

МЕДЛЕННОВОЛНОВЫЙ СОН И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ШАПЕРОНЫ

© Ю. Ф. Пастухов

Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия
E-mail: pastukh36@mail.ru

Резюме

Актуальная проблема, которая интересовала человека с глубокой древности, — зачем надо тратить около трети жизни на сон? В обзоре рассмотрены основные данные о главной функции медленноволнового сна (МВС) и молекулярных механизмах его регуляции; ниже они изложены в виде обобщений и гипотез. 1. МВС обладает энергосберегающей функцией, формировавшейся параллельно эволюции тахиметаболизма и эндотермии/гомеотермии. 2. Наиболее значительное сокращение энергетических потребностей мозга во время глубокого МВС (с повышением ЭЭГ-дельта активности) создает условия для усиления анаболических процессов и реализации ключевой биологической функции сна — ускорения синтеза белков в мозге. 3. Условия протекания парадоксального сна (ПС) как археободствования, содержащего элементы эндогенного стресса, представляются приемлемыми для экспрессии шаперонов, необходимых для устранения нарушения укладки белков, новосинтезированных в глубоком МВС. 4. Тесная интеграция молекулярных систем HSP70 и HSP40, содержащихся в «центре» сна в преоптической области гипоталамуса, и их компенсаторные взаимоотношения вносят существенный вклад в поддержание гомеостаза сна и осуществление его функций в нестрессовых условиях и при длительном дефиците шаперонов в мозге, характерном для старения и различных нейропатологий. 5. Циклические изменения ускорения синтеза белков (в эпизодах глубокого МВС) и экспрессии шаперонов HSP70 (в эпизодах бодрствования и, возможно, ПС), происходящие ежедневно в течение всей жизни, имеют критическое значение для всех процессов жизнедеятельности гомеотермов, включая восстановление структуры и функции нервной системы.

Ключевые слова: медленноволновый и парадоксальный сон, функции сна, ускорение синтеза белков, шапероны HSP70 и HSP40, лентивирусные конструкции, преоптическая область гипоталамуса, крысы.

Функцию сна...еще предстоит открыть. Когда ее откроют,... то большая дыра в биологических знаниях будет заполнена [Rechtschaffen, 1998].

Наши знания о функциях сна и его регуляции остаются неполными

Это — предсказание [1] директора лаборатории в Чикаго (США), в которой выходцем из России Натаниелем Клейтманом и его аспирантом Евгением Азеринским [2] впервые был открыт парадоксальный сон [ПС, синонимы — rapid eye movement (REM) sleep, быстрый сон], и в настоящее время не потеряло своей актуальности, поскольку наши представления о сне, его функциях и регуляции остаются неполными. Сравнительные и эколого-физиологические данные по сну получены примерно у 3 % из 4260 видов млекопитающих. Наибольшее число работ посвящено анализу сна у человека, кошки, крысы, различных линий мышей и ви-

дов морских млекопитающих; птицы несопоставимо реже были объектом исследований. У ряда видов оценивалась зависимость сна от возраста, размера, экологической ниши, физико-географического региона обитания, сезона года, способа питания, безопасности места сна и других факторов, однако пока трудно подойти к составлению «видового паспорта сна».

Существует еще одна зависимость, которая может быть выявлена при сопоставлении видовых характеристик сна и других функций жизнеобеспечения у представителей различных отрядов млекопитающих и птиц и их изменений под влиянием неблагоприятных факторов среды обитания. На основе анализа результатов исследования и данных литературы мы высказали гипотезу: «сон — обязательный биоритмический компонент жизни гомеотермных организмов, но его длительность, временная организация и устойчивость к агрессивным факторам всегда согласованы с важнейшими биологическими функциями (питание, дыхание, локомоции, размножение, воспитание потомства, защита от хищников и др.), обеспечивающими выживание

вида и популяции в разные периоды онтогенеза» [3—5]. Подобная согласованность сна с биологическими функциями позволила бы лучше понять причины слишком широких видовых колебаний суточной доли сна — от 4 до 19 ч и той неожиданной картины патологии, которая может возникать при нарушениях сна (уменьшение работоспособности, повышение риска развития неврологических, сердечно-сосудистых, онкологических, нейродегенеративных и других заболеваний [6—12 и др.]).

Сон включает фазы медленноволнового сна [МВС, синонимы — медленный, non-rapid eye movement (NREM)] и ПС и переходные состояния типа дремоты. В течение суток и всей жизни у человека, млекопитающих и птиц состояния бодрствования, МВС и ПС постоянно чередуются, а вовлеченные в это чередование множество физиологических и биохимических процессов существенно изменяются по направлению, интенсивности и продолжительности. Вместе с тем функции МВС и ПС обычно рассматривают по отдельности. Мы уделили основное внимание анализу функций состояния МВС, которое доминирует в цикле сна, с которого начинается сон и которое лучше изучено.

Регуляция сна является многофакторной, включающей пептиды, медиаторы, гормоны, цитокины, простагландины, «факторы сна», нейромодуляторы [13—17 и др.]. Вместе с тем этой большой группы регуляторов, видимо, еще недостаточно для представления о механизмах регуляции МВС и ПС как состояний мозга и организма; с начала этого века усиливается интерес к выяснению молекулярных механизмов интегративных функций сна. Однако полученные данные остаются противоречивыми, и мы предлагаем критический анализ добытых фактов и основанных на них гипотез.

Гомеотермия и энергетическая функция медленноволнового сна

Цикл сна, состоящий из чередования тесно взаимосвязанных состояний МВС и ПС, появляется в процессе эволюции гомеотермии/эндотермии у млекопитающих и птиц [18, 19]. Без становления гомеотермии невозможно понимание ключевых биологических функций сна и молекулярных механизмов их реализации. Ранее мы дали уточненное определение гомеотермии. «Гомеотермия, или гомойотермия — это тип терморегуляции, при котором организм способен постоянно регулировать скорость энергетического метаболизма и поддерживать температурный гомеостаз, несмотря на значительные колебания окружающей и/или внутренней температуры» [5, 20]. Среди множества гипотез, посвященных достижениям эволюции, проблема происхождения гомеотермии занимает, пожалуй, почетное третье место после происхождения человека и вымирания динозавров [5]. В ходе эволюции произошло значительное возрастание интенсивности обменных процессов (тахиметаболизма) при переходе от рептилий к птицам и млекопитающим [21, 22 и др.], которого не было ни на одном этапе круп-

ных эволюционных преобразований, таких как возникновение многоклеточных, выход на сушу, появление позвоночных [5]. Именно тахиметаболизм, обеспечивший эффективную активную жизнедеятельность, лежит в основе становления гомеотермии/эндотермии как высшего достижения термобиологической эволюции.

Однако энергетическая цена гомеотермии оказалась очень высокой и для сохранения видового, генетически обусловленного энергетического баланса потребовалось развитие экологических, морфофункциональных, поведенческих и физиологических механизмов для периодического снижения расходов энергии в суточном и сезонном масштабе времени для выживания в те неблагоприятные периоды, когда стрессовые нагрузки велики, окружающая температура некомфортна, а пища скудна или доступ к ней затруднен [5, 23, 24].

Сон является самой древней и повсеместной адаптацией. Ряд авторов [25, 26] полагает, что МВС у гомеотермных видов эволюционировал параллельно тахиметаболизму и гомеотермии как способ снизить энерготраты в неактивный период суток. Одна из версий гипотезы о роли сна в сохранении энергии гласит: сон устанавливает лимит энергетическим тратам до величины, необходимой для сохранения видового энергетического бюджета [25]. Наши исследования показали, что МВС является одним из эффективных способов поддержания видового уровня энергетического баланса млекопитающих и птиц при стрессе, недостатке корма, адаптации к холоду и зимним природным условиям Крайнего Севера, особенно у млекопитающих с небольшими размерами тела [4, 5, 23, 24, 27].

МВС занимает около 80 % всего времени сна у взрослых гомеотермов [14, 28 и др.]. Такое доминирующее положение МВС в цикле сна может быть связано с тем, что в этом состоянии реализуются многие функции. Одновременно со снижением метаболизма в эпизодах МВС происходит снижение активности сомато-висцеральных систем (мышечного и сосудистого тонуса, температуры мозга и тела, замедление функционирования почек, моторики кишечника и других процессов), уменьшение секреции тиреотропина и гормонов стресса и увеличение секреции гормона роста, альдостерона, тестостерона, пролактина, инсулина и гликогена, повышающего энергетические резервы мозга [1, 8, 13—17, 29]. Все эти изменения взаимосвязаны с реализацией энергосберегающей функции МВС.

В работах И.Г. Кармановой и ее коллег [30, 31] изучено развитие цикла бодрствование—сон в подтипе позвоночных. Гомологом фазы МВС (предшественником МВС млекопитающих и птиц) авторы считают одну из форм покоя/первичного сна — катаплексию, рассматривая ее как протосон рыб и амфибий. Авторы предполагают, что для протосна характерны показатели, имеющие сходство с МВС: поведенческие (расслабленная поза, закрытые глаза, пониженный мышечный тонус), вегетативные (урежение сердечного и дыхательного ритмов), нейрохимические (усиление

репаративных реакций в структурах головного мозга в виде увеличения концентрации белков и РНК) и ряд других. В последние годы проблема эволюции сна интенсивно разрабатывается, но ее более детальный анализ не входит в задачу нашего обзора.

Приведенные данные не объясняют, почему функция сбережения энергии, очень важная для восстановительных процессов у человека и гомеотермных животных, не может быть удовлетворена просто за счет двигательного покоя в спокойном бодрствовании. Более значимые изменения метаболизма выявлены во время МВС. Во-первых, найдено существенное уменьшение скорости потребления мозгом крыс кислорода (на 25 %) [32] и глюкозы (на 44 %) [33], что косвенно указывает на сокращение энергетических потребностей мозга в МВС. Это создает условия для усиления анаболических, биосинтетических процессов, чрезвычайно чувствительных к наличию энергетических ресурсов в нейронах. Во-вторых, установлено, что скорость синтеза белков в 35 структурах головного мозга обезьян (макак-резус), представленных в стволе мозга, гипоталамусе, таламусе, лимбической системе, базальных ядрах и других областях, положительно коррелирует с количеством глубокого МВС [МВС с увеличенной представленностью на электроэнцефалограмме (ЭЭГ) дельта волн в диапазоне 0.5—4.5 гц] [34]. Отсутствие подобной зависимости при увеличении покоя, дремоты и даже поверхностного МВС свидетельствует, что для усиления скорости синтеза белков в мозге необходимо уменьшение скорости энергетического метаболизма мозга ниже уровня, достигаемого в этих состояниях. Этот экспериментальный результат является центральным, позволяющим понять основу восстановительных процессов в нервной системе и постоянного поддержания жизнедеятельности нейронов. Многие детали этого процесса, совершаемого, очевидно, у всех гомеотермов, остаются еще неизвестными, но ясно, что наибольшее значение в реализации этой ключевой биологической функции принадлежит глубокому МВС, составляющему около 20 % общего времени сна.

На основе анализа совокупности полученных данных Джером М. Сигал [35] заключил: «Most theories suggest a role for NREM sleep in energy conservation and in nervous system recuperation». Неясным оставался вопрос о резервах свободной энергии для осуществления анаболических процессов и их связи с МВС. В 2010 г. удалось, наконец, показать кратковременное возрастание («всплеск») уровня АТФ в базальных ядрах переднего мозга, что коррелировало с повышением МВС-дельта активности [36]. Авторы работы заключили, что «всплеск» уровня АТФ при повышении МВС-дельта активности в начале сна определяет анаболические восстановительные процессы в мозге. Следовательно, ключевой биологической функцией глубокого МВС является ускорение синтеза белков в мозге, реализуемой в условиях повышения резервов свободной энергии, что «расшифровывает» молекулярный механизм восстановительных процессов. Эти данные подтверждают и «обновляют» более раннюю гипотезу о роли МВС в восстановлении энергии после ее потерь в ак-

тивном бодрствовании [37]. Увеличение скорости синтеза белков в мозге как процесс, обычно сопровождающийся накоплением новосинтезированных белков с неправильной укладкой, указывает на явную причастность к нему молекулярных шаперонов, ответственных за устранение этих нарушений.

Критическая оценка данных о роли молекулярных шаперонов в модуляции сна

Белки-шапероны семейства HSP70 — одна из наиболее эффективных эволюционно консервативных систем защиты белковых процессов от широкого круга неблагоприятных факторов. Активация этой системы рассматривается как перспективная терапевтическая стратегия, в том числе при стрессе и различных заболеваниях, молекулярной основой патогенеза которых является нарушение укладки белков [38—41]. Ранее в нашей лаборатории были определены выраженные нейропротективные свойства индуцибельного (i) Hsp70i в моделях стресса, тревоги, эндотоксемии, разных форм эпилепсии и болезни Паркинсона [9, 10, 42—48].

В последние 10—15 лет формируется представление о том, что сон служит фундаментальной клеточной и/или молекулярной потребности; ее определение, возможно, будет способствовать «заполнению большой дыры в биологических знаниях» в соответствии с предсказанием [1], приведенным в эпиграфе к нашей статье. Некоторая конкретизация представления содержится в материалах, положенных в основу гипотез: ключевой функцией сна является синтез белков и других макромолекул; молекулярные шапероны играют важную роль в биосинтезе белков и восстановлении сна [49—54].

Однако эти гипотезы пока недостаточно обоснованы. Во-первых, использованы стрессовые модели, не позволяющие четко определить, в какой мере экспрессия шаперонов зависит от недостатка сна и в какой мере — от стрессовой составляющей депривации. Экспрессия шаперонов семейства HSP70 является важным защитным фактором для живых организмов в условиях стресса, возникающего в результате или депривации состояний покоя и сна, или пролонгирования бодрствования (более 16 ч у человека, около 8 ч у крысы, 6 ч у мыши, 50—70 ч у дрозофилы) [52—55]. Даже процедура «мягкой» депривации сна у грызунов (путем поглаживания шерсти и тактильной стимуляции вибрисс) приводит к клеточному стрессу и увеличению экспрессии шаперонов. Следствиями такой депривации сна являются: повышенный уровень метаболизма организма и мозга, генерация активных форм кислорода, уменьшение внутриклеточного уровня глюкозы, истощение клеточных резервов АТФ, нарушение кальциевого гомеостаза, окислительно-восстановительного статуса и синтеза секреторных белков, увеличение концентрации глутамата [35, 52, 44, 56, 57]. Эти компоненты клеточного стресса ведут к увеличению количества белков с нарушенной пространст-

венной структурой, что является основным звеном в формировании сигнала для генной экспрессии шаперонов в мозге — «unfolded protein response» (UPR) [50—52, 57].

Во-вторых, при тотальной стрессовой депривации сна происходит экспрессия большого числа шаперонов в различных структурах мозга и в других органах, в связи с чем остается неясным, какие шапероны и какие структуры головного мозга имеют прямое отношение к модуляции состояний сна. С начала этого столетия стали накапливаться данные, что клеточный стресс при депривации покоя и сна увеличивает генную экспрессию следующих шаперонов у представителей млекопитающих, птиц и насекомых: Hsp27, Hsp40, Hsp60, Hsp70, Hsp83, Hsp85, Hsp90, Hsp105, BiP/Grp78, Grp94; ERp72 [44, 49, 50, 52, 54, 55, 58].

В отделе биологии Крэйга Геллера (H.C. Heller) в Стенфордском Университете (Palo Alto, CA, USA) проведен скрининг экспрессии 1176 генов во время и после окончания 6 ч депривации сна у мышей. Наиболее детально изучена генная экспрессия шаперонов Hsp70, Grp78, Grp94, ERp72 и Hsp27 [53, 54]. Во время процедуры депривации сна выявлено значительное усиление экспрессии этих шаперонов в коре головного мозга, базальных ядрах, гипоталамусе, мозжечке и продолговатом мозге, что, согласно гипотезе авторов, указывает на их участие в нейропротективном ответе на лишение сна. После 4 ч восстановительного сна отмечено ограничение интенсивности экспрессии шаперонов во многих областях мозга по сравнению с периодом депривации. Однако это может быть связано не только с участием шаперонов в биогенезе белков, как полагают авторы, но и со «следами» предшествующего клеточного стресса.

В-третьих, в большинстве других исследований авторы не использовали регистрацию общепринятых электрофизиологических показателей, а оценивали состояние сна по поведенческим признакам. Поэтому можно говорить о проводившейся тотальной депривации покоя (без общепринятой в сомнологии идентификации состояний сна и без разграничения сна на состояния МВС и ПС, принципиально отличающихся по уровню активности физиологических функций). С использованием моделей депривации покоя и сна получены данные об увеличении экспрессии генов, участвующих в активации энергетических и медиаторных процессов и в протективном ответе на клеточный стресс в периоды активности/бодрствования, а во время покоя/сна — генов, кодирующих белки, участвующие в синтезе белков, липидов, гемсодержащих белков, многих ферментов холестерина, в метаболизме углеводов, построении структурных компонентов рибосом, уменьшении конформации синаптических белков, поддержании везикулярного пула и внутриклеточного транспорта и других жизненно важных процессах [44, 50, 52, 59 и др.]; данные об особенностях экспрессии генов шаперонов при состояниях МВС и ПС отсутствуют. Помимо методических трудностей эти работы содержат ложную парадигму: «наличие сна у всех видов в филогенезе означает, что ключевые функции сна не зависят от сложности нервных сетей».

Фактически это означает, что ключевая функция сна, по мнению авторов, не зависит от эволюции нервной системы.

Необходимо было выяснить, обладают ли сами шапероны сомногенным действием и попытаться устранить недостатки, обусловленные применением моделей стрессовой депривации сна. Применение теплового и иного прекодиционирования не адекватно такой задаче, так как эта процедура, как и стрессовая депривация сна, сопровождается повышением уровня многих шаперонов из различных семейств HSP, и не только в структурах мозга, но и в других тканях. У крыс и голубей выполнялись микроинъекции в ликворную систему мозга (3-й желудочек мозга) или в основной «центр» сна в вентролатеральной преоптической области (ВЛПО) гипоталамуса рекомбинантного Hsp70i человека, природного, выделенного из мышцы быка Hsp70i/Hsc70 (в соотношении 7:3), или конститутивного шаперона Hsc70. Работы, посвященные изучению влияния препаратов экзогенных Hsp70i и Hsc70 на характеристики сна, до настоящего времени отсутствуют в литературе.

Установлено, что микроинъекции рекомбинантного Hsp70i и Hsp70i/Hsc70 в 3-й желудочек мозга крыс и голубей в нестрессовых условиях вызывают сопряженные эффекты: сомногенный (увеличение МВС в течение 6—8 ч и уменьшение ПС в первые 3—4 ч), миорелаксирующий (снижение сократительной активности мышц) и «гипотермический» (небольшое снижение температуры мозга) [44, 56, 60—62]. Такие же отчетливые эффекты получены при доставке Hsp70i/Hsc70 к популяции нейронов в «центре» МВС в ВЛПО гипоталамуса [46, 63]. У Hsc70 подобные эффекты не найдены. Следовательно, центральные эффекты Hsp70i/Hsc70 обусловлены действием Hsp70i.

Эффекты Hsp70i идентифицированы в начале неактивной фазы суток, когда у животных в естественных условиях происходит увеличение МВС, снижение мышечного тонуса, метаболизма, температур гипоталамуса, спинного мозга, скелетных мышц, «ядра» тела и других висцеральных показателей [1, 24, 27, 64, 65]. Hsp70i не просто восполняет недостаток МВС, а дополнительно увеличивает его продолжительность, значительно усиливая сопряженное с МВС физиологическое снижение сократительной активности мышц и температуры мозга; эти эффекты Hsp70i не являются видоспецифичными и происходят у представителей двух классов теплокровных. Сомногенное действие Hsp70 у обоих видов не сопровождается изменением мощности спектра ЭЭГ, что указывает на сохранение «естественного» МВС.

В литературе отсутствуют сведения о рецепторах шаперонов в центральной нервной системе, что не позволяет определить изменения сомногенных эффектов Hsp70i при специфической рецепторной блокаде. Выяснено, что сомногенное действие Hsp70i опосредуется через локализованные в ВЛПО ГАМК-А и аденозиновые A₂ рецепторы [44, 46, 63, 66]; это затрудняет анализ специфичности модулирующих эффектов шаперона. Приведенные выше гипотезы [50, 52, 53] и наши данные не дают ответа на вопрос, присущи ли та-

кие же сомногенные эффекты эндогенному шаперону Hsp70i. Дополнительное и, возможно, более убедительное свидетельство о вовлечении шаперонов в модуляцию сна может быть получено с использованием современной технологии не при увеличении, а при уменьшении их содержания в дискретных участках мозга, т.е. при определении негативных эффектов. Подобного исследования никто не проводил.

Анализ участия шаперонов в модуляции медленноволнового сна с использованием технологий микроРНК *in vivo*

Это побудило нас использовать метод, позволяющий на основе технологии РНК-интерференции длительно и «адресно» снижать уровень конкретного шаперона, содержащегося в дискретной области мозга. Согласно современному представлению, ВЛПО гипоталамуса рассматривается как один из основных «центров» сна, имеющий ключевое значение для регуляции МВС; около 80 % нейронов ВЛПО содержат тормозные медиаторы ГАМК и галанин и «удерживают нейроны „центров” бодрствования (в гипоталамусе, стволе и других областях мозга) в выключенном состоянии» [8, 44, 63, 66—70]. На периферии ВЛПО расположен кластер нейронов, участвующих в регуляции ПС. Трансфекцию нейронов ВЛПО проводили лентивекторами с генами шпилечной РНК к шаперону Hsp70i и его ко-шаперону Hdj1 (класс HSP40).

Установлено, что трансфекция лентивектора pLKO.1-shRNA-Hsp70 вызывает длительное подавление синтеза Hsp70i и снижение его уровня на 60—68 % в нейронах ВЛПО, что сопровождается угнетением механизмов инициации МВС и ПС и сокращением их продолжительности в активной фазе суток [71]. Этот процесс, очевидно, ослабляет функцию тормозной системы ВЛПО и, говоря образно, как бы «выключает выключение» угнетающих влияний со стороны нейронов «центра» сна на нейроны в «центрах» бодрствования. В результате в активной фазе суток возрастают длительность эпизодов и общее время бодрствования. Можно полагать, что Hsp70i вовлечен в молекулярные механизмы процесса «выключения» бодрствования; повышение его содержания в «центре» сна в ВЛПО и сохранение продолжительного МВС, напротив, может способствовать усилению тормозной системы ВЛПО и реализации биологических функций этого состояния. Выше приведены данные, подтверждающие это предположение: повышение содержания в мозге и/или в ВЛПО экзогенного Hsp70i увеличивает естественный МВС и сокращает бодрствование у крыс и голубей [61—63].

В последние годы особое внимание обращается на многофункциональность систем молекулярных шаперонов, имеющих близкую структуру, но участвующих в реализации самых различных клеточных функций и множества биологических процессов. Оказалось, что Hsp70i не работает в одиночестве, а взаимодействует с ко-факторами и ко-шаперонами; различные ко-шапе-

роны класса белков, содержащие J-домен, называемые также HSP40, активируют шаперонную функцию Hsp70i. Предполагается, что система Hsp70 находится под их регулирующим влиянием и некоторые из J-белков (например, Hdj1) могут управлять шаперонной активностью Hsp70i на клеточном и организменном уровне [72, 73]. Среди них выделяют ко-шаперон Hdj1, который контролирует важнейший процесс изначального связывания с белком-«клиентом» для предотвращения его агрегации и доставки к Hsp70i [73, 74]. Не исключено, что Hdj1 и другие J-белки, как и Hsp70i, играют важную роль в молекулярных механизмах регуляции цикла сон—бодрствование. Исходя из этих данных, мы предполагали, что Hdj1 оказывает сомногенное действие, сходное с Hsp70i, т.е. увеличение его содержания в ВЛПО увеличит МВС, а уменьшение содержания — уменьшит МВС. Чтобы подтвердить это, сделана попытка физиологически корректно уменьшить уровень Hdj1 в основном «центре» сна в ВЛПО гипоталамуса у крыс Вистар с помощью лентивирусной конструкции shRNA-Hdj1, содержащей специфические шпилечные микроРНК к Hdj1.

Установлено, что после трансфекции происходит снижение (на 65—80 %) уровня Hdj1 в ВЛПО, которое сопровождается не уменьшением, как мы ожидали, а увеличением времени МВС и ПС в активной (темной) фазе суток [75]. Эти данные указывают на то, что ко-шаперон Hdj1 является модулятором бодрствования в отличие от Hsp70, модулирующего МВС. Следовательно, увеличение медленного сна зависит от повышения уровня Hsp70i [46, 61—63] и/или снижения уровня его ко-шаперона Hdj1 [75] в «центре» сна; эти изменения, очевидно, усиливают функцию тормозной системы ВЛПО по «удержанию» центров бодрствования в выключенном состоянии.

Результаты исследования показали, что длительное снижение содержания Hsp70i (на 60—68 %) в нейронах ВЛПО и уменьшение общего времени МВС, вызываемое трансфекцией лентивектором pLKO.1-shRNA-Hsp70, приводит к компенсаторному повышению в ВЛПО уровня глюкозо-регулируемого белка GrP78 (на 30 %, $p < 0.01$ [76]), представителя того же класса шаперонов HSP70. В нашей лаборатории впервые найдено, что микроинъекции рекомбинантного GrP78 в 3-й желудочек мозга вызывают у крыс сомногенный эффект — увеличение длительности эпизодов и общего времени МВС и уменьшение общего времени ПС; однако GrP78 в отличие от Hsp70i увеличивает мощность спектра ЭЭГ в дельта-диапазоне в эпизодах МВС [77]. Можно полагать, что тенденция к увеличению мощности спектра в дельта-диапазоне (0.7—4 Гц) и нормализации характеристик суточного цикла сон—бодрствование при длительном дефиците содержания Hsp70i в нейронах ВЛПО, вызванном трансфекцией лентивектора pLKO.1-shRNA-Hsp70, обусловлены компенсаторным возрастанием содержания в ВЛПО шаперона GrP78.

Весьма значительное снижение содержания Hdj1 (на 65—80 %) в ВЛПО, вызванное трансфекцией pLKO.1-shRNA-Hdj1, может означать длительное нарушение баланса между Hdj1 и Hsp70 и возникновение на этой основе хронического клеточного стресса. От-

меченное при этом компенсаторное повышение уровня стресс-шаперона Hsp70i в этой области может быть ответственным за увеличение общего времени МВС [75, 76]. Увеличение общего времени МВС может быть связано также с компенсаторным повышением шаперонной активности Hsp70i.

Совокупность полученных данных позволяет высказать гипотезу: тесная интеграция молекулярных шаперонов HSP70 и HSP40, содержащихся в «центре» сна в ВЛПО, и их компенсаторные взаимоотношения вносят существенный вклад в поддержание гомеостаза сна в суточном цикле и реализацию его ключевой функции как в комфортных условиях, так и при длительном дефиците шаперонов в мозге; последний характерен для процессов старения и различных нейропатологий, включая нейродегенеративные заболевания.

О вовлечении шаперонов в молекулярные механизмы модуляции цикла бодрствование—сон и процессы биосинтеза белков

Одной из наименее изученных проблем остается функциональное значение постоянного чередования МВС и ПС, вовлекающее в свою орбиту большинство физиологических и биохимических процессов. В материалах к обоснованию гипотез о важной роли молекулярных шаперонов в биосинтезе белков и восстановлении сна категории МВС, ПС и их чередования в циклах сна не рассматриваются. Мы попытались хотя бы частично восполнить эти пробелы, но в связи с отсутствием данных не смогли избежать мало обоснованных предположений и просто догадок.

Активное бодрствование. Стресс во время бодрствования и тотальная депривация покоя/сна вызывают клеточный стресс и возрастание количества белков с нарушенной пространственной структурой, что является основным сигналом для UPR и генной экспрессии шаперонов в мозге [50, 52, 53]. На клеточном уровне этот сигнал запускает три основных нейропротективных события: 1) увеличение экспрессии Hsp70i, глюкозо-регулируемого белка GRP78 и других шаперонов, участвующих в устранении неправильной укладки белков; 2) усиление деградации аномальных молекул белков при взаимодействии системы HSP70 (как первой линии защиты при стрессе и патологии) и систем деградации белков, преимущественно убиквитин-протеасомной системы [10, 38, 44, 78]; 3) подавление синтеза белков в условиях клеточного стресса. Активация этих механизмов, приводящая к экспрессии шаперонов, обладающих сомногенными свойствами, способствует восстановлению белкового гомеостаза и снижению уровня клеточных повреждений, но эти события, видимо, не ограничиваются бодрствованием.

Переход от активного бодрствования к глубокому медленноволновому сну. Судя по ряду косвенных данных, полученных в экспериментах [44, 53], два первых процесса — экспрессия шаперонов и «очистка» нервных клеток от дефектных молекул белков — мо-

гут продолжаться, постепенно затухая, в переходных состояниях спокойного бодрствования и дремоты. Сокращение энергетических потребностей мозга при переходе к стадии легкого/поверхностного МВС приближает переключение катаболических процессов на анаболические.

Глубокий медленноволновый сон. Во время МВС с повышенной ЭЭГ-дельта активностью происходит максимальное снижение энергозатрат, создающее условия для повышения резервов свободной энергии и реализации ключевой функции МВС — ускорения синтеза новых белков в мозге [32—36]. Согласно гипотезе [79, 80], UPR через PERK-зависимый сигнальный каскад усиливает экспрессию эукариотического фактора инициации трансляции eIF2 α , что приводит к глобальному подавлению трансляции белков; подавление белкового синтеза в свою очередь усиливает потребность в увеличении сна. Эти данные в целом согласуются с гипотезами о том, что в регуляцию сна вовлечены пути, контролирующие синтез белков в мозге [49], и что глубокий МВС облегчает синтез белков в мозге [34, 81].

Сомногенные эффекты шаперонов Hsp70i и GRP78 имеют некоторые особенности: Hsp70i вызывает отчетливое увеличение длительности эпизодов и общего времени МВС при отсутствии изменений в мощности спектра в дельта диапазоне и представленности глубокого МВС [61—63], тогда как GRP78 увеличивает преимущественно МВС с повышенной ЭЭГ-дельта активностью [77]. Hsp70i влияет на ГАМК-связанные синаптические механизмы передачи тормозного сигнала и модулирует функцию аденозиновых рецепторов [63, 66]. Повышение экспрессии GRP78 как резидентного белка эндоплазматического ретикулума в первую очередь связано с накоплением в нем белков с нарушенной укладкой и развитием UPR. Предполагается, что увеличение глубокого МВС, вызываемое GRP78, может быть связано с PERK-зависимым сигнальным каскадом [77].

Во время бодрствования происходит возрастание количества белков с неправильной укладкой, что приводит к экспрессии шаперонов и подавлению синтеза белков в мозге. Есть основания думать, что во время глубокого МВС эти события также находятся в противофазе: возрастание синтеза белков сопряжено с подавлением экспрессии шаперонов. Но накопление среди новосинтезированных белков молекул с неправильной пространственной укладкой (возможно, около 30 % [82]) является сигналом для экспрессии шаперонов. Она необходима для того, чтобы предотвратить образование из этих аномальных белков агрегаций, опасных для жизни клеток и развития патологии [78]. Вполне реальна ситуация — резервы шаперонов, экспрессированных во время предшествующего бодрствования, истощены; это тем более возможно, если рассматривать не первый цикл сна, которому у человека предшествует длительное бодрствование, а последующие 3—4 цикла, когда МВС предшествует один эпизод ПС и за ним следует другой эпизод ПС. В связи с этим возникает вопрос — адекватны ли условия ПС для реализации экспрессии шаперонов?

Парадоксальный сон. Важнейшей функцией ПС является спонтанная активация мозга на фоне МВС, во время которой усиливается кровообращение и повышается температура мозга [23, 83, 84]. Возрастание экспрессии Hsp70i и других шаперонов происходит обычно при повышении температуры мозга, сопровождающем активное бодрствование, депривацию сна, другие виды стресса и процедуру теплового preconditionирования [44, 56]. Для ПС также характерно повышение температуры мозга, но оно менее значительное и достигается энергетически более экономным способом — на фоне полной атонии скелетных мышц и вследствие внезапного снижения кровотока в сонных артериях и сопряженного увеличения притока в мозг артериальной крови по позвоночным артериям, содержащих более теплую кровь [83].

ПС следует за МВС и ему не предшествуют бодрствование и внешние стрессы, запускающие генную экспрессию Hsp70i и GRP78. Вместе с тем хорошо известно, что во время ПС на фоне мышечной атонии наблюдаются фазические движения (в виде мышечных подергиваний), быстрые движения глаз, понто-геникуло-окципитальные спайки, нерегулярные ритмы сердца и артериального давления, нерегулярное дыхание, эрекция пениса, повышенные церебральный кровоток и внутричерепное давление и яркие, эмоциональные сновидения [1, 8, 14, 23]. Различные способы депривации ПС приводят к повышению давления ПС и реализуются в виде все более частых попыток появления эпизодов ПС [85]; при длительной депривации ПС фазические акты сохраняются «любой ценой» и поэтому перемещаются в МВС [1, 8]; длительное избирательное лишение ПС, как и тотальная депривация сна, заканчиваются у крыс летальным исходом.

Следовательно, для эпизодов ПС характерен высокий уровень активности головного мозга, который имеет черты сходства с эпизодами бодрствования. К ранним утренним часам, когда продолжительность эпизодов ПС у человека возрастает, обычно отмечаются эмоционально яркие сновидения и регистрируется пик секреции кортикостероидов. Сделан вывод: «чрезвычайная активация различных систем мозга и всего организма в целом, за исключением мышечной системы, дает основание говорить о ПС как внутреннем стрессоре организма» [85, 86]. На основе анализа совокупности морфологических и функциональных показателей ПС В.М. Ковальзоном [8] предложено обобщение: ПС представляет собой «археободрствование», являющееся результатом эволюционной трансформации примитивного бодрствования холоднокровных. Близкая точка зрения высказана другими авторами [87].

Известно, что наибольшее количество ПС характерно для незрелорождающихся видов. В первые 10 дней после рождения у таких животных (например, у крыс и кошек) ПС во много раз больше, чем у зрелорождающихся; в это время большинство аксонов у них не достигают своих мишеней и процессы синаптогенеза еще не завершены [1, 88, 89]. У новорожденных детей, находящихся обычно в термокомфортных условиях, во время ПС постоянно наблюдаются подергива-

ния рук, ног, мышц лица, а недоношенные младенцы настолько беспокойны, что очень трудно разграничить состояния ПС и бодрствования. Частые и длительные эпизоды ПС могут обеспечивать эндогенную активацию нервной системы, необходимую для экспрессии шаперонов и их участия в биосинтетических процессах.

Пока остается неясным, почему у взрослых незрелорождающихся также много ПС. Показано, что у крыс ПС возрастает до максимальной величины при термонеutralной температуре (29 °C); сделан вывод, что ПС — более точный индикатор термонеutralной зоны, чем стандартный метаболизм [90]. Условия термонеutralной зоны, для которой характерно отсутствие внешних раздражителей, являются благоприятными для проявления глубокого МВС и длительных эпизодов ПС, в которых происходит эндогенная активация нервной системы, стимулирующей, возможно, экспрессию молекулярных шаперонов.

Удивительно, что длительные эпизоды и максимальное количество ПС идентифицированы в термонеutralной зоне у представителей большой группы зимоспящих млекопитающих — арктических (с мыса Шмидта, Чукотка), длиннохвостых (из окрестностей Верхоянска) и больших (из Среднего Поволжья) сусликов, у которых годовой цикл состоит из непрерывных драматических событий, требующих больших затрат энергии в коротком сезоне активности и особенно при многократных пробуждениях из спячки зимой. Вместе с тем эти животные также относятся к незрелорождающимся видам, имеют безопасные условия сна, большое количество МВС, в том числе глубокого МВС; определение годового бюджета энергии свидетельствует, что они являются «чемпионами» среди млекопитающих по экономии энерготрат [5, 14, 23, 91, 92].

В нашем многолетнем исследовании установлено следующее. 1. От весны к осени происходит почти одинаковый огромный прирост массы тела и суточной квоты ПС (на 75—77%), которые достигают максимальных годовых значений [23, 91, 92]. 2. В зимнем сезоне животные около 7 мес не потребляют пищу, находятся без света в холодном глубоком гнезде и 20—25 раз погружаются в бауты спячки на 9—12 сут с пробуждениями на 12—24 ч между баутами; метаболизм снижается в среднем в 36 раз, а в отдельные периоды — в 100—500 раз, температура мозга падает до 5—2 °C; экономия энерготрат за счет баутов спячки за 7 месяцев достигает 80%. В интервалах между баутами (при 5—7 °C) общее время МВС, МВС-дельта сна и ПС остаются близкими к летне-осенним значениям при 23 °C [4, 23, 91, 92], что может быть связано с сезонным сдвигом термонеutralной зоны в сторону низких температур [93]. Очевидно, что в суровых зимних условиях суслик спит не хуже, чем лев в теплой долине Серенгети после удачной охоты. 3. Средние значения суточной квоты ПС за год у арктических и больших сусликов оказались в 1.5—2 раза больше, чем у грызунов, не впадающих в торпор и спячку [91]. 4. Отряды, включающие много видов, впадающих в состояния торпора и спячки (сумчатые, неполнозубые,

рукокрылые, грызуны, насекомоядные и хищные) имеют более высокую суточную квоту ПС по сравнению с отрядами приматов, ластоногих, парнокопытных и дамманов, для которых такие виды неизвестны или они единичны [23].

Тот факт, что у зимоспящих млекопитающих много МВС и МВС с повышенной дельта — активностью, в целом соответствует основной стратегии гипометаболической адаптации — жесткой экономии расходов энергии. В отделе Крэйга Геллера (Н. С. Heller) выявлен наиболее драматический температуро-зависимый механизм нейрональной пластичности, способствующий уменьшению расходов энергии на восстановление синаптических белков при повторяющихся пробуждениях в баутах спячки [94—96]. Показано, что снижение температуры мозга сопровождается изменениями в структуре нейронов (площади тела нейрона, сложности ветвления дендритов, плотности шипиков), а также потерей кластеров синаптических белков, которая не является результатом потери самих белков. Предполагается, что происходит «отсоединение» (диссоциация) белков от синапсов и их транспортировка в аксон, дендрит или сому. Созданный таким путем «резерв» белков впоследствии может быть быстро мобилизован для восстановления синапсов при выходе из торпора и возврате к эутермии; сигналом для сборки белковых комплексов синапса служит повышение температуры мозга при выходе из баута. По расчетам авторов во время баута гибернации около 30 % структуры дендритов и связанных с ними синапсов могут быть потеряны в определенных областях мозга. Эти потери восстанавливаются в течение 3—4 ч такого периода в фазе эутермии между баутами спячки, когда преобладает наиболее глубокий МВС (с повышенной мощностью спектра ЭЭГ в дельта-диапазоне).

Эти данные демонстрируют еще одну фундаментальную функцию глубокого МВС, реализуемую в исключительно экстремальных условиях и соответствующую общей стратегии экономии расходов энергии мозгом. Происходит ли при этом повышение скорости синтеза белков в мозге в глубоком МВС, неизвестно. В то же время большое количество ПС, этого состояния «археободствования» с элементами эндогенного стресса, в большинстве эпизодов которого возникают подергивания скелетных мышц, аритмия сердечной деятельности и дыхания и повышается температура мозга [4, 23, 91, 97], противоречит этой стратегии. По всей видимости, периодическая эндогенная активация нервной системы во время ПС даже в суровых зимних условиях при длительном отсутствии пищи настолько необходима, что животные вынуждены на время пренебречь стратегией экономии расходов энергии.

Сведения о вовлечении молекулярных шаперонов в модуляцию сна и гибернации ограничены. Во всех фазах зимних циклов гибернации в структурах мозга и периферических тканях золотистого суслика найден низкий уровень экспрессии шаперона Hsp70 [98]. Это в целом соответствует нашему представлению о температурном комфорте и «благополучии» гомеостаза в условиях холода и длительного дефицита пищи в

сезоне торпора и спячки [23, 91]. В бауте гибернации в конце фазы плато спячки выявлено ускорение трансформации тироксина в трийодтиронин [92], что может быть связано с подготовкой к процессу пробуждения. В этот же период отмечено повышение в мозге экспрессии глюкозо-регулируемого белка GRP78 [99], но не известно, имеет ли оно отношение к увеличению ЭЭГ дельта-активности во время МВС в фазе эутермии. Установлено, что шапероны участвуют в разборке и сборке белковых комплексов синапсов [100], однако неясно, можно ли перенести эти данные на процессы, происходящие в цикле сна и гибернации.

Приведенные выше данные и обобщения позволяют нам высказать гипотезу о том, что условия протекания ПС, как археободствования, содержащего элементы эндогенного стресса, представляются приемлемыми для реализации программы экспрессии шаперонов, необходимых для устранения неправильной укладки новосинтезированных белков и/или белков со структурой, нарушенной при «эндогенном стрессе». Если экспериментальная проверка подтвердит состоятельность гипотезы, то она может послужить ключом к раскрытию молекулярных механизмов ПС и, возможно, позволит дать обоснованные ответы на вопросы, почему животные лучше подготовлены к встрече с агрессивным окружением после окончания ПС, а не МВС и почему «утро вечера мудренее».

К сожалению, более детальный анализ невозможен, поскольку ПС остается во многом загадочным и парадоксальным состоянием мозга, биологическое значение которого не расшифровано, а главные функции не известны [1, 6—8, 23, 101]. Относительно связи ПС с экспрессией шаперонов, а возможно, и синтезом белков [102] остается много вопросов, обусловленных «информационными пустотами». Нельзя исключить, что ряд предположений и догадок, высказанных нами в статье, не будут подтверждены экспериментально.

Таким образом, впервые проведен анализ ключевых молекулярных механизмов МВС и ПС и их чередования в цикле сна, происходящем ежедневно в течение всей жизни у человека и всех гомеотермных животных. Результаты анализа свидетельствуют о критическом значении циклических изменений экспрессии шаперонов HSP70 (в эпизодах бодрствования и, возможно, ПС) и ускорения синтеза белков (в эпизодах глубокого МВС), для всех процессов жизнедеятельности гомеотермов, включая восстановление структуры и функции ЦНС, развитие мозга, поддержание гомеостаза сна, видового уровня синтеза белков в мозге и их «качества». Результаты анализа касаются молекулярных механизмов нарушений сна при продолжительном дефиците шаперонов в мозге, которые характерны для процессов старения и часто приводят к развитию различных нейропатологий, в том числе нейродегенеративных заболеваний.

Работа поддержана программой № 7 президиума РАН «Механизмы интеграции молекулярных систем при реализации физиологических функций».

Список литературы

- [1] Rechtschaffen A. Current perspectives on the function of sleep // *Perspect. Biol. Med.* 1998. V. 41. N 2. P. 359—390.
- [2] Kleitman N. *Sleep and Wakefulness* (2nd Edition). Chicago: Univ. Chicago Press, 1963. P. 94.
- [3] Пастухов Ю. Ф. Нейрохимические и молекулярные механизмы сна // *Материалы 3-й Российской школы-конференции (с международным участием) «Сон — окно в мир бодрствования»*. Ростов-на-Дону, Россия. 2005. С. 75.
- [4] Пастухов Ю. Ф. Парадоксальный сон и температура мозга: взаимоотношение в сезонах эутермии («нормотермии») и гипометаболизма у гибернарующих больших сусликов *Citellus major* // *Ж. эвол. биохим. и физиол.* 1999. Т. 35. № 3. С. 237—243.
- [5] Пастухов Ю. Ф., Максимов А. Л., Хаскин В. В. Адаптация к холоду и условиям Субарктики: проблемы термифизиологии. Магадан: СВНЦ ДВО РАН, 2003. Т. 1. 373 с.
- [6] Борбели А. Тайна сна. Серия «Переводная научно-популярная литература». Перевод с немецкого В. М. Ковальсона. М.: Знание, 1989. 192 с.
- [7] Вейн А. М. Сон — тайны и парадоксы. М.: Эйдос Медиа, 2003. 200 с.
- [8] Ковальзон В. М. Основы сомнологии: физиология и нейрохимия цикла «бодрствование—сон». М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2011. 239 с.
- [9] Пастухов Ю. Ф. Изменения характеристик парадоксального сна — ранний признак болезни Паркинсона // *Ж. высш. нервн. деят.* 2013. Т. 63. № 1. С. 75—85.
- [10] Пастухов Ю. Ф., Екимова И. В., Чеснокова А. В. Молекулярные механизмы патогенеза болезни Паркинсона и перспективы превентивной терапии // *Нейродегенеративные заболевания — от генома до целостного организма. Часть I. Моторная функция и ее регуляция в норме и при патологии* / Под ред. М. В. Угрюмова. М.: Научный мир, 2014. Т. 1. С. 316—356.
- [11] Zisapel N. Sleep and sleep disturbances: biological basis and clinical implications // *Cell. Life Sci.* 2007. V. 64. N 10. P. 1174—1186.
- [12] Wulff K., Porcheret K., Cussans E., Foster R. F. Sleep and circadian rhythm disturbances: multiple genes and multiple phenotypes // *Current Opinion in Genetics and Development.* 2009. V. 19. P. 237—246.
- [13] Екимова И. В., Пастухов Ю. Ф. Участие ГАМК-ергических механизмов вентролатеральной преоптической области гипоталамуса в регуляции состояний сна—бодрствования и температурного гомеостаза у голубя *Columba livia* // *Ж. эвол. биохим. и физиол.* 2005. Т. 41. N 4. С. 356—363.
- [14] Ковальзон В. М., Пастухов Ю. Ф., Мухаметов Л. М. Механизмы сна // *Физиология человека и животных*. М.: ВИНТИ, 1986. 182 с.
- [15] Комарова Т. Г., Екимова И. В., Пастухов Ю. Ф. Участие мускариновых и никотиновых холинорецепторов преоптической области гипоталамуса в контроле терморегуляции и состояний бодрствования и сна у голубей *Columba Livia* // *Ж. эвол. биохим. и физиол.* 2007. Т. 43. № 4. С. 332—336.
- [16] Obal F. Jr., Krueger J. M. Biochemical regulation of non-rapid-eye-movement sleep // *Front. Biosci.* 2003. V. 8. P. d520—d550.
- [17] Stenberg D. Neuroanatomy and neurochemistry of sleep // *Cell. Mol. Life Sci.* 2007. V. 64. N 10. P. 1187—1204.
- [18] Lesku J. A., Martinez-Gonzales D., Rattenborg N. C. Phylogeny and ontogeny of sleep // *The Neuroscience of Sleep*. San Diego: Elsevier, 2009. P. 61—70.
- [19] Zepelin H., Siegel J. M., Tobler I. Mammalian sleep // In: *Principles and Practice of Sleep Medicine*. Philadelphia: Elsevier/Saunders, 2005. P. 91—100.
- [20] Пастухов Ю. Ф. Классификация организмов по типу терморегуляции. Эволюция представлений // *Термофизиология. Информационный бюл.* Минск. 1994. Вып. 3. С. 6—17.
- [21] Bennett A. F., Ruben J. A. Endothermy and activity in vertebrates // *Sci.* 1979. V. 206. P. 649—654.
- [22] Dawson T. J. «Primitive mammals» // *Comparative Physiology of Thermoregulation* / Ed. G. C. Whittow. V. 3. L46. N. Y.: Acad. Press, 1973. С. 1—46.
- [23] Пастухов Ю. Ф., Екимова И. В. Термофизиология парадоксального сна // *Рос. физиол. ж. им. И. М. Сеченова*. 2011. Т. 97. № 4. С. 351—373.
- [24] Rashotte M. E., Pastukhov Iu. F., Poliakov E. L., Henderson R. P. Vigilance states and body temperature during the circadian cycle in fed and fasted pigeons (*Columba livia*) // *Am. J. Physiol.* 1998. V. 275 (Regulatory Integrative Comp. Physiol.). N 44. P. R1690—R1702.
- [25] Berger R. J., Phillips N. H. Energy conservation and sleep // *Behav. Brain Res.* 1995. V. 69. N (1—2). P. 65—73.
- [26] Heller H. C. Temperature, thermoregulation, and sleep // In: *Principles and Practice of Sleep Medicine*, 2005. Philadelphia: Elsevier/Saunders. P. 292—304.
- [27] Сазонов В. С., Пастухов Ю. Ф. Внутрисуточная организация цикла «бодрствование—сон» и энергетический метаболизм у крыс при действии низкой температуры // *Физиол. ж. им. И. М. Сеченова*. 1986. Т. 71. № 3. P. 342—347.
- [28] Zepelin H., Rechtschaffen A. Mammalian sleep, longevity, and energy metabolism // *Brain Behav. Evol.* 1974. V. 10. P. 425—470.
- [29] Пастухов Ю. Ф., Невретдинова З. Г. Изменения терморегуляции, сна и концентрации тиреоидных гормонов в крови во время «критического» периода вхождения в гибернацию у суслика *Citellus parryi* // *Ж. эвол. биохим. и физиол.* 1991. Т. 27. № 2. P. 211—217.
- [30] Аристкаесян Е. А., Карманова И. Г. Некоторые примеры рекапитуляции филогенетических этапов формирования цикла бодрствование—сон в онтогенезе млекопитающих // *Ж. эвол. биохим. и физиол.* 1998. Т. 34. № 4. С. 491—500.
- [31] Карманова И. Г., Оганесян Г. А. Физиология и патология цикла бодрствование—сон. Эволюционные аспекты. СПб.: Наука, 1994. 200 с.
- [32] Madsen P. L., Schmidt J. F., Wildschiodtz G., Friberg L., Holm S., Vorstrup S., Lassen N. A. Cerebral O₂ metabolism and cerebral blood flow in humans during deep and rapid-eye-movement sleep // *J. Appl. Physiol.* 1991. V. 70. P. 2597—2601.
- [33] Maquet P. Sleep function(s) and cerebral metabolism // *Behav. Brain Res.* 1995. V. 69. P. 75—83.
- [34] Nakanishi H., Sun Y., Nakamura R. K., Mori K., Ito M., Suda S., Namba H., Storch F. I., Dang T. P., Mendelson W., Mishkin M., Kennedy C., Gillin J. C., Smith C. B., Sokoloff L. Positive correlations between cerebral protein synthesis rates and deep sleep in *Macaca mulatta* // *Eur. J. Neurosci.* 1997. V. 9. P. 271—279.
- [35] Siegel J. M. Clues to the functions of mammalian sleep // *Nature*. 2005. V. 437. N 7063. P. 1264—1271.
- [36] Dworak M., McCarley R. W., Kim T., Kalinchuk A. V., Basheer R. Sleep and brain energy levels: ATP changes during sleep // *J. Neurosci.* 2010. V. 30. N 26. P. 9007—9016.
- [37] Benington J. H., Heller H. C. Restoration of brain energy metabolism as the function of sleep // *Prog. Neurobiol.* 1995. V. 45. P. 347—360.

- [38] *Ebrahimi-Fakhari D., Wahlster L., McLean P.J.* Molecular chaperones in Parkinson's disease — present and future // *J. Parkinsons Dis.* 2011. V. 1. N 4. P. 299—320.
- [39] *Jones D. R., Moussaud S., McLean P.* Targeting heat shock proteins to modulate α -synuclein toxicity // *Ther. Adv. Neurol. Disord.* 2014. V. 7. N 1. P. 33—51.
- [40] *Neef D. W., Jaeger A. M., Thiele D. J.* Heat shock transcription factor 1 as a therapeutic target in neurodegenerative diseases // *Nat. Rev. Drug Discov.* 2011. V. 10. N 12. P. 930—944.
- [41] *Гусев Е. И., Гехт А. Б., Попов Г. Р., Волкова Н. А., Пастухов Ю. Ф., Пронина Т. С., Чеснокова А. Ю., Екимова И. В.* Болезнь Паркинсона. Клиника, диагностика и лечение // *Нейродегенеративные заболевания: фундаментальные и прикладные аспекты* / Под ред. М. В. Угрюмова. М.: Наука, 2010. С. 52—86.
- [42] *Латишина К. В., Екимова И. В.* Исследование защитных эффектов белка теплового шока 70 кДа в модели депривации сна у голубей *Columba Livia* // *Ж. эвол. биохим. и физиол.* 2010. Т. 46. № 5. С. 386—394.
- [43] *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. ж. им. И. М. Сеченова.* 2010. Т. 96. № 3. С. 283—292.
- [44] *Пастухов Ю. Ф., Худик К. А., Екимова И. В.* Шапероны в регуляции и восстановлении физиологических функций // *Рос. физиол. ж. им. И. М. Сеченова.* 2010. Т. 96. № 7. С. 708—725.
- [45] *Пастухов Ю. Ф., Плаксина Д. В., Латишина К. В., Гужова И. В., Екимова И. В.* Экзогенный белок Hsp70 останавливает процесс нейродегенерации в условиях экспериментальной модели болезни Паркинсона у крыс // *Докл. РАН.* 2014. Т. 457. № 6. С. 724—727.
- [46] *Пастухов Ю. Ф., Чернышев М. В., Екимова И. В., Худик К. А.* Молекулярные шапероны — новые модуляторы тревожности и гомеостаза сна / Коллективная монография под ред. Е.В. Вербицкого. «Сон и тревожность». Ростов-на-Дону: Южный научный центр РАН, 2008. С. 188—204.
- [47] *Худик К.А., Пастухов Ю.Ф., Гужова И.В.* Влияние теплового прекодиционирования на судорожную активность у крыс с наследственной формой эпилепсии // *Рос. физиол. ж. им. И.М. Сеченова.* 2011. Т. 97. № 11. С. 1237—1246.
- [48] *Пастухов Ю. Ф., Чеснокова А. Ю.* Альфа-синуклеин в патогенезе болезни Паркинсона и других нейродегенеративных заболеваний // *Нейродегенеративные заболевания: фундаментальные и прикладные аспекты* / Под ред. М. В. Угрюмова. М.: Наука, 2010. С. 189—200.
- [49] *Cirelli C.* The genetic and molecular regulation of sleep: from fruit flies to humans // *Nat. Rev. Neurosci.* 2009. V. 10. N 8. P. 549—560.
- [50] *Mackiewicz M., Naidoo N., Zimmerman J. E., Pack A. I.* Molecular mechanisms of sleep and wakefulness // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2008. V. 1129. P. 335—349.
- [51] *Naidoo N.* Cellular stress/the unfolded protein response: relevance to sleep and sleep disorders // *Sleep Med. Rev.* 2009. V. 13. N 3. P. 195—204.
- [52] *Naidoo N., Giang W., Galante R. J., Pack A. I.* Sleep deprivation induces the unfolded protein response in mouse cerebral cortex // *J. Neurochem.* 2005. V. 92. N 5. P. 1150—1157.
- [53] *Terao A., Steininger 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.* 2003. V. 116. N 1. P. 187—200.
- [54] *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.* 2006. V. 137. N 2. P. 593—605.
- [55] *Shaw P. J., Tononi G., Greenspan R. J., Robinson D. F.* Stress response genes protect against lethal effects of sleep deprivation in *Drosophila* // *Nature.* 2002. V. 417. N 6886. P. 287—291.
- [56] *Пастухов Ю. Ф., Екимова И. В.* Молекулярные, клеточные и системные механизмы протективной функции белка теплового шока 70 кДа // *Нейронауки.* 2005. Т. 2. № 2. С. 3—25.
- [57] *Schröder M., Kaufman R. J.* ER stress and the unfolded protein response // *Mutat. Res.* 2005. V. 569. N 1—2. P. 29—63.
- [58] *Jones S., Pfister-Genskow M., Benca R. M., Cirelli C.* Molecular correlates of sleep and wakefulness in the brain of the white-crowned sparrow // *J. Neurochem.* 2008. V. 105. N 1. P. 46—62.
- [59] *Mackiewicz M., Shockley K. R., Romer M. A. et al.* Macromolecule biosynthesis: a key function of sleep // *Physiol. Genomics.* 2007. V. 31. N 3. P. 441—457.
- [60] *Пастухов Ю. Ф., Екимова И. В., Гужова И. В., Худик К. А.* Интегративные механизмы реализации пирогенного и сомногенного эффектов белка теплового шока 70 кДа: гипотеза // *Проблемы интеграции функций в физиологии и медицине.* Минск: ПЧУП «Бизнесофсет», 2004. С. 291—298.
- [61] *Пастухов Ю. Ф., Екимова И. В., Худик К. А., Гужова И. В.* Белок теплового шока 70 кДа, свободный от липополисахарида, обладает гипотермическим и сомногенным действием // *Докл. АН.* 2005. Т. 402. № 2. С. 275—278.
- [62] *Пастухов Ю. Ф., Екимова И. В., Худик К. А., Гужова И. В.* Белок 70 кДа в контроле сна и терморегуляции // *Ж. эвол. биохим. и физиол.* 2008. V. 44. № 1. P. 65—71.
- [63] *Екимова И. В.* Сомногенный эффект экзогенного белка теплового шока 70 кДа реализуется через ГАМК(A) рецепторы в преоптической области гипоталамуса // *Докл. РАН.* 2013. Т. 449. № 6. С. 725—728.
- [64] *Екимова И. В.* Терморегуляция у голубя *Columba Livia* при стрессе, вызванном депривацией пищи // *Ж. эвол. биохим. и физиол.* 2005. Т. 41. № 1. С. 62—68.
- [65] *Пастухов Ю. Ф., Екимова И. В., Ноздрачев А. Д., Гусельникова Е. А., Седунова Е. Л., Зимин А. Л.* Состояния сна вносят значительный вклад как в «охлаждение», так и «нагревание» мозга в темной фазе суток у голубей // *Докл. РАН.* 2001. Т. 376. № 6. С. 836—840.
- [66] *Екимова И. В., Пастухов Ю. Ф.* Роль аденозиновых A2A рецепторов преоптической области в реализации сомногенного эффекта белка 70 кДа у голубей // *Ж. эвол. биохим. и физиол.* 2014. Т. 50. № 8. С. 428—434.
- [67] *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.* 2000. V. 20. N 10. P. 3830—3842.
- [68] *Saper C. B., Scammell T. E., Lu J.* Hypothalamic regulation of sleep and circadian rhythms // *Nature.* 2005. V. 437. N 27. P. 1257—1263.
- [69] *Saper C. B., Fuller P. M., Pedersen N. P., Lu J., Scammell T. E.* Sleep state switching // *Neuron.* 2010. V. 68. N 6. P. 1023—1042.
- [70] *Sherin J. E., Shiromani P. J., McCarley R. W., Saper C. B.* Activation of ventrolateral preoptic neurons during sleep // *Science.* 1996. V. 271. N 5246. P. 216—219.

- [71] Пастухов Ю. Ф., Симонова В. В., Гузев М. А., Мешалкина Д. А., Гужова И. В., Екимова И. В. Шаперон Hsp70 вовлечен в молекулярные механизмы регуляции медленного сна // Докл. РАН. 2015. Т. 461. № 2. С. 228—231.
- [72] Новоселов С. С., Новоселова Т. В., Вербова М. В., Маргулис Б. А., Гужова И. В. Количественный баланс между HSP70 и его ко-шаперонами HDJL и BAGL определяет его субстрат связывающую активность // Цитология. 2005. Т. 47. № 3. С. 220—229.
- [73] Kamppinga H. H., Craig E. A. The HSP70 chaperone machinery: J proteins as drivers of functional specificity // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2010. V. 11. N 8. P. 579—592.
- [74] Freeman B. C., Morimoto R. I. The human cytosolic molecular chaperones hsp90, hsp70 (hsc70) and hdj-1 have distinct roles in recognition of a non-native protein and protein refolding // EMBO J. 1996. V. 15. N 12. P. 2969—2979.
- [75] Пастухов Ю. Ф., Екимова И. В., Мешалкина Д. А., Гузев М. А., Чернышев М. В., Лапина К. В., Лукина Е. А., Лазарев В. Ф., Худик К. А., Гужова И. В. Изучение участия ко-шаперона Hdj1 в модуляции сна и поведения с использованием технологии микроРНК in vivo // Рос. физиол. ж. им. И. М. Сеченова. 2012. Т. 98. № 12. С. 1530—1543.
- [76] Пастухов Ю. Ф., Чернышев М. В., Симонова В. В., Гузев М. А., Мешалкина Д. А., Екимова И. В. Анализ участия молекулярных шаперонов в регуляции гомеостаза сна и тревожно-подобного поведения с использованием технологий микроРНК in vivo // Материалы 8-й Российской молодежной школы-конференции с международным участием «Сон — окно в мир бодрствования». Санкт-Петербург, Россия. 2015. С. 81—82.
- [77] Лапина К. В., Гузев М. А., Симонова В. В. Молекулярный шаперон Grp78 участвует в центральных механизмах регуляции сна // Материалы 8-й Российской молодежной школы-конференции с международным участием «Сон — окно в мир бодрствования». Санкт-Петербург, Россия. 2015. С. 65—66.
- [78] Маргулис Б. А., Гужова И. В. Двойная роль шаперонов в ответе клетки и всего организма на стресс // Цитология. 2009. Т. 51. № 3. С. 219—228.
- [79] Methippara M. M., Bashir T., Kumar S., Alam N., Szymusiak R., McGinty D. Salubrinal, an inhibitor of protein synthesis, promotes deep slow wave sleep // Am. J. Physiol. (Regul. Integr. Comp. Physiol. 2009. V. 296. P. R178—R184.
- [80] Methippara M., Mitrani B., Schrader F. X., Szymusiak R., McGinty D. Salubrinal, an endoplasmic reticulum stress blocker, modulates sleep homeostasis and activation of sleep- and wake-regulatory neurons // Neuroscience. 2012. V. 3 N 209. P. 108—118.
- [81] Ramm P., Smith C.T. Rates of cerebral protein synthesis are linked to slow wave sleep in the rat. Physiol. Behav. 1990. V. 48. P. 749—753.
- [82] Schubert U., Anton L. C., Gibbs J. et al. Rapid degradation of a large fraction of newly synthesized proteins by proteasomes // Nature. 2000. V. 404. P. 770—774.
- [83] Calasso M., Parmeggiani P. L. Carotid blood flow during REM sleep // Sleep. 2008. V. 31. N 5. P. 701—707.
- [84] Пастухов Ю. Ф. Цикл сна и молекулярные шапероны: факты, гипотезы, догадки // Материалы 7-й Российской школы-конференции (с международным участием) «Сон — окно в мир бодрствования». Ростов-на-Дону, Россия. 2013. С. 17—23.
- [85] Kovalzon V. M., Tsubulsky V. L. REM-sleep deprivation, stress and emotional behavior in rats // Behav. Brain Res. 1984. V. 14. N 3. P. 235—245.
- [86] Ковальзон В. М. Парадоксы парадоксального сна // Природа. 1982. № 8. С. 74—79.
- [87] Rial R. V., Akaarir M., Gamundi A., Nicolau C. et al. Evolution of wakefulness, sleep and hibernation: from reptiles to mammals // Neurosci. Biobehav. Rev. 2010. V. 34. N 8. P. 1144—1160.
- [88] Roffwarg H. P., Muzio J., Dement W. G. Ontogenetic development of the human sleep-dream cycle // Science. 1966. V. 152. P. 604—619.
- [89] Roffwarg H. R. Participation of REM sleep in the development of the brain: starting hypothesis, unfolding data, current perspective // SRS Bulletin. 2009. V. 15. N 2. P. 6.
- [90] Szymusiak R., Satinoff E. Maximal REM sleep time defines a narrower thermoneutral zone than does minimal metabolic rate // Physiol. Behav. 1981. V. 26. N 4. P. 687—690.
- [91] Пастухов Ю. Ф. Парадоксальный сон — индикатор «благополучия» гомеостаза при длительном дефиците пищи в условиях холода // Материалы 6-й Российской (с международным участием) молодежной школы-конференции «Сон — окно в мир бодрствования». Москва, Россия. 2011. С. 20—27.
- [92] Pastukhov Yu. F., Chepkasov I. E., Nevretdinova Z. G. Changes in sleep and thermoregulation patterns in arctic ground squirrels during the year // Sleep Res. 1993. V. 22. P. 467—468.
- [93] Пастухов Ю. Ф., Невретдинова З. Г., Словигов Б. И. Суточные и сезонные изменения терморегуляторного поведения у американского суслика *Citellus parryi* // Ж. эвол. биохим. и физиол. 1995. Т. 31 № 4. С. 480—487.
- [94] Von der Ohe C. G., Darian-Smith C., Garner C. C., Heller H. C. Ubiquitous and temperature-dependent neural plasticity in hibernators // J. Neurosci. 2006. V. 26. P. 10 590—10 598.
- [95] Von der Ohe C. G., Garner C. C., Darian-Smith C., Heller H. C. Synaptic protein dynamics in hibernation // J. Neurosci. 2007. V. 27. N 1. P. 84—92.
- [96] Heller H. C. The ups and downs of synapses during Sleep and learning // Sleep. 2014. V. 37. N 7. P. 1157—1158.
- [97] Пастухов Ю. Ф., Чепкасов И. Е. Различия во временной организации «летнего» и «зимнего» сна у зимоспящих млекопитающих // Докл. РАН. 1994. Т. 339. № 4. С. 555—556.
- [98] Bitting L., Watson F. L., O'Hara B. F., Kilduff T. S., Heller H. C. HSP70 is increased during the day in a diurnal animal, the golden-mantled ground squirrel *Spermophilus lateralis* // Mol. Cell. Biochem. 1999. V. 199. N 1—2. P. 25—34.
- [99] Mamady H., Storey K. B. Up-regulation of endoplasmic reticulum molecular chaperone GRP78 during hibernation in thirteen-lined ground squirrels // Mol. Cell. Biochem. 2006. V. 292. P. 89—98.
- [100] Зефиоров А. Л., Петров А. М. Синаптическая везикула и механизм освобождения медиатора (экзо-эндоцитозный везикулярный цикл). Казань: Арт-кафе, 2010. 359 с.
- [101] Лямин О. И. Парадоксальный (REM) сон: стадия с необычной феноменологией, неизвестными функциями и непонятным биологическим значением // Материалы 6-й Российской (с международным участием) молодежной школы-конференции «Сон — окно в мир бодрствования». Москва, Россия. 2011. С. 16—19.
- [102] Gronli J., Soule J., Bramham C. R. Sleep and protein synthesis-dependent synaptic plasticity: impacts of sleep loss and stress // Frontiers in Behav. Neurosci. 2014. V. 7. P. 1—18.

SLOW-WAVE SLEEP AND MOLECULAR CHAPERONES

Yu. F. Pastukhov

Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences,
St. Petersburg, Russia

ABSTRACT

From ancient times the mankind has been interested in a topical issue: why is it necessary to spend about one-third of human life for sleep? This review considers the main data on the key function of slow-wave sleep (SWS) and the molecular mechanisms of its regulation; the basic conclusions are presented below as a summary and hypotheses. 1. SWS has an energy-conserving function developed simultaneously with the evolution of tachimetabolism and endothermy/homoiothermy. 2. The most significant reduction of energy demands in the brain occurs during the deep SWS (characterized by increased EEG-delta power), thus creating the optimal conditions for enhancing anabolic processes and realizing the key biological function of sleep — the increase in protein synthesis rate in the brain. 3. The conditions of the paradoxical sleep (PS) as an 'archoawakefulness' state, containing the elements of endogenous stress, seem to be acceptable for expression of chaperones required for repairing misfolded proteins newly synthesized during the deep SWS. 4. The close integration of two molecular systems, HSP70 and HSP40, contained in the sleep 'center' in the preoptic area of the hypothalamus, and their compensatory interrelations contribute significantly to the maintenance of sleep homeostasis and to implementation of its functions under non-stress conditions and during long-term deficiency of chaperones in the brain that is intrinsic for aging and various neuropathologies. 5. Occurring daily throughout the lifetime cyclical changes of the protein synthesis rate (during the deep SWS) and the expression of HSP70 chaperone (during wakefulness and, possibly, during PS) are crucial for functions of homeothermic organisms, including recuperation of the nervous system's structure and functions.

Key words: slow-wave and paradoxical sleep, sleep functions, increase in protein synthesis rate, HSP70 and HSP40 chaperones, lentiviral construct, preoptic area of the hypothalamus, rats.