

## МОДЕЛИРОВАНИЕ СИНДРОМА ПАРКИНСОНИЗМА У КРЫС ВВЕДЕНИЕМ ЛИПОПОЛИСАХАРИДА

<sup>1</sup>Бойко А. В. (aboika@tut.by), <sup>2</sup>Гладкова Ж. А. (gladkova\_z@mail.ru),

<sup>2</sup>Кузнецова Т. Е. (tania\_k@mail.ru),

<sup>1</sup>Пономарев В. В. (professor.ponomarev@gmail.com)

<sup>1</sup>ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования», Минск, Беларусь

<sup>2</sup>ГНУ «Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси», Минск, Беларусь

*Введение.* Нейровоспаление, возможно, участвует в развитии нейродегенерации при болезни Паркинсона (БП).

*Цель работы.* Изучить возможность получения морфологически подтвержденной модели синдрома паркинсонизма у крыс через 30 суток интраназального (и/н) введения липополисахарида (ЛПС) *Escherichia coli*.

*Материал и методы.* Опыты проведены на крысах-самцах линии Wistar. Ежедневно 30 дней и/н основной группе животных ( $n=7$ ) вводили ЛПС в концентрации 1 мкг/мл, а контрольной группе ( $n=7$ ) – воду для инъекций. Через 30 суток после начала эксперимента осуществляли забор головного мозга на морфологическое исследование.

*Результаты.* Различий в моторной активности у крыс основной и контрольных групп не выявлено. Обнаружены выраженные нейродегенеративные и воспалительные изменения черной субстанции, распространяющиеся на область стриатума.

*Выводы.* Получена нейровоспалительная модель домотормой стадии синдрома паркинсонизма.

**Ключевые слова:** нейровоспаление, нейродегенерация, болезнь Паркинсона, липополисахарид.

### Введение

Болезнь Паркинсона (БП) – хроническое прогрессирующее нейродегенеративное заболевание из группы синуклеинопатий, для которого характерно накопление внутриклеточных белковых включений в выживших нейронах: тельца Леви (Lewy bodies, LBs) и нейриты Леви (Lewy neurites, LNs). Этиология заболевания до конца не известна. Считается, что мутации некоторых молекул, таких как  $\alpha$ -синуклеин, паркин и убиквитин С терминальная гидролаза L1 (ubiquitin C terminal hydrolase L1) коррелируют с ранним началом БП и семейными случаями БП, которые представляют собой лишь очень небольшую часть заболеваемости, в то время как большинство случаев БП (спорадической БП), как полагают, связаны с токсинами окружающей среды, митохондриальной дисфункцией и окислительным стрессом [1]. Среди разных факторов, которые могут спровоцировать БП, данные о возможном участии воспаления в мозге вызвали большой научный и практический интерес. Некоторые клинические исследования свидетельствуют об увеличении активированной микроглии и высоких уровнях воспалительных факторов (таких как фактор некроза опухоли- $\alpha$ , интерлейкин-1 $\beta$  и оксид азота) в nigrostriatalной системе при смертных исследованиях мозга пациентов с БП [2]. В то же время начало БП в некоторых случаях ассоциируется с травмой головы или энцефалитом, что также свидетельствует об участии воспалительного компонента в развитии заболевания. Кроме того, в мозге животных с моделью БП были обнаружены многочисленные примеры активирования микроглии и высокие уровни воспалительных факторов [3, 4]. Показано также, что использование противовоспалительных препаратов ослабляет токсин-индуцированную БП [4]. Все эти

исследования указывают на участие воспаления в нейродегенерации, связанной с БП.

Липополисахарид (ЛПС), эндотоксин, продуцируемый грамотрицательными бактериями, является сильным индуктором воспаления. Инъекция ЛПС в substantia nigra (SN) [5] или стриатум [6] может вызвать воспаление в головном мозге и индуцировать нейродегенерацию дофаминовых (ДА) нейронов. Такое свойство позволяет его использовать в качестве альтернативного инструмента при создании моделей животных с синдромом паркинсонизма (ПС). Эти модели демонстрируют клиническую симптоматику, аналогичную фенотипу пациентов с БП, таких как брадикинезия и потеря дофаминергических нейронов в черной субстанции, однако исследования с использованием данных моделей не могли объяснить роль воспаления в возникновении БП. Это может быть связано с тем, что инъекции ЛПС могут непосредственно повреждать nigrostriatalную систему. Следовательно, потеря дофаминергических нейронов в SN этих моделей может быть вызвана не только воспалением, для которого не характерно избирательное повреждение дофаминергических нейронов, имеющее место при БП. Ряд исследователей считают [7], что ЛПС, являясь мощным стимулятором микроглии, может быть использован для того, чтобы привести к отсроченной, прогрессирующей и селективной дегенерации nigrostriatalных дофаминергических нейронов у грызунов, которая имеет сходные черты с нейродегенерацией при БП. Полагают [8], что механизм, лежащий в основе интраназальной ЛПС-индуцированной нейродегенерации дофаминергических нейронов, может быть в первую очередь обусловлен нейровоспалением в nigrostriatalной области. Так как ЛПС не оказывает прямого влияния на нейроны из-за отсутствия у них функцио-

нальной экспрессии Toll-подобного рецептора 4 (TLR4), являющегося необходимым для активирования глии, особенно микроглии, для высвобождения широкого спектра воспалительных и нейротоксических факторов (оксид азота (NO), активные формы кислорода (ROS), IL-1 $\beta$ , IL-6 и TNF- $\alpha$ , а также циклооксигеназы-2 (COX-2)) [9]. Исследование He Q. и соавт. [10] подтвердило активацию микроглии и высвобождение TNF- $\alpha$  и IL-1 $\beta$  в SN у мышей после хронического интраназального (и/н) воздействия ЛПС. Другой работой [11] также показано снижение моторной активности, уровня нейротрансмиттеров и экспрессии тирозингидроксилазы у мышей под влиянием ЛПС. Отсутствие прямого влияния ЛПС на нейроны делает его отличным инструментом для изучения воспалительной опосредованной дофаминергической нейродегенерации.

Однако до сих пор остается открытым вопрос о сроках начала формирования нейродегенеративных изменений, индуцированных воздействием ЛПС. При этом создание легко воспроизводимых и доступных для широкого круга исследователей моделей ПС *in vivo* и *in vitro*, описывающих по возможности наиболее полно этиологию и патогенез БП – актуальная задача неврологии на современном этапе развития науки ввиду неуклонного роста частоты заболевания.

**Цель работы:** изучить возможность получения морфологически подтвержденной модели синдрома паркинсонизма у крыс через 30 суток и/н введения ЛПС.

#### **Материал и методы**

Опыты проведены на крысах-самцах линии Wistar массой тела 320-350 г (n=14). Животных содержали в стандартных условиях вивария (температура воздуха 23 $\pm$ 1 $^{\circ}$ C, вентиляционный режим 30 мин/ч) при свободном доступе к воде и пище, на одинаковом рационе в соответствии с нормами содержания лабораторных животных, с соблюдением светового и шумового режимов. Эксперимент начинали в одно и то же время суток – утром, учитывая хронобиологическую зависимость большинства физиологических и биохимических процессов в организме крысы. Индивидуальная идентификация – окраска разных участков шерстного покрова спиртовым раствором пикриновой кислоты. Все манипуляции с животными выполнены с учетом рекомендаций Европейской конвенции о гуманном обращении с лабораторными животными [12]. Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом (протокол № 3 от 02.10.2017 г.).

Липополисахарид *Escherichia coli* (ЛПС, 0111: B4, List Biological Laboratories, Campbell, CA; lot № LPS-25E, концентрация 1 мг/мл) и растворитель (воду для инъекций (ОАО «Боримед»)) инстиллировали в объеме 20 мкл (по 10 мкл в каждую носовую полость) ежедневно в одно и то же время в течение 30 дней. Основной группе животных и/н вводили ЛПС в концентрации 1 мг/мл (n=7), контрольной группе – воду для инъекций (n=7). Ежедневно осуществляли

контроль активности животных и визуальные изменения неврологического статуса. Через 30 суток после начала эксперимента у двух животных из каждой группы после декапитации проводили забор биологического материала (головной мозг) с последующим морфологическим исследованием. Для этого нефиксированный мозг после глубокого замораживания (для исключения артефактов) помещали на криостатный блок. Срезы мозга толщиной 7 мкм готовили на микротоме-криостате HM 525 (производитель «Mісrom», Германия). Уровень срезов определяли по стереотаксическому атласу мозга крысы [13]. Фронтальные срезы, содержащие стриатум, делали на уровне -1,20 – -1,40 мм от bregma. Содержащие черную субстанцию – от -5,40 до -5,80 мм от bregma. Для светооптического исследования срезы окрашивали тионином и метиленовым синим по Нисслю и гематоксилин-эозином. Изучение микропрепаратов и изготовление микрофотографий проводили с помощью микроскопа Altamі LUM-1 с цифровой камерой и программным обеспечением при  $\times$ 400 увеличении объектива.

#### **Результаты и обсуждение**

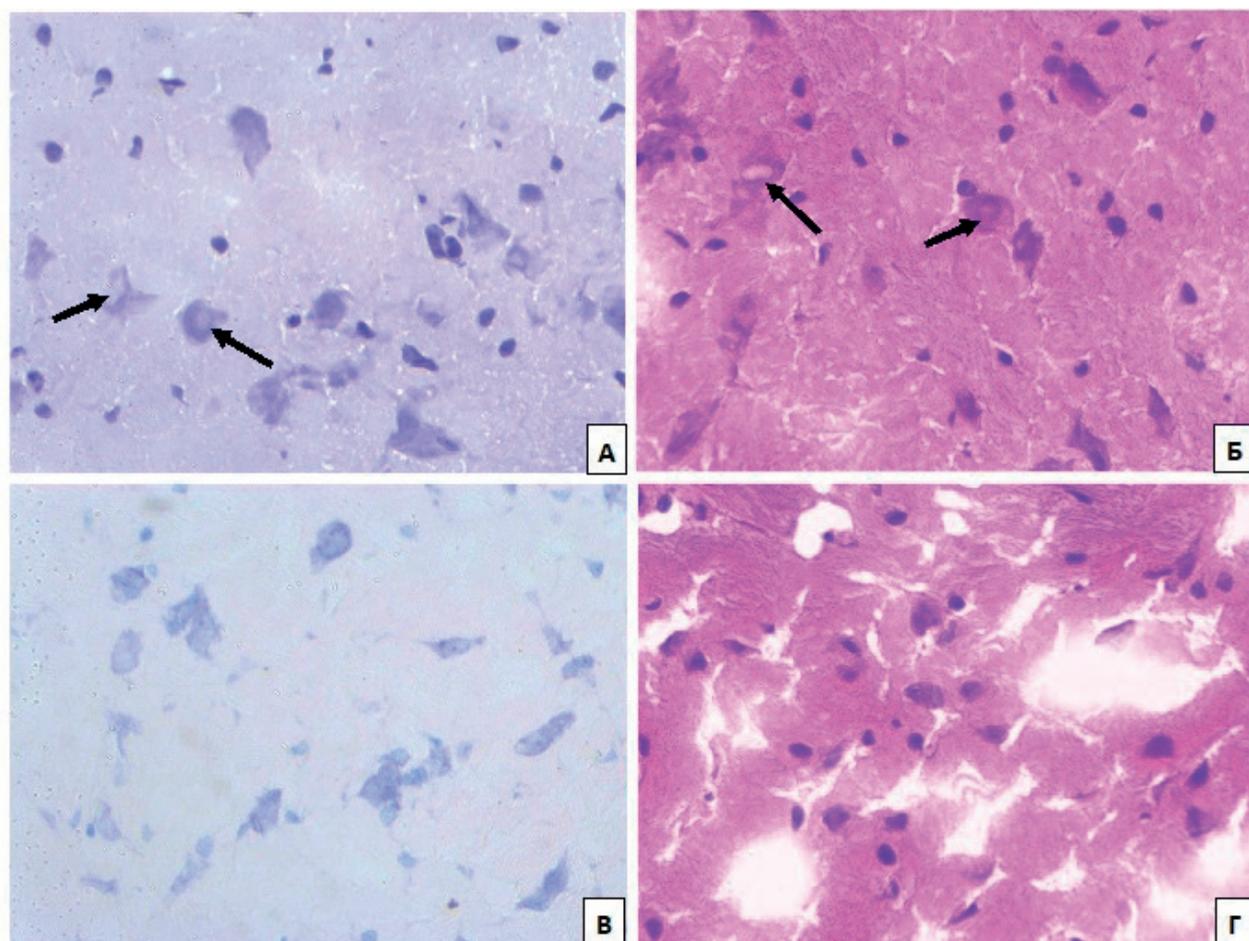
Через месяц после начала инстиллирования не выявлено различий в клинических характеристиках моторной активности крыс основной и контрольных групп. В течение всего эксперимента и через 10 дней после его окончания не зафиксировано гибели животных.

**Морфологические данные.** Через 1 месяц после интраназального введения LPS в дозе 1 мг/кг/мл в компактной части черной субстанции наблюдались значительные изменения гистоструктуры. Большинство нейронов имело те или иные признаки нейродегенерации. Выявлялась вакуолизация ядер и цитоплазмы нервных клеток (рис. 1А, Б). Отмечался тигролиз нейронов. Вблизи деструктивно измененных нейронов определялись небольшие скопления глиальных клеток.

Нейродегенеративные изменения наблюдались и в стриатуме. Большинство нейронов было гипохромно, ядро и ядрышко в них не определялись (рис. 1В). В некоторых участках стриатума начинает развиваться перичеселлюлярный отек (рис. 1Г). Отмечено некоторое увеличение числа глиальных элементов.

Таким образом, интраназальное введение ЛПС в дозе 1 мг/кг/мл через 1 месяц вызывало выраженные нейродегенеративные и воспалительные изменения гистоструктуры черной субстанции головного мозга крысы, распространяющиеся и на область стриатума.

У крыс контрольной группы введение воды для инъекций не приводило к выраженным структурным изменениям в нигростриатной системе головного мозга крыс. В черной субстанции головного мозга крысы не выявлено структурных изменений нейронов (рис. 2А). Преобладали нормохромные клетки симметричной формы с равномерно распределенной тигроидной субстанцией. Их ядра имели округлую



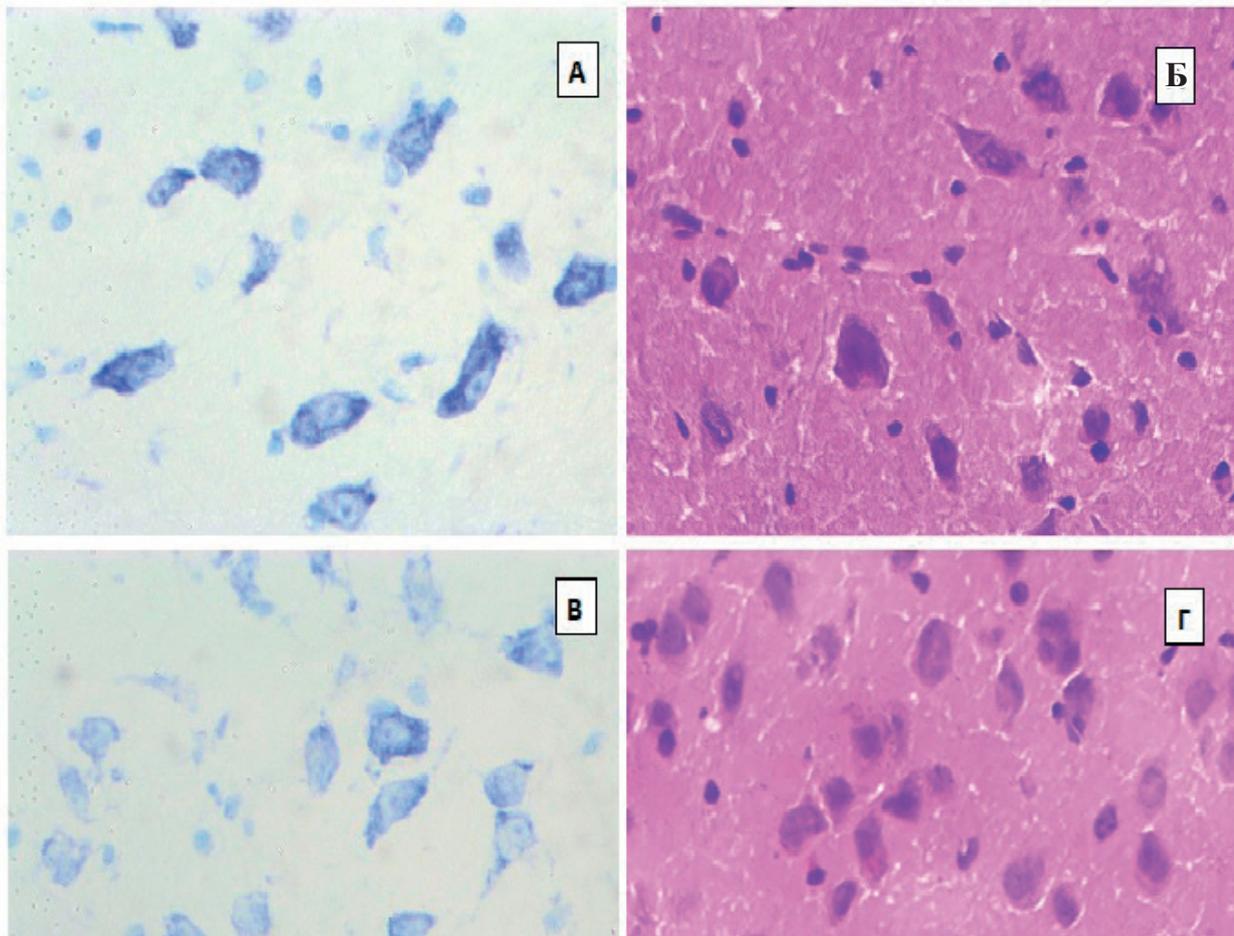
**Рисунок 1.** – Микрофото фронтальных срезов черной субстанции (А, Б) и стриатума (В, Г) через 1 месяц после интраназального введения LPS в дозе 1 мкг/кг/мл. Стрелки – вакуолизация цитоплазмы нейрона.  
Окраска: по Нислю (А, В), гематоксилин-эозином (Б, Г). Увеличение: ×400

форму, с крупными ядрышками, располагавшимися обычно в центре ядра. В малом количестве обнаруживались гиперхромные и гипохромные нейроны. В отдельных полях зрения встречались единичные нейроны с тигролизом. Аналогичная картина наблюдалась и в области базальных ядер (рис. 2Б).

Наши данные согласуются с результатами китайских исследователей [10], которые создали хроническую прогрессирующую модель ПС у мышей путем и/н инстилляций ЛПС в дозе 10 мкг через день в течение 5 месяцев у 8-месячных мышей C57/B6. Авторы обнаружили прогрессирующую гипокинезию (на первом и третьем месяце различия в результатах оценки гипокинезии не имели статистической значимости), избирательную потерю дофаминергических нейронов и снижение содержания DA в стриатуме, а также накопление и агрегацию  $\alpha$ -синуклеина в SN. В нашей модели развитие нейродегенеративных изменений было морфологически зафиксировано уже через месяц после начала инстилляций ЛПС. Отсутствие клинических симптомов ПС у животных основной группы в нашей работе и развитие статистически значимой олигобрадикинезии по результатам тестирования только через пять месяцев от начала инстилляций

ЛПС в эксперименте китайских исследователей хорошо согласуются с этапностью развития моторной симптоматики при БП, а именно, наличием досимптомной/домоторной стадии заболевания. Данный факт позволяет нам рекомендовать применение короткого срока введения ЛПС (30 дней) для получения синдрома паркинсонизма у лабораторных животных и использования данных моделей в практических целях.

Последние четыре десятилетия широко используются модели животных для исследования этиологии и патогенеза нейродегенеративных процессов. Эти модели, основанные на системном или местном (внутричерепном) введении различных веществ, реплицируют большинство фенотипических и патологических особенностей БП. Тем не менее, они недостаточно адекватно представляют наборы клинических и патогенетических характеристик, которые наблюдаются при БП человека [14]. В течение последних нескольких лет модели БП, индуцированные ЛПС, были получены и исследованы с помощью разных методологических подходов, таких как однократная инъекция в SN, хроническая инфузия в SN, системные инъекции ЛПС, внутриутробная инъекция ЛПС и интрапаллидарная инъекция ЛПС. В этих моделях ЛПС можно обнару-



**Рисунок 2.** – Микрофото фронтальных срезов черной субстанции (А) и стриатума (Б) мозга крысы после введения растворителя. Окраска: по Нислю (А, В), гематоксилин-эозином (Б, Г). Увеличение:  $\times 400$

жить специфическую потерю нейронов SNpc (Substantia Nigra Pars Compacta) и уменьшенное содержание дофамина стриатума [7]. Примечательно, что данные модели БП широко не используются по сравнению с нейротоксическими. Несколько причин могут способствовать этому недостатку популярности:

а) техническая сложность стереотаксической инъекции является сдерживающим фактором для многих лабораторий;

б) требуется много времени, чтобы обнаружить повреждение нигростриатума после однократных инъекций;

с) не сообщалось об обнаружении агрегации белка и экстраинигральной патологии при данном подходе;

д) помимо получения модели ПС, инъекции ЛПС вызывают также системное воспаление и повреждение печени или почек [15].

Перспективным считается исследование и/н воздействия ЛПС на головной мозг, поскольку такой механизм воздействия является прямым путем коммуникации между окружающей средой и мозгом. Воздушно-капельные инфекции, аллергические и загрязняющие вещества могут проникать в мозг через нос, минуя гематоэнцефалический барьер [7]. Недавно высказано пред-

положение, что БП может стать основной причиной расстройства обоняния, при котором потеря запаха развивается годами и предшествует проявлениям двигательных симптомов [16, 17]. Стадийность патологии мозга, связанная со спорадическим БП, указывает на то, что в первую очередь при развитии БП поражается переднее обонятельное ядро. Наличие потери запаха и патологии обонятельной луковицы вместе с доказательством того, что переносимые по воздуху нейротоксины или инфекционные факторы, рассматриваемые как факторы риска заболевания, могут проникать в мозг через слизистую оболочку полости носа, привело к формированию гипотезы обонятельного вектора. Данная гипотеза основывается на том, что нарушения при БП могут быть вызваны или катализированы агентами, которые попадают в мозг непосредственно через носовую полость [18]. При этом считается, что активация микроглии и увеличение провоспалительных факторов способствуют прогрессирующей нейродегенерации дофаминергических нейронов.

К настоящему времени установлено, что до 85% пациентов, страдающих от БП, обнаруживают потерю обонятельной функции в дополнение к классическим моторным симптомам [19].

Одна из возможностей ассоциации между БП и обонятельной дисфункцией заключается в том, что БП может быть вызвана вирусом или химическим агентом, который попадает в ЦНС через носовую полость, активируя иммунный ответ мозга, который и приводит к повреждению нейронов [17]. Анатомически обонятельный нерв уникально уязвим для проникновения экзогенных нейротропных агентов, поскольку обонятельные рецепторные клетки, которые образуют обонятельный нерв, являются нейронами первого порядка, проецируя аксоны непосредственно в мозг без промежуточного синапса. Они проецируют свои аксоны на области мозга, включая diagonal band (HLDB), substantia nigra (SN), dorsal raphe (DR), and locus ceruleus (LC) [18]. Разные авторы сообщили о связи между ринореей и обонянием при БП [20], что свидетельствует о том, что воспаление полости носа может быть связано с патогенезом БП. Было доказано, что и/н воздействие ЛПС индуцирует воспаление дыхательных путей, характеризующееся инфильтрацией нейтрофилов и макрофагов и образованием хемокинов и цитокинов, включая TNF- $\alpha$  [21]. В обонятельном эпителии при воспалении наблюдалась соответствующая потеря обонятельных нейронов [22].

В последнее время высокая частота иммуноположительной  $\alpha$ -синуклеинопатии в обонятельной слизистой была выявлена у пациентов с объективно подтвержденной БП [23], что еще раз подтверждает важность обонятельной зоны при распространении  $\alpha$ -синуклеинопатии у человека. Интраназальный ЛПС впервые попадает на обонятельную луковицу, в которой дофаминергические нейроны представляют собой фракцию клеток, расположенных на самом внешнем (клубочковом) слое, поддерживающем обонятельную чувствительность. По мнению

ряда исследователей, вдыхаемые токсины могут пересечь гематоэнцефалический барьер и вызывать характерные при БП повреждения сначала в обонятельной луковице, которые затем распространяются до SN [18].

Почему воспалительный ответ, полученный из активированной микроглии, особенно воздействует на дофаминергические нейроны в SN? В отличие от нейронов в гиппокампе или коре, эти нейроны демонстрируют повышенную чувствительность к воспалительным стимулам и окислительному стрессу [24] и находятся в области головного мозга, которая, согласно морфологическим данным, имеет самую высокую плотность микроглии. В вентральной области покрышки среднего мозга (VTA) дофаминергические нейроны редко повреждаются, что соответствует данным о том, что у пациентов с БП нейродегенерация происходит в SN, а в классической нейротоксической модели с метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин (МФТП) изменения не могут явно наблюдаться в области VTA [25].

### Выводы

При выполнении работы получена морфологически подтвержденная хроническая модель доклинической стадии синдрома паркинсонизма у крыс, характеризующаяся наличием нейровоспалительных и нейродегенеративных изменений в экстрапирамидной системе. Данная модель может быть легко воспроизведена в лабораторных условиях и использована для изучения как этиологии и патогенеза БП, так и для создания новых методических подходов при лечении этого заболевания. Результаты нашего эксперимента независимо подтверждают наличие нейровоспалительного триггера в развитии нейродегенерации при БП.

### Литература

1. Mouradian, M. M. Recent advances in the genetics and pathogenesis of Parkinson disease / M. M. Mouradian // *Neurology*. – 2002. – Vol. 58, № 2. – P. 179-185.
2. Brain beta 2-microglobulin levels are elevated in the striatum in Parkinson's disease / M. Mogi [et al.] // *J. Neural Transm. Park. Dis. Dement. Sect.* – 1995. – Vol. 9, № 1. – P. 87-92.
3. Microglial and astrocytic involvement in a murine model of Parkinson's disease induced by 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) / M. Kohutnicka [et al.] // *Immunopharmacology*. – 1998. – Vol. 39, № 3. – P. 167-180.
4. Inhibition of microglial activation by the herbal flavonoid baicalin attenuates inflammation-mediated degeneration of dopaminergic neurons / F. Q. Li [et al.] // *J. Neural Transm.* – 2005. – Vol. 112, № 3. – P. 331-347. – doi: 10.1007/s00702-004-0213-0.
5. Triptolide protects dopaminergic neurons from inflammation-mediated damage induced by lipopolysaccharide intranigral injection / H. F. Zhou [et al.] // *Neurobiol. Dis.* – 2005. – Vol. 18, № 3. – P. 441-449. – doi: 10.1016/j.nbd.2004.12.005.
6. Intrastratial lipopolysaccharide injection induces parkinsonism in C57/B6 mice / R. L. Hunter [et al.] // *J. Neurosci. Res.* – 2009. – Vol. 87, № 8. – P. 1913-1921. – doi: 10.1002/jnr.22012.
7. Dutta, G. The lipopolysaccharide Parkinson's disease animal model: mechanistic studies and drug discovery / G. Dutta, P. Zhang, B. Liu // *Fundam. Clin. Pharmacol.* – 2008. – Vol. 22, № 5. – P. 453-464. – doi:10.1111/j.1472-8206.2008.00616.x.
8. Activation of innate immunity in the CNS triggers neurodegeneration through a Toll-like receptor 4-dependent pathway / S. Lehnardt [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2003. – Vol. 100, № 14. – P. 8514-8519. – doi:10.1073/pnas.1432609100.
9. Mechanisms underlying inflammation in neurodegeneration / C. K. Glass [et al.] // *Cell.* – 2010. – Vol. 140, № 6. – P. 918-934. – doi:10.1016/j.cell.2010.02.016.
10. Intranasal LPS-mediated Parkinson's model challenges the pathogenesis of nasal cavity and environmental toxins / Q. He [et al.] // *PLoS One.* – 2013. – Vol. 8, № 11. – P. e78418. – doi: 10.1371/journal.pone.0078418.
11. The establishment of a mouse model of Parkinson's disease induced by intranasal administration of LPS / G. B. Song [et al.] // *J. Neurol. Sci.* – 2017. – Vol. 381 (suppl.).

- P. 198-199. – <https://doi.org/10.1016/j.jns.2017.08.568>.
12. European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes, 18 March 1986 [Electronic resource]. – Mode of access: <https://rm.coe.int/168007a67b>. – Date of access: 28.11.2018.
  13. Paxinos, G. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates / G. Paxinos, C. Watson. – 5th ed. – Amsterdam: Elsevier Academic Press, 2004. – 209 p.
  14. Blandini, F. Animal models of Parkinson's disease / F. Blandini, M. T. Armentero // *FEBS J.* – 2012. – Vol. 279, № 7. – P. 1156-1166. – doi:10.1111/j. 1742-4658.2012.08491.x.
  15. T-5224, a selective inhibitor of c-Fos/activator protein-1, attenuates lipopolysaccharide-induced liver injury in mice / S. Izuta [et al.] // *Biotechnol. Lett.* – 2012. – Vol. 34, № 12. – P. 2175-2182. – doi: 10.1007/s10529-012-1022-4.
  16. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease / H. Braak [et al.] // *Neurobiol. Aging.* – 2003. – Vol. 24, № 2. – P. 197-211. doi:10.1016/ S0197-4580(02)00065-9.
  17. Tonelli, L. H. Airborne inflammatory factors: "from the nose to the brain" / L. H. Tonelli, T. T. Postolache // *Front. Biosci. (Schol. Ed.)*. – 2010. – Vol. 2. – P. 135-152.
  18. Doty, R. L. The olfactory vector hypothesis of neurodegenerative disease: is it viable? / R. L. Doty // *Ann. Neurol.* – 2008. – Vol. 63, № 1. – P. 7-15. –doi:10.1002/ana.21327.
  19. Olfactory function in Parkinson's disease subtypes / M. B. Stern [et al.] // *Neurology.* – 1994. – Vol. 44, № 2. – P. 266-268. – doi:10.1212/WNL.44.2.266.
  20. Friedman, J. H. Rhinorrhea and olfaction in Parkinson disease / J. H. Friedman, M. M. Amick, K. L. Chou // *Neurology.* – 2008. – Vol. 70, № 6. – P. 487-489. – doi:10.1212/01.wnl.0000279380.25130.ce.
  21. Exposure to endotoxins during sensitization prevents further endotoxin-induced exacerbation of airway inflammation in a mouse model of allergic asthma / C. Delayre-Orthez [et al.] // *Int. Arch. Allergy Immunol.* – 2005. – Vol. 138, № 4. – P. 298-304. – doi: 10.1159/000088867.
  22. Acquisition of an olfactory associative task triggers a regionalized down-regulation of adult born neuron cell death / S. Sultan [et al.] // *Front. Neurosci.* – 2011. – Vol. 5. – P. 52. – doi: 10.3389/fnins.2011.00052.
  23. Neuropathologic analysis of Lewy-related alpha-synucleinopathy in olfactory mucosa / S. Funabe [et al.] // *Neuropathology.* – 2013. – Vol. 33, № 1. – P. 47-58. – doi: 10.1111/j.1440-1789.2012.01329.x.
  24. Block M. L. Microglia-mediated neurotoxicity: uncovering the molecular mechanisms / M. L. Block, L. Zecca, J. S. Hong // *Nat. Rev. Neurosci.* – 2007. – Vol. 8, № 1. – P. 57-69. – doi: 10.1038/nrn2038.
  25. The substantia nigra of the human brain. II. Patterns of loss of dopamine-containing neurons in Parkinson's disease / P. Damier [et al.] // *Brain.* – 1999. – Vol. 122, pt. 8. – P. 1437-1448. – doi:10.1093/brain/ 122.8.1437.
  1. Mouradian MM. Recent advances in the genetics and pathogenesis of Parkinson disease. *Neurology.* 2002;58(2):179-185.
  2. Mogi M, Harada M, Kondo T, Riederer P, Nagatsu T. Brain beta 2-microglobulin levels are elevated in the striatum in Parkinson's disease. *J. Neural Transm. Park. Dis. Dement. Sect.* 1995;9(1):87-92.
  3. Kohutnicka M, Lewandowska E, Kurkowska-Jastrzebska I, Czlonkowski A, Czlonkowska A. Microglial and astrocytic involvement in a murine model of Parkinson's disease induced by 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP). *Immunopharmacology.* 1998;39(3):167-180.
  4. Li FQ, Wang T, Pei Z, Liu B, Hong JS. Inhibition of microglial activation by the herbal flavonoid baicalein attenuates inflammation-mediated degeneration of dopaminergic neurons. *J. Neural Transm.* 2005;112(3):331-347. doi:10.1007/s00702-004-0213-0.
  5. Zhou HF, Liu XY, Niu DB, Li FQ, He QH, Wang XM. Triptolide protects dopaminergic neurons from inflammation-mediated damage induced by lipopolysaccharide intranigral injection. *Neurobiol. Dis.* 2005;18(3):441-449. doi: 10.1016/j.nbd.2004.12.005.
  6. Hunter RL, Cheng B, Choi DY, Liu M, Liu S, Cass WA, Bing G. Intrastratial lipopolysaccharide injection induces parkinsonism in C57/B6 mice. *J. Neurosci. Res.* 2009;87(8):1913-1921. doi: 10.1002/jnr.22012.
  7. Dutta G, Zhang P, Liu B. The lipopolysaccharide Parkinson's disease animal model: mechanistic studies and drug discovery. *Fundam. Clin. Pharmacol.* 2008;22(5):453-464. doi:10.1111/j.1472-8206.2008.00616.x.
  8. Lehnardt S, Massillon L, Follett P, Jensen FE, Ratan R, Rosenberg PA, Volpe JJ, Vartanian T. Activation of innate immunity in the CNS triggers neurodegeneration through a Toll-like receptor 4-dependent pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2003;100(14):8514-8519. doi:10.1073/pnas.1432609100.
  9. Glass CK, Saijo K, Winner B, Marchetto MC, Gage FH. Mechanisms underlying inflammation in neurodegeneration. *Cell.* 2010;140(6):918-934. doi:10.1016/j.cell.2010.02.016.
  10. He Q, Yu W, Wu J, Chen C, Lou Z, Zhang Q, Zhao J, Wang J, Xiao B. Intranasal LPS-mediated Parkinson's model challenges the pathogenesis of nasal cavity and environmental toxins. *PLoS One.* 2013;8(11):e78418. doi: 10.1371/journal.pone.0078418.
  11. Song GB, Xi GP, Li YH, Li KJ, Liu JC, Chai Z, Huang JJ, Xiao BG, Zhang GX, Ma CG. The establishment of a mouse model of Parkinson's disease induced by intranasal administration of LPS. *J. Neurol. Sci.* 2017;381(Suppl):198-199. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2017.08.568>.
  12. European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes; 1986 mar 18 [Internet]. Available from: <https://rm.coe.int/168007a67b>.
  13. Paxinos G, Watson C. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. 5th ed. Amsterdam: Elsevier Academic Press; 2004. 209 p.
  14. Blandini F, Armentero MT. Animal models of Parkinson's disease. *FEBS J.* 2012;279(7):1156-1166. doi:10.1111/j.1742-4658.2012.08491.x.
  15. Izuta S, Ueki M, Ueno M, Nishina K, Shiozawa S, Maekawa N. T-5224, a selective inhibitor of c-Fos/activator protein-1, attenuates lipopolysaccharide-induced liver injury in mice. *Biotechnol. Lett.* 2012;34(12):2175-2182. doi: 10.1007/s10529-012-1022-4.
  16. Braak H, Del Tredici K, Rüb U, de Vos RA, Jansen Steur EN, Braak E. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol. Aging.* 2003;24(2):197-211. doi:10.1016/ S0197-4580(02)00065-9.
  17. Tonelli LH, Postolache TT. Airborne inflammatory factors: "from the nose to the brain". *Front. Biosci. (Schol.*

### References

1. Mouradian MM. Recent advances in the genetics and pathogenesis of Parkinson disease. *Neurology.* 2002;58(2):179-185.
2. Mogi M, Harada M, Kondo T, Riederer P, Nagatsu T. Brain beta 2-microglobulin levels are elevated in the striatum in Parkinson's disease. *J. Neural Transm. Park. Dis.*

- Ed.*). 2010;2:135-152.
18. Doty RL. The olfactory vector hypothesis of neurodegenerative disease: is it viable? *Ann. Neurol.* 2008;63(1):7-15. doi:10.1002/ana.21327.
  19. Stern MB, Doty RL, Dotti M, Corcoran P, Crawford D, McKeown DA, Adler C, Gollomp S, Hurtig H. Olfactory function in Parkinson's disease subtypes. *Neurology.* 1994;44(2):266-268. doi:10.1212/WNL.44.2.266.
  20. Friedman JH, Amick MM, Chou KL. Rhinorrhea and olfaction in Parkinson disease. *Neurology.* 2008;70(6):487-489. doi:10.1212/01.wnl.0000279380.25130.ce.
  21. Delayre-Orthez C, Becker J, de Blay F, Frossard N, Pons F. Exposure to endotoxins during sensitization prevents further endotoxin-induced exacerbation of airway inflammation in a mouse model of allergic asthma. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2005;138(4):298-304. doi: 10.1159/000088867.
  22. Sultan S, Lefort JM, Sacquet J, Mandairon N, Didier A. Acquisition of an olfactory associative task triggers a regionalized down-regulation of adult born neuron cell death. *Front. Neurosci.* 2011;5:52. doi: 10.3389/fnins.2011.00052.
  23. Funabe S, Takao M, Saito Y, Hatsuta H, Sugiyama M, Ito S, Kanemaru K, Sawabe M, Arai T, Mochizuki H, Hattori N, Murayama S. Neuropathologic analysis of Lewy-related alpha-synucleinopathy in olfactory mucosa. *Neuropathology.* 2013;33(1):47-58. doi: 10.1111/j.1440-1789.2012.01329.x.
  24. Block ML, Zecca L, Hong JS. Microglia-mediated neurotoxicity: uncovering the molecular mechanisms. *Nat. Rev. Neurosci.* 2007;8(1):57-69. doi: 10.1038/nrn2038.
  25. Damier P, Hirsch EC, Agid Y, Graybiel AM. The substantia nigra of the human brain. II. Patterns of loss of dopamine-containing neurons in Parkinson's disease. *Brain.* 1999;122(Pt 8):1437-1448. doi:10.1093/brain/122.8.1437.

## MODELING OF PARKINSONISM SYNDROME IN RATS BY THE ADMINISTRATION OF LIPOPOLYSACCHARIDE

<sup>1</sup>Boika A. V., <sup>2</sup>Hladkova Zh. A., <sup>2</sup>Kuznetsova T. Ye, <sup>1</sup>Ponomarev V. V.

<sup>1</sup>Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk, Belarus

<sup>2</sup>Institute of Physiology of the National Academy of Sciences, Minsk, Belarus

---

*Neuroinflammation may be involved in the development of neurodegeneration in Parkinson's disease (PD).*

*Objective.* To study the possibility of obtaining a morphologically confirmed model of parkinsonism syndrome in rats after 30 days of intranasal (i/n) administration of Lipopolysaccharide (LPS) *Escherichia coli*.

*Material and methods.* Experiments were carried out on male rats of the Wistar line. Animals of the main group (n=7) were injected i/n LPS at a concentration of 1 µg / ml, and the control group (n=7) was administered water for injection daily for 30 days. Thirty days after the start of the experiment, the brain was taken for morphological examination.

*Results.* No differences in the motor activity of the rats in the main and control groups were detected. Expressed neurodegenerative and inflammatory changes of the black substance, which spread to the area of the striatum, were found.

*Conclusions.* The neuroinflammatory model of the premotor stage of Parkinson's syndrome was obtained.

**Keywords.** Neuroinflammation, neurodegeneration, Parkinson's disease, lipopolysaccharide.

---

Поступила: 25.09.2018

Отрецензирована: 31.10.2018