

ЭФФЕКТ ВВЕДЕНИЯ ПРОБИОТИЧЕСКОЙ БАКТЕРИИ *AKKERMANSIA MUCINIPHILA* В НОРМЕ И ПРИ DSS-ИНДУЦИРОВАННОМ ВОСПАЛЕНИИ У МЫШЕЙ



А.Д. Шейнова^{1,2}, О.А. Подосокорская³, Е.О. Губернаторова⁴

¹ ФГБУН Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия

² Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

³ Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва, Россия

⁴ Центр высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины, Москва, Россия

Резюме. *Akkermansia muciniphila* — грамтрицательная анаэробная бактерия, компонент нормальной кишечной микробиоты человека. Снижение представленности этой бактерии связывают с развитием метаболических нарушений, воспаления кишечника и колоректального рака. Так, пробиотик с *A. muciniphila* одобрен к применению для больных диабетом и ожирением. В последние годы появляются работы, посвященные роли этой бактерии в контроле воспаления кишечника и колоректального рака. Точные механизмы действия *A. muciniphila* остаются не установленными, так, применение различных протоколов введения бактерии показывает разные результаты в мышиных моделях. Ранее мы показали, что *A. muciniphila* по-разному влияет на продукцию муцинов в кишечнике в зависимости от формы перорально вводимой бактерии — живой или пастеризованной. В настоящей работе мы решили выяснить, как доза вводимой бактерии повлияет на чувствительность мышей к индукции острого воспаления кишечника. Для этого мышам дикого типа ежедневно в течение двух недель с помощью зонда вводили в желудок живую *A. muciniphila* в количестве 10^8 CFU или 10^9 CFU. Контрольной группе вводили PBS. После этого у части животных извлекали толстый кишечник и определяли экспрессию генов, связанных с поддержанием гомеостаза в кишечнике, а часть животных подвергали индукции острого колита с добавлением 7% DSS в питьевую воду в течение пяти дней с последующей морфометрической оценкой. Было установлено, что мыши, получавшие высокую дозу *A. muciniphila*, защищены от развития тяжелого колита. При этом RT-PCR анализ на тканях толстого кишечника мышей, получавших высокую дозу бактерии, показал увеличение экспрессии генов, ответственных за поддержание гомеостаза, в частности, антимикробных пептидов, а также IL-17A и IL-17F. Повышение экспрессии молекул, усиливающих барьерные функции кишечника, может сдерживать проникновение микробиоты вглубь тканей и, таким образом, способствовать снижению воспаления при остром колите. Интересно также, что защитный эффект бактерии наблюдался только при введении высокой, но не низкой дозы *A. muciniphila*. Полученные

Адрес для переписки:

Шейнова Анна Дмитриевна
119991, Россия, Москва, ул. Вавилова, 32,
ФГБУН Институт молекулярной биологии
имени В.А. Энгельгардта РАН.
Тел.: 8 (499) 135-23-11. Факс: 8 (499) 135-14-05.
E-mail: isinfo@eimb.ru

Contacts:

Anna D. Sheynova
119991, Russian Federation, Moscow, Vavilova str., 32,
V. Engelhardt Institute of Molecular Biology.
Phone: +7 (499) 135-23-11. Fax: +7 (499) 135-14-05.
E-mail: isinfo@eimb.ru

Для цитирования:

Шейнова А.Д., Подосокорская О.А., Губернаторова Е.О. Эффект введения пробиотической бактерии *Akkermansia muciniphila* в норме и при DSS-индуцированном воспалении у мышей // Инфекция и иммунитет. 2024. Т. 14, № 3. С. 564–568. doi: 10.15789/2220-7619-TEO-16882

Citation:

Sheynova A.D., Podosokorskaya O.A., Gubernatorova E.O. The effect of the probiotic bacteria *Akkermansia muciniphila* in intestinal homeostasis and dss-induced inflammation in mice // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2024, vol. 14, no. 3, pp. 564–568. doi: 10.15789/2220-7619-TEO-16882

Работа выполнена при финансовой поддержке Центра высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины (Соглашение № 075-15-2019-1660).

The study was financially supported by the Centre for High Precision Editing and Genetic Technologies for Biomedicine (Agreement No. 075-15-2019-1660).

© Шейнова А.Д., Подосокорская О.А., Губернаторова Е.О., 2024

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-TEO-16882>

результаты свидетельствуют в пользу защитного эффекта *A. muciniphila* при воспалении кишечника и подчеркивают важность подбора дозы бактерии для корректной интерпретации данных опытов на мышах с экспериментально индуцированными заболеваниями.

Ключевые слова: *Akkermansia muciniphila*, микробиота, воспаление кишечника, DSS колит, пробиотик, анимикробные пептиды.

THE EFFECT OF THE PROBIOTIC BACTERIA *AKKERMANSIA MUCINIPHILA* IN INTESTINAL HOMEOSTASIS AND DSS-INDUCED INFLAMMATION IN MICE

Sheynova A.D.^{a,b}, Podosokorskaya O.A.^c, Gubernatorova E.O.^d

^a Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

^b Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

^c Winogradsky Institute of Microbiology, Research Centre of Biotechnology of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

^d Center for Precision Genome Editing and Genetic Technologies for Biomedicine, Moscow, Russian Federation

Abstract. *Akkermansia muciniphila* is a Gram-negative anaerobic bacterium, a component of the normal human intestinal microbiota. A decrease in the presence of this bacterium is associated with pathologies, including metabolic disorders, intestinal inflammation and colorectal cancer. *A. muciniphila* is a probiotic approved for patients with diabetes and obesity. In recent years, *A. muciniphila* was studied in the control of intestinal inflammation and colorectal cancer. The exact mechanisms of *A. muciniphila* action remain unclear, while the use of different administration protocols shows different effects in mouse models of colitis and colorectal cancer. We reported that *A. muciniphila* has distinct effects on intestinal mucin production depending on viable or pasteurized form of bacteria. Another factor affecting the outcome of the *A. muciniphila* administration is the number of bacteria. To address how the dose of bacteria may affect the severity of acute intestinal inflammation wild-type mice were subjected to daily oral injections with 10^8 CFU or 10^9 CFU of viable *A. muciniphila* for two weeks; the control group was injected with PBS. After that, groups were subjected to the induction of acute colitis by adding 7% DSS to drinking water for five days. 8 days after the onset of colitis induction, a morphometric assessment of the colitis severity was performed. Mice given a high dose of *A. muciniphila* (10^9 CFU) were found to be protected from developing severe colitis. RT-PCR analysis of colon samples from mice receiving a high dose of bacteria showed an increase in the gene expression of antimicrobial peptides, IL-17A, IL-17F. Interestingly, the protective effect of *A. muciniphila* was observed only in a high dose group, but not in a low dose group. Our data suggest that *A. muciniphila* provides the protective effect in colitis and highlight the importance of selecting the dose of the bacterium for proper interpretation.

Key words: *Akkermansia muciniphila*, microbiota, inflammatory bowel disease, DSS colitis, probiotic, antimicrobial peptides.

Введение

Akkermansia muciniphila — грамотрицательная, анаэробная бактерия, входящая в состав комменсальной микробиоты кишечника, использует муцин в качестве источника углерода и азота. Известно, что *A. muciniphila* оказывает иммуномодулирующее воздействие в кишечнике. Так, показано, что *A. muciniphila* увеличивает экспрессию белков плотных контактов в ответ на нарушение целостности эпителия, увеличивает пролиферацию стволовых клеток кишечных крипт, дифференцировку клеток Панета и бокаловидных клеток, что приводит к повышенной продукции слизи [6].

В последние годы появляется все больше данных о защитной роли *A. muciniphila* при нарушении обмена веществ, а также злокачественных новообразованиях, что делает эту бактерию перспективной для использования в качестве пробиотика. Однако на данный момент существуют разногласия относительно влияния *A. muciniphila* на воспалительные заболевания кишечника. Было установлено, что пероральное введение данного микроорганизма как в низких, так и в высоких дозах снижало тяжесть колита [1,

5, 7]. В работе Siwen Qu и соавт., 2021 введение *A. muciniphila* уменьшало инфильтрацию воспалительных клеток и увеличивало количество бокаловидных клеток и экспрессию *Muc2* и *Muc3* [5]. Rui Zhai и соавт., 2021 сообщали о защитной роли *A. muciniphila* в модели колита, индуцированного DSS, их данные свидетельствуют о снижении уровня провоспалительных цитокинов, таких как TNF, IL-6 и IL-1 β в толстом кишечнике у мышей, принимавших *A. muciniphila* [9]. Однако в ряде других работ *A. muciniphila* усугубляла симптомы колита. Например, Chil-sung Kang и соавт., 2013 объясняют более тяжелое течение колита при приеме *A. muciniphila* нарушением кишечного барьера вследствие ускоренного обновления слоя слизи, при этом микробиота приобретает возможность проникать вглубь тканей кишечника и провоцировать воспаление [3].

Ранее мы показали, что *A. muciniphila* по-разному влияет на продукцию муцинов в кишечнике в зависимости от формы перорально вводимой бактерии — живой или пастеризованной [2]. Анализ экспериментальных протоколов приведенных работ позволяет сделать предположение, что еще одним фактором, потенциально влияющим на результат введения, является количество

вводимой бактерии — введение *A. muciniphila* в высоких и низких концентрациях может по-разному воздействовать на барьерные функции кишечника и либо усугублять воспаление, либо ослаблять его. В нашем исследовании мы изучали влияние высоких и низких доз *A. muciniphila* как на наивных мышах, с целью выявить механизмы, при помощи которых данный микроорганизм способен влиять на иммунную систему кишечника в качестве пробиотика, так и в модели острого DSS-индуцированного колита.

Материалы и методы

Животные. Мышей линии C57BL/6 в возрасте 6–9 недель содержали на базе Автономного экспериментально-биологического комплекса для временного размещения и исследования генетически модифицированных линий лабораторных мышей категории SPF при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Соглашение № 075-15-2019-1660). Все манипуляции с животными были выполнены в соответствии с протоколом, утвержденным Комиссией по биоэтике ИМБ РАН (Протокол № 3 от 27.10.2022).

Введение *A. muciniphila*. *A. muciniphila* выращивали в анаэробных условиях на среде с добавлением свиного муцина («Sigma») и гемина («Sigma»). Бактериальный раствор собирали в концентрации $7-8 \times 10^9$ CFU/мл, делили на аликвоты по 1 мл и замораживали при -80°C . Мышей C57BL/6 случайным образом разделяли на три группы по 12 особей, а затем ежедневно перорально вводили PBS, 10^8 CFU *A. muciniphila* или 10^9 CFU *A. muciniphila* в течение 2-х недель. На 14-й день каждую группу делили на две равные подгруппы, состоящие из 6 мышей. Одну подгруппу терминировали на 14-й день, а остальным мышам индуцировали острый колит.

Процессирование кишечника. Группа, получавшая *A. muciniphila* в течение двух недель, была умерщвлена на 14-й день с помощью шейной дислокации. Далее проводили вскрытие брюшной полости и выделяли комплекс, включавший в себя толстый кишечник и слепую кишку. Толстый кишечник и слепую кишку по отдельности промывали PBS с помощью гаважной иглы, а затем отрезали тонкую полоску ткани из каждого отдела для последующего выделения РНК.

Модель острого DSS-индуцированного колита. Индукцию острого колита у мышей осуществляли путем замены питьевой воды на 7% раствор DSS (Thermo Scientific™ Dextran Sulfate Sodium Salt, 40–50 kDa) на пятидневный срок, после чего мышам возвращали питьевую воду на три дня.

На пике заболевания на 8 день мышей умерщвляли, извлекали комплекс, состоящий из толстого кишечника и слепой кишки, а также селезенку и переносили в 6-луночный планшет с раствором PBS на лед. Селезенки взвешивали. Комплекс толстого кишечника и слепой кишки подвергали морфометрической оценке и фотографировали.

Макроскопическая оценка тяжести заболевания. В ходе проведения морфометрической оценки измеряли следующие параметры: длину толстого отдела кишечника, длину слепой кишки и тяжесть индуцированного колита. Тяжесть индуцированного колита оценивали в условных единицах измерения по шкале от 0 до 13, согласно которой 0 баллов присваивали животному без видимых признаков заболевания, а 13 — мышам с наиболее высокой степенью повреждения кишечника. Данное значение включало в себя сумму трех параметров: выраженности ректального кровотечения, также консистенции и структурированности фекалий, а также оценку максимальной потери веса.

Измерение экспрессии генов методом ПЦР в реальном времени. Анализ экспрессии генов проводили для групп, получавших PBS и *A. muciniphila*

Таблица. Последовательности праймеров, использованных для qRT-PCR анализа

Table. Sequences of primers used for qRT-PCR analysis

Ген Gene	Прямая последовательность Forward primer sequence	Обратная последовательность Reverse primer sequence
Actb	CTCCTGAGCGCAAGTACTCTGTG	TAAACGCAGCTCAGTAACAGTCC
Muc1	TCGTCTATTTCTTGCCCTG	ATTACCTGCCGAAACCTCCT
Muc2	CCCAGAAGGGACTGTGTATG	TTGTGTTCGCTCTTGGTCAG
Muc3	TGGTCAACTGCGAGAATGGA	TACGCTCTCCACCAGTTCCCT
Muc4	GTCTCCCATCACGGTTTCAGT	TGTCATTCCACACTCCCAGA
IL-17a	GGACTCTCCACCGCAATGA	GGCACTGAGCTTCCCAGATC
IL-17f	CCTCCCCTGGAGGATAACAC	CATGGGGAAGTGGAGCGGTT
IL-22	TCCGAGGAGTCAGTGCTAAA	AGAACGTCTTCCAGGGTGAA
IL-23	CGGGACATATGAATCTACTAAGAG	GTGTCTCTTGTAGTCTTGTG
Reg3g	ATGGCTCCTATTGCTATGCC	GATGTCCTGAGGGCCTCTT
Reg3b	ATGGCTCCTATTGCTATGCC	GATGTCCTGAGGGCCTCTT
IL-22ra	GAAGGTCGGATTTTCAGTCCA	TGGTCAGGTCACAGAAGAGG
IL-10	CCAGTTTTACCTGGTAGAAGTGATG	TGCTAGGTCCTGGAGTCCAGCAGACTCAA

в низкой и высокой концентрациях, у которых не был индуцирован острый колит. РНК образцов толстого кишечника и слепой кишки подвергали обратной транскрипции для синтеза кДНК с использованием набора для синтеза кДНК RevertAid First Strand (Thermo, США). Измерение экспрессии генов проводили с использованием qPCRmix-HS SYBR (Евроген). Анализ экспрессии генов проводили с использованием Thermo Quant studio 6 и набора праймеров, представленных в табл.

Статистический анализ. Статическую обработку результатов проводили в программе GraphPad Prism 6.0 при помощи t-критерия Стьюдента, однопараметрического или двухпараметрического дисперсионного анализа (ANOVA) для данных, соответствующих нормальному распределению. Для статистического анализа непараметрических данных в случае двух групп был использован тест Манна–Уитни, а при большем количестве групп — тест Краскела–Уолеса. Статистически достоверными считали различия между группами при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Для того, чтобы выяснить, как доза вводимой бактерии влияет на чувствительность мышей к индукции острого воспаления кишечника, мышам дикого типа ежедневно в течение двух недель с помощью желудочного зонда вводили 10^8 CFU или 10^9 CFU живой *A. muciniphila*. Контрольной группе вводили PBS.

После этого часть животных подвергали индукции острого воспаления кишечника добавлением 7% DSS в питьевую воду в течение пяти дней, и через 8 дней после индукции колита проводили морфометрическую оценку тяжести развиваемого заболевания (рис. 1А, II обложка). Оценка тяжести индуцированного колита выявила разницу в восприимчивости к заболеванию у мышей из группы, получавших высокую дозу *A. muciniphila* (10^9 CFU), по сравнению с группой, получавшей низкую дозу (10^8 CFU), и с контрольной группой (PBS). Мыши, получавшие 10^8 CFU *A. muciniphila*, как и мыши из контрольной группы, демонстрировали ярко выраженное разжижение стула и ректальное кровотечение по сравнению с группой, получавшей 10^9 CFU *A. muciniphila* (рис. 1Б, В, II обложка). Морфометрия толстого отдела кишечника и слепой кишки также свидетельствуют о защитной роли высокой дозы *A. muciniphila*. Известно, что в модели острого колита длина как слепой кишки, так и тонкого и толстого отделов кишечника, уменьшается. Наши измерения показывают, что при приеме низкой дозы *A. muciniphila*, а также в контрольной группе, длина толстого отдела кишечника и слепой кишки значительно умень-

шалась по сравнению с группой, получавшей *A. muciniphila* в высокой дозе (рис. 1Д, Е, II обложка). Еще одним маркером системного воспаления в организме служит отношение массы селезенки к весу животного, однако значимых отличий при измерении этого параметра в трех группах мышей обнаружено не было (рис. 1Г, II обложка), что, вероятнее всего, связано с непродолжительностью действия DSS в выбранной модели. Таким образом, данные, полученные в ходе морфометрического анализа, свидетельствуют о том, что прием 10^9 CFU *A. muciniphila* оказывает защитное действие в модели острого DSS-индуцированного колита.

Результаты анализа экспрессии генов в толстом кишечнике в подгруппе наивных мышей, без индукции острого колита, также свидетельствуют о защитном эффекте высокой дозы *A. muciniphila*. Так как один из иммуномодулирующих механизмов *A. muciniphila* связан с дифференцировкой клеток Панета, нами были измерены уровни экспрессии антимикробных пептидов, продуцируемых главным образом этим типом клеток. Оказалось, что прием высокой дозы бактерии (10^9 CFU) способствовал выработке пептидов Reg3 γ и Reg3 β в толстой и слепой кишке (рис. 2А, III обложка). Еще один механизм, поддерживающий барьерные функции кишечника — выработка муцинов — также может подвергаться изменениям под действием муцинередуцирующей *A. muciniphila*. Нами было установлено, что при непродолжительном введении в течение двух недель *A. muciniphila* не изменяет достоверно уровень экспрессии основных муцинов в кишечнике (рис. 2Б, III обложка).

Результаты ряда исследований свидетельствуют о важной роли микробиоты в поддержании баланса в кишечнике между воспалением в ответ на патогенные сигналы и толерантностью к комменсальным микроорганизмам [4, 8]. Для определения влияния *A. muciniphila* на регуляцию воспаления нами был измерен уровень цитокинов, продуцируемых, преимущественно, ROR γ ⁺ клетками — IL-17А, IL-17F, IL-23 и IL-22 (рис. 2В, III обложка). Было показано, что уровень экспрессии генов *Il17a*, *Il17f*, но не *Il23* и *Tnf*, достоверно повышался у мышей, получавших *A. muciniphila* в высокой дозе по сравнению с контрольной группой и группой мышей, получавших *A. muciniphila* в низкой дозе. IL-17А необходим для индукции IL-22, который регулирует пролиферацию стволовых клеток эпителия кишечника, выработку слизи и антимикробных пептидов. Несмотря на то, что выявить достоверную разницу в относительной экспрессии *Il22* нам не удалось, на уровне тенденции количество *Il22* повышалось в группе, принимавшей *A. muciniphila* в высокой концентрации, по сравнению с остальными группами. В то же время

экспрессия гена *Il22ra2*, кодирующего белок-гомолог растворимого рецептора IL-22, повышалась в группе мышей, получавшей высокую дозу бактерии. Данный механизм, с одной стороны, может способствовать снижению доступного IL-22 в этой группе мышей, а с другой, дополнительно свидетельствовать о влиянии *A. muciniphila* на поддержание гомеостаза кишечника.

Заключение

На сегодняшний день в литературе отсутствует консенсус по поводу роли *A. muciniphila* в модели острого колита: одни работы демонстрируют защитную роль муцинредуцирующей *A. muciniphila*, в то время как другие показывают усугубление течения заболевания, опосредованное приемом этой бактерии. Полученные нами данные позволяют предположить, что пероральное введение *A. muciniphila* в высокой (10^9 CFU), но не в низ-

кой (10^8 CFU) дозе способно защищать мышей в модели острого DSS-индуцированного колита, влияя на повышение уровня экспрессии молекул, поддерживающих барьерную функцию кишечника. Таким образом, можно предположить, что снижение воспаления кишечника, опосредованное введением *A. muciniphila*, может способствовать защите от колоректального рака, ассоциированного с воспалением. Тем не менее точные механизмы действия *A. muciniphila* на иммунитет кишечника, в том числе, в контексте воспаления и колоректального рака только предстоит установить. Большинство работ, изучающих эффекты введения этой бактерии, сосредоточено на ее влиянии на барьерные функции кишечника, а также адаптивное звено иммунного ответа. Функции же *A. muciniphila* в модуляции миелоидного звена иммунного ответа, а также последствия этой модуляции в контексте воспаления кишечника только предстоит установить.

Список литературы/References

- Chen T., Wang R., Duan Z., Yuan X., Ding Y., Feng Z., Bu F., Liu L., Wang Q., Zhou J., Zhu L., Ni Q., Shi G., Chen Y. Akkermansia muciniphila Protects Against Psychological Disorder-Induced Gut Microbiota-Mediated Colonic Mucosal Barrier Damage and Aggravation of Colitis. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 2021, vol. 11: 723856. doi: 10.3389/fcimb.2021.723856]
- Gubernatorova E.O., Gorshkova E.A., Bondareva M.A., Podosokorskaya O.A., Sheynova A.D., Yakovleva A.S., Bonch-Osmolovskaya E.A., Nedospasov S.A., Kruglov A.A., Drutskaya M.S. Akkermansia muciniphila — friend or foe in colorectal cancer? *Front. Immunol.*, 2023, vol. 14: 1303795. doi: 10.3389/fimmu.2023.1303795]
- Kang C.S., Ban M., Choi E.J., Moon H.G., Jeon J.S., Kim D.K., Park S.K., Jeon S.G., Roh T.Y., Myung S.J., Gho Y.S., Kim J.G., Kim Y.K. Extracellular vesicles derived from gut microbiota, especially Akkermansia muciniphila, protect the progression of dextran sulfate sodium-induced colitis. *PLoS One*, 2013, vol. 8, no. 10: e76520. doi: 10.1371/journal.pone.0076520
- Kruglov A.A., Grivennikov S.I., Kuprash D.V., Winsauer C., Prepens S., Seleznik G.M., Eberl G., Littman D.R., Heikenwalder M., Tumanov A.V., Nedospasov S.A. Nonredundant function of soluble LTalpha3 produced by innate lymphoid cells in intestinal homeostasis. *Science*, 2013, vol. 342, no. 6163, pp. 1243–1246. doi: 10.1126/science.1243364
- Qu S., Fan L., Qi Y., Xu C., Hu Y., Chen S., Liu W., Liu W., Si J. Akkermansia muciniphila Alleviates Dextran Sulfate Sodium (DSS)-Induced Acute Colitis by NLRP3 Activation. *Microbiol. Spectr.*, 2021, vol. 9, no. 2: e0073021. doi: 10.1128/Spectrum.00730-21
- Rodrigues V.F., Elias-Oliveira J., Pereira I.S., Pereira J.A., Barbosa S.C., Machado M.S. G., Carlos D. Akkermansia muciniphila and Gut Immune System: A Good Friendship That Attenuates Inflammatory Bowel Disease, Obesity, and Diabetes. *Front. Immunol.*, 2022, vol. 13: 934695. doi: 10.3389/fimmu.2022.934695
- Wang X., Lin S., Wang L., Cao Z., Zhang M., Zhang Y., Liu R., Liu J. Versatility of bacterial outer membrane vesicles in regulating intestinal homeostasis. *Sci. Adv.*, 2023, vol. 9, no. 11: eade5079 doi: 10.1126/sciadv.ade5079
- Wu H.J., Wu E. The role of gut microbiota in immune homeostasis and autoimmunity. *Gut Microbes*, 2012, vol. 3, no. 1, pp. 4–14. doi: 10.4161/gmic.19320
- Zhai R., Xue X., Zhang L., Yang X., Zhao L., Zhang C. Strain-Specific Anti-inflammatory Properties of Two Akkermansia muciniphila Strains on Chronic Colitis in Mice. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 2019, vol. 9: 239. doi: 10.3389/fcimb.2019.00239

Авторы:

Шейнова А.Д., старший лаборант лаборатории молекулярных механизмов иммунитета ФГБУН Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия; студент магистратуры кафедры иммунологии Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

Подосокорская О.А., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории метаболизма экстремофильных прокариот Института микробиологии им. С.Н. Виноградского ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва, Россия

Губернаторова Е.О., к.б.н., старший научный сотрудник Центра высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины, Москва, Россия.

Authors:

Sheynova A.D., Senior Laboratory Assistant, Laboratory of Molecular Mechanisms of Immunity, Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation; Master's Student of the Department of Immunology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation;

Podosokorskaya O.A., PhD (Biology), Senior Researcher, Extremophiles Metabolism Laboratory, Winogradsky Institute of Microbiology, Research Centre of Biotechnology of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation;

Gubernatorova E.O., PhD (Biology), Senior Researcher, Center for Precision Genome Editing and Genetic Technologies for Biomedicine, Moscow, Russian Federation.

Поступила в редакцию 03.04.2024

Принята к печати 04.04.2024

Received 03.04.2024

Accepted 04.04.2024

Иллюстрация к статье «Эффект введения пробиотической бактерии *Akkermansia muciniphila* в норме и при DSS-индуцированном воспалении у мышей» (авторы: А.Д. Шейнова, О.А. Подсокорская, Е.О. Губернаторова) (с. 564–568)

Illustration for the article “The effect of the probiotic bacteria *Akkermansia muciniphila* in intestinal homeostasis and DSS-induced inflammation in mice” (authors: Sheynova A.D., Podosokorskaya O.A., Gubernatorova E.O.) (pp. 564–568)

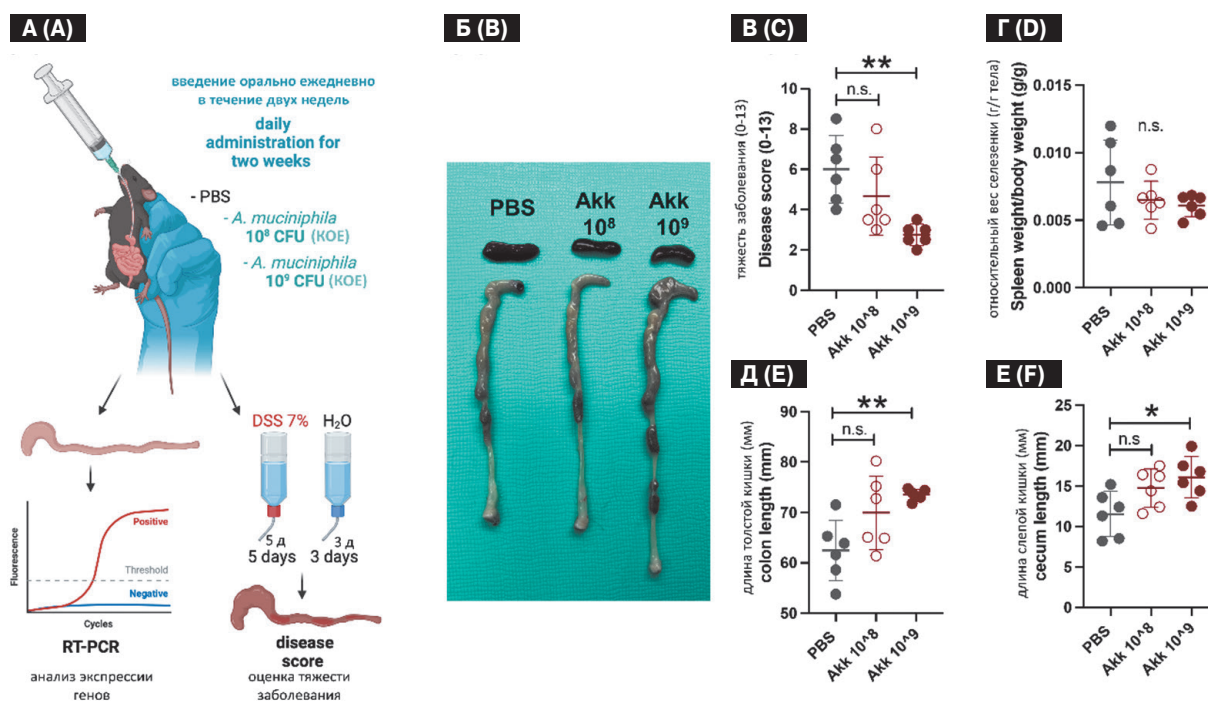


Рисунок 1. Пероральное введение *A. muciniphila* в дозе 10⁹ CFU защищает мышей от индукции острого колита
Figure 1. Oral administration of *A. muciniphila* at a dose of 10⁹ CFU protects mice from the induction of acute colitis

Примечание. А. Схема эксперимента по определению влияния *A. muciniphila* на чувствительность к индукции острого колита. Мышей разделяли на три группы по 12 особей, а затем ежедневно перорально вводили PBS, 10⁸ CFU *A. muciniphila* или 10⁹ CFU *A. muciniphila* в течение 2-х недель. На 14-й день 6 особей из каждой группы терминировали, из комплекса толстой и слепой кишки выделяли РНК и проводили анализ экспрессии генов. Оставшихся мышей подвергали индукции острого колита добавлением 7% DSS в питьевую воду в течение пяти дней, на 8-й день после начала индукции колита животных терминировали и проводили морфометрическую оценку тяжести заболевания. Б. Репрезентативное фото комплекса толстого кишечника и слепой кишки. В. Оценка тяжести индуцированного колита (0–13), рассчитываемая как сумма выраженности ректального кровотечения и консистенции фекалий. Г. Отношение веса селезенки к весу мыши. Д. Длина толстого кишечника. Е. Длина слепой кишки у мышей, принимавших PBS, 10⁸ CFU *A. muciniphila* и 10⁹ CFU *A. muciniphila* на 8-й день после цикла DSS. *p < 0,05, **p < 0,01, n.s. (non-significant) — недостоверная разница. Данные представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения.

Note. A. Design of experiment to determine the effect of *A. muciniphila* on sensitivity of acute colitis. Mice were divided into three groups of 12 and then given PBS, 10⁸ CFU *A. muciniphila*, or 10⁹ CFU *A. muciniphila* orally daily for 2 weeks. On day 14, 6 individuals from each group were sacrificed, RNA was isolated from the colon tissues, and gene expression analysis was performed. The remaining mice were subjected to the induction of acute colitis by adding 7% DSS to drinking water for five days; on the 8th day after the onset of colitis induction, the animals were sacrificed and the disease score was performed. B. Representative photo of the colon and cecum complex. C. Disease score (0–13), calculated as the sum of the severity of rectal bleeding and the consistency of feces. D. Ratio of spleen weight to mouse weight. E. Length of the large intestine. F. Length of the cecum in mice treated with PBS, 10⁸ CFU *A. muciniphila*, and 10⁹ CFU *A. muciniphila* on day 8 after the DSS cycle. *p < 0.05, **p < 0.01, n.s. (non-significant) — unreliable difference. Data are presented as mean and standard deviation.

Иллюстрация к статье «Эффект введения пробиотической бактерии *Akkermansia muciniphila* в норме и при DSS-индуцированном воспалении у мышей» (авторы: А.Д. Шейнова, О.А. Подосокорская, Е.О. Губернаторова) (с. 564–568)

Illustration for the article “The effect of the probiotic bacteria *Akkermansia muciniphila* in intestinal homeostasis and DSS-induced inflammation in mice” (authors: Sheynova A.D., Podosokorskaya O.A., Gubernatorova E.O.) (pp. 564–568)

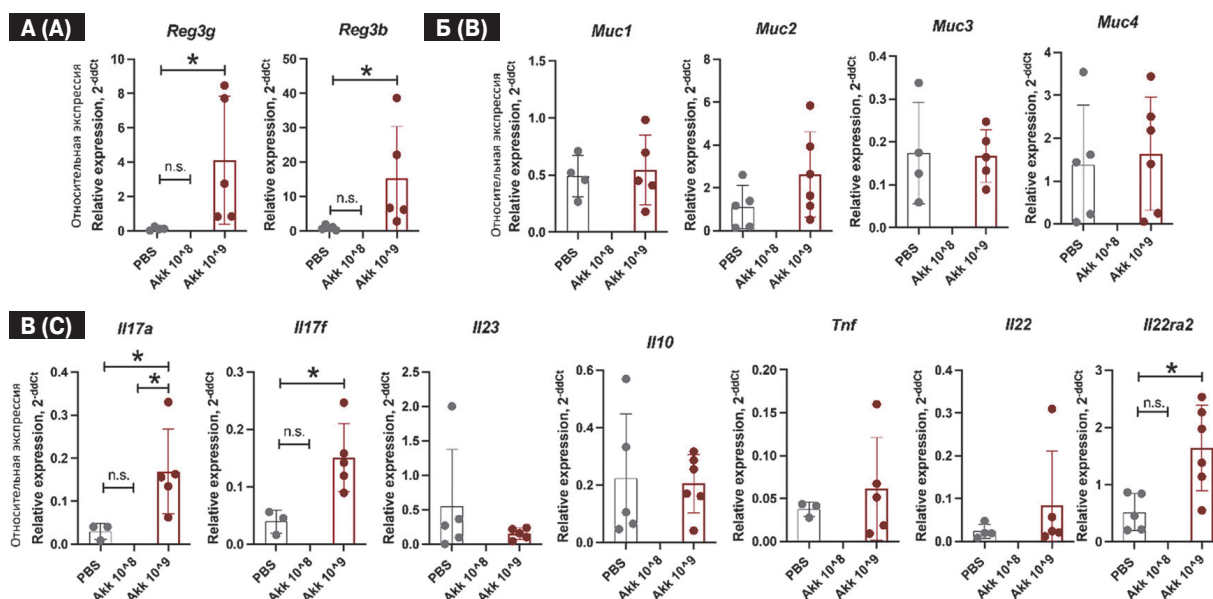


Рисунок 2. У мышей, принимавших *A. muciniphila* в высокой дозе, повышается экспрессия генов, поддерживающих барьерную функцию кишечника

Figure 2. Mice given a high dose of *A. muciniphila* increase the expression of genes that support intestinal barrier function

Примечание. Уровень экспрессии А) *Reg3b*, *Reg3g*, Б) *Muc1*, *Muc2*, *Muc3*, *Muc4*, В) *Il17a*, *Il17f*, *Il23*, *Il10*, *Tnf*, *Il22*, *Il22ra2* относительно *Actb* у мышей в группах, принимавших PBS, низкую (10^8 CFU) и высокую (10^9 CFU) дозы *A. muciniphila*. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, n.s. (non-significant) — недостоверная разница. Данные представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения.

Note. Expression level of А) *Reg3b*, *Reg3g*, Б) *Muc1*, *Muc2*, *Muc3*, *Muc4*, С) *Il17a*, *Il17f*, *Il23*, *Il10*, *Tnf*, *Il22*, *Il22ra2* relative to *Actb* in mice in groups treated with PBS, low (10^8 CFU) and high (10^9 CFU) dose of *A. muciniphila*. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, n.s. (non-significant) — unreliable difference. Data are presented as mean and standard deviation.