

DOI: 10.7868/S0869813918070055

**ВОССТАНОВЛЕНИЕ СНА ПОСЛЕ ЕГО ТОТАЛЬНОЙ
ДЕПРИВАЦИИ В УСЛОВИЯХ ДЛИТЕЛЬНОГО ДЕФИЦИТА
СТРЕСС-ИНДУЦИБЕЛЬНОГО ШАПЕРОНА Hsp70**

© В. В. Симонова, М. А. Гузеев, Ю. Ф. Пастухов

Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН,
Санкт-Петербург, Россия,
E-mail: v.simonova93@gmail.com

В современной литературе обсуждаются гипотезы о том, что молекулярные шапероны семейства Hsp70 играют важную роль в восстановлении сна и что сон служит фундаментальной клеточной и/или молекулярной потребности. Цель настоящего исследования — оценить вклад стресс-индуцибельного шаперона Hsp70 в механизмы восстановления сна после его тотальной депривации. Работа проведена на модели угнетения синтеза Hsp70 в преоптической области (ПО) гипоталамуса крыс с помощью РНК-интерференции. Впервые показано, что долговременное снижение уровня Hsp70 в ПО приводит к ослаблению феномена «отдачи» медленноволнового сна после тотальной депривации. «Отдача» сна необходима для восстановления структуры и функций нервных клеток после стресса, вызванного недостатком сна. Результаты исследований позволяют полагать, что именно индуцибельный Hsp70, содержащийся в «центре» сна в ПО гипоталамуса, вовлечен в молекулярные механизмы поддержания медленноволнового сна.

Ключевые слова: сон, Hsp70, депривация сна, преоптическая область гипоталамуса, лентивектор.

Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. Т. 104. № 8. С. 957—965. 2018

V. V. Simonova, M. A. Guzeev, Yu. F. Pastukhov. SLEEP RECOVERY AFTER TOTAL SLEEP DEPRIVATION IN CONDITIONS OF PROLONGED DEFICIENCY OF STRESS-INDUCIBLE CHAPERONE Hsp70. I. M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the RAS, St. Petersburg, Russia; e-mail: v.simonova93@gmail.com.

According to the modern hypotheses, 70 kDa Heat Shock Proteins (HSP70) play a role in sleep recovery, and sleep itself promotes recovery of neurons in preparation to subsequent wakefulness. The study aims to determine whether the stress-inducible Hsp70 chaperone is involved in sleep recovery after total sleep deprivation. Here we applied RNA-interference in order to suppress the synthesis of Hsp70 directly in the ventrolateral preoptic area of the hypothalamus in rats. This approach allowed us to show for the first time that long-term decrease in Hsp70 level in the preoptic area leads to the lower rebound of slow-wave sleep after total sleep deprivation. Sleep rebound is essential for the restoration of neuronal structure and functioning after stress in sleep-deprived animals. These results imply the connection between Hsp70 in the «sleep regulation centre» in the preoptic area and molecular mechanisms of the sleep-wake switching.

Семейство белков теплового шока 70 кДа (Heat Shock Proteins 70 kDa, HSP70) — основная группа шаперонов, которая отвечает за фолдинг белков и поддержание протеостаза в клетках [43]. Получены убедительные доказательства участия шаперонов этого семейства в регуляции многих физиологических функций организма [10]. Определены выраженные нейропротективные свойства индуцибельного Hsp70 в моделях стресса, тревоги, эндотоксемии, разных форм эпилепсии и болезни Паркинсона [3, 4, 7, 8, 13]. Ранее показано, что повышение уровня экзогенного стресс-индуцибельного Hsp70 в мозге и в преоптической области гипоталамуса сопровождается отчетливым увеличением естественного медленноволнового сна (МВС) у крыс и голубей [1, 7, 10]. Именно в преоптической области гипоталамуса (ПО), в частности ее вентролатеральной и медиальной зонах, расположены нейроны, отвечающие за регуляцию МВС [24, 26, 39]. В современной литературе обсуждаются гипотезы о том, что молекулярные шапероны играют важную роль в биосинтезе белков и восстановлении сна и что сон служит фундаментальной клеточной и/или молекулярной потребности [6, 19, 27, 31, 42]. Однако большинство исследований, посвященных обоснованию этих гипотез, выполнены на стрессовых моделях тотальной депривации покоя или всего сна. Такие условия вызывают экспрессию сразу нескольких групп шаперонов во многих областях мозга [18, 30], потому неясно, какой из шаперонов и в какой структуре головного мозга вовлечен в регуляцию сна в наибольшей степени. Модуляция какой фазы сна — медленноволновой или парадоксальной — при этом происходит, также остается неизвестным.

Чтобы определить, какую роль в модуляции МВС играет эндогенный Hsp70, мы применили трансфекцию клеток ПО гипоталамуса лентивектором. Лентивектор доставляет в клетки ген шпилечной РНК к мРНК Hsp70, которая вызывает РНК-интерференцию и, таким образом, локально блокирует синтез Hsp70. Этот способ подавления функции Hsp70 выбран, поскольку рецепторы шаперонов в центральной нервной системе не найдены и применение специфических антагонистов невозможно. В результате серии экспериментов установлено, что уменьшение содержания Hsp70 в ПО крыс на 60 % сопровождается угнетением МВС в темной (активной) фазе суток [9], и эти изменения сохраняются в течение длительного периода — до 2.5 месяцев после трансфекции [12].

Цель настоящей работы — оценить вклад стресс-индуцибельного шаперона на Hsp70 в механизмы восстановления сна после его тотальной депривации. Созданная нами модель тотальной депривации сна имеет принципиальные отличия от использованных ранее: депривация сна проводилась при длительном снижении Hsp70 локально в «центре» сна в ПО гипоталамуса с помощью РНК-интерференции.

Исследование проведено на 14 крысах-самцах популяции Вистар (7 месяцев на начало эксперимента) при окружающей температуре 22—24 °С и фотопериоде 12:12 (свет 5—17 ч). Манипуляции с животными проведены в соответствии с биоэтическими правилами, установленными этической комиссией ИЭФБ РАН. Под общей анестезией (золетил — 70 мкг/кг, Virbac, Франция) крысам подкожно имплантировали телеметрический модуль DSI-4ET. В ПО гипоталамуса билатерально по стереотаксическим координатам [32] животным

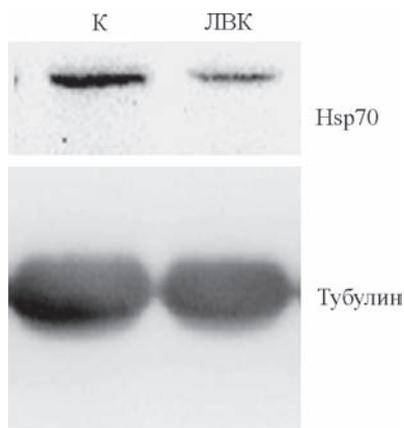


Рис. 1. Изменение содержания стресс-индуцибельного белка Hsp70 в преоптической области гипоталамуса через месяц после введения ЛВК Hsp70.

К — введение физиологического раствора; ЛВК — введение лентивектора, несущего ген шпилечной РНК к мРНК Hsp70.

($n = 6$) вводили лентивирусную конструкцию (ЛВК Hsp70), доставляющую в клетки гены шпилечной РНК к мРНК Hsp70 и зеленого флуоресцентного белка GFP (Евроген, Россия). Животные контрольных групп получали лентивектор (ЛВК GFP), несущий только ген белка GFP ($n = 4$), или физиологический раствор ($n = 4$). Оценка содержания Hsp70 в ПО гипоталамуса после трансфекции ЛВК Hsp70 проведена методом иммуноблоттинга.

В период с 2 до 8 недель после трансфекции с помощью телеметрической установки Dataquest A. R. T. System (DSI, США) выполнена регистрация полисомнограмм в условиях свободного поведения животных. Полисомнограммы включали 2 канала электроэнцефалограммы (ЭЭГ), электроокулограмму (ЭОГ), электромиограмму (ЭМГ) и температуру тела. Тотальную депривацию сна длительностью 6 ч проводили во второй половине светлой фазы суток (11—17 ч) с помощью платформы-шейкера. Клетку с животным помещали на орбитальный шейкер SkyLine (ELMI, Россия) с амплитудой вращения платформы 200 мм и частотой качания 150 об./мин. Через 3 ч частоту качания увеличивали до 180 об./мин. Электрофизиологические показатели записывали в течение 6 ч депривации сна и 24 ч после ее окончания. Для идентификации и количественного анализа временных характеристик состояний сна и бодрствования (общего времени, числа и длительности эпизодов) полисомнографические записи обрабатывали в программе Sleep Pro, разработанной в лаборатории. Бодрствованием считали эпизоды, характеризующиеся низкоамплитудной ЭЭГ со смешанными частотами и высокой сократительной активностью на ЭМГ. Состояние, сопровождающееся сниженным мышечным тонусом и высокоамплитудной ЭЭГ с преобладанием волн дельта-диапазона (0.7—4 Гц), отмечали как МВС. К парадоксальному сну относили эпизоды, характеризующиеся десинхронизацией ЭЭГ и снижением ее амплитуды, а также мышечной атонией и быстрыми движениями глаз на ЭОГ. Кроме того, отдельно выделяли переходное состояние — дремоту. Статистические различия в исследуемых показателях оценивали непараметрическим критерием Манна—Уитни с помощью программы Statistica 8.0; различия считали достоверными при $p < 0.05$.

При использовании ЛВК Hsp70 доставка трансгенов в клетки происходит эффективно, и через месяц после трансфекции содержание шаперона

Hsp70 в ПО гипоталамуса снижается в среднем на 50 % (рис. 1). Временные характеристики цикла сон—бодрствование не различаются между контрольными группами крыс, которые получали физиологический раствор или ЛВК GFP, не содержащую ген шпилечной РНК к мРНК Hsp70. Это позволяет объединить две контрольные группы в одну при описании результатов и заключить, что изменения сна, обнаруженные в настоящем исследовании, обусловлены снижением уровня Hsp70 в результате РНК-интерференции.

В нормальных условиях (фоновые записи без депривации сна) общее время МВС в среднем за темную (активную) фазу суток составляет 28 ± 0.9 % общего времени регистрации (% ОВР), общее время парадоксального сна — 4 ± 0.2 % ОВР. У крыс, получавших ЛВК Hsp70, МВС снижается по сравнению с контролем на 12.6 и 7.5 % ОВР в интервалах 17—20 и 20—23 ч ($p = 0.01$, $p = 0.028$) благодаря уменьшению суммарного числа эпизодов на 7 ± 2.7 и 9 ± 1.5 ($p = 0.073$, $p = 0.011$). Парадоксальный сон в те же временные интервалы снижается на 2.6 и 2.1 % ОВР ($p = 0.105$, $p = 0.011$) вследствие уменьшения числа его эпизодов на 2 ± 0.8 и 2 ± 0.4 ($p = 0.027$, $p = 0.018$). В светлой (неактивной) фазе суток фоновый уровень МВС у контрольных животных составляет 57 ± 0.7 % ОВР, парадоксальный сон — 13 ± 0.3 % ОВР. В экспериментальной группе по сравнению с контролем обнаруживается тенденция к возрастанию МВС, однако с 14 до 17 ч общее время МВС снижается на 4.9 % ОВР ($p = 0.01$). Парадоксальный сон в первой половине светлой фазы возрастает на 2.8 и 2.3 % ОВР, соответственно для интервалов 5—8 и 8—11 ч ($p = 0.014$, $p = 0.037$). Длительность и число эпизодов МВС и парадоксального сна в светлой фазе суток достоверно не изменяются относительно контроля. Таким образом, подавление синтеза Hsp70 с помощью ЛВК Hsp70 приводит к уменьшению общего времени сна в первой половине темной фазы суток за счет угнетения механизмов его инициации. При этом в течение светлой фазы суток количество парадоксального сна компенсируется полностью, а недостаток МВС сохраняется.

При проведении тотальной депривации сна с помощью платформы-шейкера остаточное количество МВС в среднем за 6 ч составляет 2—3 % ОВР, а стадия парадоксального сна отсутствует полностью, что указывает на эффективность данного метода депривации сна. Восстановительный период «отдачи» сна после депривации, когда наблюдается превышение общего времени МВС и парадоксального сна над фоновым уровнем, приходится на темную фазу суток и длится 9 ч. МВС в интервалах 17—20, 20—23 и 23—02 ч увеличивается относительно фонового уровня на 12.5, 5.7 и 7.3 % ОВР ($p = 0.01$, $p = 0.038$, $p = 0.021$) соответственно интервалу. Прирост общего времени МВС обеспечивается возрастанием длительности эпизодов на 82 ± 15.9 с ($p = 0.001$) в первые 3 ч и 47 ± 9.9 с ($p = 0.007$) — в последующие 3 ч. Значимых изменений в числе эпизодов МВС после депривации сна не обнаружено. В те же временные интервалы парадоксальный сон увеличивается на 5.4, 4.1 и 4.4 % ОВР ($p = 0.0002$, $p = 0.003$, $p = 0.005$) за счет увеличения числа его эпизодов на 5 ± 0.8 , 3 ± 1.5 и 4 ± 0.9 ($p = 0.001$, $p = 0.07$, $p = 0.01$). Длительность эпизодов парадоксального сна и соотношение общего времени парадоксального сна/МВС в течение восстановительного периода после депривации сна значимо не отличаются от фона.

При снижении содержания Hsp70 в ПО гипоталамуса «отдача» МВС ослабевает. Максимум «отдачи» общего времени МВС, который приходится на первые 3 ч восстановительного периода, при депривации сна на фоне ЛВК Hsp70 достоверно ниже ($p = 0.008$), чем при депривации сна в контроле (рис. 2). В интервалах 17—20, 20—23 и 23—02 ч длительность эпизодов МВС

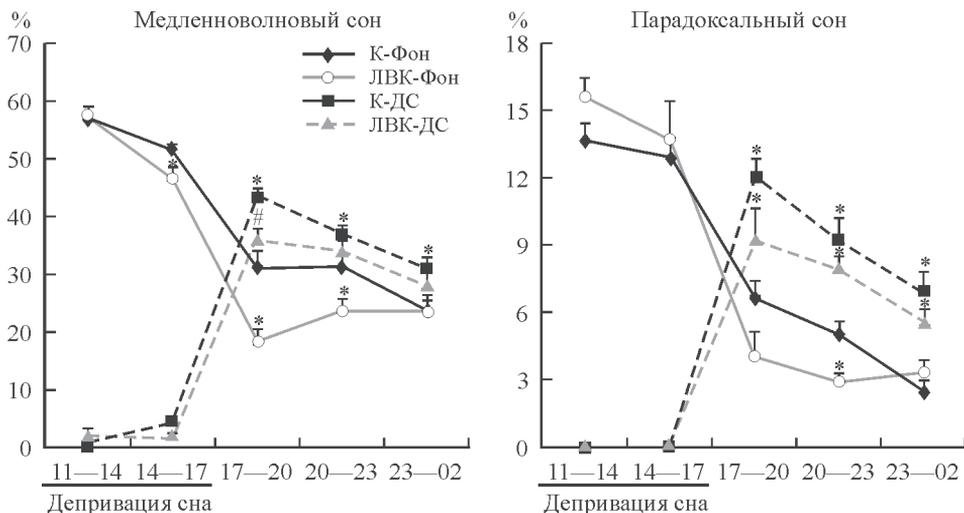


Рис. 2. Изменение общего времени медленноволнового и парадоксального сна у крыс при депривации сна в контрольных условиях и после введения ЛВК Hsp70.

По оси ординат — количество сна в процентах от общего времени регистрации представлено как среднее арифметическое за каждые 3 ч; по оси абсцисс — время, ч. К — контроль; ЛВК — введение лентивектора, несущего ген шпилечной РНК к мРНК Hsp70; Фон — фоновые значения, полученные в контрольных условиях без депривации сна; ДС — депривация сна. Данные представлены как среднее арифметическое \pm ошибка среднего. * Отличия от фонового контроля достоверны при $p < 0.05$; # отличия между К-ДС и ЛВК-ДС достоверны при $p < 0.05$.

возрастает по сравнению с контрольным фоновым уровнем на 72 ± 17.1 с, 46 ± 14.2 с и 42 ± 11.0 с ($p = 0.014$, $p = 0.039$, $p = 0.053$), но число эпизодов имеет тенденцию к снижению. В результате у животных, получавших ЛВК Hsp70, общее время МВС в течение восстановительного периода не превышает фоновых значений контрольной группы без депривации сна.

На динамику восстановления парадоксального сна после депривации введение ЛВК Hsp70 значимо не влияет. Как и в контрольных условиях, общее время парадоксального сна превышает фоновый уровень в течение 9 ч после депривации сна. Парадоксальный сон возрастает на 2.6, 2.9 и 3.1 % ОВР соответственно временным интервалам 17—20, 20—23 и 23—02 ч ($p = 0.15$, $p = 0.007$, $p = 0.005$). Прирост парадоксального сна происходит за счет увеличения числа эпизодов на 9 ± 1.4 ($p = 0.002$) в сумме за 9 ч периода «отдачи»; длительность эпизодов не изменяется.

Гипотеза об участии стресс-индуцибельного белка Hsp70 в модуляции сна основана, главным образом, на результатах экспериментов с тотальной депривации сна, которая является стрессорным фактором и при длительном воздействии вызывает серьезные нарушения в работе многих систем организма [28, 34]. К последствиям депривации сна на молекулярном уровне относится накопление в клетках белков с неправильной конформацией, что является сигналом для увеличения синтеза шаперонов [15, 29]. В опытах, проведенных на мышах, установлено, что во время депривации сна происходит значительное усиление экспрессии генов белков Hsp27, Hsp70, Erp72, Grp78, Hsp84 и Grp94 во многих областях, включая кору мозга, базальные ганглии и гипоталамус, однако после 4 ч восстановительного сна обнаруживается ее резкое ограничение. Авторы полагают, что индукция шаперонов в мозге является защитным ответом клеток на стресс, вызванный лишением сна, а относительно ограни-

ченная экспрессия генов белков семейства HSP в восстановительном периоде связана с важной ролью шаперонов в биосинтезе белков и, таким образом, с репаративной функцией сна [41].

Применение РНК-интерференции позволило определить, насколько основной стресс-индуцибельный шаперон Hsp70, содержащийся в основном «центре» сна, необходим для нормального восстановления сна после его депривации. Согласно результатам исследования, снижение содержания Hsp70 в ПО гипоталамуса приводит к значительному уменьшению «отдачи» МВС после тотальной депривации сна, но не влияет на восстановление парадоксального сна.

По современным представлениям, восстановление МВС после депривации сна обеспечивается сон-позитивными нейронами ПО гипоталамуса, которые активируются в ответ на депривацию сна и наиболее интенсивно работают в период «отдачи» [14]. ГАМКергические нейроны вентролатеральной и медиальной зон ПО тормозят «центры» бодрствования в заднем гипоталамусе и стволе мозга, нейроны которых содержат моноамины, орексин и ацетилхолин [35, 40].

Стресс-индуцибельный шаперон Hsp70 вовлечен в модуляцию ГАМКергической нейротрансмиссии. Нейроны «центра» сна в вентролатеральной ПО гипоталамуса содержат тормозные медиаторы ГАМК и галанин [37], и их повреждение у крыс приводит к потере более половины МВС и снижению мощности дельта-спектра на 60 % [24]. Предполагается, что именно эти клетки — мишень сомногенного действия Hsp70, которое осуществляется через растормаживание сон-позитивных нейронов в ПО, опосредованное ГАМК(A)-рецепторами; блокада этих рецепторов предотвращает увеличение МВС у голубей при введении смеси индуцибельного и конститутивного Hsp70 [1]. Экзогенный Hsp70, введенный в III желудочек мозга крыс, проникает в ГАМКергические нейроны и локализуется в отростках и телах клеток с синтезирующим ГАМК ферментом глутаматдекарбоксилазой GAD67 и синаптофизин [20] — трансмембранным белком, который участвует в запуске Ca^{2+} -зависимого экзоцитоза нейромедиаторов [38]. Кроме того, Hsp70 поддерживает работу синапсов и защищает их от стрессорных воздействий [25]. Инкубация срезов мозга мыши с рекомбинантным индуцибельным Hsp70, так же как и тепловое прекоинкубирование *in vivo*, поддерживает частоту постсинаптических токов в ГАМК-, глутамат- и глицинергических синапсах в условиях теплового стресса [23]. Эти данные позволяют предположить, что в условиях подавления экспрессии индуцибельного Hsp70 ослабление восстановительного эффекта «отдачи» МВС после стресса, вызванного депривацией сна, может являться следствием нарушений в синаптической передаче и снижения активности сон-позитивных нейронов ПО гипоталамуса.

Влияние подавления синтеза Hsp70 на активность нейронов ПО может быть реализовано также другим способом — через возбуждающие аденозиновые рецепторы типа A2. Аденозин — один из важнейших сомногенных факторов — накапливается в течение бодрствования во внеклеточном пространстве как продукт клеточного метаболизма и служит индикатором истощения энергетических запасов в мозге [16, 33]. Методом внеклеточной патч-клэмп регистрации установлено [22], что аденозин постсинаптически активирует нейроны ПО через A2a-рецепторы. Hsp70 в комплексе с Hsp90α осуществляет фолдинг полипептидной цепи A2a-рецептора еще до его встраивания в мембрану клетки, обеспечивая образование работоспособного рецептора [17]. Следовательно, дефицит Hsp70 в клетках может влиять на функционирование A2a-рецепторов и ослаблять возбуждающее действие аденозина на нейроны ПО гипоталамуса.

Это предположение подтверждают результаты исследования на голубях [2], в котором установлено, что сомногенное действие Hsp70 опосредовано аденозиновыми рецепторами: применение антагониста A2a-рецепторов подавляет возрастание МВС, вызванное введением Hsp70 в вентролатеральную часть ПО гипоталамуса.

Аденозиновый сигналинг и ГАМКергическая нейротрансмиссия являются важными составляющими регуляции цикла сон-бодрствование. Стресс-индуцибельный Hsp70 поддерживает эти функции, поэтому выявленное в настоящем исследовании ослабление феномена «отдачи» МВС может быть следствием снижения чувствительности к аденозину или дисфункции нейронов ПО гипоталамуса на фоне недостатка Hsp70.

Таким образом, наши данные показывают, что недостаток лишь одного шаперона — Hsp70 — в локальной области мозга влияет на цикл сон—бодрствование. В нормальных, нестрессовых, условиях подавление синтеза Hsp70 с помощью ЛВК и снижение его уровня на 60 % в нейронах ПО гипоталамуса сопровождается угнетением механизмов инициации МВС и сокращением его продолжительности на треть в активной фазе суток [9]. Недостаток Hsp70, по-видимому, ослабляет ингибирующую функцию нейронов ПО и, таким образом, растормаживает угнетающие влияния со стороны нейронов «центра» сна на нейроны в «центрах» бодрствования (в гипоталамусе, стволе и других областях мозга). В результате в активной фазе суток возрастают длительность эпизодов и общее время бодрствования. Пролонгированное до 2.5 месяцев угнетение синтеза Hsp70 характеризуется меньшим снижением содержания этого шаперона в ПО — в среднем на 50 % против 60 % — и менее выраженными изменениями времени МВС и бодрствования [12]. Эти различия могут отражать развитие компенсаторных процессов, направленных на восстановление нормального уровня Hsp70 и МВС. Эксперименты с депривацией сна дополняют эти данные и поддерживают гипотезу об участии Hsp70 в механизмах модуляции МВС [6]. Хотя депривация сна запускает экспрессию шаперонов разных семейств, это оказывается недостаточным для полного восстановления МВС после депривации сна в условиях подавления синтеза Hsp70. «Отдача» МВС необходима для восстановления структуры и функций нервных клеток после стресса, вызванного недостатком сна. Можно полагать, что именно индуцибельный Hsp70, содержащийся в «центре» сна в ПО гипоталамуса, вовлечен в молекулярные механизмы поддержания МВС.

Именно в состоянии МВС создаются условия для усиления анаболических процессов и реализации ключевой биологической функции сна [6] — ускорения синтеза белков в мозге [29]. Синтез белка обеспечивает восстановление структуры и функций нейронов, но даже в нестрессовых условиях около трети новосинтезированных белков могут иметь неправильную пространственную укладку [36], поэтому во время МВС работа Hsp70 особенно важна. Длительное нарушение баланса шаперонов может приводить к накоплению дефектных белков в клетках, что способствует развитию патологических процессов в мозге. Регуляция активности шаперонных систем может рассматриваться как один из подходов к терапии расстройств сна и поведения, связанных со старением и нейродегенеративными заболеваниями [5, 6, 10, 21].

Работа выполнена в рамках государственного задания ФАНО России (тема № АААА-А18-118012290427-7). Электрофизиологические исследования проведены на базе Центра коллективного пользования научным оборудованием ИЭФБ РАН.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1] *Екимова И. В.* Сомногенный эффект экзогенного белка теплового шока 70 кДа реализуется через ГАМК(A)-рецепторы в преоптической области гипоталамуса. Докл. АН. 449 (6): 725—728. 2013.
- [2] *Екимова И. В., Пастухов Ю. Ф.* Роль аденозиновых A2A рецепторов преоптической области в реализации сомногенного эффекта белка 70 кДа у голубей. Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 50(6): 428—434. 2014.
- [3] *Лапицина К. В., Екимова И. В.* Исследование защитных эффектов белка теплового шока 70 кДа в модели депривации сна у голубей *Columba livia*. Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 46(5): 386—394. 2010.
- [4] *Ницинская Л. Е., Екимова И. В., Гужова И. В., Фейзулаев Б. А., Пастухов Ю. Ф.* Влияние кверцетина на тяжесть химически индуцированных судорог и содержание белка теплового шока 70 кДа в структурах головного мозга крыс. Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. 96(30): 283—292. 2010.
- [5] *Пастухов Ю. Ф.* Изменения характеристик парадоксального сна — ранний признак болезни Паркинсона. Журн. высш. нерв. деятельности. 63(1): 75—85. 2013.
- [6] *Пастухов Ю. Ф.* Медленноволновый сон и молекулярные шапероны. Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 52 (1): 79—90. 2016.
- [7] *Пастухов Ю. Ф., Екимова И. В., Худик К. А., Гужова И. В.* Белок 70 кДа в контроле сна и терморегуляции. Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 44 (1): 65—71. 2008.
- [8] *Пастухов Ю. Ф., Плаксина Д. В., Лапицина К. В., Гужова И. В., Екимова И. В.* Экзогенный белок Hsp70 останавливает процесс нейродегенерации в условиях экспериментальной модели болезни Паркинсона у крыс. Докл. АН. 457(6): 724—727. 2014.
- [9] *Пастухов Ю. Ф., Симонова В. В., Гужеев М. А., Мешалкина Д. А., Гужова И. В., Екимова И. В.* Шаперон Hsp70 вовлечен в молекулярные механизмы регуляции медленного сна. Докл. АН. 461 (2): 228—231. 2015.
- [10] *Пастухов Ю. Ф., Худик К. А., Екимова И. В.* Шапероны в регуляции и восстановлении физиологических функций. Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. 96 (7): 708—725. 2010.
- [11] *Пастухов Ю. Ф., Чернышев М. В., Екимова И. В., Худик К. А.* Молекулярные шапероны — новые модуляторы тревожности и гомеостаза сна. Коллективная монография «Сон и тревожность» под ред. Е. В. Вербицкого. Ростов-на-Дону: Южный научный центр РАН. 235—252. 2008.
- [12] *Симонова В. В., Чернышев М. В., Гужеев М. А., Пастухов Ю. Ф.* Медленноволновый сон и уровень тревожности у крыс при хроническом недостатке шаперона Hsp70i в преоптической области гипоталамуса. Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. 103(8): 884—889. 2017.
- [13] *Худик К. А., Пастухов Ю. Ф., Гужова И. В.* Влияние теплового прекодиционирования на судорожную активность у крыс с наследственной формой эпилепсии. Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. 97(11): 1237—1246. 2011.
- [14] *Alam M. A., Kumar S., McGinty D., Alam M. N., Szymusiak R.* Neuronal activity in the preoptic hypothalamus during sleep deprivation and recovery sleep. *J. Neurophysiol.* 111: 287—299. 2014.
- [15] *Allada R., Cirelli C., Sehgal A.* Molecular mechanisms of sleep homeostasis in flies and mammals. *Cold Spring Harbor Perspectives Biology.* 9(8): a027730. 2017.
- [16] *Benington J. H., Heller H. C.* Restoration of brain energy metabolism as the function of sleep. *Progr. Neurobiol.* 45(4): 347—360. 1995.
- [17] *Bergmayr C., Thurner P., Keuerleber S., Kudlacek O., Nanoff C., Freissmuth M., Gruber C. W.* Recruitment of a cytoplasmic chaperone relay by the A 2A adenosine receptor. *J. Biol. Chem.* 288(40): 28 831—28 844. 2013.
- [18] *Cirelli C.* Cellular consequences of sleep deprivation in the brain. *Sleep Med. Rev.* 10(5): 307—321. 2006.
- [19] *Cirelli C.* The genetic and molecular regulation of sleep: from fruit flies to humans. *Nat. Rev. Neurosci.* 10(8): 549—560. 2009.
- [20] *Ekimova I. V., Nitsinskaya L. E., Pastukhov Y. F., Romanova I. V., Margulis B. A., Guzhova I. V.* Exogenous protein Hsp70/Hsc70 can penetrate into brain structures and attenuate the severity of chemically induced seizures. *J. Neurochem.* 115 (4): 1035—1044. 2010.

- [21] Ekimova I. V., Plaksina D. V., Pastukhov Y. F., Lapshina K. V., Lazarev V. F., Mikhaylova E. R., Polonik S. G., Pani B., Margulis B. A., Guzhoval I. V., Nudler E. New HSF1 inducer as a therapeutic agent in a rodent model of Parkinson's disease. *Exp. Neurol.* 306: 199—208. 2018.
- [22] Gallopin T., Luppi P.-H., Cauli B., Urade Y., Rossier J., Hayaishi O., Lambolez B., Fort P. The endogenous somnogen adenosine excites a subset of sleep-promoting neurons via A2A receptors in the ventrolateral preoptic nucleus. *Neuroscience.* 134(4): 1377—1390. 2005.
- [23] Kelty J. D., Noseworthy P. A., Feder M. E., Robertson R. M., Ramirez J.-M. Thermal preconditioning and heat-shock protein 72 preserve synaptic transmission during thermal stress. *J. Neurosci.* 22(1): 193—199. 2002.
- [24] Lu J., Greco M. A., Shiromani P., Saper C. B. Effect of lesions of the ventrolateral preoptic nucleus on NREM and REM sleep. *J. Neurosci.* 20(10): 3830—3842. 2000.
- [25] Lu T. Z., Quan Y., Feng Zh.-P. Multifaceted role of heat shock protein 70 in neurons. *Mol. Neurobiology.* 42(2): 114—123. 2010.
- [26] Lütthi A. Sleep: Switching off the off-switch. *Curr. Biol. Cell Press.* 26(16): R765—R767. 2016.
- [27] Mackiewicz M., Naidoo N., Zimmerman J. E., Pack A. I. Molecular mechanisms of sleep and wakefulness. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1129: 335—349. 2008.
- [28] McEwen B. S., Karatsoreos I. N. Sleep deprivation and circadian disruption. *Sleep Med. Clin.* 10(1): 1—10. 2015.
- [29] Nakanishi H., Sun Y., Nakamura R. K., Mori K., Ito M., Suda S., Namba H., Storch F. I., Dang T. P., Mendelson W. Positive correlations between cerebral protein synthesis rates and deep sleep in *Macaca mulatta*. *Eur. J. Neurosci.* 9(2): 271—279. 1997.
- [30] Naidoo N., Giang W., Galante R. J., Pack A. I. Sleep deprivation induces the unfolded protein response in mouse cerebral cortex. *J. Neurochem.* 92(5): 1150—1157. 2005.
- [31] Naidoo N. Cellular stress/the unfolded protein response: Relevance to sleep and sleep disorders. *Sleep Med. Rev.* 13: 195—204. 2009.
- [32] Paxinos G., Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates — 6th edition. Acad. Press. San Diego. 2007.
- [33] Porkka-Heiskanen T., Strecker R. E., Thakkar M., Bjorkum A. A., Greene R. W., McCarley R. W. Adenosine: a mediator of the sleep-inducing effects of prolonged wakefulness. *Science.* 276(5316): 1265—1268. 1997.
- [34] Rechtschaffen A., Bergmann B. M., Everson C. A., Kushida C. A., Gilliland M. A. Sleep deprivation in the rat: X. Integration and discussion of the findings. *Sleep.* 12(1): 68—87. 1989.
- [35] Saper C. B., Fuller P. M., Pedersen N. P., Lu J., Scammell T. E. Sleep state switching. *Neuron.* 68(6): 1023—1042. 2010.
- [36] Schubert U., Anton L. C., Gibbs J., Norbury C. C., Yewdell J. W., Bennink J. R. Rapid degradation of a large fraction of newly synthesized proteins by proteasomes. *Nature.* 404(6779): 770—774. 2000.
- [37] Sherin J. E., Elmquist J. K., Torrealba F., Saper C. B. Innervation of histaminergic tuberomammillary neurons by GABAergic and galaninergic neurons in the ventrolateral preoptic nucleus of the rat. *J. Neurosci.* 18(12): 4705—4721. 1998.
- [38] Shin O.-H. Exocytosis and synaptic vesicle function. *Compar. Physiol.* 4:149—175. 2014.
- [39] Szymusiak R., Alam N., Steining T. L., McGinty D. Sleep-waking discharge patterns of ventrolateral preoptic/anterior hypothalamic neurons in rats. *Brain Res.* 803(1): 178—188. 1998.
- [40] Szymusiak R., Gvilia I., McGinty D. Hypothalamic control of sleep. *Sleep Med.* 8(4):291—301. 2007.
- [41] Terao A., Steining T. L., Hyder K., Apte-Deshpande A., Ding J., Rishipathak D., Davis R. W., Heller H. C., Kilduff T. S. Differential increase in the expression of heat shock protein family members during sleep deprivation and during sleep. *Neuroscience.* 116(1): 187—200. 2003.
- [42] Terao A., Wisor J. P., Peyron C., Apte-Deshpande A., Wurts S. W., Edgar D. M., Kilduff T. S. Gene expression in the rat brain during sleep deprivation and recovery sleep: an Affymetrix GeneChip study. *Neuroscience.* 137(2): 593—605. 2006.
- [43] Zunderweg E. R. P., Hightower L. E., Gestwicki J. E. The remarkable multivalency of the Hsp70 chaperones. *Cell Stress Chaperones.* 22(2): 173—189. 2017.