

УДК 616.858-008.6-092.9+579.61+57.084.1+616.34-008.87+615.03

РОЛЬ МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА В ПАТОГЕНЕЗЕ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

© Михаил Сергеевич Некрасов¹, Илья Олегович Ищенко¹, Владислав Борисович Царакаев¹, Алина Денисовна Мочалова¹, Альбина Сергеевна Могилева¹, Татьяна Викторовна Брус¹, Анна Валентиновна Васильева¹, Андрей Андреевич Лебедев^{2, 3, 4}, Сарнг Саналович Пюрвеев^{1, 2}

¹ Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет. 194100, Санкт-Петербург, Литовская ул., д. 2

² Институт экспериментальной медицины. 197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12

³ Санкт-Петербургский государственный институт психологии и социальной работы. 199178, Санкт-Петербург, 12-я линия В.О., д. 13, лит. А

⁴ Санкт-Петербургский университет технологий управления и экономики. 190103, Санкт-Петербург, Лермонтовский пр., д. 44

Контактная информация: Сарнг Саналович Пюрвеев — ст. лаборант кафедры патологической физиологии с курсом иммунопатологии. E-mail: dr.purveev@gmail.com

Поступила: 02.06.2021

Одобрена: 12.08.2021

Принята к печати: 17.09.2021

Резюме: Болезнь Паркинсона (БП) — экстрапирамидный хронический патологический процесс со специфическими двигательными нарушениями, комплексом немоторных расстройств, сопровождающийся изменением нормальной динамики суточных колебаний большинства физиологических процессов в организме. Особая роль уделяется взаимосвязи микробиота–кишечник–мозг: как связаны между собой микрофлора, материал фекальной трансплантации, энтеральная нервная система и черная субстанция головного мозга. Цель — исследовать роль кишечной микробиоты в патогенезе БП на экспериментальной модели для сравнительного анализа различных подходов терапии. В работе использовали 40 половозрелых крыс (4 экспериментальные группы): 1 — «Контроль» (n=10); 2 — «Ротенон» (n=10); 3 — «Ротенон+амантадин» (n=10); 4 — «Ротенон+микробиота» (n=10). Для подтверждения моторных нарушений «ротеноновых крыс» тестировали на установках «Открытое поле» и «Брусья». В качестве лекарственной терапии был выбран препарат амантадин. Соответствующей группе производилась трансплантация фекальной микробиоты. По результатам тестов «Открытое поле» и «Брусья» у тестируемых животных наблюдалось значительное увеличение вертикальных стоек и количество актов принюхивания, что может говорить об улучшении двигательной активности. В тесте «Брусья» у тестируемых животных, подвергшихся трансплантации микробиоты, наблюдается более длительное удержание на шестах в отличие от крыс с ротеноновой БП. Таким образом, используемые поведенческие тесты говорят об улучшении нервно-мышечной координации и двигательной активности у крыс, подвергшихся трансплантации микробиоты по сравнению с группой с ротеноновой БП без трансплантации микробиоты.

Ключевые слова: болезнь Паркинсона; трансплантация фекальной микробиоты; ротенон; моделирование; экспериментальные животные; терапия паркинсонизма; тестирование; «Открытое поле»; «Брусья»; α -синуклеин; амантадин.

THE ROLE OF INTESTINAL MICROBIOTA IN PARKINSON'S DISEASE PATHOGENESIS (EXPERIMENTAL STUDY)

© Mikhail S. Nekrasov¹, Ilya O. Ishchenko¹, Vladislav B. Tsarakaev¹, Alina D. Mochalova¹, Albina S. Mogileva¹, Tatyana V. Brus¹, Anna V. Vasilyeva¹, Andrey A. Lebedev^{2, 3, 4}, Sarng S. Pyurveev^{1, 2}

¹ Saint-Petersburg State Pediatric Medical University. 194100, Saint-Petersburg, Litovskaya str., 2

² Institute for Experimental Medicine. 197376, Saint-Petersburg, st. Academician Pavlova, 12

³ Saint-Petersburg State Institute of Psychology and Social Work. 199178, Saint-Petersburg, 12th line V.O., 13, lit. A

⁴ Saint-Petersburg University of Management Technologies and Economics. 190103, Saint-Petersburg, Lermontovsky pr., 44

Contact information: Sarng S. Pyurveev — Senior Assistant Department of pathological physiology with immunopathology course. E-mail: dr.purveev@gmail.com

Received: 02.06.2021

Revised: 12.08.2021

Accepted: 17.09.2021

Abstract: Parkinson's disease (PD) is an extrapyramidal chronopathological process with specific motor disorders and non-motor disorders complex accompanied by the change of normal dynamics of daily range of the majority of physiological processes in the organism. A special attention is given to the interrelation between microbiota-intestines-brain: the way microflora, faecal transplantation material, enteral nervous system and the brain black substance are connected with each other. Objective of the current study is modelling of Parkinson's disease in experimental animals to make a subsequent comparative analysis of various approaches to anti-Parkinson's disease therapies. The study involved 40 mature rats of the line divided into 4 experimental groups: 1 — "Control" (n=10); 2 — "Rotenone" (n=10); 3 — "Rotenone+amantadine" (n=10); 4 — "Rotenone+microbiota" (n=10). To confirm motor disorders the rotenone rats were tested by the programs "Open field" and "Bars". Amantadine was chosen as a medical therapy due to its availability and effectiveness. Moreover, transplantation of faecal microbiota to experimental animals has not a small value in the treatment of Parkinson's disease. According to the results of "Open field" and "Bars" tests the examined animals presented significant increase of upright postures and number of sniffing actions, and these indicators characterize motor activity of the experimental animals that could confirm the improvement of motor symptomatology. According to the test "Bars" we also observed that the examined animals undergone microbiota transplantations were characterized by a longer keeping on poles to be compared with the rats with rotenone Parkinson's disease. Thus, it is possible to make a conclusion that behaviour tests used by us can prove the improvement of nervous-muscular coordination and motor activity in the rats undergone microbiota transplantations in comparison with the group with rotenone Parkinson's disease.

Key words: Parkinson's disease; transplantation of faecal microboats; rotenone; modeling; experimental animals; therapy of Parkinson's disease; testing; "Open field"; "Bars"; α -synuclein; amantadine.

ВВЕДЕНИЕ

Среди нейродегенеративных патологий по частоте встречаемости болезнь Паркинсона (БП) занимает второе место после болезни Альцгеймера (БА). Стремительное старение населения в странах с постиндустриальным типом экономики ставит проблему нейродегенеративных заболеваний одной из ведущих для общественного здоровья. Такие заболевания ведут к потере трудоспособности, а также высокой смертности, инвалидизации и приводят к значительным расходам на их терапию [1, 2, 6, 7, 10, 17].

В настоящее время диагноз БП по МКБ-10 ставится только на основании клинических признаков, поскольку не существует специфических инструментальных и лабораторных маркеров данного заболевания. В связи с этим крайне необходима высококвалифицированная подготовка врачей-неврологов в диагностике БП. В мире данная патология выявлена примерно у 5 млн человек, причем есть прямая зависимость по возрастному показателю: у людей старше 60 лет частота встречаемости заболевания равна 1%, в то время как у лиц старше 80 лет — 4%. В России статистические показатели БП варьируют в зависимости от региона. Наиболее обобщенным и признанным является критерий 120–180 человек на 100 000 населения. В абсолютных значениях в Российской Федерации БП страдает около 210 000 больных [2, 10, 14].

Одна из концепций патогенеза БП фокусируется на образовании α -синуклеина. Накопление этого нейронального белка в нейронах черной субстанции головного мозга приводит к образованию специфичного морфологического маркера БП — так называемых телец Леви [1–3, 9]. Так, например,

тельца Леви присутствуют в 72–100% биоптатов кишечника пациентов, страдающих болезнью Паркинсона, а 62% этих больных имеют фосфорилированный α -синуклеин, который заметно выше, чем у соматически здорового населения (0–33% имеют α -синуклеин) [10, 21, 27].

Чаще всего двигательным расстройствам при паркинсонизме предшествуют немоторные симптомы, такие как депрессия, аносмия, бессонница, а также ряд симптомов со стороны желудочно-кишечного тракта [4, 5, 10, 12, 14–16]. Согласно данным, полученным датскими исследователями в 2017 году, гастроэнтерологические симптомы могут предшествовать двигательным расстройствам более чем на 10 лет и включают проблемы с моторикой желудочно-кишечного тракта, воспаление толстой кишки и запоры (50–80%) [3, 4, 25]. Фактически запор связан с увеличением риска развития БП в 2,7–4,5 раза [10, 14, 15, 22].

У пациентов с БП наблюдается повышенная кишечная проницаемость, связанная с накоплением в кишечнике включений α -синуклеина. Это способствует локальному воспалению, усугубляя дисфункцию кишечника при клинической и доклинической болезни Паркинсона [2, 5, 7, 18, 19, 23].

Предполагается, что повышенная кишечная проницаемость, транслокация бактерий и токсических продуктов их жизнедеятельности могут приводить к воспалению и окислительному стрессу в желудочно-кишечном тракте и тем самым также запускать процесс накопления α -синуклеина. Таким образом, можно предположить формирование порочного круга [3, 18, 23, 25].

Ключевую роль отводят нейровоспалению, которое может начаться за пределами центральной нервной системы (ЦНС),

а именно в энтеральной нервной системе (ЭНС). Аномально образованный α -синуклеин, в строении которого появляется β -складчатая структура, обнаруживается в дофаминергических структурах мозга [1, 2, 6].

Учитывая малую изученность фундаментальных закономерностей развития БП и высокую частоту встречаемости среди нейродегенеративных заболеваний, очень важен поиск и разработка новых эффективных методов фармакологической терапии, а также модификация уже существующих методов для достижения наиболее положительного эффекта в терапии паркинсонизма [2, 7, 8, 11, 14, 26, 27, 30].

На сегодняшний день этиология болезни Паркинсона остается до конца неясной, существуют многочисленные теории влияния того или иного фактора на развитие нейродегенеративных изменений, приводящих к клиническим проявлениям паркинсонизма [14, 23]. Тем не менее одна из рассмотренных в нашем исследовании теорий предполагает связь между осью микробиота–кишечник–мозг [13, 24–26, 28].

ЦЕЛЬ

Исследовать роль кишечной микробиоты в патогенезе болезни Паркинсона на экспериментальной модели для сравнительного анализа различных подходов противопаркинсонической терапии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Животные: эксперименты проводили в соответствии с международными европейскими биоэтическими стандартами (86/609-ЕЕС) и российскими этическими стандартами по содержанию и обращению с лабораторными животными.

В работе использовали 40 половозрелых крыс линии Wistar массой 180–220 г, полученных из питомника Рапполово РАМН (Ленинградская область). Животных содержали в стандартных пластмассовых клетках в условиях вивария при свободном доступе к пище в условиях инвертированного света 8.00–20.00 при температуре 22 ± 2 °C. Все опыты проведены в осенне-зимний период. Подопытные крысы после поступления из специализированного питомника с целью выявления и исключения из исследования животных с инфекционной и/или соматической патологией, проходили двухнедельный период карантина в соответствующем блоке вивария. После

завершения периода карантина предусматривался дополнительный (1 сутки) период адаптации животных к основному помещению вивария.

Крысы содержались по 4–5 особей в клетке. Доступ к пище и еде свободный. Выведение животных из эксперимента производилось их декапитацией.

Дизайн исследования: рандомизация экспериментальных животных осуществлялась при помощи метода случайных чисел. Каждой крысе, участвующей в исследовании, присваивался индивидуальный номер. Случайным образом компьютерная программа отбирала из общей группы животных, количество которых соответствует объему выборки, и номера, в соответствии с которыми распределяли крыс по группам и клеткам. Моделирование БП у экспериментальных животных производилось при помощи ротенона — пестицида липофильной природы, легко проникающего через гематоэнцефалический барьер. Ротенон растворяли в смеси DMSO при добавлении миглиола 812N в соотношении 2:98 с концентрацией 2,3 мг/мл. Ежедневно в течение 19 дней вводили внутривенно 0,2 мл раствора ротенона, с расчетом 2,3 мг/кг на одно животное [1, 2, 8].

В эксперименте использовали 4 группы крыс породы Wistar:

1. «Контроль» (n=10) — интактные, здоровые крысы, получавшие физиологический раствор натрия хлорида п/к и участвовавшие в проводимых каждые 7 дней тестах в соответствии со схемой моделирования БП.
2. «Ротенон» (n=10) — крысы, которые получали ротенон по схеме моделирования БП.
3. «Ротенон+микробиота» (n=10) — крысы, получавшие ротенон для моделирования БП и прошедшие противопаркинсоническую терапию с помощью трансплантации фекальной микробиоты (ТФМ) в течение последующих двух недель после моделирования БП с подтверждением данной патологии за счет анализа неврологического статуса и оценочных тестов.
4. «Ротенон+амантадин» (n=10) — крысы, у которых в отличие от предыдущей группы в качестве лечения БП был выбран препарат амантадин в дозировке 0,1 мг/кг. Сроки моделирования БП и лечения заболевания соответствуют срокам у исследуемой группы «ротенон+микробиота».



Рис. 1. Дизайн исследования

Все экспериментальные животные, задействованные в эксперименте, прошли контрольные тесты, проведенные на 20-й день опыта: 3 группы крыс — для доказательства сформировавшегося у них паркинсонизма. Группа «Контроль» также прошла доказательные тесты на 20-й день эксперимента с целью сравнения с паркинсоническими крысами. Группы «Ротенон+микробиота» и «Ротенон+амантадин» прошли повторное тестирование на 36-й день опыта для сравнения результатов противопаркинсонической терапии. Контрольные тесты — «Открытое поле» и «Брусья».

Установка «Открытое поле» (ООО «НПК Открытая Наука», Россия) — круглая, белого цвета, сделана из поливинилхлорида (ПВХ), модифицирует арену для крыс, которая снабжена петлями для временного крепления на стене. При нахождении каждого животного в установке «Открытое поле» по-отдельности записывалось пятиминутное видео с целью последующей оценки поведения крыс.

Установка «Брусья» представляет собой открытую коробку прямоугольной формы размером 40×30×10 см с двумя деревянными перекладинами белого цвета в центре. На данной установке каждая крыса ставилась на перекладины. Таким образом производилась оценка устойчивости животных. Даты проведения теста совпадают с датами исследования крыс в установке «Открытое поле».

Трансплантация фекальной микробиоты: клинически здоровых крыс помещали в чистую клетку со стерилизованной фильтровальной бумагой. Образцы кала были собраны сразу после дефекации в стерилизованную центрифужную пробирку. Фильтровальную бумагу заменяли для разных образцов крыс. Образцы фекалий хранились в морозильной камере при -80°C до анализа и трансплантации. Микробиоту фекалий готовили путем разбавления 1 г образца фекалий в 10 мл стерильного физиологического раствора. Фекальный материал суспендировали и вводили 0,2 мл суспензии через зонд каждой крысе-реципиенту ежедневно в течение 16 дней [25, 30].

Статистическая обработка результатов: полученные в ходе работы данные проверены на нормальность распределения. Тип распределения определялся критерием Колмогорова–Смирнова, Шапиро–Уилка. Для сравнения значений использовался параметрический показатель — *t*-критерий Стьюдента, так как выборка соответствует закону нормального распределения. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Статистический анализ выполнен с помощью программ IBM SPSS Statistica 7.0 (StatSoft, USA) и Microsoft Office Excel 2016.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе работы нами были получены следующие результаты: в тесте «Открытое поле» проводили оценку спонтанной двигательной активности крыс. По сравнению с контролем у крыс, подвергшихся действию ротенона, сократилось количество передвижений, снизилась продолжительность исследовательского поведения и увеличилась длительность пери-

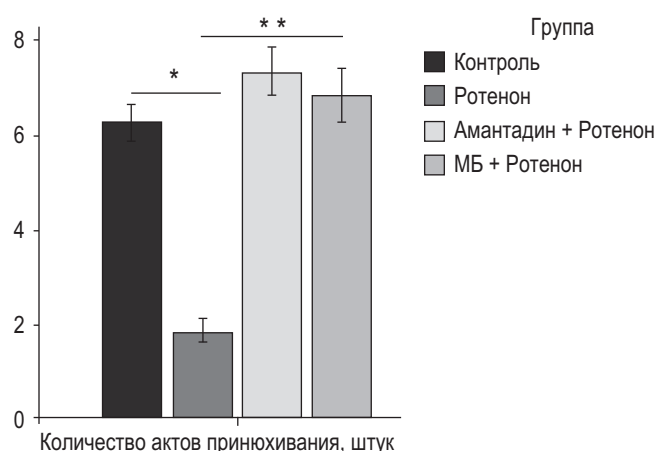


Рис. 2. Изменения исследовательской активности. Экспериментальные группы: 1 — «Контроль» ($n=10$); 2 — «Ротенон» ($n=10$); 3 — «Ротенон+амантадин» ($n=10$); 4 — «Ротенон+микробиота» ($n=10$). * — $p < 0,001$ по сравнению с контролем; ** — $p < 0,001$ при сравнении с ротеноновой болезнью Паркинсона

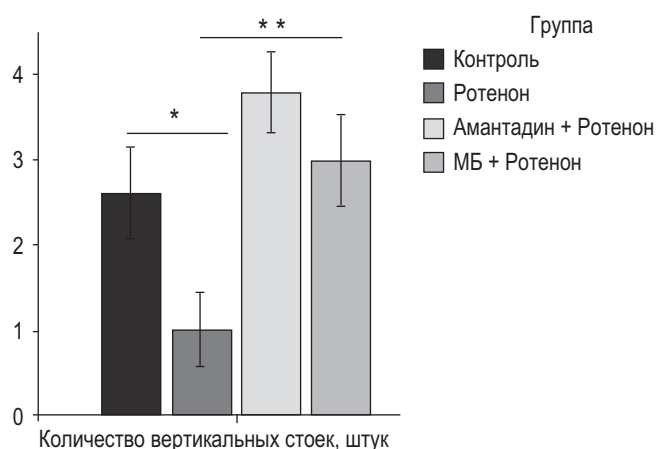


Рис. 3. Изменения вертикальной двигательной активности. Экспериментальные группы: 1 — «Контроль» ($n=10$); 2 — «Ротенон» ($n=10$); 3 — «Ротенон+амантадин»; 4 — «Ротенон+микробиота» ($n=10$). * — $p < 0,03$ по сравнению с контролем; ** — $p < 0,001$ при сравнении с ротеноновой болезнью Паркинсона

одов неподвижности ($p < 0,05$, рис. 2). В результате снижение связывания D2/3 рецепторов дофамина в nigrostriарной и мезолимбической областях приводит к уменьшению двигательной активности у крыс.

Лечение амантадином после моделирования ротенонового паркинсонизма увеличивало количество передвижений и исследовательского поведения ($p < 0,001$, рис. 2). Влияние трансплантации микробиоты крысам с паркинсонизмом также увеличивало количество передвижений и исследовательского поведения ($p < 0,001$, рис. 2). Никаких явных статистических различий между группой, получавшей терапию амантадином, и группой с трансплантацией микробиоты не наблюдалось.

Количество вертикальных стоек (рис. 3) было достоверно меньше после ротенона ($p < 0,032$) относительно контрольных животных. После проведения терапии амантадином частота вертикальных стоек была увеличена относительно крыс с ротеноновой болезнью Паркинсона ($p < 0,001$). Влияние трансплантации микробиоты также оказало положительное достоверное влияние на этот показатель. Трансплантация продемонстрировала увеличение вертикальных стоек ($p < 0,008$) по сравнению с группой, получавшей ротенон без лечения.

При сравнении групп с терапией амантадином и крыс с трансплантацией микробиоты не было различий по данному параметру в тесте «Открытое поле».

Животные всех экспериментальных групп показали уменьшение общей частоты актов груминга (рис. 4) по сравнению с тем, что наблюдалось у крыс контрольной группы. Самая значительная разница наблюдалась с животными с ротеноновым паркинсонизмом ($p < 0,001$). Однако и у групп, получавших терапию, мы не обнаружили значительного изменения частоты груминга по отношению к контрольным животным, тем не менее после лечения амантадином частота груминга немного увеличивалась по сравнению с ротеноновым паркинсонизмом ($p < 0,0037$), но все же оставалась ниже значения, полученного у контроля. Животные с трансплантацией микробиоты, аналогично с группой амантадина, увеличивали частоту груминга ($p < 0,0033$). Наблюдаемые эффекты могут быть связаны с повреждением дофаминовых нейронов черной субстанции головного мозга крыс, и, как следствие, со снижением общей двигательной активности.

Достоверная разница наблюдалась у группы крыс с трансплантацией микробиоты в сравнении с группой амантадина в количестве актов дефекации ($p < 0,03$) (рис. 5). Кроме того, стул крыс после трансплантации микробиоты имел больший процент жидкости. Статистический анализ не выявил значи-

мых различий между группами с трансплантацией микробиоты, группой контроля и группой с ротеноновым паркинсонизмом ($p > 0,05$).

В тесте «Брусья» (рис. 6) проверяли координацию движения экспериментальных животных. Животные с ротеноновой болезнью Паркинсона показали, что количество времени удержания на балках было значительно снижено по сравнению с контрольной группой ($p < 0,001$). Это свидетельствует о проявлении клинической симптоматики болезни Паркинсона двигательным симптомом, включая брадикинезию, тремор покоя, ригидность и нестабильность позы.

Крысы, получавшие в качестве терапии амантадин ($p > 0,013$) и подвергшиеся трансплантации микробиоты ($p > 0,003$), показали улучшение нервно-мышечной координации по сравнению с группой с ротеноновой болезнью Паркинсона. Статистический анализ не выявил значимых различий между группами с трансплантацией микробиоты, группой контроля и амантадина ($p > 0,05$).

В настоящем исследовании мы применили метод трансплантации фекальной микробиоты в качестве терапии у пациентов с БП. На сегодняшний день экспериментальные и эпидемиологические данные свидетельствуют о том, что микробиом кишечника существенно влияет на развитие и прогрессирование множества нейродегенеративных заболеваний, включая БП [10, 27, 35, 36].

Мы опирались на данные, доказывающие, что микробиота в образцах фекалий пациентов с БП значительно отличалась от здоровых людей [29], образцы кала демонстрировали заметные различия. На таксономическом уровне бактерии рода *Blautia*, *Coprococcus* и *Roseburia*, отвечающие за предполагаемые «противовоспалительные» эффекты, были значительно более многочисленными в фекалиях контрольной группы, чем у пациентов с БП. Доля предполагаемых «провоспали-

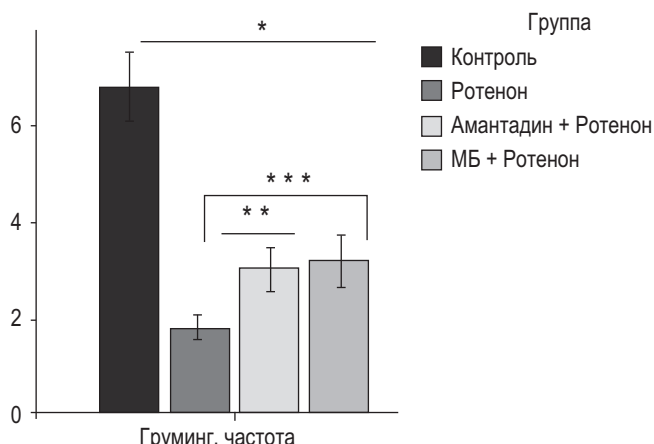


Рис. 4. Изменения количества актов груминга. Экспериментальные группы: 1 — «Контроль» ($n=10$); 2 — «Ротенон» ($n=10$); 3 — «Ротенон+амантадин» ($n=10$); 4 — «Ротенон+микробиота». * — $p < 0,001$ по сравнению с контролем; ** — $p < 0,0037$ при сравнении с ротеноновой болезнью Паркинсона; *** — $p < 0,0033$ при сравнении с ротеноновой болезнью Паркинсона

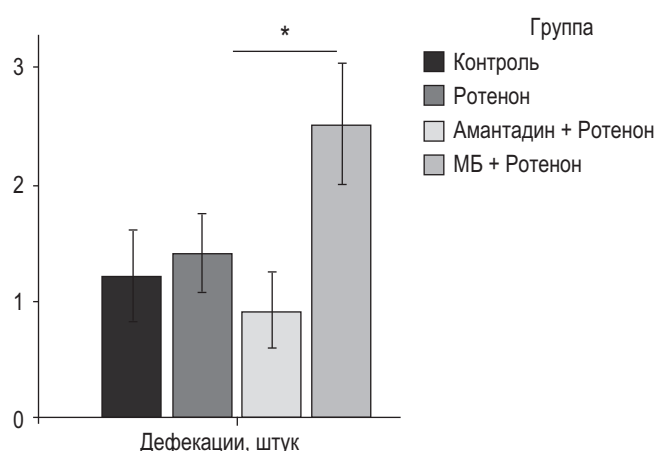


Рис. 5. Изменения количества болюсов дефекации. Экспериментальные группы: 1 — «Контроль» ($n=10$); 2 — «Ротенон» ($n=10$); 3 — «Ротенон+амантадин» ($n=10$); 4 — «Ротенон+микробиота» ($n=10$). * — $p < 0,03$ по сравнению с группой амантадина

тельных» протеобактерий рода *Ralstonia* были более представлены в слизистой оболочке желудочно-кишечного тракта пациентов с БП, которая потенциально смещает микробный баланс в толстой кишке в сторону более воспалительного фенотипа у пациентов с БП [20, 23, 26].

Кроме того, доказано [36], что воспалительные продукты кишечного происхождения могут способствовать разрушению гематоэнцефалического барьера и таким образом способствовать потере дофаминергической активности [6, 7, 30, 33, 34]. В соответствии с этой гипотезой, при биопсии ткани толстой кишки, полученной от пациентов с БП, была обнаружена повышенная экспрессия провоспалительных цитокинов, включая TNF α , IFN γ , IL-6, IL-1 β , и повышенная активация кишечных глиальных клеток [27, 30–32].

Наши экспериментальные данные показали, что при трансплантации микробиоты от клинически здоровых животных крысам с ротеноновой болезнью Паркинсона, тестируемых в тесте «Открытое поле», наблюдалось значительное увеличение вертикальных стоек и количество актов принюхивания. Эти показатели характеризуют двигательную активность испытуемых животных, что может говорить об улучшении двигательной симптоматики. В тесте «Брусья» мы также наблюдали, что у тестируемых животных, подвергшихся трансплантации микробиоты, наблюдается более длительное удержание на шестах в отличие от крыс с ротеноновой БП. Эти показатели могут говорить об улучшении нервно-мышечной координации по сравнению с группой с ротеноновой болезнью Паркинсона.

Таким образом, необходимы дальнейшие исследования механизмов, с помощью которых кишечная микробиота способствует развитию и прогрессированию БП. Что еще более важно, существует большая неудовлетворенная потребность в определении того, может ли трансплантация микробиоты у клинически здоровых доноров предотвратить прогрессирование БП, а также смягчить течение и прогрессирование заболевания у тех, кто уже страдает двигательными симптомами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абдурасулова И.Н., Екимов И.В., Чернышев М.В. и др. Нарушение когнитивных функций у крыс Вистар в модели доклинической стадии болезни Паркинсона. Журнал высшей нервной деятельности. 2019; 69(3): 364–81.
2. Абдурасулова И.Н., Екимов И.В., Чернышев М.В. и др. Нарушение неассоциативного обучения у крыс в экспериментальной модели доклинической стадии болезни Паркинсона. ДАН. 2017; 3: 353–6.
3. Бакулина Т.С., Глушаков Р.И., Тапильская Н.И., Шабанов П.Д. Фармакология полипенолов как адаптогенов, снижающих интенсивность процессов гликирования. Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2013; 11(4): 44–53.
4. Балакина М.Е., Дегтярева Е.В., Некрасов М.С. и др. Воздействие раннего постнатального стресса на психоэмоциональное

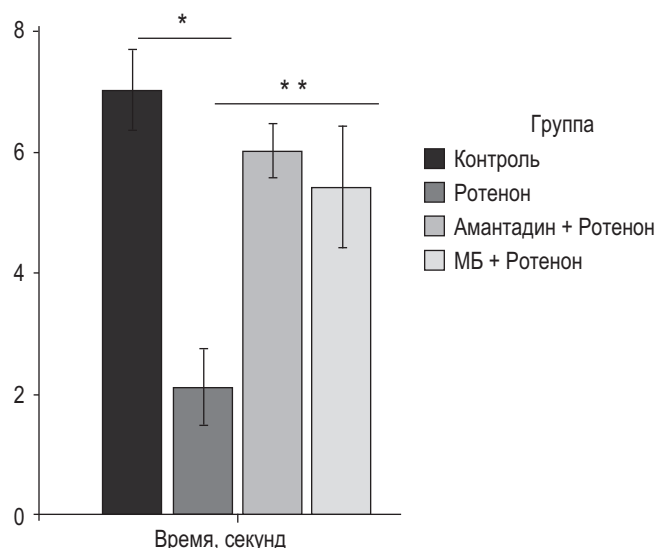


Рис. 6. Изменения времени удержания на брусках. Экспериментальные группы: 1 — «Контроль» (n=10); 2 — «Ротенон» (n=10); 3 — «Ротенон+амантадин»; 4 — «Ротенон+микробиота» (n=10). * — $p < 0,001$ по сравнению с контролем; ** — $p < 0,05$ при сравнении с ротеноновой болезнью Паркинсона

состояние и развитие склонности к чрезмерному употреблению высокоуглеводной пищи у крыс. Российские биомедицинские исследования. 2021; 6(2): 27–37.

5. Брус Т.В., Пюрвеев С.С., Беляева И.В. и др. Влияние сочетанного действия пренатального метаболического синдрома и применения различных доз глюкокортикоидов при беременности на потомство (экспериментальное исследование). Детская медицина Северо-Запада. 2020; 8(1): 66–7.
6. Бычков Е.Р., Карпова И.В., Крюков А.С. и др. Обмен моноаминов в прилежащем ядре и стриатуме при активации положительных и отрицательных эмоциональных зон латерального гипоталамуса у крыс. Наркология. 2020; 19(5): 38–43.
7. Бычков Е.Р., Лебедев А.А., Ефимов Н.С. и др. Особенности вовлечения дофаминергической и серотонинергической систем мозга в положительные и отрицательные эмоциональные состояния у крыс. Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2020; 18(2): 123–30.
8. Гмиро Е.В., Сердюк С.Е., Веселкина О.С. Сравнение противопаркинсонической активности леводопы, мемантина и гуанидинсодержащих аналогов амантадина и мемантина (ИЭМ-2151 и ИЭМ-2163) у крыс с ротенон-индуцированным паркинсонизмом. Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2017; 103(7): 768–77.
9. Данилова Л.А., Башарина О.Б., Красникова Е.Н. и др. Справочник по лабораторным методам исследования. М.: Питер; 2003.
10. Ищенко И.О., Царакаев В.Б., Могилева А.С. и др. Роль микробиоты кишечника в патогенезе болезни Паркинсона. Российские биомедицинские исследования. 2021; 6(1): 31–40.
11. Лазарев П., Могилева А., Некрасов М. и др. Стволовые клетки из пульпы зуба: иммунофенотипическая характеристика и дифференцировка. Forcipe. 2021; 4(1): 26–32.

12. Лытаев С.А., Сусин Д.С. ПЭТ-диагностика когнитивных нарушений у пациентов с болезнью Паркинсона. *Педиатр.* 2016; 7(2): 63–8. DOI: 10.17816/PED7263-68.
13. Маталыгина О. Питание — кишечная микробиота — сердечно-сосудистые заболевания. Новое измерение. *Медицина: теория и практика.* 2019; 4(1): 271–6.
14. Милюхина И.В., Ермоленко Е.И., Иванова А.С. и др. Гастроэнтерологические нарушения и периферический воспалительный цитокиновый статус при болезни Паркинсона. *Медицинский академический журнал.* 2019; 19(1S): 93–4.
15. Милюхина И.В., Ермоленко Е.И., Иванова А.С., Суворов А.Н. Роль микробиоты желудочно-кишечного тракта в патогенезе болезни Паркинсона. *Неврологический журнал.* 2017; 22(6): 280–6. DOI: 10.18821/1560-9545-2017-22-6-280-286.
16. Милюхина И.В. Патогенез, клинические особенности и методы лечения депрессии при болезни Паркинсона. *Неврология, нейрохирургия, психосоматика.* 2019; 11(2): 93–9.
17. Пюрвеев С.С., Беляева И.В., Брус Т.В. и др. Влияние сочетанного действия больших доз глюкокортикоидов и пренатальной патологии беременности на потомство. *Детская медицина Северо-Запада.* 2020; 8(1): 301–2.
18. Трашков А.П., Брус Т.В., Васильев А.Г. и др. Динамика показателей красной крови у крыс с неалкогольной жировой болезнью печени и возможности ее коррекции. *Клиническая патофизиология.* 2017; 23(3): 66–72.
19. Трашков А.П., Панченко А.В., Каюкова Е.С. и др. Лейкемия Р-388 у мышей линии CDF1 как тест-система опухоль-ассоциированного неопластического и гиперкоагуляции. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2014; 158(10): 500–2.
20. Трашков А.П., Брус Т.В., Васильев А.Г. и др. Динамика показателей красной крови у крыс с неалкогольной жировой болезнью печени и возможности ее коррекции. *Клиническая патофизиология.* 2017; 23(3): 66–72.
21. Трашков А.П., Васильев А.Г., Цыган Н.В. и др. Антитромботическая терапия в онкологии: современное состояние проблемы и нерешенные вопросы. *Педиатр.* 2012; 3(2): 3–19.
22. Хайцев Н.В., Васильев А.Г., Трашков А.П. и др. Влияние возраста и пола на характер ответных реакций белых крыс при действии хронической гипоксической гипоксии. *Педиатр.* 2015; 6(2): 71–7.
23. Цыган Н.В., Одинок М.М., Пелешок А.С. и др. Нейропротекция при реконструктивных операциях на дуге аорты. *Вестник Российской Военно-медицинской академии.* 2012; 2(38): 119–27.
24. Шемеровский К.А., Брус Т.В., Пюрвеев С.С. Синдром брадиэнтерии ослабляет иммунную систему и снижает уровень качества жизни студентов-педиатров. *Российские биомедицинские исследования.* 2021; 6(2): 15–9.
25. Banks W.A., Erickson M.A. The blood-brain barrier and immune function and dysfunction. *Neurobiol Dis.* 2010; 37(1): 26–32. DOI: 10.1016/j.nbd.2009.07.031.
26. Braak H., Rüb U., Gai W.P., Del Tredici K. Idiopathic Parkinson's disease: possible routes by which vulnerable neuronal types may be subject to neuroinvasion by an unknown pathogen. *J Neural Transm (Vienna).* 2003; 110(5): 517–36. DOI: 10.1007/s00702-002-0808-2. PMID: 12721813.
27. Devos D., Lebouvier T., Lardeux B. et al. Colonic inflammation in Parkinson's disease. *Neurobiol Dis.* 2013; 50: 42–8. DOI: 10.1016/j.nbd.2012.09.0.
28. Drobny A., Ngo P.A., Neurath M.F. et al. Molecular Communication Between Neuronal Networks and Intestinal Epithelial Cells in Gut Inflammation and Parkinson's Disease. *Front Med (Lausanne).* 2021; 8: 655123. Published 2021 Jul 22. DOI: 10.3389/fmed.2021.655123.
29. Fasano A., Visanji N.P., Liu L.W. et al. Gastrointestinal dysfunction in Parkinson's disease. *Lancet Neurol.* 2015; 14(6): 625–39. DOI: 10.1016/S1474-4422(15)00007-1.
30. Forsyth C.B., Shannon K.M., Kordower J.H. et al. Increased intestinal permeability correlates with sigmoid mucosa alpha-synuclein staining and endotoxin exposure markers in early Parkinson's disease. *One.* 2011; 6(12): e28032. DOI: 10.1371/journal.pone.0028032.
31. Keshavarzian A., Green S.J., Engen P.A. et al. Colonic bacterial composition in Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2015; 30(10): 1351–60. DOI: 10.1002/mds.26307.
32. Kashkin V.A., Fedorova O.V., Bagrov A.Y., et al. Endogenous sodium pump inhibitors, diabetes mellitus and preeclampsia. Preliminary observations and a hypothesis.
33. Knudsen K., Fedorova T.D., Bekker A.C. et al. Objective Colonic Dysfunction is Far more Prevalent than Subjective Constipation in Parkinson's Disease: A Colon Transit and Volume Study. *J Parkinsons Dis.* 2017; 7(2): 359–67. DOI: 10.3233/JPD-161050.
34. Lei Q., Wu T., Wu J. et al. Roles of α -synuclein in gastrointestinal microbiome dysbiosis related Parkinson's disease progression (Review). *Mol Med Rep.* 2021; 24(4): 734. DOI: 10.3892/mmr.2021.12374.
35. Panchenko A.V., Popovich I.G., Egormin P.A. et al. Biomarkers of aging, life span and spontaneous carcinogenesis in the wild type and HER-2 transgenic FVB/N female mice. *Biogerontology.* 2016; 17(2): 317–24.
36. Vamanu E., Rai S.N. The Link between Obesity, Microbiota Dysbiosis, and Neurodegenerative Pathogenesis. *Diseases.* 2021; 9(3): 45. Published 2021 Jun 23. DOI: 10.3390/diseases9030045.

REFERENCES

1. Abdurasulova I.N., Yekimova I.V., Chernyshev M.V. i dr. Narushe- niye kognitivnykh funktsiy u kryс Vistar v modeli doklinicheskoy stadii bolezni Parkinsona. [Cognitive impairment in Wistar rats in the preclinical stage of Parkinson's disease]. *Zhurnal vysshey nervnoy deyatel'nosti.* 2019; 69(3): 364–81. (in Russian)
2. Abdurasulova I.N., Yekimova I.V., Chernyshev M.V. i dr. Naru- sheniye neassotsiativnogo obucheniya u kryс v eksperimental'noy modeli doklinicheskoy stadii bolezni Parkinsona. [Impairment of non-associative learning in rats in an experimental model of the pre-clinical stage of Parkinson's disease]. *DAN.* 2017; 3: 353–6. (in Russian)

3. Bakulina T.S., Glushakov R.I., Tapi'skaya N.I., Shabanov P.D. Farmakologiya poliprenolov kak adaptogenov, snizhayushchikh intensivnost' protsessov glikirovaniya. [Pharmacology of polyphenols as adaptogens that reduce the intensity of glycation processes]. Obzory po klinicheskoy farmakologii i lekarstvennoy terapii. 2013; 11(4): 44–53. (in Russian)
4. Balakina M.Ye., Degtyareva Ye.V., Nekrasov M.S. i dr. Vozdeystviye rannego postnatal'nogo stressa na psikhoemotsional'noye sostoyaniye i razvitiye sklonnosti k chrezmernomu upotrebleniyu vysokouglevodnoy pishchi u kryss. [Effects of early postnatal stress on psychoemotional state and development of a tendency to excessive consumption of high-carbohydrate food in rats]. Rossiyskiye biomeditsinskiye issledovaniya. 2021; 6(2): 27–37. (in Russian)
5. Brus T.V., Pyurveyev S.S., Belyayeva I.V. i dr. Vliyaniye sochetannogo deystviya prenatal'nogo metabolicheskogo sindroma i primeneniya razlichnykh doz glyukokortikoidov pri beremennosti na potomstvo (eksperimental'noye issledovaniye). [Influence of the combined action of prenatal metabolic syndrome and the use of various doses of glucocorticoids during pregnancy on offspring (experimental study)]. Detskaya meditsina Severo-Zapada. 2020; 8(1): 66–7. (in Russian)
6. Bychkov Ye.R., Karpova I.V., Kryukov A.S. i dr. Obmen monoaminov v prilezhashchem yadre i striatume pri aktivatsii polozhitel'nykh i otritsatel'nykh emotsiogennykh zon lateral'nogo gipotalamusa u kryss. [Exchange of monoamines in the nucleus accumbens and striatum upon activation of positive and negative emotogenic zones of the lateral hypothalamus in rats]. Narkologiya. 2020; 19(5): 38–43. (in Russian)
7. Bychkov Ye.R., Lebedev A.A., Yefimov N.S. i dr. Osobennosti vovlecheniya dofaminergicheskoy i serotoninergicheskoy sistem mozga v polozhitel'nyye i otritsatel'nyye emotsional'nyye sostoyaniya u kryss. [Features of the involvement of the dopaminergic and serotonergic systems of the brain in positive and negative emotional states in rats]. Obzory po klinicheskoy farmakologii i lekarstvennoy terapii. 2020; 18(2): 123–30. (in Russian)
8. Gmiro Ye.V., Serdyuk S.Ye., Veselkina O.S. Sravneniye protivoparkinsonicheskoy aktivnosti levodopy, memantina i guanidinsoderzhashchikh analogov amantadina i memantina (IEM-2151 i IEM-2163) u kryss s rotenon-indutsirovannym parkinsonizmom. [Comparison of antiparkinsonian activity of levodopa, memantine and guanidine-containing analogs of amantadine and memantine (IEM-2151 and IEM-2163) in rats with rotenone-induced parkinsonism]. Rossiyskiy fiziologicheskii zhurnal im. I.M. Sechenova. 2017; 103(7): 768–77. (in Russian)
9. Danilova L.A., Basharina O.B., Krasnikova Ye.N. i dr. Spravochnik po laboratornym metodam issledovaniya. [Reference book on laboratory research methods]. Moskva: Piter Publ.; 2003. (in Russian)
10. Ishchenko I.O., Tsarakayev V.B., Mogileva A.S. i dr. Rol' mikrobioty kishechnika v patogeneze bolezni Parkinsona. [The role of gut microbiota in the pathogenesis of Parkinson's disease]. Rossiyskiye biomeditsinskiye issledovaniya. 2021; 6(1): 31–40. (in Russian)
11. Lazarev P., Mogileva A., Nekrasov M. i dr. Stvolovyye kletki iz pul'py zuba: immunofenotipicheskaya kharakteristika i differentsirovka. [Stem cells from tooth pulp: immunophenotypic characteristics and differentiation]. Forcipe. 2021; 4(1): 26–32. (in Russian)
12. Lytayev S.A., Susin D.S. PET-diagnostika kognitivnykh narusheniy u patsiyentov s boleznyu Parkinsona. [PET diagnosis of cognitive impairment in patients with Parkinson's disease]. Pediatr. 2016; 7(2): 63–8. DOI: 10.17816/PED7263-68. (in Russian)
13. Matalygina O. Pitaniye — kishechnaya mikrobiota — serdechno-sosudistyye zabolevaniya. [Nutrition — intestinal microbiota — cardiovascular diseases]. Novoye izmereniye. Meditsina: teoriya i praktika. 2019; 4(1): 271–6. (in Russian)
14. Milyukhina I.V., Yermolenko Ye.I., Ivanova A.S. i dr. Gastroenterologicheskiye narusheniya i perifericheskii vospalitel'nyy tsitokinovyy status pri bolezni Parkinsona. [Gastroenterological disorders and peripheral inflammatory cytokine status in Parkinson's disease]. Meditsinskiy akademicheskii zhurnal. 2019; 19(1S): 93–4. (in Russian)
15. Milyukhina I.V., Yermolenko Ye.I., Ivanova A.S., Suvorov A.N. Rol' mikrobioty zheludочно-kishechnogo trakta v patogeneze bolezni Parkinsona. [The role of the gastrointestinal tract microbiota in the pathogenesis of Parkinson's disease]. Nevrologicheskii zhurnal. 2017; 22(6): 280–6. DOI: 10.18821/1560-9545-2017-22-6-280-286. (in Russian)
16. Milyukhina I.V. Patogeneza, klinicheskiye osobennosti i metody lecheniya depressii pri bolezni Parkinsona. [Pathogenesis, clinical features and treatments for depression in Parkinson's disease]. Nevrologiya, neyrokhirurgiya, psikhosomatika. 2019; 11(2): 93–9. (in Russian)
17. Pyurveyev S.S., Belyayeva I.V., Brus T.V. i dr. Vliyaniye sochetannogo deystviya bol'shikh doz glyukokortikoidov i prenatal'noy patologii beremennosti na potomstvo. [Influence of the combined action of high doses of glucocorticoids and prenatal pathology of pregnancy on the offspring]. Detskaya meditsina Severo-Zapada. 2020; 8(1): 301–2. (in Russian)
18. Trashkov A.P., Brus T.V., Vasil'yev A.G. i dr. Dinamika pokazateley krasnoy krovi u kryss s nealkogol'noy zhirovoy boleznyu pecheni i vozmozhnosti yeye korrektsii. [Dynamics of indicators of red blood in rats with non-alcoholic fatty liver disease and the possibility of its correction]. Klinicheskaya patofiziologiya. 2017; 23(3): 66–72. (in Russian)
19. Trashkov A.P., Panchenko A.V., Kayukova Ye.S. i dr. Leykemiya R-388 u myshey linii CDF1 kak test-sistema opukhol'-assotsirovannogo neoangiogeneza i giperkoagulyatsii. [P-388 leukemia in CDF1 mice as a test system for tumor-associated neoangiogenesis and hypercoagulation]. Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny. 2014; 158(10): 500–2. (in Russian)
20. Trashkov A.P., Brus T.V., Vasil'yev A.G. i dr. Dinamika pokazateley krasnoy krovi u kryss s nealkogol'noy zhirovoy boleznyu pecheni i vozmozhnosti yeye korrektsii. [Dynamics of indicators of red blood in rats with non-alcoholic fatty liver disease and the possibility of its correction]. Klinicheskaya patofiziologiya. 2017; 23(3): 66–72. (in Russian)
21. Trashkov A.P., Vasil'yev A.G., Tsygan N.V. i dr. Antitromboticheskaya terapiya v onkologii: sovremennoye sostoyaniye problemy i nereshennyye voprosy. [Antithrombotic therapy in oncology: current

- state of the problem and unresolved issues]. *Pediatr.* 2012; 3(2): 3–19. (in Russian)
22. Khaytsev N.V., Vasil'yev A.G., Trashkov A.P. i dr. Vliyaniye voz-rasta i pola na kharakter otvetnykh reaktsiy belykh kryss pri deystvii khronicheskoy gipoksicheskoy gipoksii. [Influence of age and sex on the nature of responses in white rats under the influence of chronic hypoxic hypoxia]. *Pediatr.* 2015; 6(2): 71–7. (in Russian)
 23. Tsygan N.V., Odinak M.M., Peleshok A.S. i dr. Neyroprotektsiya pri rekonstruktivnykh operatsiyakh na duge aorty. [Neuroprotection in reconstructive operations on the aortic arch]. *Vestnik Rossiyskoy Voyenno-meditsinskoy akademii.* 2012; 2(38): 119–27. (in Russian)
 24. Shemerovskiy K.A., Brus T.V., Pyurveyev S.S. Sindrom bradiyenterii oslablyayet immunnuyu sistemu i ponizhayet uroven' kachestva zhizni studentov-pediatrov. [Bradyenteria syndrome weakens the immune system and lowers the quality of life of pediatric students]. *Rossiyskiye biomeditsinskiye issledovaniya.* 2021; 6(2): 15–9. (in Russian)
 25. Banks W.A., Erickson M.A. The blood-brain barrier and immune function and dysfunction. *Neurobiol Dis.* 2010; 37(1): 26–32. DOI: 10.1016/j.nbd.2009.07.031.
 26. Braak H., Rüb U., Gai W.P., Del Tredici K. Idiopathic Parkinson's disease: possible routes by which vulnerable neuronal types may be subject to neuroinvasion by an unknown pathogen. *J Neural Transm (Vienna).* 2003; 110(5): 517–36. DOI: 10.1007/s00702-002-0808-2. PMID: 12721813.
 27. Devos D., Lebouvier T., Lardeux B. et al. Colonic inflammation in Parkinson's disease. *Neurobiol Dis.* 2013; 50: 42–8. DOI: 10.1016/j.nbd.2012.09.0.
 28. Drobny A., Ngo P.A., Neurath M.F. et al. Molecular Communication Between Neuronal Networks and Intestinal Epithelial Cells in Gut Inflammation and Parkinson's Disease. *Front Med (Lau-sanne).* 2021; 8: 655123. Published 2021 Jul 22. DOI: 10.3389/fmed.2021.655123.
 29. Fasano A., Visanji N.P., Liu L.W. et al. Gastrointestinal dysfunction in Parkinson's disease. *Lancet Neurol.* 2015; 14(6): 625–39. DOI: 10.1016/S1474-4422(15)00007-1.
 30. Forsyth C.B., Shannon K.M., Kordower J.H. et al. Increased intestinal permeability correlates with sigmoid mucosa alpha-synuclein staining and endotoxin exposure markers in early Parkinson's disease. *One.* 2011; 6(12): e28032. DOI: 10.1371/journal.pone.0028032.
 31. Keshavarzian A., Green S.J., Engen P.A. et al. Colonic bacterial composition in Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2015; 30(10): 1351–60. DOI: 10.1002/mds.26307.
 32. Kashkin V.A., Fedorova O.V., Bagrov A.Y., et al. Endogenous sodium pump inhibitors, diabetes mellitus and preeclampsia. Preliminary observations and a hypothesis.
 33. Knudsen K., Fedorova T.D., Bekker A.C. et al. Objective Colonic Dysfunction is Far more Prevalent than Subjective Constipation in Parkinson's Disease: A Colon Transit and Volume Study. *J Parkinsons Dis.* 2017; 7(2): 359–67. DOI: 10.3233/JPD-161050.
 34. Lei Q., Wu T., Wu J. et al. Roles of α -synuclein in gastrointestinal microbiome dysbiosis-related Parkinson's disease progression (Review). *Mol Med Rep.* 2021; 24(4): 734. DOI: 10.3892/mmr.2021.12374.
 35. Panchenko A.V., Popovich I.G., Egormin P.A. et al. Biomarkers of aging, life span and spontaneous carcinogenesis in the wild type and HER-2 transgenic FVB/N female mice. *Biogerontology.* 2016; 17(2): 317–24.
 36. Vamanu E., Rai S.N. The Link between Obesity, Microbiota Dysbiosis, and Neurodegenerative Pathogenesis. *Diseases.* 2021; 9(3): 45. Published 2021 Jun 23. DOI:10.3390/diseases9030045.