

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО НАУЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ

ФГБУН «ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ РАЗВИТИЯ ИМ. Н.К. КОЛЬЦОВА РАН»

УДК 612.43

РК НИОКР 01201351270

№ ИСГЗ 0108-2014-0007

УТВЕРЖДАЮ

Директор ИБР РАН

Член-корреспондент РАН

А.В. Васильев



«27» января 2017 г.

ОТЧЕТ

О НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЕ

ТЕМА 7. Роль сигнальных молекул мозга в нейроэндокринных и нервных регуляциях в онтогенезе

(заключительный отчет)

Руководитель темы, академик РАН, зав. лаб.

подпись, дата

М.В. Угрюмов

Москва, 2017

СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ


Руководитель темы, академик РАН,
доктор биологических наук



подпись, дата

М.В. Угрюмов (введение, раздел 1,
2, 3 заключение)

Ведущие исполнители темы:
Кандидат биол. наук



подпись, дата

А.Я. Сапронова (раздел 1)

Кандидат биол. наук



подпись, дата

Т.С. Пронина (раздел 2)

Кандидат биол. наук



подпись, дата

Т.С. Пронина (раздел 3)

УДК 612.43

ОГЛАВЛЕНИЕ

Реферат	4
Определения, обозначения и сокращения	5
Введение	6
Раздел 1. Роль развивающегося мозга в нейроэндокринной регуляции развития и функционирования целостного организма	9
Раздел 2. Экспериментальное моделирование нейродегенеративных заболеваний и их фармакологической коррекции	13
Публикации по теме	15
Заключение	24

Реферат

Отчет 25 с., 2 ч., 7 рис., 48 публикаций (26 статьи, 22 тезисы).

Ключевые слова: развивающийся мозг, нейроэндокринная система, онтогенез, млекопитающие, болезнь Паркинсона, nigростриатная дофаминергическая (ДА-ергическая) система, дофамин, гонадотропин-рилизинг гормон, тестостерон, лактотрофы, гипофиз.

На разработанных моделях хронического выключения синтеза катехоламинов в мозге у неонатальных крыс получены доказательства влияния дофамина мозгового происхождения на длительно протекающие регуляторные процессы, опосредованные через геном, в онтогенезе у крыс. В экспериментах *in vivo* и *in vitro* было впервые показано парааденогипофизарное эндокринное влияние дофамина и гонадотропин-рилизинг гормона мозгового происхождения на синтез и выделение пролактина лактотрофами гипофиза и тестостерона семенниками, в раннем постнатальном периоде развития у крыс.

Проведена комплексная характеристика nigростриатной системы на моделях доклинической и ранней клинической стадий болезни Паркинсона (БП). Для изучения механизмов пластичности мозга, направленных на компенсацию функциональной недостаточности деградирующей nigростриатной дофаминергической системы, проводилось исследование кооперативного синтеза дофамина (ДА) моноферментными не ДА-ергическими нейронами стриатума.

Показано компенсаторное увеличение числа моноферментных тирозингидроксилаза содержащих нейронов по сравнению с контролем на моделях доклинической и ранней клинической стадий БП. Впервые получено прямое доказательство кооперативного синтеза ДА не ДА-ергическими моноферментными нейронами в стриатуме у мышей в норме и при паркинсонизме и показано, что в условиях нейродегенерации кооперативный синтез вносит существенный вклад в поддержание нормальной межклеточной концентрации ДА.

Впервые охарактеризована динамика дегенерации (ДА)-ергических нейронов nigростриатной системы на модели ранней клинической стадии БП: по содержанию и активности тирозингидроксилазы и содержанию дофамина, в первые часы после введения нейротоксина (МФТП). Терминали аксонов в большей степени подвержены дегенерации и угнетенности функционального состояния после введения нейротоксина, чем тела ДА-ергических нейронов, что делает аксоны более перспективными мишенями для поиска и тестирования потенциальных нейропротекторов.

Обозначения и сокращения:

БП – болезнь Паркинсона

ГЭБ - гемато-энцефалический барьер

6-ГДА - 6-гидроксидофамин

ГРГ - гонадотропин-рилизинг гормон

ДА – дофамин

L-ДОФА – дигидроксифенилаланин (предшественник синтеза ДА)

ДМИ - десметилимипромин

мРНК – матричная рибонуклеиновая кислота

МФТП - 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин (нейротоксин)

НА – норадреналин

ПЦР – полимеразная цепная реакция

ТГ – тирозингидроксилаза (начальный фермент синтеза ДА)

ФАВ - физиологически активные вещества

Введение

Мозг у взрослых животных является центральным звеном высокоиерархичной системы нейроэндокринной регуляции важнейших функций и поддержания постоянства внутренней среды организма. Информация о состоянии внутренней и внешней среды поступает от периферических органов в мозг в виде нервных импульсов, трансформируется на уровне гипоталамуса в химические сигналы – в основном в виде физиологически активных нейропептидов и моноаминов, которые в области так называемых нейрогемальных отделов гипоталамуса (срединное возвышение и задняя доля гипофиза), лишенных гемато-энцефалического барьера (ГЭБ), поступают в кровотоки.

В последние годы получены экспериментальные доказательства того, что нейроны мозга начинают синтезировать и выделять физиологически активные вещества (ФАВ) задолго до формирования межнейронных синаптических связей и ГЭБ. На основе этих данных нами была сформулирована гипотеза о том, что развивающийся мозг до формирования межнейронных синаптических связей и ГЭБ функционирует как эндокринный орган, секретирующий широкий спектр ФАВ в общую систему циркуляции. Эта гипотеза нашла подтверждение в проведенных нами ранее исследованиях. Так, было показано, что в периферической крови плодов и новорожденных крыс, т.е. до закрытия ГЭБ, гонадотропин-рилизинг гормон (ГРГ), дофамин (ДА) и серотонин мозгового происхождения содержатся в концентрации достаточно высокой для оказания адекватного физиологического действия на клетки- и органы-мишени. После формирования ГЭБ концентрация ГРГ и дофамина в общей системе циркуляции падает практически до нуля, что исключает возможность их дальнейшего физиологического действия. Упомянутые выше данные могут рассматриваться как важные, но косвенные доказательства поступления ФАВ из мозга в кровь и, следовательно, функционирования развивающегося мозга как эндокринного органа до закрытия ГЭБ. Поэтому цель исследований состояла в том, чтобы получить убедительные прямые доказательства эндокринной функции мозга в перинатальном периоде развития у крыс.

Согласно сложившейся к концу 80-ых годов концепции, формирование нейроэндокринной системы регуляции в онтогенезе начинается с развития и автономного функционирования периферических эндокринных желез, причем гипоталамический контроль гипофиза, а опосредованно и периферических эндокринных желез, устанавливается намного позднее – только после окончательного формирования мозга. В последние годы представления о роли мозга в нейроэндокринной регуляции в онтогенезе претерпели существенные изменения. Так, в наших работах было впервые обращено внимание на то, что нейроны с момента их образования и до формирования специфических (синаптических) межнейронных связей функционируют не как

структурно-функциональные элементы, обеспечивающие циркуляцию информации в виде нервных импульсов по нервной системе, а как секреторные клетки – источники ФАВ. Более того, нами было доказано, что в этот же период онтогенеза, ввиду отсутствия ГЭБ, ФАВ – нейропептиды и моноамины, легко проникают из мозга в общую систему циркуляции, создавая при этом в крови физиологически активную концентрацию, при которой они потенциально могут участвовать в прямой (минуя гипофиз и периферические эндокринные железы) эндокринной регуляции развития и функционирования периферических органов мишеней и самого мозга.

В последние годы нами была доказана секреторная активность развивающегося мозга однако, до сих пор не изучено предполагаемое эндокринное влияние ФАВ мозгового происхождения на периферические органы - мишени. Поэтому недавно в нашей лаборатории начаты исследования по проверке второй части гипотезы о том, что ФАВ мозгового происхождения не только поступают в общую систему циркуляции, но и действительно оказывают прямое эндокринное влияние на периферические органы – мишени. В качестве модели для этих исследований мы используем регуляцию секреции тестостерона гонадотропин-рилизинг гормоном гипоталамуса и дофаминовую регуляцию секреции пролактина лактотрофами гипофиза. Пока получены предварительные данные об ингибирующем эндокринном влиянии дофамина мозгового происхождения на выделение пролактина из лактотрофов гипофиза. При этом остается ряд нерешенных вопросов - действительно ли на этом этапе онтогенеза, т.е. до формирования ГЭБ, ГРГ и дофамин мозгового происхождения, содержащиеся в периферической, а не в портальной крови, оказывают на семенники и гипофиз прямое эндокринное влияние.

Таким образом, в 2013-2016 годах планировалось получить доказательства того, что в перинатальном периоде развития секреторируемые мозгом и поступающие в общую систему циркуляции сигнальные молекулы участвуют в регуляции развития и функционирования периферических органов-мишеней.

Нарушение метаболизма нейротрансмиттеров и нейрогормонов, возникающее при гибели синтезирующих их нейронов, у человека приводит к тяжелейшим нейродегенеративным заболеваниям и, в частности, к болезни Паркинсона

По второму разделу планировалось изучение компенсаторных механизмов, способствующих на фоне деградации nigростриатной дофаминергической (ДА-ергической) системы поддержанию нормальной межклеточной концентрации дофамина (ДА) в стриатуме. Особое внимание будет уделено оценке возможности синтеза ДА недофаминергическими «моноферментными» нейронами nigростриатной системы. Для этого необходимо а) провести идентификацию nigростриатных моноферментных нейронов путем двойного

иммуноцитохимического мечения ферментов синтеза ДА и оценить их содержание в нейронах с помощью автоматического компьютерного анализа изображений на досимптомной и ранней симптомной стадиях паркинсонизма; б) получить дополнительные доказательства наличия в стриатуме моноферментных нейронов, экспрессирующих отдельные ферменты синтеза ДА, с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени; планировалось изучение компенсаторных механизмов, способствующих на фоне деградации нигростриатной дофаминергической (ДА-ергической) системы поддержанию нормальной межклеточной концентрации дофамина (ДА) в стриатуме. Особое внимание будет уделено оценке возможности синтеза ДА недофаминергическими «моноферментными» нейронами нигростриатной системы. Для этого необходимо а) провести идентификацию нигростриатных моноферментных нейронов путем двойного иммуноцитохимического мечения ферментов синтеза ДА и оценить их содержание в нейронах с помощью автоматического компьютерного анализа изображений на досимптомной и ранней симптомной стадиях паркинсонизма

Раздел 1. Роль развивающегося мозга в нейроэндокринной регуляции развития и функционирования целостного организма

Первой задачей исследований была разработка модели хронического выключения синтеза ДА в мозге у крыс до формирования ГЭБ. Для этого в боковые желудочки мозга крысят на 2-ой день постнатального развития (П2) вводили 6-гидроксидофамин (6-ГДА) – специфический нейротоксин катехоламинергических нейронов, который захватывается мембранными переносчиками ДА и норадреналина (НА) и вызывает разобщение цепи окислительного фосфорилирования в митохондриях, что приводит к гибели нейронов. Для того, чтобы вызвать избирательную гибель только дофаминергических нейронов и сохранить норадренергические, за 30 минут до введения 6-ГДА подкожно вводили десметилимипромин (ДМИ) – ингибитор обратного захвата норадреналина, а следовательно, и 6-ГДА в норадренергические нейроны. Чтобы предотвратить нарушения синтеза ДА в периферических органах из-за диффузии нейротоксина в кровь в отсутствие ГЭБ, на первом работы этапе мы выбрали такую дозу 6-ГДА, которая бы максимально снижала содержание ДА в мозге, не влияя при этом на его содержание в периферических ДА-синтезирующих органах, экспрессирующих переносчик ДА.

На втором этапе работы животным на П2 в боковые желудочки мозга стереотаксически вводили 6-ГДА в дозе, подобранной на предыдущем этапе работы. Второй задачей исследований была оценка изменения концентрации дофамина в мозге и плазме крови после введения нейротоксина методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с электрохимической детекцией. Через 72 часа после стереотаксического введения 6-ГДА в боковые желудочки мозга было обнаружено снижение концентрации ДА в мозге на 54 % , а в плазме крови наблюдалось еще более резкое (на 73%) снижение уровня ДА, что указывает на ведущую роль мозга в формировании физиологически активной концентрации ДА в крови (Рис. 1).

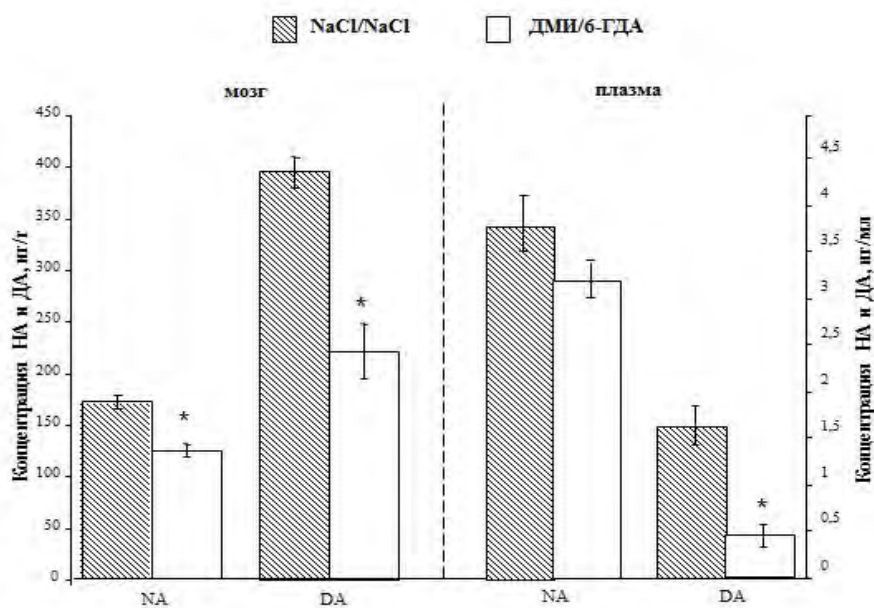


Рис. 1. Концентрация норадреналина (НА) и дофамина (ДА) в мозгу (слева) и в плазме крови (справа) через 72 часа после стереотаксического введения 100 мкг 6-ГДА в боковые желудочки мозга; в контроле вводили 0,9% NaCl. Достоверные различия между контролем и опытом ($p < 0.05$).

В почках, желудке и двенадцатиперстной кишке после введения нейротоксина не произошло достоверных изменений концентрации ДА, что свидетельствует о специфическом выключении синтеза ДА в мозге, но не в периферических органах. Таким образом, разработанная модель хронического избирательного выключения синтеза дофамина в мозге у неонатальных крыс позволила подтвердить правомерность нашей гипотезы о развивающемся мозге как эндокринном органе и открыло новые возможности для изучения его эндокринной роли в развитии целостного организма.

Третья задача состояла в изучении прямого влияния дофамина мозгового происхождения, содержащегося в периферической крови у неонатальных крыс, на секрецию пролактина лактотрофами гипофиза, экспрессирующими рецепторы к дофамину.

На разработанной модели хронического избирательного выключения синтеза дофамина в мозге у неонатальных крыс мы оценивали влияние ДА, поступающего из общей системы циркуляции, на синтез пролактина лактотрофами гипофиза (рис. 2).

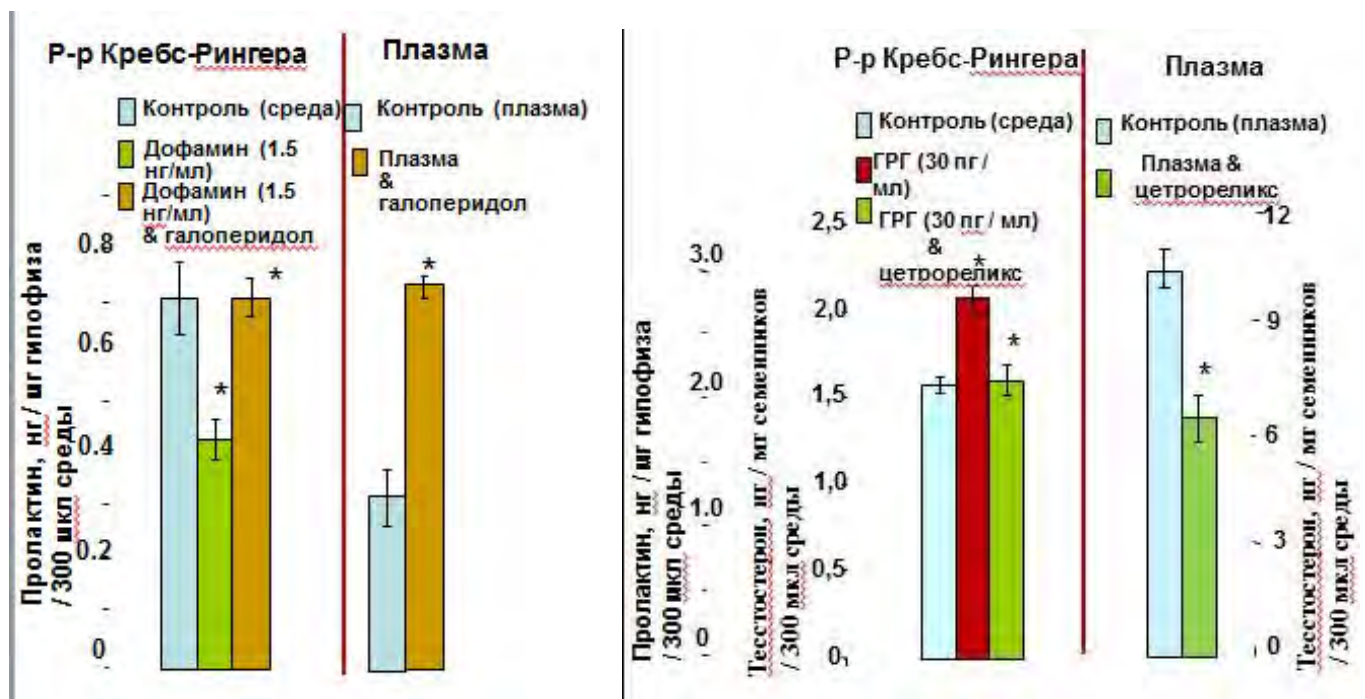
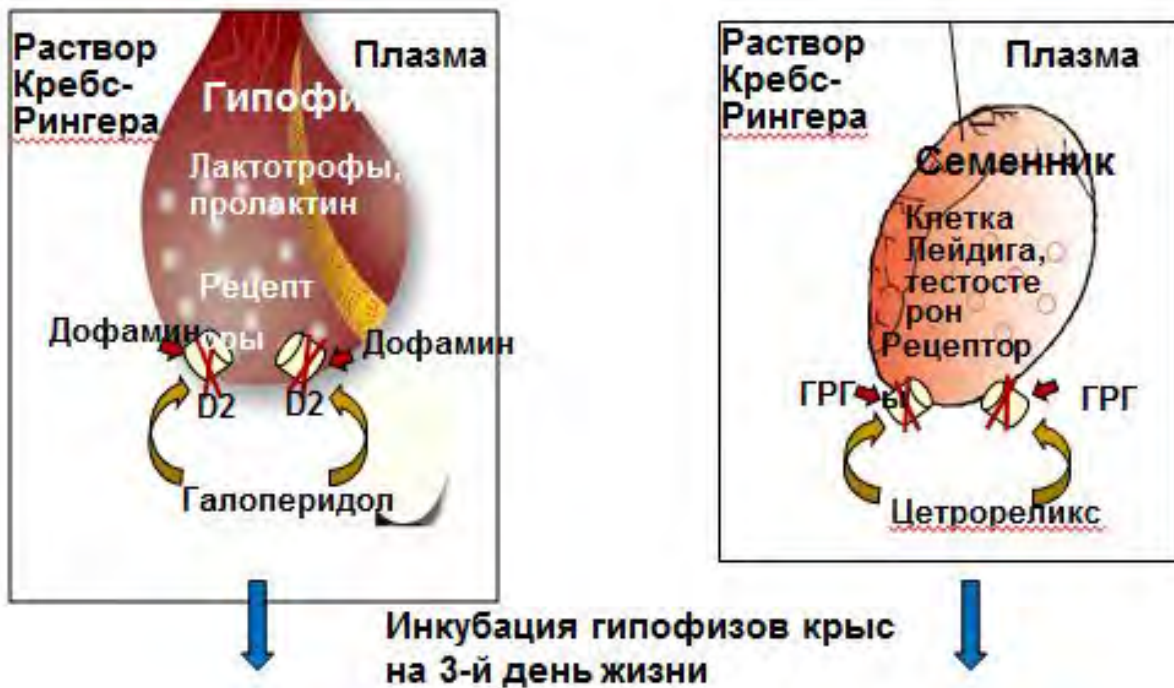


Рис. 2. Участие нейрогормонов в эндокринной регуляции периферических органов у неонатальных крыс – доказательства *in vitro*

Для этого мы использовали 2 показателя: содержание пролактина в плазме крови и гипофизах и уровень мРНК пролактина в гипофизах. Было показано, что после ингибирования синтеза ДА в мозге концентрация пролактина в плазме крови увеличилась на 70%, а в гипофизе на

48%. Уровень экспрессии мРНК пролактина у животных с дефицитом ДА в мозге возрастал в гипофизе в 2,5 раза по сравнению с контрольными животными. Для получения прямых доказательств участия ДА, синтезирующегося в развивающемся мозге и выделяющегося в общую систему циркуляции, в прямой эндокринной регуляции синтеза пролактина была использована модель органотипической культуры клеток гипофиза 2-х дневных крысят. Показано, что в случае органотипической культуры аденогипофиза добавление ДА в инкубационную среду в той концентрации, в которой он содержится в крови у неонатальных крыс, через 8 часов снижается содержание пролактина и в культуральной среде, и в ткани гипофиза, что является показателем снижения уровня синтеза этого гормона. При этом действие ДА опосредовано через специфические рецепторы, о чем свидетельствует отсутствие влияния ДА на лактотрофы при наличии в среде ингибитора ДА-рецепторов -галоперидола. В совокупности данные, полученные на разработанной нами модели хронического избирательного выключения синтеза дофамина в мозге и в органотипической культуре гипофиза, являются доказательством эндокринного ингибиторного влияния ДА, содержащегося в периферической крови у неонатальных животных, не только на выделение пролактина, но и его синтез.

Для решения четвертой задачи – изучения прямого парааденогипофизарного влияния гонадотропин-рилизинг-гормона (ГРГ), содержащегося в периферической крови, на секрецию тестостерона семенниками крыс в раннем постнатальном периоде использовали следующие подходы: инкубацию семенников в искусственной среде (Кребс-Рингера), в плазме крови и органотипическую культуру семенников.

При инкубации семенников в искусственной среде экзогенный ГРГ использовали в концентрации, соответствующей концентрации ГРГ в плазме крови у неонатальных животных. Инкубация семенников приводила к увеличению выделения тестостерона в инкубационную среду по сравнению с контролем, причём этот эффект отменялся при одновременном добавлении в среду ингибитора рецепторов ГРГ – цетрореликса, что свидетельствует о специфичности действия ГРГ. При этом независимо от используемой концентрации ГРГ, концентрация тестостерона в ткани семенников не изменялась. В следующей серии экспериментов семенники 3-х дневных крысят в течение 30 мин инкубировали в плазме крови, полученной от этих же животных. В опыте в плазму добавляли цетрореликс (0,1 нМ), который должен был предотвращать действие ГРГ, содержащегося в плазме крови, на секрецию тестостерона. Однако содержание тестостерона в плазме не изменялось. Поэтому для решения вопроса об участии ГРГ мозгового происхождения в прямой эндокринной регуляции длительно протекающих процессов – в синтезе тестостерона – мы исследовали действие экзогенного ГРГ на синтез тестостерона семенниками в органотипической культуре. Стимулирующий эффект ГРГ на синтез тестостерона сохранялся в течение 8 часов, а

введение ингибитора ГРГ рецепторов - цетрореликса предотвращало действие ГРГ на клетки Лейдига семенников.

Таким образом, в экспериментах *ex vivo* и в органотипической культуре (*in vitro*) получены доказательства эндокринного парааденогипофизарного ингибиторного влияния ДА мозгового происхождения на синтез и выделение пролактина гипофизом и стимулирующего влияния ГРГ на синтез тестостерона семенниками в онтогенезе до закрытия ГЭБ

Раздел 2. Экспериментальное моделирование нейродегенеративных заболеваний и фармакологической коррекции.

Результаты

В рамках этого направления развивается концепция, согласно которой при нейродегенеративных заболеваниях, обусловленных в частности гибелью дофаминергических нейронов (болезнь Паркинсона, синдром гиперпролактинемии), включаются механизмы пластичности мозга, среди которых важнейшая роль принадлежит кооперативному синтезу дофамина недофаминергическими нейронами.

Для изучения этой проблемы нами были созданы оригинальные экспериментальные модели разных стадий болезни Паркинсона. Планировалось изучение компенсаторных механизмов, способствующих на фоне деградации nigrostriatalной дофаминергической (ДА-ергической) системы поддержанию нормальной межклеточной концентрации дофамина (ДА) в стриатуме. Особое внимание было уделено оценке возможности синтеза ДА недофаминергическими «моноферментными» нейронами nigrostriatalной системы (рис. 3, рис. 4 и рис. 5).



Рис. 3. Соотношение моно- и биферментных нейронов в стриатуме

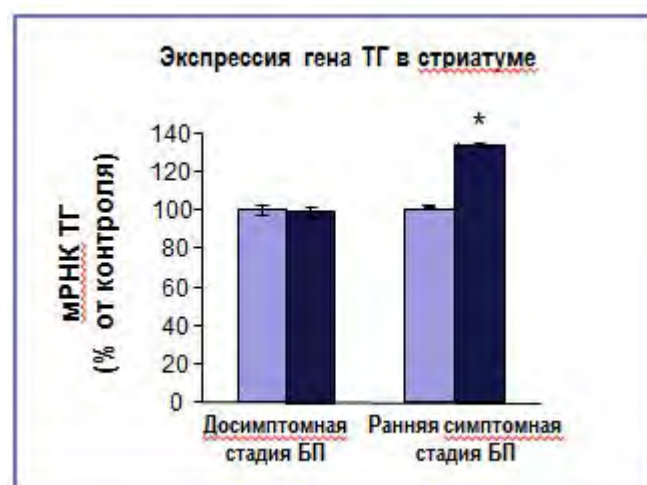


Рис. 4. Экспрессионный уровень тирозингидроксилазы (ТГ) на разных стадиях БП

С этой целью а) проводили идентификацию nigrostriatalных моноферментных нейронов путем двойного иммуноцитохимического мечения ферментов синтеза ДА и оценивали их содержание в нейронах с помощью автоматического компьютерного анализа изображений на досимптомной и ранней симптомной стадиях паркинсонизма; б) получили дополнительные

доказательства наличия в стриатуме моноферментных нейронов, экспрессирующих отдельные ферменты синтеза ДА, с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени.

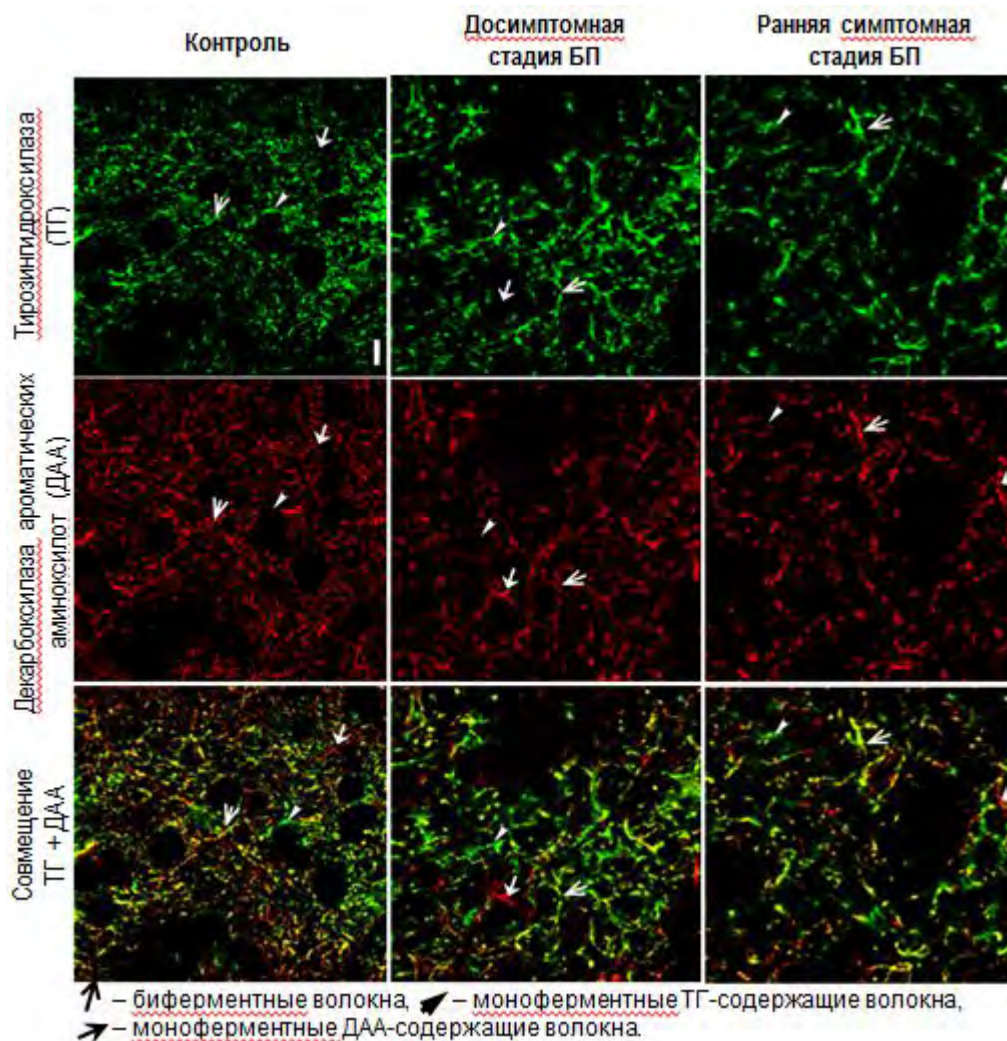


Рис. 5. Идентификация nigrostriatalных моноферментных нейронов путем двойного иммуноцитохимического мечения ферментов синтеза ДА и их выраженность на досимптомной и ранней симптомной стадиях паркинсонизма

Таким образом, получены доказательства того, что при дегенерации дофаминергических nigrostriatalных нейронов поддержание нормальной межклеточной концентрации дофамина (ДА) в стриатуме происходит за счет синтеза дофамина моноферментными нейронами.

Впервые нами была охарактеризована динамика дегенерации дофаминергических (ДА)-ергических нейронов nigrostriatalной системы на модели ранней клинической стадии БП. Функциональную активность дофаминергических нейронов nigrostriatalной системы оценивали по основным параметрам синтеза дофамина: содержанию и активности тирозингидроксилазы и

содержанию дофамина, в первые часы после введения нейротоксина (МФТП), когда, согласно результатам года, происходит нейродегенерация (рис. 6).

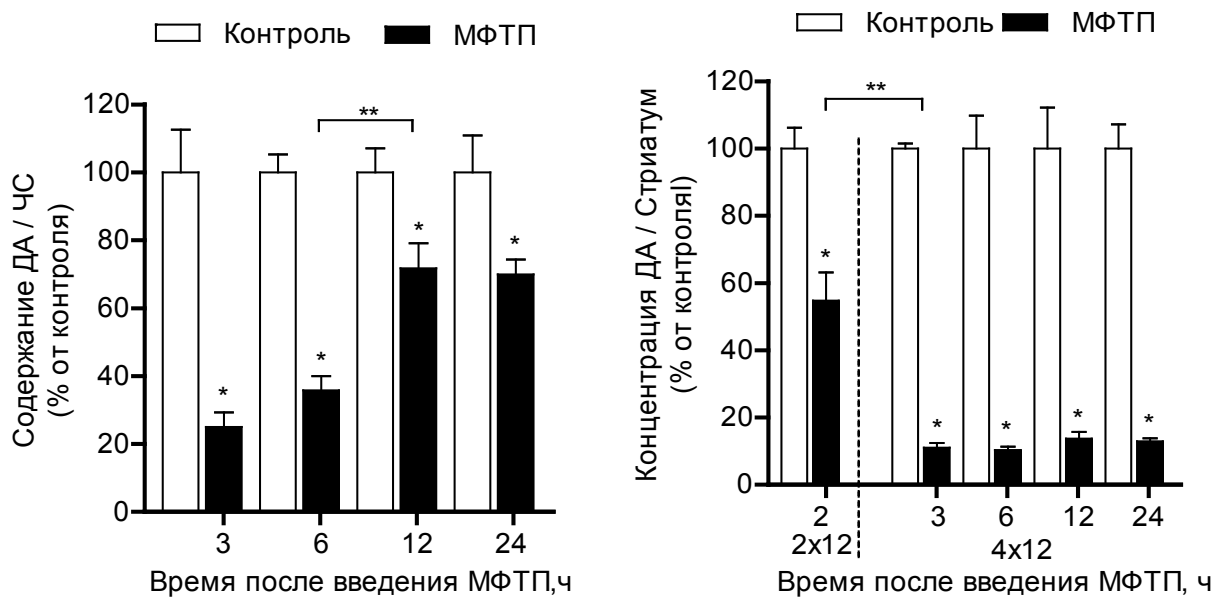


Рис. 6. Содержание дофамина в черной субстанции и стриатуме после введения МФТП.

Активность тирозингидроксилазы (ТГ), скорость-лимитирующий фермент синтеза дофамина, в черной субстанции и стриатуме после введения МФТП. Оценку тирозингидроксилазы проводили по накоплению L-ДОФА при ингибировании второго фермента синтеза дофамина – декарбоксилазу ароматических аминокислот (рис. 7).

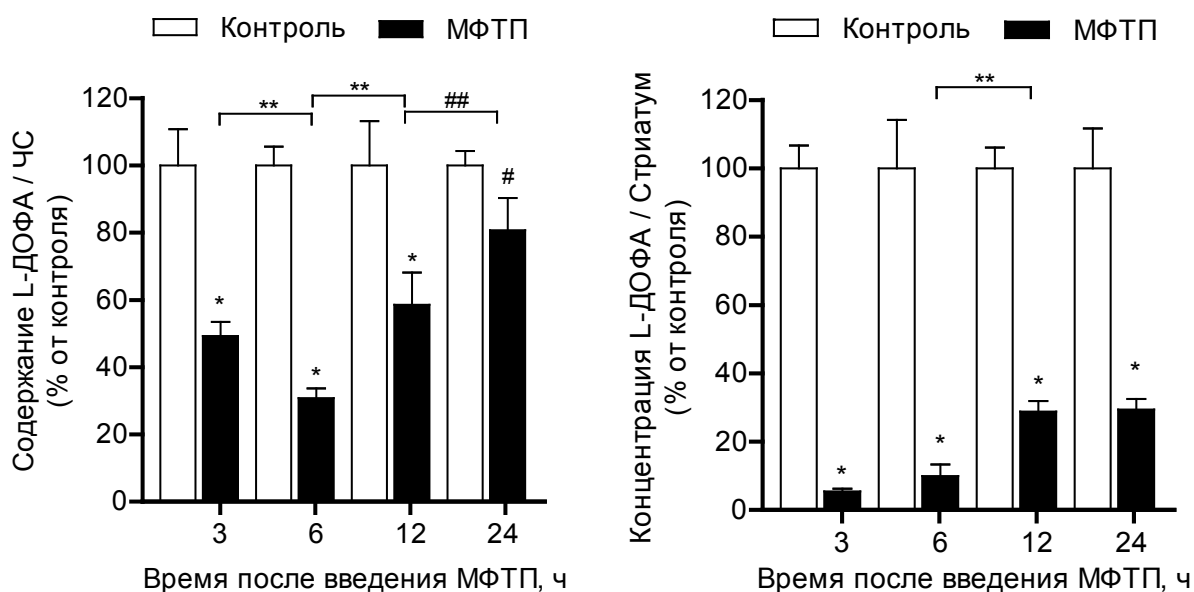


Рис. 7. Оценка уровня активности тирозингидроксилазы по накоплению L-ДОФА.

Внутриклеточное содержание тирозингидроксилазы определяли методом денситометрии.

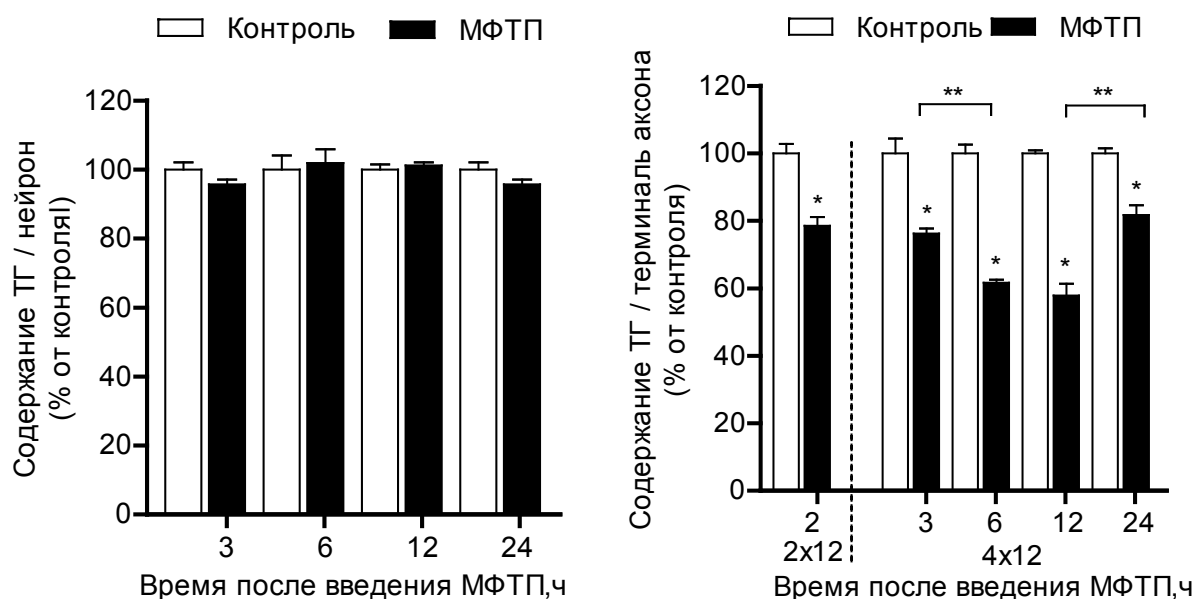


Рис. 8. Измерение содержания тирозингидроксилазы (ТГ) в нейронах в норме и при развитии нейродегенеративного процесса (введение нейротоксина МФТП).

Показаны разные изменения функционального состояния нейронов на уровне тел нейронов и их терминалей в ответ на введение токсина. Так, на уровне тел нейронов все оцениваемые параметры снижены до и во время дегенерации, в то время как после выхода на плато количества нейронов, функциональная активность выживших нейронов начинает восстанавливаться, достигая контрольного уровня в течение 12 часов. В выживших дофаминергических аксонах функциональное состояние было в значительной степени снижено на всем периоде исследования, однако, после выхода на плато количества терминалей аксонов было показано частичное восстановление содержания тирозингидроксилазы и ее активности.

Публикации по теме

Статьи

1. Alieva A.Kh., Filatova E.V., **Kolacheva A.A.**, Rudenok M.M., Slominsky P.A., **Ugrumov M.V.**, Shadrina M.I. Transcriptome profile changes in mice with MPTP-induced early stages of Parkinson's disease // *Molecular Neurobiology*. 2016. DOI: 10.1007/s12035-016-0190-y.
2. Kozina Elena A., Gulnara R. Khakimova, Vitaly G. Khaindrava, Valeriayn G. Kucheryanu, Nadezhda E. Vorobyeva, Alexey N. Krasnov, Sophia G. Georgieva, Lidiya Kerkerian-Le Goff, Michael V. Ugrumov. // Tyrosine hydroxylase expression and activity in the nigrostriatal dopaminergic neurons of mptp-treated mice at the presymptomatic and symptomatic stages of parkinsonism. // *Journal of the Neurological Journal of the Neurological Sciences*, 2014, 340, 198–207.
3. Manolov A.I., Dolgikh V.V., Ukraintseva Yu.V., Zavalko I.M., Revishchin A.V., Pavlova G.V., **Pronina T.S.**, **Ugrumov M.V.**, Dorokhov V.B., Kovalzon V.M. Changes in Motor Activity and the Sleep-Waking Cycle in an MPTP Model of Parkinson's Disease in Mice // *Neuroscience and Behavioral Physiology*. 2016. V. 46. № 4. P. 467-471. DOI: 10.1007/s11055-016-0259-0
4. Ugrumov M.V. Brain neurons partly expressing dopaminergic phenotype: location, development and functional significance // *Advances in Pharmacology*. 2013. V. 68. P. 37-91
5. Ugrumov Michael,*, Jacques Taxi3, Tatiana Pronina1, Anna Kurina1, Alexey Sorokin1,3, Anna Saprova1 and André Calas3,4 Neurons expressing individual enzymes of dopamine synthesis in the mediobasal hypothalamus of adult rats: functional significance and topographic interrelations. // *Neuroscience*, 2014. V. 277, P. 45-54.
6. Zubova Yulia, Nasyrova Diana, Saprova Anna, Ugrumov Michael. Brain as an endocrine source of circulating 5-hydroxytryptamine in ontogenesis in rats. // *Molecular and cellular endocrinology*. 2014. V. 393. P. 92-98.
7. **Бондаренко Н.С.**, Куренкова А.Д., **Никишин Д.А.**, Умарова Б.А. Влияние пролил-глицил-пролина (pgrp) и его ацетилированной формы (n-acpgrp) на уровень кальция в цитоплазме перитонеальных тучных клеток крыс // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2016. Т. 161(4). С. 475–478.
8. Бондаренко Н.С., Ю.О. Зубова, А.Я. Сапронова, Е.В. Волина, М.В. Угрюмов. Роль аденогипофизотропных нейрогормонов в эндокринной парааденогипофизарной регуляции периферических органов-мишеней в онтогенезе у крыс // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2015. Т. 159. № 3. С. 268-272 .

9. Дильмухаметова Л.К., Пронина Т.С., Волина Е.В., Угрюмов М.В. Регуляция компенсаторного синтеза дофамина в аркуатном ядре у крыс. // *Нейрохимия*, 2014, т.31, №3 207-217.
10. Зубова Ю.О., Ю.Ю. Сайфетярова, А.Я. Сапронова, М.В. Угрюмов. Хроническое выключение синтеза дофамина в мозге у неонатальных крыс как доказательство эндокринной функции мозга в онтогенезе // *Доклады Академии наук*. 2014. Т. 454. № 4. С. 481-484.
11. Ким А.Р., Угрюмов М.В. Изменение концентрации катехоламинов в крови в условиях экспериментальных моделей болезни Паркинсона как биомаркер ранней стадии заболевания // *Доклады АН*. 2015. Т. 464. С. 494-497.
12. Ким А.Р., Угрюмов М.В.. Кооперативный синтез дофамина в стриатуме мышей в норме и при паркинсонизме. // *Доклады Академии наук*. 2015, Т. 460. № 5, С. 603-606.
13. Колачева А.А., Козина Е.А., Волина Е.В., Угрюмов М.В. Дегенерация нигростриатных дофаминергических нейронов на экспериментальной модели ранней клинической стадии болезни Паркинсона. // *Нейрохимия*, 2014, Т. 31, №3, С. 225-235.
14. Колачева А.А., Козина Е.А., Волина Е.В., Угрюмов М.В. Динамика дегенерации дофаминергических нейронов и сопутствующих компенсаторных процессов в нигростриатной системе у мышей. // *ДАН*, 2014, Т. 456, № 2, С. 246-250
15. **Колачева А.А.** Нейродегенерация и нейропластичность – сопряженные процессы при моделировании болезни Паркинсона // *Acta Naturae*. 2016. Спецвыпуск. Том 1. С. 51-53.
16. Крюкова Е.В., Шелухина И.В., Козина Е.А., Угрюмов М.В., Цетлин В.И. Экспрессия ацетилхолиновых рецепторов в мозге у мышей на досимптомной стадии паркинсонизма // *Доклады Академии наук*. 2013. Т. 449. № 1. С. 107-109
17. Манолов А.И., Долгих В.В., Украинцева Ю.В., Завалко И.М., Ревущин А.В., Павлова Г.В., Пронина Т.С., Угрюмов М.В., Дорохов В.Б., Ковальзон В. Изменение двигательной активности и цикла бодрствование-сон на МФТП-модели болезни Паркинсона у мышей // *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2014. Т. 100. № 11. С. 1252-1260.
18. **Мингазов Э.Р., Угрюмов М.В.** Экспрессия генов белков везикулярного цикла в дофаминергических нейронах при моделировании болезни Паркинсона // *ДАН - биохимия, биофизика, молекулярная биология*. 2016. Т. 468, № 4. С. 459-461. **DOI:** 10.7868/S0869565216160246
19. **Мингазов Э.Р., Угрюмов М.В.** Экспрессия генов белков везикулярного цикла в моторной коре и стриатуме при функциональной недостаточности нигростриарной системы // *ДАН - биохимия, биофизика, молекулярная биология*. 2016. Т. 470. № 1. С. 99–101. **DOI:** 10.7868/S086956521625023X

20. Сайфетярова Ю.Ю., В.И. Мельникова, А.Я. Сапронова, М.В. Угрюмов. Развивающийся мозг как эндокринный источник норадреналина в крови // Доклады Академии наук, 2014. Т. 450. № 9. С. № 4, С. 1-4
21. Сломинский П.А., Шадрина М.И., Иллариошкин С.Н., **Угрюмов М.В.** Анализ транскриптома при болезни Паркинсона от моделей заболеваний к клиническим исследованиям.медицины // Acta Naturae. 2016. Спецвыпуск.Т. 1. С. 50-51.
22. Сошникова Н.В., Воробьева Н.Е., **Колачева А.А.**, Нигматуллина Р.Р., ЗаляловаЗ.А., Георгиева С.Г., **Угрюмов М.В.** Соотношение сплайс-вариантов транскрипционного фактора PNF10 в лимфоцитах как молекулярный маркер болезни Паркинсона у больных и на экспериментальных моделях // Молекулярная биология. 2016. Т. 50. № 4. С. 695-702. **DOI:** 10.7868/S0026898416040133.\
23. Угрюмов М.В. Разработка доклинической диагностики и превентивного лечения нейродегенеративных заболеваний // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2015. № 11. С. 4-14.
24. Филатова Е.В., Шадрина М.И., Алиева А.Х., Колачева А.А., Сломинский П.А., Угрюмов М.В. Анализ экспрессии генов системы убиквитин-протеасомной деградации белков при моделировании ранних стадий МФТП-индуцированной болезни Паркинсона у мышей // ДАН. 2014, Т. 456, № 1, С. 116-118.
25. Хакимова Г.Р., Дегтярёва Е.А., Козина Е.А., Кучеряну В.Г., Угрюмов М.В. Провокационный тест» как новый подход к ранней диагностике болезни Паркинсона. // Доклады Академии наук. 2015 Т. 460. № 6. С. 733-735.
26. Хакимова Г.Р., Козина Е.А., Бунеева О.А., Аксенова Л.Н., Медведев А.Е., Угрюмов М.В. Активность моноаминоксидазы в нигростриатной системе на досимптомной и ранней симптомной стадиях паркинсонизма у мышей. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2015. Т. 4. С. 446-449.

Тезисы

1. Бондаренко Н.С. «Role of the brain-derived GnRH in the paraadenohypophysial endocrine regulation of testes in neonatal rats» - FENS-SFN Summer School 2014 “Neurodevelopmental Psychiatric Disorders”, June 22-28, 2014, Bertinoro Castle, Italy - Тезисы докладов – стр. 18.
2. Ugrumov M.V. “Role of the brain in neuroendocrine regulations in ontogenesis” - 16-ая конференция Европейской нейроэндокринологической ассоциации, 06 - 13 сентября 2014 г., София (Болгария)
3. Ugrumov M.V. «Developing brain as a endocrine gland» - 2-ая Международной конференции «Endocrinology-2014», 19 по 22 октября 2014 г., Чикаго (США)

4. Угрюмов М.В. «Роль химических сигналов в регуляции развития, функционирования и интеграции организма» - IV Съезд физиологов СНГ, 8-12 октября 2014, Дагомыс – Тезисы докладов – стр. 19.
5. Угрюмов М.В. «Роль мозга в физиологических интегративных процессах во взрослом и развивающемся организме» - форум «Актуальные вопросы фундаментальной медицины», 23-25 октября 2014 г., Екатеринбург
6. Угрюмов М.В. Трансляционная и профилактическая медицина как основа для борьбы с болезнью Паркинсона / III Национальный конгресс по болезни Паркинсона и расстройствам движений, 21-24 сентября 2014 г., Москва. С 14-16.
7. Угрюмов М.В. Нейрохимические подходы к моделированию, диагностике и лечению нейродегенеративных заболеваний / Всероссийская конференция с международным участием Нейрохимические механизмы формирования адаптивных и патологических состояний мозга, 24–26 июня 2014 года, Санкт-Петербург. С. 138.
8. Курина А.Ю., Пронина Т.С., Угрюмов М.В. Синтез дофамина недофаминергическими нейронами при дегенерации дофаминергических нейронов в аркуатном ядре / Всероссийская конференция с международным участием Нейрохимические механизмы формирования адаптивных и патологических состояний мозга, 24–26 июня 2014 года, Санкт-Петербург. С. 85.
9. Ким А.Р., Козина Е.А., Угрюмов М.В. Кооперативный синтез дофамина недофаминергическими нейронами стриатума мышей в норме и при паркинсонизме / Всероссийская конференция с международным участием Нейрохимические механизмы формирования адаптивных и патологических состояний мозга, 24–26 июня 2014 года, Санкт-Петербург. С. 71.
10. Колачева А.А., Угрюмов М.В. Динамика дегенерации дофаминергических нейронов нигростриатной системы на ранней симптомной стадии паркинсонизма у мышей / Всероссийская конференция с международным участием Нейрохимические механизмы формирования адаптивных и патологических состояний мозга, 24–26 июня 2014 года, Санкт-Петербург. С. 75.
11. Kolacheva A.A., Ugrumov M.V. Timing characteristics of degeneration of nigrostriatal dopaminergic neurons in mice at the model of the early clinical stage of Parkinson's disease / Международная конференция «От молекулярного до клеточного уровня в патологии человека», 17-21 сентября 2014 г., Рига (Латвия). С. 54-55.
12. Угрюмов М.В. Патология органа зрения как одно из проявлений нейродегенеративных заболеваний / VII Российский общенациональный офтальмологический форум (Научно-практическая конференция с международным участием), 30 сентября-02 октября 2014 г., Москва. С. 124.

13. Nigmatullina R.R., Zaljalova Z.A., Pronina T.S., Kovalzon V.M., Kudrin V.S., Ugrumov M.V. Non-motor manifestations of parkinsonism in MPTP-treated mice and in patients / The 10th International Congress on Non-Motor Dysfunctions in Parkinson Diseases and related disorders (NMDPD) will be held from December 4-7, 2014, Nice (France). P. 35.
14. Ким А.Р., Колачева А.А., Угрюмов М.В. Нейропластичность нигростриатной системы мышей при моделировании досимптомной и ранней симптомной стадий болезни Паркинсона / Всероссийская конференция с международным участием «Современные проблемы физиологии высшей нервной деятельности, сенсорных и висцеральных систем» посвященная 90-летию со дня основания Института физиологии им. И.П. Павлова РАН, 8–10 декабря 2015. Санкт-Петербург–Колтуши. С. 105-106.
15. Курина А.Ю., Пронина Т.С., Угрюмов М.В. Роль моноферментных нейронов в синтезе дофамина в медиобазальном гипоталамусе крыс // IV Международная междисциплинарная конференция «Современные проблемы системной регуляции физиологических функций». 17-18 сентября 2015. Москва. С.399-402.
16. Мингазов Э.Р., Угрюмов М.В. Нарушение регуляции везикулярного цикла на моделях доклинической и клинической стадий болезни Паркинсона у мышей // IV Международная междисциплинарная конференция «Современные проблемы системной регуляции физиологических функций». 17-18 сентября 2015. Москва. С. 462-466.
17. Сафандеев В.В., Колачева А.А., Ким А.Р., Козина Е.А., Угрюмов М.В. Создание хронической модели ранней симптомной стадии паркинсонизма у мышей // IV Международная междисциплинарная конференция «Современные проблемы системной регуляции физиологических функций». 17-18 сентября 2015. Москва. С. 577-581.
18. Угрюмов М.В. Новые представления о роли мозга в нейроэндокринной регуляции развития целостного организма / IX Всероссийской конференции «Нейроэндокринология-2015», посвященной 90-летию члена-корреспондента РАН А.Л. Поленова. 27-29 октября 2015. Санкт-Петербург. С. 143-144.
19. Kim A., Kozina E., Ugrumov M. Dopamine synthesis by non-dopaminergic neurons in the striatum of parkinsonian mice / 12th International Conference on Alzheimer's and Parkinson's Diseases., 18-22 March, 2015. Nice, France. NeurodegenerDis 2015;15(suppl 1): 352-1969 – P. 1264.
20. Kolacheva A., Kozina E., Medvedev A., Bazyan A., Khakimova G., Ugrumov M. / «Functional state of the nigrostriatal system in mice at the presymptomatic and early symptomatic stages of parkinsonism» - 12th International Conference on Alzheimer's and Parkinson's Diseases. 18-22 March, 2015. Nice, France. Neurodegener Dis 2015;15(suppl 1): 352-1969 – P. 1416.

21. Kolacheva A., Ugrumov M. Development of a test-system based on parkinsonian mice for a search of neuroprotectors / 12th International Conference on Alzheimer's and Parkinson's Diseases. 18-22 March, 2015. Nice, France. NeurodegenerDis 2015;15(suppl1): 352-1969 – P. 1412.
22. Ugrumov M., Kim A., Kozina E., Khakimova G. Neuroplasticity in the nigrostriatal system of MPTP-treated mice at presymptomatic and early symptomatic stages of parkinsonism / International conference on Parkinson's disease and movement disorders, 11-13 August. 2015. Frankfurt, Germany. J. Alzheimers Dis Parkinsonism 2015. V. 5. Issue 2. P. 51.

Заключение

На определенном этапе индивидуального развития в так называемые критические периоды гипоталамические физиологически активные вещества и гормоны эндокринных желез контролируют не только и, возможно, не столько функциональную активность клеток и органов - мишеней, сколько их развитие, причем в последнем случае их действие носит необратимый (импринтинговый, морфогенетический) характер. Дефицит такого рода влияния в критический период развития может приводить к возникновению врожденных заболеваний, которые практически невозможно скорректировать в течение всей последующей жизни. На разработанных в Лаборатории высокоспецифичных моделях хронического выключения синтеза катехоламинов в мозге у неонатальных крыс получены убедительные доказательства ведущей роли мозга в поддержании физиологически активной концентрации дофамина в крови до закрытия гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), а также прямого влияния катехоламинов мозгового происхождения на длительно протекающие регуляторные процессы, опосредованные через геном, в онтогенезе у крыс.

Исследование клеточных и молекулярных механизмов нарушения регуляции развития клеток - и органов-мишеней в критические периоды онтогенеза химическими сигналами, играющими роль морфогенетических или транскрипционных факторов, позволит углубить наши знания о патогенезе врожденных заболеваний и на этой основе создать новые технологии мониторинга процессов развития, ранней диагностики и коррекции врожденных болезней.

Изучали механизмы пластичности мозга, направленные на компенсацию функциональной недостаточности погибших нейронов nigростриатной системы при моделировании нейродегенеративных заболеваний. По результатам количественной иммуногистохимии число биферментных терминалей аксонов в стриатуме снижается при паркинсонизме у мышей, тогда как число моноферментных нейронов, экспрессирующих отдельные ферменты синтеза дофамина, возрастает. Кроме того, содержание мРНК тирозингидроксилазы возрастает на модели симптомной стадии паркинсонизма.

Таким образом, получены доказательства того, что при дегенерации дофаминергических nigростриатных нейронов поддержание нормальной межклеточной концентрации дофамина (ДА) в стриатуме происходит за счет синтеза дофамина моноферментными нейронами.

В условиях нейродегенерации кооперативный синтез дофамина моноферментными нейронами (содержащими только по одному из двух ферментов синтеза дофамина) в стриатуме вносит существенный вклад в поддержание нормальной межклеточной концентрации ДА.

На модели ранней клинической стадии БП показано, что терминали аксонов, в большей степени подверженные дегенерации и угнетенности функционального состояния после введения нейротоксина, чем тела ДА-ергических нейронов, являются более перспективными мишенями для поиска и тестирования потенциальных нейропротекторов.

Проведенное нами изучение динамики дегенерации дофаминергических нейронов нигростриатной системы мозга и механизмов, направленных на компенсацию функциональной недостаточности погибших нейронов позволит разработать принципиально новые подходы к доклинической диагностике и превентивной терапии заболеваний с помощью лекарственных веществ, обладающих нейропротекторными свойствами

Отчет утвержден решением Ученого совета ИБР РАН « 27 » декабря 2016 г., протокол № 14