

Т. Н. Сергеева¹, В. Н. Николенко^{2,3}, Ю. Н. Кузнецова¹, В. Г. Сергеев^{1,4}

ДЛИТЕЛЬНОЕ БАКТЕРИОФАГАЛЬНОЕ ИНФИЦИРОВАНИЕ КИШЕЧНОЙ МИКРОБИОТЫ ВЫЗЫВАЕТ СНИЖЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ АЛЬФА-СИНУКЛЕИНА В КЛЕТКАХ ПАНЕТА У КРЫС

¹ Кафедра физиологии, клеточной биологии и биотехнологии (зав. — д-р биол. наук В. Г. Сергеев), ФГБОУ ВО «Удмуртский государственный университет»; ² кафедра анатомии человека (зав. — проф. В. Н. Николенко), ФГАУ ВО «Первый МГМУ им. И. М. Сеченова» Минздрава РФ (Сеченовский Университет); ³ кафедра нормальной и топографической анатомии (зав. — проф. В. Н. Николенко), ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова»; ⁴ учебно-экспериментальная лаборатория (зав. — д-р биол. наук В. Г. Сергеев), ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия»

Цель — исследовать интенсивность экспрессии белка альфа-синуклеина клетками Панета у крыс в норме и условиях длительного бактериофагального инфицирования микробиоты.

Материал и методы. Экспериментальные исследования проведены на 12 половозрелых крысах-самцах линии Вистар массой 280–320 г. Крысам основной группы (n=7) еженедельно на протяжении 12 нед ректально вводили 0,5 мл раствора, содержащего смесь бактериофагов против 14 патогенов человека (Microgen, Россия). Однократная доза вводимой бактериофагальной смеси содержала $0,5 \times 10^6$ ед./мл каждого фага. Животные контрольной группы (n=5) получали по аналогичной схеме 0,5 мл стерильного изотонического раствора натрия хлорида. После интракардиальной перфузии отбирали фрагменты проксимального отдела подвздошной кишки на уровне 1–3 см выше илеоцекального соединения. Серийные криостатные срезы кишечника использовали для окрашивания гематоксилином — эозином и выявления иммуноPOSITИВНОГО альфа-синуклеина при помощи моноклональных мышинных антител (Sigma-Aldrich, USA) и коммерческого набора, содержащего авидин-биотин-пероксидазный комплекс (ABC Elite; Vector Laboratories, Burlingame, CA).

Результаты. Длительное бактериофагальное инфицирование приводило к значимому снижению относительно контроля количества клеток, иммуноPOSITИВНЫХ к альфа-синуклеину. В клетках Панета значимо снижались площади, занимаемые иммунореактивным продуктом к альфа-синуклеину и ацидофильными гранулами.

Выводы. В апикальных частях клеток Панета, в области локализации ацидофильных гранул детектируется иммуноPOSITИВНЫЙ альфа-синуклеин. Дисбиоз кишечника, вызываемый бактериофагальным инфицированием микробиоты, приводит к гранулярному истощению клеток Панета и снижению экспрессии в них иммунореактивного альфа-синуклеина, что свидетельствует о его вовлеченности в механизмы экскреции.

Ключевые слова: альфа-синуклеин, клетки Панета, бактериофаги, микробиом

Введение. Клетки Панета — специализированные эпителиальные клетки дна либеркюновых крипт тонкой кишки, участвуют во врожденном иммунитете слизистой оболочки кишечника посредством секреции целого спектра антимикробных молекул, таких как лизоцим, α -дефензин, α 1-антитрипсин [5, 9, 11]. Секретируемые антимикробные факторы концентрируются в поверхностном слое слизи, ограничивая количество бактерий на границе слизистой оболочки [16]

и препятствуя их проникновению через кишечный барьер [21].

Секреция клетками Панета бактерицидных факторов может усиливаться при аномальном нарастании бактерий в кишечнике [3] или дисбиозе кишечной микробиоты [22]. В этой связи обращают на себя внимание недавние сообщения о том, что дисбиоз и, как следствие, повышение кишечной проницаемости и воспаление в стенке тонкой кишки могут быть вызваны бактерио-

Сведения об авторах:

Сергеева Татьяна Николаевна (e-mail: tnbio@ya.ru), Кузнецова Юлия Николаевна (e-mail: 1998.kuznetsova.julia@gmail.com), кафедра физиологии, клеточной биологии и биотехнологии, ФГБОУ ВПО «Удмуртский государственный университет», 426034, Россия, г. Ижевск, ул. Университетская, 1 (корп. 1)

Николенко Владимир Николаевич (e-mail: vn.nikolenko@ya.ru), кафедра анатомии человека, ФГАУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), 119991, Россия, Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2е; кафедра нормальной и топографической анатомии человека, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова», 119991, Россия, Москва, Ломоносовский пр., 27, корп. 1

Сергеев Валерий Георгиевич (e-mail: cellbio@ya.ru), кафедра физиологии, клеточной биологии и биотехнологии, ФГБОУ ВО «Удмуртский государственный университет», 426034, Россия, г. Ижевск, ул. Университетская, 1, корп. 1; учебно-экспериментальная лаборатория, ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия», 426034, Россия, г. Ижевск, ул. Коммунаров, 281

фагальным инфицированием микробиоты [19, 20]. Эти работы экспериментально аргументируют представление о том, что бактериофаги, которые ранее не рассматривались в качестве патогенов для млекопитающих, могут быть ответственны за развитие различных патологических состояний организма через посредство индуцирования «болезни микробиоты», которое, в свою очередь, повышает проницаемость кишечника. Учитывая ключевую роль клеток Панета в механизмах антибактериальной защиты, логично полагать, что их активность в условиях бактериофагального инфицирования микробиоты может быть ингибирована, что позволяет кишечным бактериям преодолевать эпителиальный барьер. Однако в настоящее время данные о реакции клеток Панета на индуцируемые в этих условиях изменения микробиоты отсутствуют, что не позволяет считать полными наши знания о патофизиологических механизмах описываемых нарушений и, как следствие, не дает оснований для разработки терапевтических подходов к их коррекции.

Кроме того, остаются не в полной мере изученными внутриклеточные молекулярные механизмы, опосредующие модуляцию секреции клетками Панета бактерицидных веществ при изменении состава микробных сообществ кишечника. Мы предположили, что в процессы контроля секреторной активности клеток Панета может быть вовлечен белок альфа-синуклеин (А-син). Предыдущие исследования А-син в дофаминергических нейронах [2], нейронах гиппокампа [7, 17], хромоаффинных клетках надпочечников [14] и β -клетках поджелудочной железы [10] обосновали представление о том, что этот белок может играть роль негативного регулятора базальной секреции в этих клетках [12]. Однако в доступной литературе мы не обнаружили свидетельств о синтезе детектируемых уровней А-син в клетках Панета, равно как и описаний влияния дисбиоза кишечника на интенсивность его экспрессии. Между тем, данные о роли А-син в процессах реагирования клеток Панета на изменение бактериального состава кишечника могут послужить основой для разработки новых подходов к таргетной терапии с целью нормализации взаимодействия иммунной системы слизистой оболочки и кишечной микрофлоры.

Для ответа на эти вопросы мы провели эксперимент, целью которого стало исследование при помощи иммуногистохимического метода экспрессии А-син клетками Панета в норме и условиях длительного бактериофагального инфицирования микробиоты.

Материал и методы. Экспериментальные исследования проведены на 12 половозрелых крысах-самцах массой 280–320 г, содержащихся в стандартных условиях (12-часовой световой день, свободный доступ к пище и воде) с соблюдением «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденных приказом МЗ СССР № 755 от 12.08.1977 г., Хельсинкской декларации 1975 г. и ее пересмотренного варианта 2000 г. На проведение исследования получено разрешение этического комитета Ижевской государственной медицинской академии (№ 658 от 23.04.2018 г.). В соответствии с поставленной задачей животные были разделены на две группы. Крысам основной группы ($n=7$) еженедельно на протяжении 12 нед ректально вводили 0,5 мл раствора, содержащего смесь бактериофагов против *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Enterococcus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, семи серотипов *Salmonella* и энтеропатогенной *Escherichia coli* различных серогрупп (Microgen, Россия). Однократная доза вводимой бактериофагальной смеси содержала $0,5 \times 10^6$ ед./мл каждого фага. Животные контрольной группы ($n=5$) получали по аналогичной схеме 0,5 мл стерильного изотонического раствора NaCl.

Через 12 нед эксперимента под эфирным наркозом проводили транскардиальную перфузию 4% раствором параформальдегида на забуференном фосфатном буфере (рН 7,4) для последующего гистологического и иммуногистохимического анализа фрагмента тонкой кишки на криостатных срезах. Для исследования отбирали фрагменты проксимального отдела подвздошной (ileum) кишки на репрезентативных уровнях, располагающихся на 1–3 см выше илеоцекального соединения. Получали серийные криостатные поперечные срезы кишечника толщиной 14 мкм, часть из которых окрашивали гематоксилином — эозином, другую часть использовали для выявления иммунопозитивного А-син. Для этого использовали моноклональные мышинные антитела к А-син (1:500; Sigma-Aldrich, USA) и коммерческий набор, содержащий авидин-биотин-пероксидазный комплекс (ABC Elite; Vector Laboratories, Burlingame, CA).

Препараты исследовали с помощью микроскопа Nikon Eclipse E200. На срезах кишечника, полученных от животных каждой из изученных групп при помощи морфометрической программы ImagePro Insight 6.0, подсчитывали количество крипт, содержащих меченые клетки и количество иммунопозитивных клеток в каждой крипте на 20 стандартных площадках со сторонами 600х400 мкм, а также измеряли площадь, занимаемые в клетках дна крипт иммунопозитивным продуктом и ацидофильными гранулами.

Результаты измерений представляли в процентном выражении относительно контроля, который принимали за 100%. Значимость различий между средними значениями оценивали при помощи критерия Манна—Уитни в программе Statistica 10.0.

Результаты исследования. Через 12 нед эксперимента с ректальным введением крысам смеси бактериофагов масса животных основной группы не отличалась от таковой у крыс контрольной группы, которым аналогичным образом вводили стерильный изотонический раствор NaCl. Однако у животных основной группы отмечалась легкая диарея, которая выражалась в выделении крысами мягких, зачастую более светлых (желтоватых, зеленоватых) каловых масс,

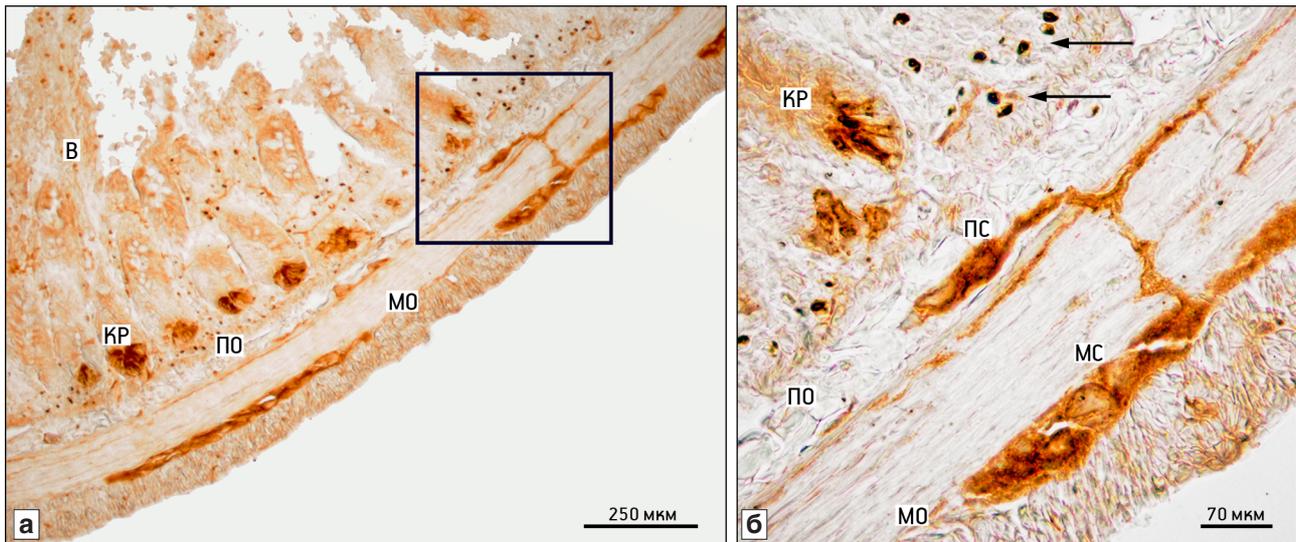


Рис. 1. Локализация иммунореактивного А-син в клетках стенки тонкой кишки крысы в контроле (а), б — увеличенный фрагмент.

Здесь и на рис. 2 и 3: В — ворсина; КР — крипта; ПО — подслизистая основа; МО — мышечная оболочка; ПС — подслизистое сплетение; МС — межмышечное сплетение. Стрелки — клетки с лимфоцитарной морфологией. Об. 40

что может свидетельствовать о развитии в кишечнике воспалительных процессов.

На поперечных срезах тонкой кишки у крыс контрольной группы выявлялись целый ряд иммунопозитивных к А-син структур (рис. 1). В собственной пластинке слизистой оболочки и подслизистой основе мы наблюдали клетки, размеры и морфология которых соответствовали лимфоцитам (см. рис. 1, б).

В подслизистой основе и между слоями мышечной оболочки локализовались меченые крупные нейроны, входящие в состав, соответственно, подслизистых и межмышечных нервных сплетений. Помимо клеточных тел, иммунопозитивная к А-син метка обнаруживалась в нервных отростках, расположенных в подслизистой основе и между мышечными волокнами. Иногда обнаруживались нервные волокна, соединяющие сплетения или проецирующиеся к основанию кишечных крипт (см. рис. 1; 2, а).

На дне кишечных крипт локализовались клетки с интенсивной иммунопозитивной меткой к А-син, которая преимущественно занимала апикальные части клетки. В среднем на одну крипту приходилось 6–8 иммунопозитивных клеток. Гистотопография и наличие в этих клетках плотных скоплений, окрашиваемых эозином, позволили идентифицировать их как клетки Панета. Важно отметить, что иммунопозитивная к А-син метка концентрировалась в той же клеточной области, где локализовались ацидофильные гранулы, на основании чего логично полагать, что, по крайней мере, часть выявляемого

А-син могла быть ассоциирована с секреторными везикулами клеток Панета.

Сравнительный анализ поперечных срезов тонкой кишки у крыс контрольной и основной групп показал значительные различия между ними как в количестве иммунопозитивных к А-син клеток на дне кишечных крипт, так и количестве ацидофильных гранул в этих клетках. Длительное инфицирование микробиоты приводило к значительному снижению количества иммунопозитивных к А-син клеток относительно контроля (см. рис. 2). У контрольных животных на стандартных площадках стенки тонкой кишки площадью 0,24 мм² насчитывалось $37,8 \pm 2,4$ иммунопозитивных клеток, тогда как в эксперименте их количество падало до $11,8 \pm 3,2$ ед. ($p < 0,001$).

Количество меченых клеток в составе крипт сокращалось, в среднем, до 2–3, причем в части крипт меченые клетки не обнаруживались. Пул иммунопозитивных к А-син гранул, о котором судили на основе измерения площадей иммунопозитивного продукта, приходящихся на одну клетку, также значительно сокращался (рис. 3).

Клеточные площади, занятые меченым А-син у крыс основной группы, были меньше таковых у контрольных животных на $84,9 \pm 24,3\%$ ($p < 0,001$). Площадь, занимаемая ацидофильными гранулами в клетках Панета у крыс основной группы, была меньше этого показателя у контрольных животных на $26,4 \pm 14,1\%$ ($p < 0,05$).

Обсуждение полученных данных. Помимо ранее описанной локализации А-син в нейронах энтеральной нервной системы [23]

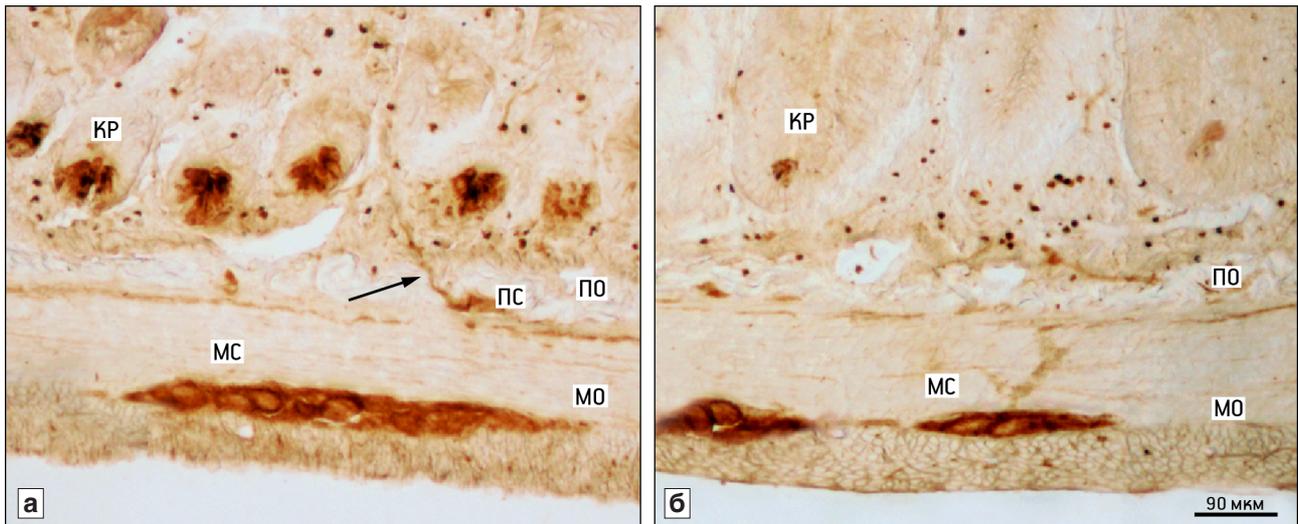


Рис. 2. Снижение количества иммунопозитивных к А-син клеток на дне крипт тонкой кишки после длительного бактериофагального инфицирования микробиоты (б) относительно контрольных животных (а).

Стрелка — отросток нейрона подслизистого сплетения, проецирующийся к основаниям крипт. Об. 40

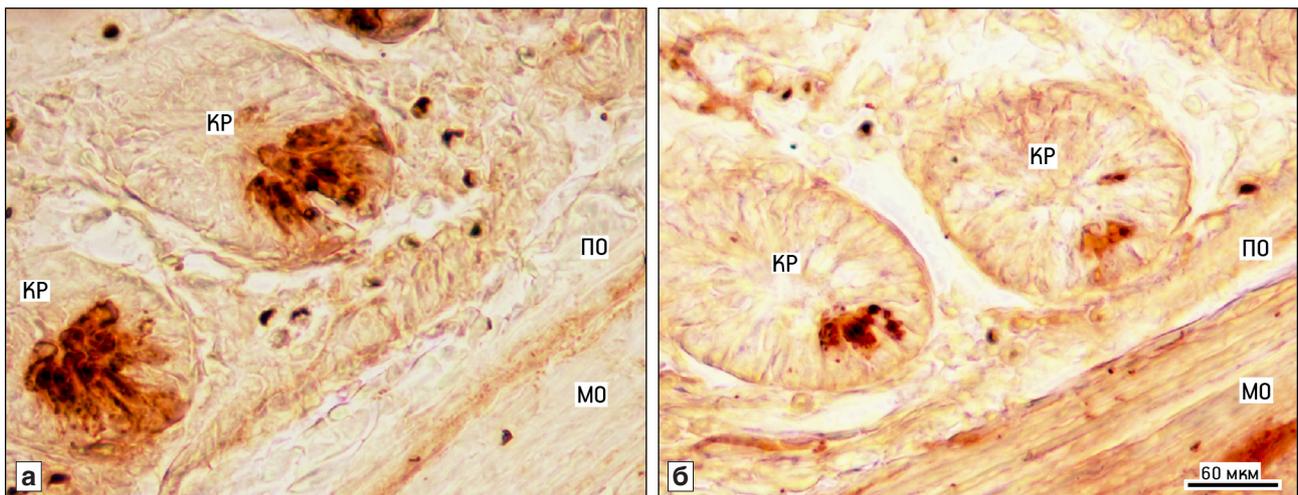


Рис. 3. Уменьшение площади, занимаемой иммунопозитивной к А-син меткой, в клетках дна кишечных крипт после длительного бактериофагального инфицирования микробиоты (б) относительно контроля (а).

Об. 40

и лимфоцитах собственной пластинки слизистой оболочки [1], наше исследование впервые продемонстрировало экспрессию А-син в клетках Панета. До последнего времени этот белок находился в фокусе внимания нейробиологов, поскольку его повышенное производство и олигомеризация в нейронах вызывают развитие болезни Паркинсона и других синуклеопатий [4, 6, 8].

Вместе с тем, растет количество свидетельств о возможности экспрессии А-син клетками других тканей. Что кажется примечательным, многие из них активно синтезируют и секретируют белковые продукты [11, 14]. Выяснено, что в физиологических условиях молекулы А-син встраиваются в стенку транспортных или секреторных

везикул и ингибируют их слияние с цитоплазматической мембраной [12]. Можно предположить, что А-син, выявленный в области концентрации секреторных везикул клеток Панета, аналогичным образом вовлечен в модуляцию процессов экзоцитоза бактерицидных молекул.

Обнаруженное нами количественное снижение оксифильных гранул в клетках Панета в условиях длительного бактериофагального инфицирования микробиоты позволяет предположить, что оно может быть вызвано изменением бактериального состава содержимого кишечника. Описанные изменения могут быть следствием как прямого распознавания клетками Панета нового спектра бактериальных продуктов [21], так и результатом

действия факторов воспаления, которое индуцируется в стенке кишечника в условиях дисбиоза [19, 20].

Это предположение согласуется с ранними наблюдениями о том, что стимуляция изолированных мышечных крипт бактериями приводит к дегрануляции клеток Панета и высвобождению α -дефензинов [3]. Введение новой люминальной флоры крысам, росшим в стерильной среде, индуцирует дегрануляцию клеток Панета [18]. В условиях инфекционного стресса в них редуцируется пул секреторных гранул [13], а при болезни Крона истощение клеток Панета происходит в наиболее воспаленных областях тонкой кишки [15].

Вышеприведенные данные и результаты нашего эксперимента свидетельствуют о том, что длительное бактериофагальное инфицирование микробиоты и, как следствие, интенсивное стимулирование секреции бактерицидных белков в ответ на экспериментально вызванный дисбиоз может приводить к гранулярному истощению клеток Панета. Наблюдаемое в условиях эксперимента падение экспрессии иммунореактивного А-син может отражать активность внутриклеточного механизма снижения экспрессии этого ингибитора экзоцитоза [12]. Вероятно, такой молекулярный механизм активируется в ситуации повышенного спроса на противомикробные защитные молекулы и необходимости увеличения скорости их высвобождения.

Заключение. В апикальных частях клеток Панета, где локализуются ацидофильные гранулы, обнаружен иммунопозитивный альфа-синуклеин.

Дисбиоз кишечника, вызываемый бактериофагальным инфицированием микробиоты, приводит к гранулярному истощению клеток Панета и снижению экспрессии в них иммунореактивного альфа-синуклеина.

Источник финансирования. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 18-015-00177а.

Вклад авторов:

Концепция и дизайн исследования: В. Г. С., В. Н. Н.

Сбор и обработка материала: Т. Н. С., Ю. Н. К.

Статистическая обработка данных: Т. Н. С., Ю. Н. К.

Анализ и интерпретация данных: Т. Н. С., В. Г. С., В. Н. Н.

Написание текста: В. Г. С.

Авторы сообщают об отсутствии в статье конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сергеев В.Г., Танаева М.С., Сергеева Т.Н., Чучков В.М. Влияние бактериофагального инфицирования микробиоты на экспрессию альфа-синуклеина в стенке кишечника крыс // Журнал анатомии и гистопатологии. 2018. Т. 7, № 4. С. 61–66 [Sergeev V.G., Tanaeva M.S., Sergeeva T.N., Chuchkov V.M. Influence of bacteriophage infections of micro-
2. biota on the expression of alpha-synuclein in the rat intestinal wall // Zhurnal anatomii i gistopatologii. 2018. Vol. 7, № 4. P. 61–66. In Russ.].
3. Abeliovich A., Schmitz Y., Farinas I. et al. Mice lacking α -synuclein display functional deficits in the nigrostriatal dopamine system // Neuron. 2000. Vol. 25. P. 239–252.
4. Ayabe T., Satchell D.P., Wilson C.L. et al. Secretion of microbicidal alpha defensins by intestinal Paneth cells in response to bacteria // Nature Immunol. 2000. Vol. 1. P. 113–118.
5. Benskey M.J., Perez R.G., Manfredsson F.P. The contribution of alpha synuclein to neuronal survival and function — Implications for Parkinson's disease // J. Neurochem. 2016. Vol. 137, № 3. P. 331–359.
6. Bevins C.L., Porter E.M., Ganz T. Defensins and innate host defence of the gastrointestinal tract // Gut. 1999. Vol. 45. P. 911–915.
7. Burré J., Sharma M., Südhof T.C. Cell Biology and Pathophysiology of α -Synuclein // Cold Spring Harb. Perspect Med. 2018. Vol. 8, № 3. P. a024091.
8. Fortin D.L., Nemani V.M., Voglmaier S.M. et al. Neural activity controls the synaptic accumulation of α -synuclein // J. Neurosci. 2005. Vol. 25. P. 10913–10921.
9. Gai W.P., Power J.H., Blumbergs P.C. et al. Multiple-system atrophy: A new α -synuclein disease? // Lancet. 1998. Vol. 352. P. 547–548.
10. Ganz T. Paneth cells — guardians of the gut cell hatchery // Nature Immunol. 2000. Vol. 1. P. 99–100.
11. Geng X., Lou H., Wang J. et al. Drain α -Synuclein binds the KATP channel at insulin-secretory granules and inhibits insulin secretion // Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 2011. Vol. 300, № 2. P. 276–286.
12. Ghosh D., Porter E.M., Shen B. et al. Paneth cell trypsin is the processing enzyme for human defensin-5 // Nat. Immunol. 2002. Vol. 3. P. 583–590.
13. Gitler A.D., Shorter J. Prime time for α -synuclein // J. Neurosci. 2007. Vol. 27. P. 2433–2434.
14. Kelly P., Feakins R., Domizio P. et al. Paneth cell granule depletion in the human small intestine under infective and nutritional stress // Clin. Exp. Immunol. 2004. Vol. 135. P. 303–309.
15. Larsen K.E., Schmitz Y., Troyer M.D. et al. α -Synuclein overexpression in PC12 and chromaffin cells impairs catecholamine release by interfering with a late step in exocytosis // J. Neurosci. 2006. Vol. 26. P. 11915–11922.
16. Lewin L. The Paneth cell in disease // Gut. 1969. Vol. 10. P. 804–811.
17. Meyer-Hoffert U., Hornef M.W., Henriques-Normark B. et al. Secreted enteric antimicrobial activity localizes to the mucus surface layer // Gut. 2008. Vol. 57. P. 764–771.
18. Murphy D.D., Rueter S.M., Trojanowski J.Q. et al. Synucleins are developmentally expressed, and α -synuclein regulates the size of the presynaptic vesicular pool in primary hippocampal neurons // J. Neurosci. 2000. Vol. 20. P. 3214–3220.
19. Satoh Y., Vollrath L. Quantitative electron microscopic observations on Paneth cells of germfree and ex-germfree Wistar rats // Anat. Embryol. 1986. Vol. 173. P. 317–322.
20. Tetz G., Tetz V. Bacteriophage infections of microbiota can lead to leaky gut in an experimental rodent model // Gut. Pathog. 2016. Vol. 8. P. 33.

20. Tetz G.V., Ruggles K.V., Zhou H., Heguy A., Tsirigos A., Tetz V. Bacteriophages as potential new mammalian pathogens // *Sci. Rep.* 2017. Vol. 7, № 1. P. 7043.
21. Vaishnav S., Behrendt C.L., Ismail A.S. et al. Paneth cells directly sense gut commensals and maintain homeostasis at the intestinal host-microbial interface // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2008. Vol. 105, № 52. P. 20858–20863.
22. Wang J., Tian F., Wang P. et al. Gut microbiota as a modulator of Paneth cells during parenteral nutrition in mice // *J. Paren. Enter. Nutr.* 2018. Vol. 2, № 8. P. 1280–1287.
23. Yan F., Chen Y., Li M. et al. Gastrointestinal nervous system α -synuclein as a potential biomarker of Parkinson disease // *Medicine (Baltimore).* 2018. Vol. 97, № 28. P. e11337.

Поступила в редакцию 13.05.2019

Получена после доработки 01.10.2019

PROLONGED BAKTERIOPHAGAL INFECTION OF GUT MICROBIOTA REDUCES THE EXPRESSION OF ALPHA-SYNUCLEIN IN THE RAT PANETH CELLS

*T. N. Sergeeva*¹, *V. N. Nikolenko*^{2,3},
*I. N. Kuznetsova*¹, *V. G. Sergeev*^{1,4}

Objective — to investigate the intensity of the alpha — synuclein expression by Paneth cells of rat in normal conditions and prolonged bacteriophage infection of gut microbiota.

Material and methods. Experimental studies were performed on 12 adult Wistar male rats weighting 280–320 g. The rats of the main group (n=7) received rectally a 0,5 ml of solution containing a mixture of bacteriophages directed against 14 human pathogens (Microgen, Russia). The solution was introduced weekly for a period of 12 weeks. Each dose of bacteriophage

mixture contained $0,5 \times 10^6$ units/ml of each phage. Animals of the control group (n=5) received 0,5 ml of sterile physiological saline according to the same scheme. After transcatheter perfusion, specimens of proximal portion of ileum 1–2 cm upstream the ileocecal junction were obtained. Serial cryostat sections were used for hematoxylin and eosin staining and for detection of immunopositive alpha-synuclein by monoclonal mouse antibodies (Sigma-Aldrich, USA) and commercially available kit containing avidin-biotin-peroxidase complex (ABC Elite; Vector Laboratories, Burlingame, CA).

Results. Prolonged bacteriophage infection led to a significant decrease in the number of alpha-synuclein immunopositive cells compared with control. The area of Paneth cells occupied by the alpha synuclein-immunoreactive product and acidophilic granules significantly reduced.

Conclusions. Immunopositive alpha-synuclein was detected in the apical parts of Paneth cells, in the area of acidophilic granules localization. The intestinal dysbiosis caused by bacteriophage infection of microbiota led to granular depletion of Paneth cells and a decrease in the expression of immunoreactive alpha-synuclein in them, which indicates its involvement in excretion mechanisms.

Key words: *alpha-synuclein, Paneth cells, bacteriophages, microbiome*

¹ Department of Physiology, Cell Biology and Biotechnology, Udmurt State University, 1 Universitetskaya St., Izhevsk 426034;

² Department of Human Anatomy, I. M. Sechenov First Moscow State University (Sechenov University), 8 build. 2 Trubetskaya St., Moscow 119991; ³ Department of Normal and Topographical Anatomy, Lomonosov Moscow State University, 27 build. 1 Lomonosovskiy Pr., Moscow 119991; ⁴ Educational and Research Laboratory, Izhevsk State Medical Academy, 281 Kommunarov St., Izhevsk 426034