

УДК 616.34-008.87-02:616.858

DOI 10.20538/1682-0363-2016-5-134-146

Для цитирования: Тяхт А.В., Алифирова В.М., Жукова Н.Г., Жукова И.А., Латыпова А.В., Миронова Ю.С., Петров В.А., Ижболдина О.П., Титова М.А., Никитина М.А., Кострюкова Е.С., Дорофеева Ю.Б., Салтыкова И.В., Сазонов А.Э. Связана ли микрофлора кишечника с болезнью Паркинсона? *Бюллетень сибирской медицины*. 2016; 15 (5): 134–146

Связана ли микрофлора кишечника с болезнью Паркинсона?

Тяхт А.В.¹, Алифирова В.М.², Жукова Н.Г.², Жукова И.А.², Латыпова А.В.², Миронова Ю.С.², Петров В.А.², Ижболдина О.П.², Титова М.А.², Никитина М.А.², Кострюкова Е.С.¹, Дорофеева Ю.Б.², Салтыкова И.В.², Сазонов А.Э.³

¹ Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины Федерального медико-биологического агентства

Россия, 119435, г. Москва, ул. Малая Пироговская, 1а

² Сибирский государственный медицинский университет

Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

³ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

Россия, 119991, г. Москва, Ленинские Горы, 1

РЕЗЮМЕ

Болезнь Паркинсона (БП) – это нейродегенеративное заболевание со сложным патогенезом. В поисках причин развития нейродегенеративного и нейровоспалительного процесса все большую роль отводят оси «микробиота – кишечник – мозг».

Цель исследования – выявление связи между составом микробиоты кишечника и клиническими проявлениями БП.

Материал и методы. Было обследовано 89 пациентов с диагнозом БП. Был учтен анамнез, тяжесть болезни по шкале Хен и Яра, произведена оценка степени проявлений БП с помощью Унифицированной шкалы оценки проявлений БП. Дополнительно пациентами были заполнены карты оценки самочувствия пациента с болезнью Паркинсона (Parkinson's Well-Being Map). Для оценки консистенции каловых масс использовалась Бристольская шкала. Выделение ДНК проводилось в соответствии с ранее описанной методикой. Подготовка библиотек и ампликонное секвенирование маркерного переменного участка V3–V4 бактериальных генов 16S рРНК проводились на приборе MiSeq (Illumina, США) согласно стандартному протоколу производителя. Фильтрация прочтений по баллам качества и их таксономическая классификация проведены с помощью программного обеспечения QIIME версии 1.9.0. Осуществлена оценка α - и β -разнообразия, проанализированы различия в представленности отдельных таксономических единиц между группами пациентов при использовании программного обеспечения IBM SPSS Statistics 23.1.

Результаты. Выявлены значимые различия в представленности семи родов между группами пациентов с разными формами заболевания. Всего было идентифицировано около 40 родов, относительная представленность которых в сумме составила 54,8% от общего микробиотического состава кишечника, причем часть родов имели корреляции с клиническими проявлениями заболевания.

Заключение. Вероятно, эти микроорганизмы могут являться непосредственными участниками патогенеза БП и требуют более пристального внимания в свете новых тенденций воздействия на организм путем коррекции микробиотического состава кишечника.

Ключевые слова: болезнь Паркинсона, микробиом, немоторные проявления, нейродегенерация.

✉ Жукова Ирина Александровна, e-mail: irzhukova@inbox.ru

ВВЕДЕНИЕ

Болезнь Паркинсона (БП) – это распространенное нейродегенеративное заболевание, характеризующееся моторными и немоторными проявлениями, которые коррелируют с возрастом и длительностью болезни. Немоторные проявления привлекают все больше внимания, так как их анализ может быть подтверждением новых представлений о патогенезе БП.

Развитие нейродегенеративного процесса на сегодняшний день не изучены до конца. Существует множество теорий, одна из которых – прионная. Данная гипотеза подразумевает первичное поражение периферических тканей (кишечник, ольфакторный эпителий) с последующим распространением патологического процесса в виде агрегации α -синуклеина каудорострально – к центральной нервной системе [1, 2]. В основе патогенеза проявлений поражения центральных и периферических отделов нервной системы в соответствии с данной гипотезой лежит, предположительно, модификация и мисфолдинг (неправильная укладка, упаковка белков) присутствующего в нормальной нервной ткани белка α -синуклеина с образованием его агрегатов, обладающих цитотоксическим эффектом [3, 4]. Причины такого действия до конца не изучены, не ясна и связь с нейровоспалительным процессом, имеющим место при нейродегенеративных заболеваниях [5]. Нейровоспаление может выступать как в роли триггера, так и быть вторичной реакцией на модификацию протеиновой структуры нейрона [6]. Экспериментальные исследования с нарушением связи между энтеральной нервной системой и стволом мозга с помощью гемиваготомии останавливали прогрессирование симптомов на токсических моделях паркинсонизма [7]. Подобные данные получены и в популяционном исследовании, которое показало снижение риска развития БП у пациентов после ваготомии [8]. Возможна и независимая от блуждающего нерва связь изменений иннервации кишечника с центральной нервной системой через токсические и провоспалительные субстанции, проникающие в системную циркуляцию из просвета кишечника в связи с повышением проницаемости его стенок. Косвенным подтверждением прионной теории является ранний, за десятки лет до установления клинического диагноза БП, дебют вегетативных периферических проявлений со стороны кишечника. Альфа-синуклеин-позитивные нейроны в слизистой оболочке кишечника и его депозиты в ядрах продолговатого мозга, регулирующих функцию желудочно-кишечного

тракта, выявляются задолго до моторной манифестации БП [9]. Частыми клиническими проявлениями этих анатомических нарушений является дисфункция желудка в виде гастропареза, раннего насыщения, анорексии, чувства переполнения желудка, тошноты и рвоты. Патология дистального отдела желудочно-кишечного тракта встречается у 20–77% пациентов с БП и часто за много лет до двигательных проявлений заболевания в виде запоров, сниженной скорости кишечного транзита, аноректальной дисфункции [10]. Запоры являются одним из наиболее частых немоторных симптомов, тяжесть которых усиливается применением дофаминергических препаратов, и, в свою очередь, играет роль в патогенезе моторных флуктуаций на поздних стадиях, нарушая всасывание леводопы [11].

Причины такой последовательности патологических изменений долгое время оставались неизученными. Однако в связи с возрастающим интересом к микробиологическому составу кишечника в норме и при патологии многие исследователи начали отмечать ассоциацию специфических нарушений микробиома кишечника с неврологической и психиатрической патологией [12]. Новое развитие получило понятие «ось – кишечник – мозг». Один из механизмов возможной способности микробиоты кишечника регулировать состояние центральной нервной системы осуществляется через активацию четырех типов toll-подобных рецепторов (TLR-2, TLR-3, TLR-4, TLR-7). Эти рецепторы, экспрессируемые нейронами энтеральной нервной системы, связываются с вирусной РНК и бактериальными пептидами, вызывая активацию нейронов в желудочно-кишечном тракте [13]. Бактерии, населяющие кишечник, способны продуцировать серотонин, мелатонин, гамма-аминомасляную кислоту, гистамин и ацетилхолин, которые известны как медиаторы центральной и периферической нервной системы [14]. Нарушение продукции этих молекул потенциально может вызывать изменения в состоянии центральной нервной системы. Активно изучается возможное влияние микрофлоры кишечника на развитие неврологической патологии. Так, получены убедительные результаты на моделях рассеянного склероза и нейродегенеративных заболеваний [15, 16]. В частности, при БП выявлено значимое снижение популяции бактерий семейства *Prevotellaceae* при сравнении с контрольной группой и корреляция состава микрофлоры кишечника с клиническим фенотипом заболевания [17]. На уровне родов микроорганизмов установлено, что относительное преобладание

«противовоспалительных» продуцирующих бутират бактерий *Blautia*, *Coprococcus* и *Roseburia* более характерно для группы контроля, а «провоспалительных» протеобактерий рода *Ralstonia* – для больных с БП. Метагеномный анализ генов микроорганизмов, ответственных за метаболизм и биосинтез липосахаридов, также указывал на наличие у пациентов провоспалительного дисбиоза, способного индуцировать локальный синтез альфа-синуклеина и последующее развитие нейродегенеративного процесса [17].

Вероятно, определенные изменения микробиома кишечника и функции желудочно-кишечного тракта могут являться прогностическим фактором и (или) критерием для формирования групп риска развития БП, а также возможной точкой отсчета для разработки новых препаратов с нейротропным эффектом.

Целью представленной работы являлось изучение взаимосвязи клинических проявлений БП с микробиотой кишечника и создание коллекции биологического материала пациентов с БП.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование было включено 89 пациентов с диагнозом БП. Диагноз определяли согласно общепринятой Международной классификации болезней 10-го пересмотра (МКБ-10). Специальный код рубрики для БП – G20 по МКБ-10. Верификацию диагноза БП осуществляли в соответствии с международными клинико-диагностическими критериями Банка головного мозга общества БП Великобритании (UK Parkinson's Disease Society Brain Bank). Диагноз формулировали согласно рекомендациям Центра экстрапирамидных заболеваний Минздрава РФ с указанием клинической формы, наличия постуральной неустойчивости и нарушения ходьбы, преобладания выявленных симптомов в конечностях, выраженности когнитивных нарушений, депрессии и вегетативной недостаточности; уточнением темпа прогрессирования, с учетом наличия осложнений, связанных с длительным лечением леводопосодержащими препаратами. Стадию заболевания оценивали по шкале Хен и Яра у каждого субъекта, когда он находился в оптимальном «включенном» состоянии в соответствии со шкалой Modified Hoehn and Yahr Scale [18].

План и проведение научно-исследовательской работы полностью соответствовали принципам Надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice – GCP) и Хельсинской декларации (включая поправки) [19]. Степень выраженности проявлений паркинсонизма оценивали с помощью шкалы Unified Parkinson's Disease Rating

Scale (UPDRS, Унифицированная рейтинговая шкала оценки болезни Паркинсона) [20]. Шкала UPDRS является стандартизированным, надежным и полноценным инструментом для определения тяжести клинических состояний при БП. Первый раздел UPDRS рассматривает такие функции, как мышление, поведение и настроение, II раздел – повседневную активность, III раздел – двигательные нарушения, IV раздел – осложнения лечения. Для дополнительной характеристики субъективных жалоб пациента со стороны желудочно-кишечного тракта использовали карты оценки самочувствия пациента с БП (Parkinson's Well-Being Map), раздел питание и пищеварение, где частота предъявляемых жалоб представлялась в пределах от 0 до 4 (0 – никогда, 4 – всегда).

Пациенты заполняли дневники, предусматривающие характеристику различных параметров дефекации в течение недели. Для определения консистенции каловых масс использовали Бристольскую шкалу, включающую визуальное изображение семи типов стула. Данная классификация ассоциирована с содержанием воды, состоянием кишечной экосистемы и временем кишечного транзита. Бристольская шкала может использоваться и в ранжированном варианте: наименьшее количество баллов соответствует наиболее плотным типам каловых масс и медленному кишечному транзиту, тогда как высокие баллы указывают на максимальное содержание воды и наиболее быстрый транзит. В дневнике пациенты отмечали наличие или отсутствие затруднений при дефекации, ощущения неполного опорожнения кишечника, а также указывали данные о приеме слабительных препаратов.

У всех обследуемых изучали микробиотическое разнообразие кишечника. Забор материала осуществляли согласно стандартизированной методике забора образцов кала. Из образцов, прошедших этап контроля качества, выделяли тотальную метагеномную ДНК микробиоты в соответствии с описанной стандартной методикой [21]. Подготовка библиотек и ампликонное секвенирование маркерного варибельного участка V3–V4 бактериальных генов 16S рРНК проводили на приборе MiSeq (Illumina, США) согласно стандартному протоколу производителя. Фильтрация прочтений по качеству и их таксономическая классификация проводилась с помощью программного обеспечения QIIME версии 1.9.0 [22]. Для более точного определения таксономической принадлежности прочтений использовали подход, включающий в себя применение двух таксономических баз данных. На

первом этапе командой `pick_rep_set.py` осуществляли подбор референсного набора операционных таксономических единиц (ОТЕ) бактерий на основании сравнения полученных прочтений генов 16S рРНК с базой данных GreenGenes версии 13.5 [23]. На втором этапе командой `assign_taxonomy.py` с использованием алгоритма RDP определяли таксономическую принадлежность данных ОТЕ на основе специализированной базы кишечной микробиоты человека HITdb, которая содержит информацию о связи ОТЕ с ближайшими культивируемыми видами [24]. Таксономическая информация о микробиоте кишечника была агрегирована на уровне бактериальных родов.

Для оценки α -разнообразия проводили прореживание образцов до уровня образца с минимальной представленностью ОТЕ (3400 ОТЕ/образец) с последующим подсчетом таксономических индексов разнообразия `chao1`, `Shannon`, `PD whole tree` и `observed OTUs` в исследуемых группах. Поиск различий в степени таксономического богатства микробиоты кишечника больных с БП осуществляли в пакете `stats` языка R с использованием критериев Краскела – Уоллиса и Манна – Уитни, результат представлен в виде медианы Me , интерквартильного размаха [Q_1 ; Q_3]. Для прореживания, расчета индексов разнообразия и визуализации применяли программное обеспечение QIIME версии 1.9.1.

Для оценки β -разнообразия выполняли нормализацию данных с использованием алгоритма `CSS` [25] и расчет метрики `weighted Unifrac`. Далее, с использованием пакета `vegan` языка R, анализировали многомерное неметрическое шкалирование и определяли вклад формы заболевания в различия сообществ по составу микробиоты кишечника методами `ANOSIM` (ANalysis Of SIMilarity, анализ общности) и `Adonis` с оценкой достоверности при 999 перестановках. Нормализацию и расчет метрики считали в программном обеспечении QIIME версии 1.9.1, визуализацию проводили с помощью пакета `ggplot2` языка R.

Статистическую оценку корреляций и различий в представленности таксономических единиц анализировали при использовании программного обеспечения IBM SPSS Statistics. Сравнение между двумя группами осуществляли при использовании критерия Манна – Уитни (U), между несколькими группами – с использованием критерия Краскела – Уоллиса (H) с последующим попарным сравнением между группами. Исследование корреляций реализовывали с использованием критерия Спирмена. Статистически значимыми считали различия p на уровне 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В нашем исследовании приняли участие 59 (66,3%) женщин и 30 (33,7%) мужчин в возрасте 47–83 лет (средний возраст составил 69 (64; 76) лет). Индекс массы тела у обследуемых составил 26,95 (23,92; 30,38) кг/м², что соответствует начальной степени ожирения. Дебют заболевания приходился на 62,5 (55,0; 69,5) года. В структуре клинической картины наиболее часто регистрировали смешанную форму БП (66,3%), значительно реже – акинетику-ригидную (24,7%) и дрожательную (9,0%). Среди обследуемых встречали лиц как с начальными проявлениями паркинсонизма, так и с более выраженными двигательными расстройствами: I стадию по шкале Хен и Яра выявили у 10 (11,2%) человек, II стадию – 30 (33,7%), III стадию – 45 (50,6%), IV стадию – у 4 (4,5%). Все пациенты получали стандартную комбинированную терапию противопаркинсоническими препаратами.

Среди жалоб со стороны желудочно-кишечного тракта при БП преобладала констипация – у 40 (45,3%) пациентов, тошнота и (или) рвота – 8 (9,4%), а также чувство неполного опорожнения кишечника – у 29 (33,3%) и затруднения при акте дефекации – 37 (41,7%). Согласно карте самочувствия 81 (91,3%) пациент с БП отмечал жалобы со стороны желудочно-кишечного тракта большую часть времени и только 8 (8,7%) – расстройства пищеварительного тракта не беспокоили. Подавляющее количество пациентов 60 (68%) использовали слабительные препараты. Проведя анализ типов каловых масс, описанных с помощью Бристольской шкалы, наиболее часто у больных с БП отмечали второй и четвертые типы каловых масс (25 и 37,5% соответственно).

Все полученные образцы ДНК кишечной микробиоты просеквенированы. По результатам данного исследования в составе кишечной микробиоты пациентов с БП обнаружен 121 род микроорганизмов. При анализе представленности метагеномных сообществ отмечено, что наиболее распространенными в образцах пациентов с БП явились р. *Faecalibacterium*, *Oscillibacter*, *Eubacterium*, *Bacteroides*, *Clostridium*, *Blautia* и *Ruminococcus*, составляющие 49,1% микробиома кишечника. Представленность двух из этих родов была ассоциирована со стадией заболевания (*Bacteroides*) и UPDRS II (*Ruminococcus*).

Всего 40 родов микроорганизмов были связаны с клиническими характеристиками БП. Значимые различия по семи таксономическим единицам выявлены между пациентами с разными формами

БП. При этом дрожательная форма отличалась от акинетико-ригидной и смешанной по распространённости р. *Allistipes*, *Bilophila*, *Peptococcus*. Смешанная и дрожательная формы различались от

акинетико-ригидной по р. *Stoquiefichus*. По представленности р. *Desulfitobacterium*, *Gemmiger*, *Victivallis* выявлены отличия между смешанной и акинетико-ригидной формами БП (табл. 1).

Т а б л и ц а 1

ОТЕ	Представленность родов микроорганизмов у пациентов с разными формами болезни Паркинсона			Статистическая значимость
	Форма БП, Me [Q1; Q3]			
	Дрожательная	Акинетико-ригидная	Смешанная	
<i>Allistipes</i>	15,445 [9,459; 15,445]	37,802 [31,351; 56,050]	43,432 [23,866; 50,493]	H = 8,636 $p_{1-2} = 0,022$ $p_{1-3} = 0,013$ $p_{2-3} = 1,000$
<i>Bilophila</i>	1,904 [0; 4,089]	7,674 [4,436; 9,291]	5,531 [3,096; 9,151]	H = 9,742 $p_{1-2} = 0,007$ $p_{1-3} = 0,028$ $p_{2-3} = 1,000$
<i>Desulfitobacterium</i>	2,941 [0; 9,189]	1,000 [0,000; 5,176]	5,063 [2,429; 7,760]	H = 6,215 $p_{1-2} = 0,663$ $p_{1-3} = 1,000$ $p_{2-3} = 0,038$
<i>Gemmiger</i>	92,951 [92,951; 49215,000]	120,398 [96,215; 187,012]	87,533 [60,877; 117,534]	H = 8,469 $p_{1-2} = 1,000$ $p_{1-3} = 0,945$ $p_{2-3} = 0,013$
<i>Peptococcus</i>	7,435 [3,006; 7,825]	0,000 [0; 2,103]	0,000 [0; 2,753]	H = 7,774 $p_{1-2} = 0,020$ $p_{1-3} = 0,035$ $p_{2-3} = 1,000$
<i>Stoquiefichus</i>	3,000 [1,649; 6,822]	9,042 [7,350; 14,066]	6,792 [3,032; 8,808]	H = 14,183 $p_{1-2} = 0,002$ $p_{1-3} = 0,318$ $p_{2-3} = 0,006$
<i>Victivallis</i>	0,000 [0; 5,588]	0,000 [0; 0]	1,995 [0; 7,390]	H = 11,797 $p_{1-2} = 0,553$ $p_{1-3} = 1,000$ $p_{2-3} = 0,002$

П р и м е ч а н и е. p_{1-2} – различия между дрожательной и акинетико-ригидной, p_{2-3} – акинетико-ригидной и смешанной, p_{1-3} – дрожательной и смешанной формами. В значения p внесена поправка Бонферрони для нескольких испытаний.

Исследование α -разнообразия среди пациентов с разными формами БП, рассчитанного в метрике PD whole tree (рис. 1), позволило выявить, что наименьшее таксономическое разнообразие характерно для пациентов с акинетико-ригидной формой БП. При этом статистически значимыми были различия между смешанной (29,86 [30,61; 34,56]) и акинетико-ригидной (32,17 [27,05; 32,06]) формами заболевания ($p = 0,023$), также имелась тенденция к различию между дрожательной и смешанной формой.

Также выполнен анализ таксономического состава метагеномных сообществ образцов кишечной микробиоты больных БП с разными формами заболевания с использованием неметрического многомерного шкалирования (рис. 2). Расстояние между точками на графике указывает на степень сходства таксономического состава образцов. В

результате оценки β -разнообразия установлено, что форма заболевания вносит статистически достоверный вклад в состав микробиоты (ANOSIM ($R^2 = 0,117$; $p = 0,043$), Adonis ($R^2 = 0,029$; $p = 0,022$)).

При анализе корреляционных связей между степенью тяжести БП, выраженностью отдельных проявлений болезни в соответствии с UPDRS и представленностью родов микроорганизмов получены значимые результаты (табл. 2). При этом наибольшее количество связей выявлено с первым разделом шкалы, характеризующим немоторные аспекты повседневной жизни. Чаще это была положительная корреляция, то есть большая представленность рода микроорганизмов кишечника ассоциирована со значительным влиянием немоторных симптомов на повседневную жизнь пациента.

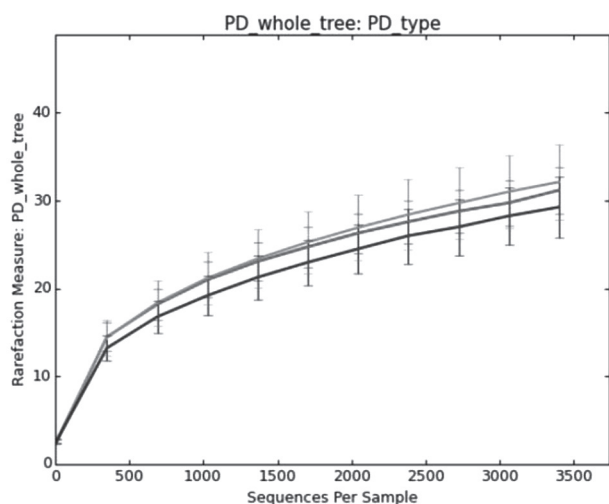


Рис. 1. Анализ α -разнообразия, рассчитанного при помощи индекса PD whole tree, для пациентов с дрожательной (красная кривая), акинетико-ригидной (синяя кривая) и смешанной (оранжевая кривая) формами болезни Паркинсона при прореживании образцов до глубины в 3400 ОТЕ/образец. Индекс α -разнообразия рассчитан на десяти подвыборках, «усы» обозначают величину стандартного отклонения

Распространенность шести родов микроорганизмов кишечника больных с БП отрицательно коррелировала с третьим разделом шкалы, учитывающим объективную оценку двигательных функций пациента, и только пять родов выделенных микроорганизмов демонстрировали положи-

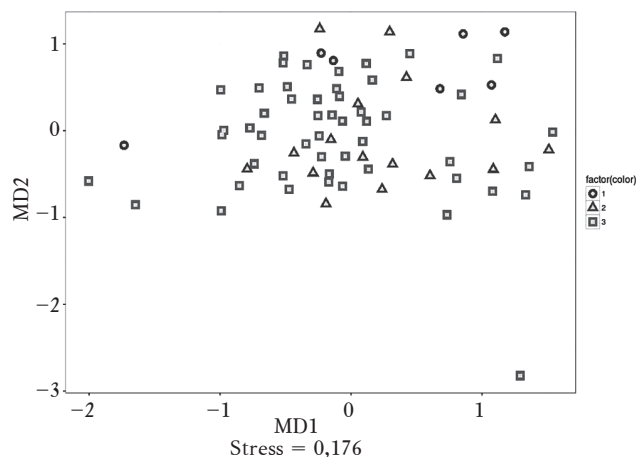


Рис. 2. Оценка таксономического состава микробиоты кишечника для пациентов с дрожательной (красный цвет), акинетико-ригидной (синий цвет) и смешанной (зеленый цвет) формами болезни Паркинсона

тельную корреляцию с баллами по этому разделу. Большая распространенность семи родов ассоциирована с более высокими баллами по второму разделу шкалы, оценивающему двигательные аспекты повседневной жизни. Эти данные могут свидетельствовать об определенной роли микроорганизмов кишечника в развитии двигательных нарушений при БП. При анализе также установлена положительная корреляция представленности рода *Bacteroides* со стадией БП.

Таблица 2

Корреляционные связи между представленностью отдельных родов кишечных микроорганизмов и клиническими характеристиками пациентов, ρ					
Род микроорганизмов	Шкала Хен и Яра	UPDRS I	UPDRS II	UPDRS III	UPDRS IV
<i>Acetanaerobacterium</i>	-	-	-	-0,356*	-
<i>Actinobacillus</i>	-	-	-	-0,436*	-
<i>Allisonella</i>	-	-	-	-	0,731**
<i>Anaerococcus</i>	-	-	-	-0,356*	-
<i>Bacteroides</i>	0,252*	-	-	-	-
<i>Catenibacterium</i>	-	0,548**	-	-	0,921**
<i>Christensenella</i>	-	-	-	-0,437*	-
<i>Collinsella</i>	-	-0,361*	-0,474**	-	-
<i>Coproccoccus</i>	-	-	-	-	0,456**
<i>Dielma</i>	-	0,424*	-	-	-
<i>Enterobacter</i>	-	0,445*	0,570**	0,375*	-
<i>Finegoldia</i>	-	0,604**	0,365*	-	-
<i>Gemmiger</i>	-	0,533**	0,362*	-	0,749**
<i>Intestinimonas</i>	-	0,577**	-	-	-
<i>Lachnobacterium</i>	-	-	-	-	0,897**
<i>Lactobacillus</i>	-	-	-	-0,373*	-
<i>Lactonifactor</i>	0,236*	-	-	-	-
<i>Leuconostoc</i>	-	0,446*	0,570**	0,376*	-
<i>Megamonas</i>	-	0,383*	-	-	-
<i>Mogibacterium</i>	-	-	-	0,375*	-
<i>Nevskia</i>	-0,307**	-	-	-	-

О к о н ч а н и е т а б л . 2

Род микроорганизмов	Шкала Хен и Яра	UPDRS I	UPDRS II	UPDRS III	UPDRS IV
<i>Oscillospira</i>	–	0,445°	0,570**	0,375°	–
<i>Oxalobacter</i>	–	0,445°	0,571**	0,375°	–
<i>Parabacteroides</i>	–	0,583**	–	–	–
<i>Parasutterella</i>	–	–	–	–	0,842**
<i>Peptococcus</i>	0,246°	–	–	–	–
<i>Peptoniphilus</i>	–	–	–	–0,356°	–
<i>Peptostreptococcus</i>	0,237°	–	–	–	–
<i>Prevotella</i>	–	0,546**	–	–	–
<i>Roseburia</i>	–	–	–	–	0,644**
<i>Ruminococcus</i>	–	–	–0,387°	–	–
<i>Soleaferrea</i>	–	0,493**	–	–	–
<i>Streptococcus</i>	–	0,520**	–	–	–
<i>Tannerella</i>	–	–	–	–	0,389°
<i>Tyzzerella</i>	–	–0,378°	–	–	–
<i>Victivallis</i>	–	0,446°	0,571**	0,375°	–

П р и м е ч а н и е. ρ – коэффициент корреляции Спирмена. Значимость корреляции на уровне: * 0,05, ** 0,01.

Жалобы со стороны желудочно-кишечного тракта (затруднения при дефекации, чувство неполного опорожнения кишечника и запоры) ассоциированы с изменениями представленности родов *Turicibacter* ($U = 233,500$; $p = 0,047$) и *Solobacterium* ($U = 261,000$; $p = 0,004$), которые были значимо выше в группе с жалобами на запоры. Тогда как род *Dielma* присутствовал у пациентов без нарушений ($U = 89,500$; $p = 0,016$). Преобладание рода *Stoqueficibus* ($U = 105,500$; $p = 0,036$) было значимо выше среди пациентов, не предъявивших жалобы на затруднение при дефекации.

Значимая отрицательная корреляция выявлена между частотой расстройств желудочно-кишечного тракта и представленностью *Barnesiella* ($\rho = -0,385$; $p = 0,043$), *Dielma* ($\rho = -0,300$; $p = 0,042$), *Neuskia* ($\rho = -0,325$; $p = 0,028$), *Prevotella* ($\rho = -0,300$; $p = 0,043$), *Streptococcus* ($\rho = -0,331$; $p = 0,024$). Слабая положительная корреляция была обнаружена с родом *Ruminococcus* ($\rho = 0,295$; $p = 0,047$), также связанным с затруднениями в двигательном-обусловленном ежедневном функционировании (UPDRS II). При этом достоверной связи между двигательными расстройствами и нарушением функции желудочно-кишечного тракта выявить не удалось.

ОБСУЖДЕНИЕ

БП является клинически гетерогенным заболеванием. Дрожательная, акинетико-ригидная и смешанная формы заболевания характеризуются различными прогнозами и течением, разной реакцией на получаемое противопаркинсоническое лечение. Причины развития той или иной формы

заболевания остаются до конца не выясненными, несмотря на многочисленные исследования.

Выявленные различия в составе микробиоты у пациентов с разными формами БП могут указывать на роль кишечной микрофлоры в генезе клинических различий между моторными подтипами. По представленным данным, акинетико-ригидная форма характеризовалась значимо меньшим таксономическим разнообразием, чем дрожательная и смешанная формы БП. Значимые различия выявлены и при анализе β -разнообразия, оценивающего таксономическую близость состава микробиоты между группами. Меньшее таксономическое богатство является характерным признаком неблагоприятных условий среды, косвенным признаком воспаления и предпосылкой к снижению защитной функции микрофлоры.

При сравнении представленности отдельных родов микроорганизмов дрожательная форма отличалась от акинетико-ригидной и смешанной по родам *Alistipes*, *Bilophila*, *Peptococcus*. *Alistipes* – род облигатно анаэробных грамм-отрицательных индол-позитивных бактерий, вероятно, оказывает влияние на биодоступность триптофана, поступающего с пищей. Относительное преобладание этих бактерий в кишечнике было выявлено у пациентов с депрессивным расстройством [26]. В других исследованиях установлена связь между представленностью *Alistipes* и кишечным воспалением у пациентов с синдромом раздраженного кишечника [27]. *Bilophila* – род грамм-отрицательных, анаэробных бактерий, представители которого были ассоциированы с развитием воспалительных заболеваний кишечника и гнойного

аппендицита [27, 28]. Как следует из названия, эти бактерии принимают активное участие в метаболизме желчных кислот, являющихся важным фактором электролитного баланса в просвете кишечника, что оказывает влияние на его моторную функцию [29]. *Peptococcus* – грамм-положительные неспорообразующие бактерии-патобионты, участвующие в метаболизме нитроароматических соединений и приводящие к генерации генотоксических и канцерогенных агентов [30]. В данном исследовании выявлена значимая положительная корреляция представленности этого рода, а также микроорганизмов порядка *Clostridiales* (*Peptostreptococcus* и *Lactonifactor*) со стадией БП. Согласно литературным источникам, содержание микробиоты этих трех родов в кишечнике зависит от состава потребляемой пищи и повышается при поступлении большого количества продуктов животного происхождения [31].

Представленность бактерий рода *Stoquefichus* оказалась значимо выше у пациентов с акинетико-ригидной формой БП по сравнению со смешанной и дрожательной. Этот род оказался также ассоциирован с отсутствием дефекационной дисфункции у пациентов. Важным оказалось то, что дрожательная форма характеризовалась большей представленностью родов *Desulfitobacterium* и *Gemmiger*, хотя в обоих случаях это различие с двумя другими группами не было значимым, в то время как *Desulfitobacterium* был значимо более представлен у пациентов со смешанной формой в сравнении с акинетико-ригидной группой пациентов с БП. *Desulfitobacterium* – грамм-положительные, неспорообразующие бактерии семейства *Peptococcaceae*, являются стандартными представителями микробиома кишечника человека. В то же время относительное повышенное их содержание отмечено в кишечнике пациентов с болезнью Крона в сравнении с микробиомом здоровых лиц [32]. Род *Gemmiger* был ассоциирован с более высоким риском эндоскопического рецидива воспалительных заболеваний кишечника [33]. При этом стоит также отметить наличие значимой положительной корреляционной связи между представленностью рода *Gemmiger* со степенью нарушений ежедневного функционирования и выраженностью двигательных симптомов (UPDRS II, UPDRS III). Наибольшая представленность рода *Victivallis* оказалась характерна для пациентов со смешанной формой БП. Положительную корреляцию с тяжестью немоторных и моторных проявлений по шкале UPDRS можно объяснить тем, что данная группа больных характеризуется более тяжелым течением и от-

носителю более быстрым прогрессированием. Такую же связь с UPDRS продемонстрировали роды *Enterobacter*, *Leuconostoc*, *Oscillospira* и *Oxalobacter*. При этом *Enterobacter* и *Leuconostoc* могут быть отнесены к условно-патогенным организмам, способным вызывать клинически выраженную бактериемию и быть этиологическим фактором заболеваний кишечника и верхних дыхательных путей [33, 34], тогда как *Oscillospira* и *Oxalobacter* в литературе ассоциируются в основном с положительным влиянием на организм человека [36, 37]. В данном исследовании род *Prevotella* оказался ассоциирован с более высокими баллами по I разделу UPDRS.

Значительная распространенность желудочно-кишечных расстройств среди пациентов, принявших участие в представленном исследовании, в целом соответствует данным литературы. Разница в наличии микроорганизмов между пациентами с жалобами со стороны желудочно-кишечного тракта и без жалоб может указывать на роль микробиоты в развитии моторной дисфункции кишечника, но также может иметь место и обратная связь: снижение скорости кишечного транзита создает неблагоприятные условия для функционирования одних бактерий и дает преимущество другим видам.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе исследования выявлена взаимосвязь между такими клиническими характеристиками БП, как форма болезни, стадия, тяжесть моторных и немоторных проявлений и родовым составом микробиоты кишечника пациентов с БП. Более половины (54,8%) микроорганизмов кишечника больных с БП имеют ассоциации с теми или иными проявлениями заболевания. Несмотря на то что причинно-следственные связи между изменениями в составе микробиоты кишечника и патогенезом БП не ясны до конца, вероятно, некоторые микроорганизмы могут являться предикторами менее благоприятного прогноза. Перспективным представляется исследование возможностей профилактики нейродегенеративных заболеваний, направленное в первую очередь на нормализацию таксономических соотношений и разнообразия микрофлоры кишечника в группах риска.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при поддержке гранта ФЦП №14.604.21.0150 «Выявление биомаркеров микробиотического сообщества кишечника для ранней, доклинической диагностики БП» (уникальный идентификатор соглашения RFMEFI60414X0150).

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

План и проведение научно-исследовательской работы полностью соответствовали принципам Надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice – GCP) и Хельсинской декларации (включая поправки). Протокол исследования был одобрен независимым этическим комитетом СибГМУ (заключение № 3669 от 22 декабря 2014 г.). Письменное информированное согласие получали от всех пациентов или от их близких родственников и лиц, официально признанных ответственными за пациентов на момент проведения исследования. Пациенты и их родственники были информированы нами о характере исследования, его цели и возможных осложнениях, а также могли в любое время в одностороннем порядке прервать исследование.

ЛИТЕРАТУРА

- Lema Tomé C.M. et al. Inflammation and α -synuclein's prion-like behavior in Parkinson's disease—is there a link? // *Molecular Neurobiology*. 2012; 47 (2): 561–574.
- Visanji N.P. et al. The prion hypothesis in Parkinson's disease: braak to the future // *Acta Neuropathologica Communications*. 2013; 1: 2–2.
- Blandini F. Neural and immune mechanisms in the pathogenesis of Parkinson's disease // *J. Neuroimmune Pharmacol*. 2013; 8 (1): 189–201.
- Иллариошкин С.Н. Конформационные болезни мозга. Москва: Янус-К, 2002: 248.
- Barnum C.J., Tansey M.G. Modeling neuroinflammatory pathogenesis of Parkinson's disease // *Progress in Brain Research*. 2010; 184: 113–132.
- Niranjan R. The role of inflammatory and oxidative stress mechanisms in the pathogenesis of Parkinson's disease: focus on astrocytes // *Mol. Neurobiol*. 2014; 49 (1): 28–38.
- Klingelhoefer L., Reichmann H. Pathogenesis of Parkinson disease [mdash] the gut-brain axis and environmental factors // *Nat. Rev. Neurol*. 2015; 11 (11): 625–636.
- Svensson E. et al. Vagotomy and subsequent risk of Parkinson's disease // *Annals of Neurology*. 2015; 78 (4): 522–529.
- Del Tredici K., Braak H. Lewy pathology and neurodegeneration in premotor Parkinson's disease // *Mov. Disord*. 2012; 27 (5): 597–607.
- Cersosimo M. et al. Gastrointestinal manifestations in Parkinson's disease: prevalence and occurrence before motor symptoms // *J. Neurol*. 2013; 260 (5): 1332–1338.
- Pfeiffer R.F. Gastrointestinal dysfunction in Parkinson's disease // *Parkinsonism & Related Disorders*. 17 (1): 10–15.
- Tillisch K. The effects of gut microbiota on CNS function in humans // *Gut Microbes*. 2014; 5 (3): 404–410.
- Mao Y.-K. et al. *Bacteroides fragilis* polysaccharide A is necessary and sufficient for acute activation of intestinal sensory neurons // *Nat. Commun*. 2013; 4: 1465.
- Barrett E. et al. γ -Aminobutyric acid production by culturable bacteria from the human intestine // *Journal of Applied Microbiology*. 2012; 113 (2): 411–417.
- Bhargava P., Mowry E. Gut microbiome and multiple sclerosis // *Curr. Neurol. Neurosci Rep*. 2014; 14 (10): 1–8.
- Ochoa-Repáraz J. et al. Induction of a regulatory B cell population in experimental allergic encephalomyelitis by alteration of the gut commensal microflora // *Gut Microbes*. 2010; 1 (2): 103–108.
- Scheperjans F. et al. Gut microbiota are related to Parkinson's disease and clinical phenotype // *Mov. Disord*. 2015; 30 (3): 350–358.
- Goetz C.G. et al. Movement Disorder Society Task Force report on the Hoehn and Yahr Staging Scale: status and recommendations. The Movement Disorder Society Task Force on rating scales for Parkinson's disease // *Movement Disorders*. 2004; 19 (9): 1020–1028.
- World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki. Ethical principles for medical research involving human subjects // *Bulletin of the World Health Organization*. 2001; 79 (4): 373–374.
- Goetz C.G. et al. Movement Disorder Society-sponsored revision of the Unified Parkinson's Disease Rating Scale (MDS-UPDRS): scale presentation and clinimetric testing results // *Movement Disorders*. 2008; 23 (15): 2129–2170.
- Egshatyan L. et al. Gut microbiota and diet in patients with different glucose tolerance // *Endocrine Connections*. 2016; 5 (1): 1–9.
- Caporaso J.G. et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data // *Nature Methods*. 2010; 7 (5): 335–336.
- DeSantis T.Z. et al. Greengenes, a chimera-checked 16S rRNA gene database and workbench compatible with ARB // *Applied and Environmental Microbiology*. 2006; 72 (7): 5069–5072.
- Ritari J. et al. Improved taxonomic assignment of human intestinal 16S rRNA sequences by a dedicated reference database // *BMC Genomics*. 2015; 16 (1): 1–10.
- Paulson J.N. et al. Differential abundance analysis for microbial marker-gene surveys // *Nat. Meth*. 2013; 10 (12): 1200–1202.
- Jiang H. et al. Altered fecal microbiota composition in patients with major depressive disorder // *Brain, Behavior and Immunity*. 2015; 48: 186–194.
- Stasi C. et al. Altered neuro-endocrine-immune pathways in the irritable bowel syndrome: the top-down and

- the bottom-up model // *J. Gastroenterol.* 2012; 47 (11): 1177–1185.
28. Finegold S. et al. Clinical importance of *Bilophila wadsworthia* // *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.* 1992; 11 (11): 1058–1063.
 29. Summanen P.H. et al. *Bilophila wadsworthia* isolates from clinical specimens // *Clinical Infectious Diseases.* 1995; 20 (Supplement 2): 210–211.
 30. Joyce S.A., Gahan C.G.M. The gut microbiota and the metabolic health of the host // *Current Opinion in Gastroenterology.* 2014; 30 (2).
 31. Del Chierico F. et al. Mediterranean diet and health: food effects on gut microbiota and disease control // *International Journal of Molecular Sciences.* 2014; 15 (7).
 32. Erickson A.R. Characterization of the human host gut microbiome with an integrated genomics / Proteomics Approach. 2011.
 33. Mondot S. et al. Structural robustness of the gut mucosal microbiota is associated with Crohn's disease remission after surgery // *Gut.* 2016; 65 (6): 954–962.
 34. Ino K. et al. Bacteremia due to *Leuconostoc pseudomesenteroides* in a patient with acute lymphoblastic leukemia: case report and review of the literature // *Case Reports in Hematology.* 2016; 2016: 7648628.
 35. Davin-Regli A., Pagis J.-M. *Enterobacter aerogenes* and *Enterobacter cloacae*; versatile bacterial pathogens confronting antibiotic treatment // *Frontiers in Microbiology.* 2015; 6: 392.
 36. Konikoff T., Gophna U. *Oscillospira*: a central, enigmatic component of the human gut microbiota // *Trends in Microbiology.* 24 (7): 523–524.
 37. Duncan S.H. et al. *Oxalobacter formigenes* and its potential role in human health // *Applied and Environmental Microbiology.* 2002; 68 (8): 3841–3847.

Поступила в редакцию 18.09.2016

Утверждена к печати 01.12.2016

Тягт Александр Викторович, канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник лаборатории биоинформатики, Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины Федерального медико-биологического агентства, г. Москва.

Алифинова Валентина Михайловна, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой неврологии и нейрохирургии, СибГМУ, г. Томск.

Жукова Наталья Григорьевна, д-р мед. наук, профессор кафедры неврологии и нейрохирургии, СибГМУ, г. Томск.

Жукова Ирина Александровна, канд. мед. наук, доцент кафедры неврологии и нейрохирургии, СибГМУ, г. Томск.

Латыпова Алина Викторовна, ординатор кафедры неврологии и нейрохирургии, СибГМУ г. Томск.

Ижболдина Ольга Петровна, аспирант кафедры неврологии и нейрохирургии, СибГМУ, г. Томск.

Петров Вячеслав Алексеевич, мл. науч. сотрудник ЦНИЛ, СибГМУ, г. Томск.

Миронова Юлия Сергеевна, аспирант кафедры неврологии и нейрохирургии, СибГМУ, г. Томск.

Никитина Мария Анатольевна, аспирант кафедры неврологии и нейрохирургии, СибГМУ г. Томск.

Титова Марина Андреевна, канд. мед. наук, доцент кафедры неврологии и нейрохирургии СибГМУ, г. Томск.

Кострюкова Елена Сергеевна, канд. биол. наук, зав. лабораторией постгеномных исследований в биологии, Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины Федерального медико-биологического агентства, г. Москва.

Дорофеева Юлия Борисовна, мл. науч. сотрудник ЦНИЛ, СибГМУ, г. Томск.

Салтыкова Ирина Владимировна, канд. мед. наук, науч. сотрудник ЦНИЛ, СибГМУ, г. Томск.

Сазонов Алексей Эдуардович, д-р мед наук, зам. проректора Управления научной политики и организации научных исследований МГУ имени М.В. Ломоносова, г. Москва.

(✉) Жукова Ирина Александровна, e-mail: irzhukova@inbox.ru

УДК 616.34-008.87-02:616.858

DOI 10.20538/1682-0363-2016-5-134-146

For citation: Tyakht A.V., Alifirova V.M., Zhukova N.G., Zhukova I.A., Latypova A.V., Izhboldina O.P., Petrov V.A., Mironova Yu.S., Titova M.A., Nikitina M.A., Kostryukova E.S., Dorofeeva Yu.B., Saltykova I.V., Sazonov A.E. Is gut microbiota associated with Parkinson's disease? *Bulletin of Siberian Medicine.* 2016; 15 (5): 126–133

Is gut microbiota associated with Parkinson's disease?

Tyakht A.V.¹, Alifirova V.M.², Zhukova N.G.², Zhukova I.A.², Latypova A.V.², Izhboldina O.P.², Petrov V.A.², Mironova Yu.S.², Titova M.A.², Nikitina M.A.², Kostryukova E.S.¹, Dorofeeva Yu.B.², Saltykova I.V.², Sazonov A.E.³

¹ *Research Institute of Physico-Chemical Medicine of Russian Federal Medico-Biological Agency (RIPCМ), 1a, Malaya Pirogovskaya Str., Moscow, 119992, Russian Federation*

² *Siberian State Medical University*
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

³ *Lomonosov Moscow State University*
1, Leninskiye Gory, Moscow, 119991, Russian Federation

ABSTRACT

Parkinson's disease (PD) is a neurodegenerative disorder with a complex pathogenesis. Today more and more studies are focusing on microbiota-gut-brain axis searching the causes of neurodegenerative and neuroinflammatory processes.

The aim of our study is to determine the relationship between the composition of gut microbiota and clinical manifestations of PD.

Materials and methods. We examined 89 patients with a PD diagnosis. Clinical assessment was performed including medical history collection, rating disease stage using Hoehn and Yahr scale. Motor and nonmotor symptoms as well as possible complication were examined using the Unified Parkinson's Disease Rating Scale. In addition, patients were asked to fill in Parkinson's Well-Being Map and defecation diary that included Bristol scale. DNA isolation was performed in accordance with the method described. Preparation of libraries and amplicon sequencing of marker variable region V3–V4 of bacterial 16S rRNA genes was performed with MiSeq device (Illumina, USA) according to manufacturer's standard protocol. Filtering readings by quality and their taxonomic classification were carried out using QIIME version 1.9.0 software. The assessment of statistical differences in abundance of taxonomic units among the groups of patients was performed using IBM SPSS Statistics 23.1 software.

As a result, we have identified significant differences in the abundance of seven genera among the groups of patients with different forms of the disease. We identified about 40 genera constituting 54.8% of the intestinal microbiota, that had a correlation with the clinical manifestations of the disease. These microorganisms might be involved in the pathogenesis of PD and, thus, require more clinical research in the light of emerging new methods of altering microbiotic composition by correcting dysbiosis to improve disease management and outcome.

Key words: Parkinson's disease, microbiome, nonmotor symptoms, neurodegeneration.

REFERENCES

- Lema Tomé C.M. et al. Inflammation and α -synuclein's prion-like behavior in parkinson's disease—is there a link? // *Molecular Neurobiology*. 2012; 47 (2): 561–574.
- Visanji N.P. et al. The prion hypothesis in Parkinson's disease: Braak to the future // *Acta Neuropathologica Communications*. 2013; 1: 2–2.
- Blandini F. Neural and Immune Mechanisms in the Pathogenesis of Parkinson's Disease // *J. Neuroimmune Pharmacol*. 2013; 8 (1): 189–201.
- Illarionov S.N. Конформационные болезни мозга [Conformational disorders of the brain]. Moscow: Yanus-K, 2002: 248 (in Russian).
- Barnum C.J., Tansey M.G. Modeling neuroinflammatory pathogenesis of Parkinson's disease // *Progress in Brain Research*. 2010; 184: 113–132.
- Niranjan R. The role of inflammatory and oxidative stress mechanisms in the pathogenesis of Parkinson's disease: focus on astrocytes // *Mol. Neurobiol*. 2014; 49 (1): 28–38.
- Klingelhoefer L., Reichmann H. Pathogenesis of Parkinson disease [mdash] the gut-brain axis and environmental factors // *Nat. Rev. Neurol*. 2015; 11 (11): 625–636.
- Svensson E. et al. Vagotomy and subsequent risk of Parkinson's disease // *Annals of Neurology*. 2015; 78 (4): 522–529.
- Del Tredici K., Braak H. Lewy pathology and neurodegeneration in premotor Parkinson's disease // *Mov. Disord*. 2012; 27 (5): 597–607.
- Cersosimo M. et al. Gastrointestinal manifestations in Parkinson's disease: prevalence and occurrence before motor symptoms // *J. Neurol*. 2013; 260 (5): 1332–1338.
- Pfeiffer R.F. Gastrointestinal dysfunction in Parkinson's disease // *Parkinsonism & Related Disorders*. 17 (1): 10–15.
- Tillisch K. The effects of gut microbiota on CNS function in humans // *Gut Microbes*. 2014; 5 (3): 404–410.
- Mao Y.-K. et al. Bacteroides fragilis polysaccharide A is necessary and sufficient for acute activation of intestinal sensory neurons // *Nat. Commun*. 2013; 4: 1465.
- Barrett E. et al. γ -Aminobutyric acid production by culturable bacteria from the human intestine // *Journal of Applied Microbiology*. 2012; 113 (2): 411–417.
- Bhargava P., Mowry E. Gut Microbiome and Multiple Sclerosis // *Curr. Neurol. Neurosci Rep*. 2014; 14 (10): 1–8.

16. Ochoa-Repáraz J. et al. Induction of a regulatory B. cell population in experimental allergic encephalomyelitis by alteration of the gut commensal microflora // *Gut Microbes*. 2010; 1 (2): 103–108.
17. Scheperjans F. et al. Gut microbiota are related to Parkinson's disease and clinical phenotype // *Mov. Disord*. 2015; 30 (3): 350–358.
18. Goetz C.G. et al. Movement Disorder Society Task Force report on the Hoehn and Yahr staging scale: status and recommendations. The Movement Disorder Society Task Force on rating scales for Parkinson's disease // *Movement Disorders*. 2004; 19 (9): 1020–1028.
19. World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki. Ethical principles for medical research involving human subjects // *Bulletin of the World Health Organization*. 2001; 79 (4): 373–374.
20. Goetz C.G. et al. Movement Disorder Society-sponsored revision of the Unified Parkinson's Disease Rating Scale (MDS-UPDRS): Scale presentation and clinimetric testing results // *Movement Disorders*. 2008; 23 (15): 2129–2170.
21. Egshatyan L. et al. Gut microbiota and diet in patients with different glucose tolerance // *Endocrine Connections*. 2016; 5 (1): 1–9.
22. Caporaso J.G. et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data // *Nature Methods*. 2010; 7 (5): 335–336.
23. DeSantis T.Z. et al. Greengenes, a Chimera-Checked 16S rRNA Gene Database and Workbench Compatible with ARB // *Applied and Environmental Microbiology*. 2006; 72 (7): 5069–5072.
24. Ritari J. et al. Improved taxonomic assignment of human intestinal 16S rRNA sequences by a dedicated reference database // *BMC Genomics*. 2015; 16 (1): 1–10.
25. Paulson J.N. et al. Differential abundance analysis for microbial marker-gene surveys // *Nat. Meth*. 2013; 10 (12): 1200–1202.
26. Jiang H. et al. Altered fecal microbiota composition in patients with major depressive disorder // *Brain, Behavior and Immunity*. 2015; 48: 186–194.
27. Stasi C. et al. Altered neuro-endocrine-immune pathways in the irritable bowel syndrome: the top-down and the bottom-up model // *J. Gastroenterol*. 2012; 47 (11): 1177–1185.
28. Finegold S. et al. Clinical importance of *Bilophila wadsworthia* // *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 1992; 11 (11): 1058–1063.
29. Summanen P.H. et al. *Bilophila wadsworthia* Isolates from Clinical Specimens // *Clinical Infectious Diseases*. 1995; 20 (Supplement 2): 210–211.
30. Joyce S.A., Gahan C.G.M. The gut microbiota and the metabolic health of the host // *Current Opinion in Gastroenterology*. 2014; 30 (2).
31. Del Chierico F. et al. Mediterranean diet and health: food effects on gut microbiota and disease control // *International Journal of Molecular Sciences*. 2014; 15 (7).
32. Erickson A.R. Characterization of the human host gut microbiome with an integrated genomics / Proteomics Approach. 2011.
33. Mondot S. et al. Structural robustness of the gut mucosal microbiota is associated with Crohn's disease remission after surgery // *Gut*. 2016; 65 (6): 954–962.
34. Ino K. et al. Bacteremia due to *Leuconostoc pseudomesenteroides* in a patient with acute lymphoblastic leukemia: case report and review of the literature // *Case Reports in Hematology*. 2016; 2016: 7648628.
35. Davin-Regli A., Pagus J.-M. *Enterobacter aerogenes* and *Enterobacter cloacae*; versatile bacterial pathogens confronting antibiotic treatment // *Frontiers in Microbiology*. 2015; 6: 392.
36. Konikoff T., Gophna U. *Oscillospira*: A central, enigmatic component of the human gut microbiota // *Trends in Microbiology*. 24 (7): 523–524.
37. Duncan S.H. et al. *Oxalobacter formigenes* and its potential role in human health // *Applied and Environmental Microbiology*. 2002; 68 (8): 3841–3847.

Received September 18.2016

Accepted December 01.2016

Tyakht Alexandr V., PhD, Senior Researcher, Laboratory of Bioinformatics, RIPCМ, Moscow, Russian Federation.

Alifirova Valentina M., MD, Professor, Head of the Neurology and Neurosurgery Department, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Zhukova Natalia G., MD, Professor, Neurology and Neurosurgery Department, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Zhukova Irina A., PhD, Associate Professor, Neurology and Neurosurgery Department, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Latypova Alina V., Neurology Resident, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Izboldina Olga P., Post-graduate Student, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Petrov Vyacheslav A., Junior Researcher, Central Research Laboratory, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Mironova Yulia S., Post-graduate Student, Neurology and Neurosurgery Department, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Nikitina Maria A., Post-graduate Student, Neurology and Neurosurgery Department, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Titova Marina A., PhD, Associate Professor, Neurology and Neurosurgery Department, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Kostryukova Elena S., PhD, Head of Laboratory Postgenomics Research in Biology, RIPCМ, Moscow, Russian Federation.

Dorofeeva Yulia B., Junior Researcher, Central Research Laboratory, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Saltykova Irina V., PhD, Researcher, Central Research Laboratory, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Sazonov Alexey E., MD, Deputy Vice-rector, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation.

(✉) **Zhukova Irina A.**, e-mail: irzhukova@inbox.ru