

ИЗМЕНЕНИЯ КИШЕЧНОЙ МИКРОБИОТЫ МЫШЕЙ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ УЛЬТРАЗВУКОВОГО СТРЕССА

С.Ю. Карабанов*, А.А. Кибиткина

ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН
109316, Российская Федерация, Москва, ул. Талалихина, 26

Изучено влияние ультразвукового стресса на состав кишечной микробиоты мышей линии C57BL/6. Показано, что воздействие такого вида стресса смещает состав кишечной микробиоты в сторону фирмикутов на уровне филума, на уровне семейства наблюдается повышение *Lachnospiraceae* на 67,43%, *Rikenellaceae* — на 39,29%, а также снижение *Bacteroidaceae* на 64,75%, *Prevotellaceae* — на 38,51%. Наибольшие изменения под воздействием стресса выявлены на уровне рода: из 28 идентифицированных родов значительные изменения фиксировали в 13.

Ключевые слова: кишечная микробиота, ультразвуковой стресс, мыши C57BL/6

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Источники финансирования: НИР FNEN-2019-0008 государственного задания ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр пищевых систем им. В.М. Горбатова».

Для цитирования: Карабанов С.Ю., Кибиткина А.А. Изменения кишечной микробиоты мышей под воздействием ультразвукового стресса *Биомедицина*. 2022;18(3):18–21. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-18-21>

Поступила 01.03.2022

Принята после доработки 18.03.2022

Опубликована 10.09.2022

CHANGES IN THE GUT MICROBIOTA OF MICE UNDER THE ACTION OF ULTRASONIC-INDUCED STRESS

Sergey Yu. Karabanov*, Anastasiya A. Kibitkina

V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of RAS
109316, Russian Federation, Moscow, Talalikhina Str., 26

The effect of ultrasound-induced stress on the gut microbiota composition of C57BL/6 mice was studied. Under the action of this type of stress, the gut microbiota composition shifts towards firmicutes at the phylum level. At the family level, an increase in *Lachnospiraceae* by 67.43%, *Rikenellaceae* by 39.29%, as well as a decrease in *Bacteroidaceae* by 64.75% and *Prevotellaceae* by 38.51%. is observed. The most prominent changes under the action of stress were revealed at the genus level: out of 28 identified genera, significant changes were recorded in 13.

Keywords: gut microbiota, ultrasound-induced stress, C57BL/6 mice

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

Funding: the research topic No. FNEN-2019-0008 of the state assignment of the V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of the Russian Academy of Sciences.

For citation: Karabanov S.Yu., Kibitkina A.A. Changes in the Gut Microbiota of Mice Under the Action of Ultrasonic-induced Stress. *Journal Biomed.* 2022;18(3):18–21. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-18-21>

Submitted 01.03.2022

Revised 18.03.2022

Published 10.06.2022

Введение

На сегодняшний день не вызывает сомнения тот факт, что стресс воздействует на состав кишечной микробиоты. Известно, что кишечная микрофлора, а также продукты её метаболизма способны влиять на некоторые функции организма, такие как синтез гормонов или нейромедиаторов, а также воздействовать на физиологические и поведенческие реакции мозга. Понимание закономерностей изменения кишечной микрофлоры при воздействии стресса может помочь в поиске методов коррекции таких поведенческих изменений. Следует иметь в виду, что исследования влияния стресса на организм в большинстве случаев проводят на мышах, поэтому вопрос о динамике изменения кишечной микрофлоры именно этих лабораторных животных под воздействием стресса является актуальным и недостаточно освещённым.

Цель работы — изучить влияние ультразвукового стресса на кишечную микробиоту мышей.

Материалы и методы

Исследования проводили на самцах мышей линии C57BL/6 конвенционального статуса ($n=20$) в возрасте 42–45 дней массой 12–13 г, приобретённых в питомнике Института биоорганической химии им. акад. Шемякина и Овчинникова РАН. Мышей содержали в клетках из поликарбоната Т-III («Techniplast», Италия), выстланных подстилочным материалом (Lignocel BK 8-15/LIGNOCEL), в группах по 5 особей. Клетки меняли раз в неделю, но не менее чем за 3 дня до поведенческого теста.

Мышей кормили *ad libitum* кормовым составом («Лабораторкорм», Россия), содержали в контролируемых условиях окружающей среды: температура воздуха — 21 ± 2 °C, относительная влажность — 50–60%, с искусственным освещением 12/12. Исследование одобрено биоэтической комиссией ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН. Мыши были разделены случайным образом на две группы: группа 1 ($n=10$) — здоровые интактные мыши; группа 2 (экспериментальная, $n=10$) состояла из мышей, подвергшихся ультразвуковому стрессу (начиная с 8-х сут.) непредсказуемо чередующимися частотами ультразвука в диапазоне от 20–25 до 25–45 кГц. Продолжительность эксперимента — 28 сут. Влияние стресса определяли при помощи поведенческих тестов: на 25-е сут. — тест «Открытое поле»; 26-е сут. — тест «Вынужденное плавание»; 27-е сут. — тест «О-лабиринт». Кишечную микробиоту определяли до эксперимента и на 28-е сут., на основании анализа последовательностей генов *16S* рРНК по протоколу Illumina (*16S* Metagenomic Sequencing Library Preparation).

Результаты и их обсуждение

Сравнительный анализ поведенческих тестов (табл.) выявил некоторые отличия: так, у группы животных, подвергшихся стрессу, время, проведённое в центре арены в тесте «Открытое поле», увеличено на 57,1% ($p=0,024$) по сравнению с интактной группой. В тесте «Вынужденное плавание» отмечено, что время иммобилизации увеличено у экспериментальных животных на 67,68% ($p<0,001$). Результаты обоих тестов указывают на возможный эф-

Таблица. Результаты поведенческого тестирования, полученные на 25–27-й день эксперимента
Table. Summary of behavioral test results obtained on days 25–27 of the experiment

Параметр	Интакт	Стресс
«Открытое поле»		
Время в центре арены, с	15,0 [6,5–25,5]	35,0 [16,0–78,0]*
Время в периферийной зоне, с	345,0 [334,5–353,5]	325,0 [282,0–344,0]*
«Вынужденное плавание»		
Время иммобилизации, с	32,0 [17,0–37,0]	99,0 [89,0–111,0]*
«О-лабиринт»		
Число выходов в открытый участок	15,0 [13,0–23,0]	8,0 [4,0–17,0]
Время первого выхода, с	4,0 [3,0–15,0]	17,0 [6,0–53,0]

Примечание: данные представлены в виде среднего (Me) и межквартильного диапазона (P25–P75), * — $p < 0,05$.
Note: the results are presented as a median (Me) and interquartile range (P25–P75), * — $p < 0.05$.

фект аффективного уплощения [2]. Также отмечена повышенная тревожность в тесте «О-лабиринт» у мышей экспериментальной группы, о чём свидетельствуют полученные результаты: число выходов в открытый участок снижено на 46,67% ($p=0,163$), а время первого выхода увеличено в 4,25 раза ($p=0,059$).

Состав кишечной микробиоты интактных мышей в основном представлен следующими филумами: *Bacteroidetes* (61,5%), *Firmicutes* (34,9%), *Proteobacteria* (2,04%). Воздействие ультразвукового стресса привело к значительному изменению состава кишечной микрофлоры: на уровне филума изменения заключаются в повышении общего количества *Firmicutes* (увеличение на 52,4%), которое связано с увеличением бактерий семейства *Lachnospiraceae* — анаэробных спорообразующих бактерий, ферментирующих различные растительные полисахариды.

На уровне семейства кишечный микробиом интактных мышей в основном представлен *Lachnospiraceae*, *Porphyromonadaceae*, *Bacteroidaceae*, *Prevotellaceae*, *Ruminococcaceae* и *Rikenellaceae*. Согласно нашим данным, это более 95% всех идентифицированных семейств. Под воздействием стресса мы наблюдали следующие изменения: повышение *Lachnospiraceae* на 67,43%

и *Rikenellaceae* — на 39,29%. Также мы наблюдали снижение *Bacteroidaceae* на 64,75%, *Prevotellaceae* — на 38,51%.

Всего на уровне рода нами было идентифицировано 28 вариантов кишечной микробиоты. Среди них (в порядке убывания) — *Bacteroides*, *Alloprevotella*, *Prevotella*, *Alistipes*, *Paraprevotella*, *Ruminococcus*, *Saccharibacteria genera incertae sedis*, *Parasutterella*, *Odoribacter*, *Barnesiella* — занимают более 95%. Воздействие стресса вызвало существенное изменение родового состава кишечной микрофлоры мышей. Исчезли такие роды, как *Ruminococcus*, *Parabacteroides* и *Akkermansia*. Мы наблюдали снижение *Alloprevotella* на 59,16%. При этом свободную нишу заняли такие роды, как *Alistipes*, *Saccharibacteria genera incertae sedis*, *Rikenella* и *Odoribacter*.

Другим эффектом, который мы наблюдали в группе мышей, подвергнутых стрессу, было одновременное снижение бактерий рода *Bacteroides* и увеличение количества клостридий, а также резкое увеличение *Alistipes*. Похожие данные показали другие авторы в работах [5, 6]. Обнаруженный факт позволяет предполагать бактерии рода *Bacteroides*, *Alistipes* и клостридии некими маркерами стресса, но подтвер-

ждение данной гипотезы требует дополнительных исследований.

Нами было отмечено исчезновение таких родов, как *Ruminococcus*, *Lactobacillus*, *Dorea*, *Blautia* и *Rothia*. Данные роды не представляли большого количества от общей популяции микроорганизмов, но позволяют констатировать факт снижения микробного разнообразия в группе мышей, подвергнутых стрессу.

Стоит отметить, что наблюдаемые нами изменения в составе кишечного микроби-

ома мышей, подвергнутых стрессу, нашли противоречия в работах [1, 3, 4].

Выводы

Воздействие ультразвукового стресса на мышей линии C57BL/6 вызывает повышенную тревожность и апатию, также снижает разнообразие кишечного микробиома и приводит к его существенным сдвигам, при этом позволяя выделить некоторые рода бактерий, которые могут являться маркерами стресса.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Bai S., Wang W, Wang T, et al. CD36 deficiency affects depressive-like behaviors possibly by modifying gut microbiota and the inflammasome pathway in mice. *Transl. Psychiatry*. 2021;11:16. DOI: 10.1038/s41398-020-01130-8.
2. Castagné V, Moser PC, Porsolt RD. Preclinical behavioral models for predicting antipsychotic activity. *Adv. Pharmacol.* 2009;57:381–418. DOI: 10.1016/S1054-3589(08)57010-4.
3. Chi H., Cao W, Zhang M, et al. Environmental noise stress disturbs commensal microbiota homeostasis and induces oxi-inflammation and AD-like neuropathology through epithelial barrier disruption in the EOAD mouse model. *J. Neuroinflammation*. 2021;18(1):9. DOI: 10.1186/s12974-020-02053-3.
4. Li N., Wang Q, Wang Y, et al. Fecal microbiota transplantation from chronic unpredictable mild stress mice donors affects anxiety-like and depression-like behavior in recipient mice via the gut microbiota-inflammation-brain axis. *Stress*. 2019;22(5):592–602. DOI: 10.1080/10253890.2019.1617267.
5. Li S., Wang Z, Yang Y, et al. Lachnospiraceae shift in the microbial community of mice faecal sample effects on water immersion restraint stress. *AMB Express*. 2017;7(1):82. DOI: 10.1186/s13568-017-0383-4
6. Qu Q., Li H, Bai L, et al. Effects of Heat Stress on Gut Microbiome in Rats. *Indian J. Microbiol.* 2021;61(3):338–347. DOI: 10.1007/s12088-021-00948-0.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Карабанов Сергей Юрьевич*, к.вет.н., ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН;
e-mail: s.karabanov@fneps.ru

Sergey Yu. Karabanov*, Cand. Sci. (Vet.), V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of RAS;
e-mail: s.karabanov@fneps.ru

Кибиткина Анастасия Анатольевна, ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН;
e-mail: a.kibitkina@fneps.ru

Anastasiya A. Kibitkina, V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of RAS;
e-mail: a.kibitkina@fneps.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author