± 5,1	43,8 ± 16,1	41,6 ± 4,1	7,5 ± 2,2	4,3 ± 1,3
Вторая серия РХВ Second RCE series	32,3 ± 3,4	48,2 ± 3,9	60,6 ± 4	46,7 ± 3,8	7 ± 0,7	5,1 ± 0,01

ния в структуре цикла сон-бодрствование за счет активации гомеостатических механизмов регуляции, которые приводят к компенсаторному увеличению длительности и глубины сна [11].

Отсутствие изменений в цикле сон-бодрствование после РМТДС (суммарное время депривации за сутки 2 ч 15 мин) свидетельствует о том, что депривации такой длительности недостаточно для того, чтобы вызвать изменения в структуре сна и затронуть гомеостатические механизмы регуляции сна.

Известно, что экспрессия сна зависит от многих факторов, в частности фазы циркадного ритма, эндогенной потребности во сне (которая определяется длительностью предшествующих сна и бодрствования), половых, пищевых, питьевых и других потребностей, а также определяется условиями окружающей среды (свет, звук, температура, социальные факторы и др.) [17]. При РХВ изменения структуры сна вызваны измененным световым режимом и пониженной температурой окружающей среды. При этом важную и специфическую роль в данных изменениях структуры сна после РХВ играла именно пониженная температура, так как при РМТДС такие изменения отсутствовали. Несмотря на то, что температура считается менее эффективным задатчиком времени [1], чем свет, она может оказывать существенное влияние на циркадную систему. Физиологические механизмы, лежащие в основе такого влияния, изучены недостаточно, однако считается, что они могут включать в себя периферическую температурную чувствительность, центральное влияние на температуру тела и соответственно на биологические часы [12] и гормональные механизмы [13]. Кроме того, низкие температуры модулируют активность моноаминергических систем мозга, которые участвуют

The absence of changes in sleep-wake cycle after RGDS (total time of deprivation in a day was 2 h 15 min) testifies to the fact, that deprivation of such a duration is not enough to cause the changes in sleep structure and to affect the homeostatic mechanisms of sleep regulation.

It is known that sleep expression depends on many factors, in particular, the phases of circadian rhythm, endogenous need in sleep (which is determined by the duration of preceding sleep and wakefulness), sexual, food, drink and other demands and also are determined by environmental conditions (light, sound, temperature, social factors *etc.*) [17]. During RCE the changes of sleep structure are caused by changed light regimen and lowered environmental temperature. Herewith, an important and specific role in these sleep structure changes after RCE is played exactly by lowered temperature, since during RGDS such changes were absent. Despite of the fact that temperature is considered to be less effective *zeitgeber* [1], than the light it may significantly influence circadian system. Physiological mechanisms lying in the base of such an influence are insufficiently investigated, however, they are considered to involve peripheral temperature sensitivity, central influence on body temperature and, correspondingly, on biological clock [12], as well as on hormonal mechanisms [13]. In addition, the low temperatures modulate the activity of brain monoaminergic systems taking part in the formation of CNS rhythms and biological clock [6].

As RCE did not lead to the change in total daily sleep amount, it could be suggested that the functional activity of involved organism systems remained at initial level, and vital physiological functions were preserved.

The changes of REM sleep occurrence after RCE are in concordance with the data of Amici *et al.* and

в формировании ритмов ЦНС и биологических часов [6].

Так как РХВ не приводили к изменению суммарного количества сна за сутки, то можно предположить, что функциональная активность задействованных систем организма остается на исходном уровне, а жизненно важные физиологические функции сохраняются.

Изменения представленности ПС после РХВ согласуются с данными Amici R. и соавт. и Zamboni G. и соавт. [8–10, 25], указывающими на большую чувствительность именно этой стадии сна к холодовым воздействиям. Это связано с нарушением гомеостатической регуляции различных вегетативных показателей в ПС [22], в том числе и температуры тела [18–22]. Появление ПС сразу после РХВ указывает на сохранность механизмов регуляции температурного гомеостаза при таких воздействиях и отсутствие нарушений регуляции температуры тела.

С одной стороны, увеличение ПС после РХВ может свидетельствовать о его роли в восстановлении температуры мозга. Парадоксальный сон связан с повышением уровня местного метаболизма и увеличением мозгового кровообращения, что приводит к повышению температуры мозга [15]. Также об этом свидетельствует тот факт, что частота появления эпизодов ПС максимальна, когда температура ядра достигает своих минимальных значений [15]. В связи с этим можно предположить, что увеличение количества ПС является одним из терморегуляторных механизмов, направленных на поддержание температурного гомеостаза мозга непосредственно после РХВ. С другой стороны, увеличение длительности эпизодов МВС, во время которого происходит регулируемое снижение температуры тела и мозга, может выполнять компенсаторную роль и препятствовать развитию гипертермии. Таким образом, изменения представленности МВС и ПС, которые являются частью терморегуляторного процесса [20], контролирующего температуру тела и мозга, возможно могут отображать их роль в поддержании/сохранении температурного гомеостаза после РХВ.

Известно, что “отдача” сна у крыс обычно отодвигается на подходящую циркадную фазу суток – светлое время (период покоя) [24], в нашем случае “отдача” также начиналась в светлое время суток, но продолжалась (особенно после второй серии РХВ) и в темное время (период активности), что нехарактерно для данного вида животных.

Согласно McEwen В. [16] хронические ограничения сна (будучи некомпенсированными) могут приводить к формированию аллоstaticеской перегрузки, способствующей развитию патологического состояния, одним из маркеров которого яв-

Zamboni *et al.* [8–10, 25] pointed to a high sensitivity to the cold effects of namely this sleep stage. It is associated with the impairment in homeostatic regulation of different vegetative indices during REM sleep [22], particularly of body temperature [18–22]. REM sleep appearance right after RCE points to preservation of temperature homeostasis regulation mechanisms during such effects and the absence of body temperature regulation disorders.

On the one hand, the increase of REM sleep after RCE may testify to its role in brain temperature restoration. REM sleep is associated with the increase in regional metabolism level and elevated brain blood circulation leading to a rise in brain temperature [15]. It is confirmed also by the fact that frequency of REM sleep episode appearance is maximal when core temperature achieves its minimal level [15]. Due to this fact it may be suggested that the increase of REM sleep amount is one of thermoregulatory mechanisms aimed to the maintenance of brain temperature homeostasis directly after RCE. On another hand the increase of SWS episode duration, during which occurs the regulated decrease in body and brain temperature, may play a compensatory role and prevent hyperthermia development. Thus, the changes of SWS and REM sleep occurrence, which are the part of thermoregulatory process [20] controlling body and brain temperature, can likely reflect their role in maintenance/preservation of temperature homeostasis after RCE.

It is known that sleep "rebound" in rats usually shifts to the suitable circadian day phase, light time (rest period) [24], in our case "rebound" also began in light period but continued (especially after the second RCE series) during in dark period (period of activity) that is not characteristic for this animal species.

According to McEwen [16] the chronic sleep restrictions (being not compensated) may lead to the formation of allostatic overload assisting to the pathological state development, one marker of which is the sleep homeostasis disorder. However, in our case the regimen of performing the effects is of short-term character and animals have a possibility to compensate the results of allostatic loads, and this is revealed by sleep "rebound" in light and dark period and testifies to the preservation of SWS and REM sleep homeostatic regulation mechanisms. Furthermore, the rise of adaptative organism possibilities after similar RCE series found previously by us [2] may indicate that organism shifts to a principally new functional level.

Conclusions

Thus, RCE lead to the change in daily distribution of sleep and wakefulness states. In the first as well as in the second day after RCE during light period there was observed the significant increase of REM sleep amount due to the rise of its episode duration and on

ляется нарушение гомеостаза сна. Однако в нашем случае режим воздействий носит кратковременный характер и у животных есть возможность компенсировать последствия аллостатических нагрузок, что отражается в "отдаче" сна в светлое и темное время суток и свидетельствует о сохранности гомеостатических механизмов регуляции МВС и ПС. Кроме того, обнаруженное нами ранее повышение адаптационных способностей организма после подобных серий РХВ [2] может указывать на то, что организм "переходит" на качественно новый функциональный уровень.

Выводы

Таким образом, РХВ приводят к изменению суточного распределения состояний сна и бодрствования. И в первый и во второй день после РХВ в светлое время суток наблюдалось значительное увеличение количества ПС за счет роста длительности его эпизодов на фоне сокращения времени бодрствования. В темное время суток общее время, проведенное в ПС, не изменялось. Количество МВС не изменялось в течение суток, однако отмечался значительный рост длительности его эпизодов на фоне сокращения их количества. Компенсаторные изменения представленности сна после РХВ свидетельствуют о том, что используемый режим холодных воздействий не приводит к нарушению гомеостаза МВС и ПС.

Литература

1. Ашофф Ю. Биологические ритмы.– М.: Мир, 1987.– Т. 1.– 2.– 414 с.
2. Венцковская Е.А., Шило А.В., Бабийчук Г.А. Изменение адаптационных способностей крыс после ритмических холодных воздействий // Вісник проблем біології і медицини.– 2010.– №2.– С. 38–43.
3. Пастухов Ю.Ф. Парадоксальный сон и температура мозга: взаимоотношения в сезонах эутермии ("нормотермии") и гипометаболизма у гибернающих сусликов *Citellus major* // Журнал эволюционной биохимии и физиологии.– 1999.– №3.– С. 237–243.
4. Пастухов Ю.Ф., Максимов А.Л., Хаскин В.В. Адаптация к холоду и условиям Субарктики: проблемы термофизиологии.– Магадан: СВНЦ ДВО РАН, 2003.– Т. I.– 373 с.
5. Пастухов Ю.Ф. Роль медленного сна в экономии энергии и восстановлении нервной системы // Всерос. конф. "Сон – окно в мир бодрствования": Тез. докл.– М., 2007.– С. 79–81.
6. Реушкин В.Н. Механизмы адаптации в биоритмологическом аспекте // Вестник АМН СССР.– 1981.– №12.– С. 50–54.
7. Сазонов В.С., Пастухов Ю.Ф. Внутрисуточная организация цикла бодрствование-сон и энергетический метаболизм у крыс при действии низкой температуры среды // Физиолог. журнал СССР.– 1985.– Т. 71.– С. 342–346.
8. Amici R., Cerri M., Ocampo-Garcés A., Baracchi F. et al. Cold Exposure and Sleep in the Rat: REM Sleep Homeostasis and Body Size // Sleep.– 2008.– Vol. 31, N5.– P. 708–715.

the background of wakefulness amount reduction. In dark period the total time spent in REM sleep was not changed. SWS amount did not vary during the day, however, a significant increase of its episode duration was noted on the background of their amount decrease. Compensatory changes of sleep occurrence after RCE testify to the fact that the applied used regimen of cold effects' performing does not lead to the disorder of SWS and REM sleep homeostasis.

References

1. Ashoff Yu. Biological rhythms.– Moscow: Mir, 1987.– Vol. 1–2.– 414p.
2. Ventskovska O.A., Shilo O.V., Babiychuk G.O. Changes of rat adaptative abilities after rhythmic cold effects // Visnyk Problem Biologiyi ta Medytsyny.– 2010.– N2.– P. 38–43.
3. Pastukhov Yu.F. REM sleep and brain temperature: correlation in euthermia ("normothermia") and hypometabolism in hibernating ground squirrels *Citellus major* // Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology.– 1999.– N3.– P. 237–243.
4. Pastukhov Yu.F., Maksimov A.L., Khaskin V.V. Adaptation to cold and conditions of SubArctic: problems of thermophysiology.– Magadan: North-East Scientific Center of Far East Branch of Russian Academy of Sciences, 2003.– Vol. 1.– 373 p.
5. Pastukhov Yu.F. Role of SWS in energy saving and nervous system restoration // All-Russian Conference "Sleep is the window into wakefulness world": Abstracts.– Moscow, 2007.– P. 79–81.
6. Reushkin V.N. Adaptational mechanisms in biorhythmic aspect // Vestnik of Academy of Medical Sciences of USSR.– 1981.– N12.– P. 50–54.
7. Sazonov V.S., Pastukhov Yu.F. Diurnal organization of sleep-wake cycle and energy metabolism in rats during influence of low temperature environment // Sechenov Physiological Journal of the USSR.– 1985.– Vol. 71.– P. 342–346.
8. Amici R., Cerri M., Ocampo-Garcés A., Baracchi F. et al. Cold Exposure and Sleep in the Rat: REM Sleep Homeostasis and Body Size // Sleep.– 2008.– Vol. 31, N5.– P. 708–715.
9. Amici R., Zamboni G., Perez E. Pattern of desynchronized sleep during deprivation and recovery induced in the rat by changes in ambient temperature // J. Sleep Res.– 1994.– Vol. 3, N4.– P. 250–256.
10. Amici R., Zamboni G., Perez E., Parmeggiani L. The influence of a heavy thermal load on REM sleep in the rat // Brain Research.– 1998.– Vol. 781, N1–2.– P. 254–258.
11. Borbely A. A two process model of sleep regulation // Hum. Neurobiol.– 1982.– Vol. 1, N3.– P. 195–204.
12. Burgoon P., Boulant J. Temperature-sensitive properties of rat suprachiasmatic nucleus neurons // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.– 2001.– Vol. 281, N3.– P. 706–715.
13. Francis A., Coleman G. Phase response curves to ambient temperature pulses in rats // Physiology & Behavior.– 1997.– Vol. 62, N6.– P. 1211–1217.
14. Kim Y., Laposky A., Bergmann B., Turek F. Repeated sleep restriction in rats leads to homeostatic and allostatic responses during recovery sleep // PNAS.– 2007.– Vol. 104, N25.– P. 10697–10702.
15. Kumar V. Interrelation between thermoregulation and sleep regulation // Proc. Indian Natn. Sci. Acad.– 2003.– Vol. 4, N4.– P. 507–524.
16. McEwen B. Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain // Physiol. Rev.– 2007.– Vol. 87.– P. 873–904.

9. *Amici R., Zamboni G., Perez E.* Pattern of desynchronized sleep during deprivation and recovery induced in the rat by changes in ambient temperature // *J. Sleep Res.*– 1994.– Vol. 3, N4.– P. 250–256.
10. *Amici R., Zamboni G., Perez E., Parmeggiani L.* The influence of a heavy thermal load on REM sleep in the rat // *Brain Research.*– 1998.– Vol. 781, N1–2.– P. 254–258.
11. *Borbely A.* A two process model of sleep regulation // *Hum. Neurobiol.*– 1982.– Vol. 1, N3.– P. 195–204.
12. *Burgoon P., Boulant J.* Temperature-sensitive properties of rat suprachiasmatic nucleus neurons // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*– 2001.– Vol. 281, N3.– P. 706–715.
13. *Francis A., Coleman G.* Phase response curves to ambient temperature pulses in rats // *Physiology & Behavior.*– 1997.– Vol. 62, N6.– P. 1211–1217.
14. *Kim Y., Laposky A., Bergmann B., Turek F.* Repeated sleep restriction in rats leads to homeostatic and allostatic responses during recovery sleep // *PNAS.*– 2007.– Vol. 104, N25.– P. 10697–10702.
15. *Kumar V.* Interrelation between thermoregulation and sleep regulation // *Proc. Indian Natn. Sci. Acad.*– 2003.– Vol. 4, N4.– P. 507–524.
16. *McEwen B.* Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain // *Physiol. Rev.*– 2007.– Vol. 87.– P. 873–904.
17. *Mistlberger R.* Circadian regulation of sleep in mammals: role of the suprachiasmatic nucleus // *Brain Research Reviews.*– 2005.– Vol. 49.– P. 429–454.
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. *Parmeggiani P.L.* Temperature regulation during sleep: a study in homeostasis // *Physiology in Sleep.*– 1980.– P. 97–143.
20. *Parmeggiani P.L.* Thermoregulation and sleep // *Frontiers in Bioscience.*– 2003.– Vol. 8.– P. 557–567.
21. *Parmeggiani P.L.* Homeostatic function of the hypothalamus and control of the wake-sleep cycle // In: *The Diencephalon and Sleep* / Ed. by M. Mancia and G. Marini.– New York: Raven Press, 1990.– P. 133–145.
22. *Parmeggiani P.L.* The autonomic nervous system in sleep // In: *Principles and Practice of Sleep Medicine* / Ed. by M.H. Kryger, T. Roth and W.C. Dement.– Philadelphia: Saunders, 1994.– P. 194–203.
23. *Rotenberg V.* REM sleep function and brain monoamine regulation: an application of the search activity concept // *Sleep and sleep disorders: a neuropsychopharmacological approach.*– 2004.– Vol. 45.– P. 290–311.
24. *Vyazovskiy V., Achermann P., Tobler I.* Sleep homeostasis in the rat in the light and dark period // *Brain Research Bull.*– 2007.– Vol. 74.– P. 37–44.
25. *Zamboni G., Amici R., Perez E., Parmeggiani L.* Pattern of REM sleep occurrence in continuous darkness following the exposure to low ambient temperature in the rat // *Behavioral Brain Research.*– 2001.– Vol. 2, N1.– P. 249–256.
17. *Mistlberger R.* Circadian regulation of sleep in mammals: role of the suprachiasmatic nucleus // *Brain Research Reviews.*– 2005.– Vol. 49.– P. 429–454.
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. *Parmeggiani P.L.* Temperature regulation during sleep: a study in homeostasis // *Physiology in Sleep.*– 1980.– P. 97–143.
20. *Parmeggiani P.L.* Thermoregulation and sleep // *Frontiers in Bioscience.*– 2003.– Vol. 8.– P. 557–567.
21. *Parmeggiani P.L.* Homeostatic function of the hypothalamus and control of the wake-sleep cycle // In: *The Diencephalon and Sleep* / Ed. by M. Mancia and G. Marini.– New York: Raven Press, 1990.– P. 133–145.
22. *Parmeggiani P.L.* The autonomic nervous system in sleep // In: *Principles and Practice of Sleep Medicine* / Ed. by M.H. Kryger, T. Roth and W.C. Dement.– Philadelphia: Saunders, 1994.– P. 194–203.
23. *Rotenberg V.* REM sleep function and brain monoamine regulation: an application of the search activity concept // *Sleep and sleep disorders: a neuropsychopharmacological approach.*– 2004.– Vol. 45.– P. 290–311.
24. *Vyazovskiy V., Achermann P., Tobler I.* Sleep homeostasis in the rat in the light and dark period // *Brain Research Bull.*– 2007.– Vol. 74.– P. 37–44.
25. *Zamboni G., Amici R., Perez E., Parmeggiani L.* Pattern of REM sleep occurrence in continuous darkness following the exposure to low ambient temperature in the rat // *Behavioral Brain Research.*– 2001.– Vol. 2, N1.– P. 249–256.

Accepted in 02.11.2010

*Поступила 02.11.2010
Рецензент Л.И. Релина*