

Утверждаю  
Директор ФГБУН  
Институт высшей нервной деятельности  
и нейрофизиологии РАН  
проф. РАН, д.б.н. А.Ю.Малышев

### **ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ**

– федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии» Российской академии наук на диссертационную работу Симоновой Валентины Валерьевны на тему «Вовлечение индуцибельного шаперона Hsp70 в модуляцию суточного цикла бодрствование-сон», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – Физиология.

**Актуальность темы диссертационного исследования.** Диссертационная работа Симоновой В.В. посвящена актуальной фундаментальной проблеме современной сомнологии и нейрофармакологии – определению роли белков теплового шока семейства HSP70 (70 kDa Heat Shock Proteins) в модуляции суточного цикла бодрствование-сон у животных. Основная функция этих белков в клетках – поддержание протеостаза, которое обеспечивается шаперонной активностью HSP70 – способностью распознавать и фолдировать новосинтезированные полипептидные цепи и восстанавливать белки с нарушенной пространственной укладкой.

Шапероны семейства HSP70 обладают широким спектром защитных функций. В настоящее время исследуются возможности терапевтического применения шаперонов и разрабатываются подходы к лечению многих патологий, включая эпилепсию, ишемию, лихорадку, а также онкологические и нейродегенеративные заболевания. Особый интерес представляет возможность использования HSP70 для терапии нарушений сна, ассоциированных со старением и нейродегенеративными заболеваниями. Однако в литературе мало представлены данные об участии различных представителей HSP70 в модуляции сна и полностью отсутствуют работы, направленные на изучение роли эндогенного индуцибельного шаперона Hsp70i в регуляции каждого из состояний суточного цикла сон-бодрствование.

В связи с этим тема диссертационного исследования Симоновой В.В. представляется актуальной и современной. Работа проведена по темам лаборатории,

поддержанных Президиумом РАН и Российским фондом фундаментальных исследований, что также указывает на актуальность выполненной работы и высокую оценку независимых экспертов.

**Структура и содержание диссертационной работы.** Диссертация В.В. Симоновой построена по традиционному плану и состоит из введения с постановкой целей и задач работы, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, описания результатов исследования в трёх главах, обсуждения полученных результатов, заключения, выводов и списка литературы. Текст диссертации изложен на 146 страницах, иллюстрирован 36 рисунками и содержит 6 таблиц. Список цитируемой литературы включает 30 отечественных источников и 421 зарубежный.

Во введении автор обосновывает актуальность выбранной темы, формулирует цель и пять задач исследования, описывает научную новизну и значимость работы, приводит три положения, выносимые на защиту, перечисляет формы апробации результатов работы в виде статей в рецензируемых журналах и тезисов докладов, а также указывает личный вклад соискателя в выполнение исследования и финансовую поддержку работы.

Обзор литературы достаточно объёмен: изложен на 58 страницах, состоит из двух основных глав и включает резюме к каждой главе. В первой главе представлены данные, касающиеся центральной регуляции суточного цикла бодрствование-сон. Вторая глава обзора литературы посвящена белкам теплового шока. Автор описывает функции белков теплового шока в клетках и акцентирует внимание на имеющихся данных об участии белков теплового шока семейства HSP70 в модуляции сна.

Использованные в диссертационной работе методические подходы соответствуют поставленным задачам и современному уровню исследований в области сомнологии. Набор применяемых методов достаточно широк и включает телеметрическую полисомнографию, два типа депривации сна (тотальная и селективная депривация парадоксального сна), молекулярно-биологические методы (лентивирусная трансфекция, вестерн-блот анализ, иммуногистохимия, полимеразная цепная реакция в реальном времени), а также методы статистической обработки данных

Собственные результаты исследований представлены в разделе «Результаты исследования», разделённом на три главы. Каждая глава результатов завершается кратким резюме, что облегчает восприятие работы. Во всех подразделах результаты проиллюстрированы графиками, гистограммами и таблицами. Статистическая обработка данных проведена адекватно, использованные статистические критерии указаны под каждой иллюстрацией.

В разделе «Обсуждение результатов» автор анализирует полученные в работе результаты с привлечением данных современной мировой литературы и описывает предполагаемые молекулярные механизмы, обеспечивающие участие Hsp70 в модуляции сна. В заключении дано краткое обобщение полученных данных и описаны перспективы дальнейшей разработки темы. Основные результаты работы отражены в пяти выводах, завершающих диссертацию. Выводы и три положения, выносимые на защиту, полностью соответствуют полученным в диссертационной работе данным.

Автореферат по содержанию соответствует основным разделам диссертации. Автореферат позволяет получить полное представление об организации исследования, объеме выполненных работ и достоверности полученных результатов, а также об актуальности, новизне и теоретическом и практическом значении выполненного исследования. В конце автореферата приведён список работ, опубликованных по теме диссертационного исследования.

#### **Оценка обоснованности и достоверности полученных результатов и выводов, сформулированных в диссертации.**

В ходе проведения экспериментов диссертантом были применены современные электрофизиологические, иммуногистохимические и молекулярно-биологические методики; выборки экспериментальных данных достаточны и статистические подходы для их анализа подобраны целесообразно. Описание использованных методов представлено подробно, что также свидетельствует в пользу достоверности и убедительности полученных результатов.

Выносимые на защиту положения и выводы соответствуют полученным результатам и свидетельствуют о выполнении поставленных задач. Список публикаций по теме диссертационного исследования включает 4 статьи в журналах из списка ВАК и 13 материалов конференций, что подтверждает оригинальность и значимость полученных автором результатов.

#### **Научная новизна представленной работы.**

Автором получены приоритетные данные о вовлечении в модуляцию суточного цикла сон-бодрствование эндогенного шаперона Hsp70i. Впервые показано, что Hsp70i, содержащийся в вентролатеральной преоптической области гипоталамуса, необходим для инициации и поддержания эпизодов медленного и парадоксального сна у крыс и для восстановления сна после его тотальной депривации. На фоне снижения содержания эндогенного Hsp70i развивается компенсаторный эффект в виде возрастания представленности глубокого медленного сна, обеспечивающего выполнение восстановительной функции сна. Использование РНК-интерференции позволило также

выявить хронические эффекты недостатка Hsp70i, проявляющиеся в возрастании представленности сна в неактивное время суток. Применение полисомнографии совместно молекулярно-биологическими методами позволило впервые показать, что уровень экспрессии Hsp70 у животных меняется в суточном цикл бодрствование-сон.

#### **Теоретическое и практическое значение полученных результатов.**

Значимость полученных Симоновой В.В. данных для фундаментальной сомнологии связана с тем, что результаты работы найдут применение для дальнейшего изучения молекулярных механизмов, которые обеспечивают участие шаперонов в регуляции сна. Несмотря на фундаментальный характер исследования, данные, полученные диссертантом, могут быть использованы для апробации новых способов лечения расстройств сна на основе шаперонов HSP70 или их индукторов в клинических исследованиях, особенно при старении и развитии нейродегенеративных заболеваний, так как эти процессы характеризуются снижением содержания шаперонов в мозге. В связи с этим необходимо отметить, что, помимо диссертационного исследования, Симонова В.В. принимала участие в проекте, посвященном поиску немоторных маркеров нейродегенеративного процесса при моделировании болезни Паркинсона у взрослых и старых крыс и изучению терапевтического потенциала индуктора шаперонов U133 для лечения нарушений сна в этой модели. Результаты этой работы были опубликованы в рецензируемых журналах (Екимова, Симонова и др., 2016; Пастухов, Симонова и др., 2017; Симонова, Гузеев и др., 2018; Пастухов, Симонова и др., 2019).

#### **Общие вопросы и замечания.**

1) Первая часть работы посвящена изучению влияния недостатка Hsp70i в ВЛПО на характеристики сна и бодрствования. ВЛПО отвечает, главным образом, за регуляцию медленного сна. Скажите, пожалуйста, почему вы не исследовали изменения цикла бодрствование-сон при снижении содержания Hsp70i в NRPO, где обнаружены различия в экспрессии генов этого белка?

2) Большая часть работы выполнена на хронических экспериментах – более месяца. Проверяли ли вы, насколько стабильно использованная вами лентивирусная конструкция подавляет синтез Hsp70i в течение этого времени?

#### **Заключение**

Диссертационная работа Симоновой Валентины Валерьевны «Вовлечение индуцибельного шаперона Hsp70 в модуляцию суточного цикла бодрствование-сон» является завершенной научно-квалификационной работой, в которой на основании самостоятельно выполненных автором исследований сформулированы и обоснованы научные положения. По актуальности, объему выполненных исследований,

методическому уровню, научной новизне, теоретическому и практическому значению полученных результатов и уровню апробации работа соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842 (в редакции от 01.10.2018 г.) «О порядке присуждения ученых степеней», а её автор Симонова Валентина Валерьевна заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – Физиология.

Отзыв ведущего учреждения на диссертацию составлен заведующим лабораторией нейробиологии сна и бодрствования ФГБУН Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской академии наук доктором биологических наук Дороховым Владимиром Борисовичем.

Диссертация, автореферат и настоящий отзыв обсуждены и одобрены на открытом заседании лаборатории нейробиологии сна и бодрствования ИВНД и НФ РАН, протокол № 3 от 13 февраля 2020 г.

Составитель отзыва:

заведующий лабораторией  
нейробиологии сна и бодрствования  
федерального государственного бюджетного  
учреждения науки «Институт высшей  
нервной деятельности и нейрофизиологии»  
Российской академии наук  
доктор биологических наук  
тел.:89163169824  
e-mail: vbdorokhov@mail.ru

Дорохов В.Б.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии» Российской академии наук  
117485, г. Москва, ул. Бутлерова, 5А  
тел.: (495) 334-70-00 (секретариат)  
факс.: (499) 743-00-56