
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

**ОСОБЕННОСТИ ПРОЯВЛЕНИЯ КЛИНИЧЕСКИХ СИМПТОМОВ
ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ КИШЕЧНИКА У МЫШЕЙ ЛИНИИ
Muc2- ПРИ СОВМЕСТНОМ СОДЕРЖАНИИ СИБСОВ**

© 2025 г. К. С. Милутинович^{1,*}, В. С. Попов¹

¹Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Москва, Россия

*E-mail: Milutinovic.Ksenija@yandex.ru

Поступила в редакцию 13.01.2025 г.

После доработки 14.03.2025 г.

Принята к публикации 20.03.2025 г.

Клинические симптомы воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК) – один из показателей степени выраженности заболевания. Четкое понимание вариабельности проявления клинических симптомов и времени их проявления крайне важно для отслеживания влияния методов лечения на протекание ВЗК. Одной из эффективных моделей ВЗК является линия мышей *Muc2*-, для которых свойственно проявление схожих с людьми клинических симптомов ВЗК. Мы исследовали половую специфику проявления клинических симптомов у мышей линии *Muc2*-, чтобы в дальнейшем создать протокол оценки влияния препаратов на развитие и протекание заболевания на этой модели. В рамках исследования оценивали степень выраженности ректального пролапса и ректального кровотечения, степень проявления истощения (под истощением понимали степень развития подкожной жировой ткани, оцениваемую визуально), консистенцию стула. Установлено, что клинические симптомы имеют тенденцию по-разному проявляться в зависимости от пола животного. Так, ректальный пролапс с кровотечением проявлялся преимущественно у самцов линии *Muc2*-. Полученные данные свидетельствуют о необходимости включать и самцов, и самок в исследовательские выборки на этой модели.

Ключевые слова: воспалительные заболевания кишечника, клинические симптомы, *Muc2*-/- мыши, модель воспалительного заболевания кишечника, пролапс, истощение, безмуциновые мыши

DOI: 10.31857/S0869813925050085, **EDN:** TNLJLT

ВВЕДЕНИЕ

Воспалительные заболевания кишечника (ВЗК) – распространенная группа хронических заболеваний [1], сопровождающаяся сложными иммунными реакциями [2]. Для ВЗК характерно наличие широкого спектра причин возникновения, а методы лечения направлены лишь на снижение симптомов заболевания [3, 4].

Для людей с ВЗК характерны клинические симптомы, среди которых снижение массы тела, недержание и позывы к дефекации, абдоминальные боли, диарея и ректальные кровотечения [5, 6]. Однако существуют данные о том, что степень проявления

симптомов и иммунные реакции, вызванные воспалением, могут различаться в зависимости от пола. Так, при исследовании влияния пола на иммунную активность в кишечнике было показано, что уровень иммунного ответа у женщин в ответ на повреждение слизистой оболочки кишечника значительно выше, чем у мужчин [7]. Известно, что в большинстве стран встречаемость ВЗК наблюдается чаще у мужчин, так же как и вероятность развития колоректального рака [8]. Более того, ВЗК диагностируется у мужчин в более раннем возрасте по сравнению с женщинами [9].

Для исследования ВЗК используют различные животные модели [10]: как индуцированные – декстрановая модель колита (DSS), колит, вызванный 2,4,6-тринитробензолсульфокислотой (TNBS), и другие [11, 12], так и трансгенные – нокауты по генам *IL-10*^{-/-}, *TGF-β*^{-/-}, *Muc2*^{-/-} и другие [13, 14]. У трансгенных мышей патология развивается более плавно, работают физиологические компенсаторные механизмы, снижающие воспаление, и само заболевание часто переходит в долгую ремиссию, т.е. у них по сравнению с индуцированными моделями воспроизводится течение заболевания, в большей степени соответствующее клинической ситуации. Одной из трансгенных моделей, применяемой для моделирования ВЗК уже 20 лет, являются мыши, нокаутные по гену муцина 2 (*Muc2*) – основного гликопротеида слизистой. У таких мышей развивается недостаточность слизистой оболочки, сопровождающаяся развитием воспаления [15]. *Muc2*^{-/-} мыши, созданные как модель язвенного колита (одной из форм ВЗК), проявляют клинические симптомы, схожие с пациентами с ВЗК, поскольку у них воспроизводятся клинические и гистологические признаки, характерные для этой патологии [15, 16]. Животным свойственны проявление диареи, ректального пролапса с кровотечением и потеря массы тела [17, 18]. Эти клинические симптомы начинают проявляться у мышей уже с 28-го дня жизни [19].

Однако проявление симптомов может варьировать в зависимости от возраста животного, а также демонстрировать межиндивидуальную изменчивость [20]. Так, далеко не у всех нокаутных животных наблюдаются развитие пролапса и нарушение стула даже после 6-го месяца жизни [21]. В некоторых случаях наблюдалось непостоянное проявление пролапса (reversible rectal prolapses) у животных, а также далеко не у всех развивалось ректальное кровотечение [16]. С течением времени все симптомы ВЗК сохранялись и усиливались [21].

Таким образом, у мышей линии *Muc2*^{-/-} проявляются симптомы, свойственные больным с ВЗК, хотя и с незначительными вариациями по возрасту. Возможными причинами вариации времени начала развития симптомов могут быть особенности оценки симптомов исследователем и/или межиндивидуальные различия.

Тем не менее в работах в основном используются *Muc2*^{-/-} самцы 2–6-месячного возраста, что затрудняет оценку половой и возрастной специфики проявления признаков. Однако есть основания предполагать, что таковые отличия имеют место. Так, при индукции колита декстрансульфатом натрия тяжесть патологии была значительно выше у самцов по сравнению с самками. Тяжесть развития патологии выражалась в большей потере массы тела по сравнению с контрольными животными и более сильном проявлении клинических симптомов ВЗК [22]. Следует отметить, что в соответствии с современными представлениями в трансляционных биомедицинских исследованиях необходимо использовать выборки, выравненные по полу [23]. Недостаточность данных по развитию патологии у самок *Muc2*^{-/-} мышей затрудняет прояснение целостной картины патогенеза в этой модели.

Наличие четкой картины вариабельности клинических симптомов ВЗК необходимо для понимания картины заболевания в целом. Так, по выраженности признаков можно судить о тяжести протекания заболевания, оценивать индивидуальную вариабельность животного для более точного представления механизмов развития патологии. Время и степень проявления клинических симптомов могут свидетельствовать об эффективности исследуемого препарата или об ее отсутствии. Поскольку проявление

клинических симптомов ВЗК используется как видимый признак наличия заболевания и его тяжести у животного, изменение времени и/или степени проявления этих симптомов будет служить показателем изменения тяжести заболевания.

Целью настоящей работы была оценка вариабельности клинических симптомов ВЗК у интактных *Muc2*^{-/-} мышей в зависимости от пола и возраста.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Животные

Животные содержались в стандартных условиях вивария в индивидуально-вентилируемых клетках, с 12-часовым циклом день–ночь, со свободным доступом к еде и воде. В виварии поддерживались условия содержания животных в соответствии с ГОСТ 33216-2014 [24]: 20–24 °С, влажность воздуха – 45–65%. Использовали корм для содержания лабораторных животных ПК-120-1, приготовленный по ГОСТ 34566-2019 «Комбикорма полнорационные для лабораторных животных. Технические условия».

Использовались мыши *Muc2*⁻ на генетическом фоне C57BL/6, нокаутные по гену муцина-2. Животные были созданы A. Velcich в Albert Einstein Cancer Center/Montefiore Medical Center [25] и получены из вивария Научно-исследовательского института нейронаук и медицины СО РАН. В экспериментальные выборки отбирали потомство мышей с генотипом *Muc2*^{-/-} и *Muc2*^{+/+}, полученное в результате скрещивания гетерозиготных особей. Генотипирование производилось на 28-й день жизни, после чего животных рассаживали. Животные из одного выводка содержались вместе, их рассаживали по половому признаку по 1–5 особи(-ей) в зависимости от размера выводка. Всего в работе было использовано 24 животных линии *Muc2* (табл. 1).

Таблица 1. Количество животных в экспериментальных группах

	Самки			Самцы		
Группа	N ₁ (f muc)	N ₂ (f wt)	N ₃ (f het)	N ₄ (m muc)	N ₅ (m wt)	N ₆ (m het)
Генотип	<i>Muc2</i> ^{-/-}	<i>Muc2</i> ^{+/+}	<i>Muc2</i> ^{+/-}	<i>Muc2</i> ^{-/-}	<i>Muc2</i> ^{+/+}	<i>Muc2</i> ^{+/-}
Количество животных	3	4	4	3	4	6

Клинический осмотр

Клинические симптомы: истощение, ректальный пролапс и кровотечение, изменение массы тела, наличие диареи оценивались каждую неделю в утренние часы. Для оценки динамики набора массы тела животных взвешивали на весах Shinko Denshi (точность = 0.1 г). Для оценки признаков истощения и ректального пролапса с кровотечением каждое животное тщательно осматривалось. Стоит заметить, что набор массы тела не всегда коррелирует со степенью истощения, в связи с чем изменение массы тела и степень истощения оценивались как два разных параметра. Для оценки степени истощения использовали шкалу, предложенную The Icahn School of Medicine at Mount Sinai (США) [35]. Визуальная шкала отражает телосложение в целом и степень отложения подкожной жировой ткани. Клинические симптомы *Muc2*^{-/-} мышей принято оценивать по шкале “индекса остроты заболевания” (DAI- disease acute index). К основным критериям DAI относят потерю массы тела, нарушение стула (диарею),

а также измененное состояние (состояние шерсти, поза животного) [16, 26, 27]. DAI используется не только для оценки степени тяжести заболевания у животных, но и у пациентов с ВЗК [28].

На базе опубликованных протоколов DAI мы создали более детальный протокол оценки клинических симптомов ВЗК, по которому оценивали следующие клинические симптомы: степень проявления истощения и ректального пролапса, наличие ректального кровотечения и диареи.

Ниже представлены критерии оценки клинических симптомов.

Стул:

- отсутствие в клетке жидкого стула – 0;
- наличие в клетке жидкого стула – 1.

Истощение:

- норма – 0;
- отклонение от нормы – 0.5;
- средняя степень истощения – 1;
- сильное истощение – 2.

Ректальный пролапс:

- норма – 0;
- активные слизистые выделения (слизистая пробка) – 1;
- ректальный пролапс (выделение слизи с кровяными следами или незначительное выпячивание кишечника) – 2;
- ректальный пролапс (выпадение прямой кишки) – 3;
- ректальный пролапс со следами крови – 4;
- ректальный пролапс (сильное выпадение) с активным кровотечением – 5.

Примеры проявления степеней ректального пролапса и ректального кровотечения представлены на рис. 1.

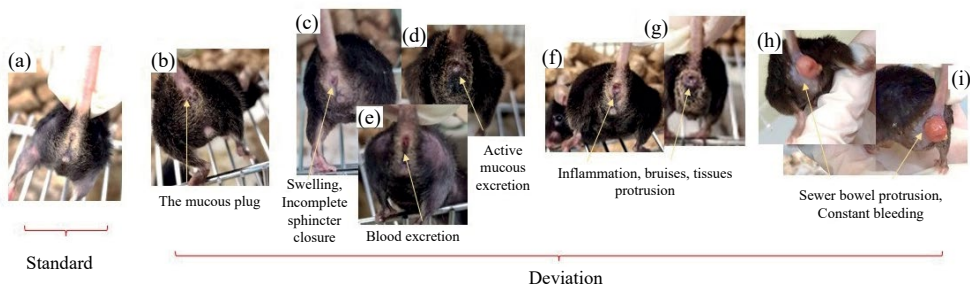


Рис. 1. Пример оценки пролапса в баллах. (a) – Норма; (b) – 1 балл; (c), (d) и (e) – 2 балла; (f) и (g) – 3 балла; (h) и (i) – 5 баллов.

Статистическая обработка

Статистическая обработка производилась с помощью приложения GraphPad Prism8. При статистической обработке использовался непараметрический статистический тест Mann–Whitney для сравнения парных выборок. Все данные оценки клинических

симптомов представлены как медианное значение балла, достигнутого у животного. Данные массы тела представлены как среднее значение массы тела всех животных одной группы в день измерения. Данные на графиках представлены в виде среднего и стандартного отклонения.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

К 13-й неделе жизни у большинства самок *Muc2*^{-/-} наблюдались признаки истощения, которые сохранялись, а в некоторых случаях усиливались к 23-й неделе жизни (рис. 2, 3).

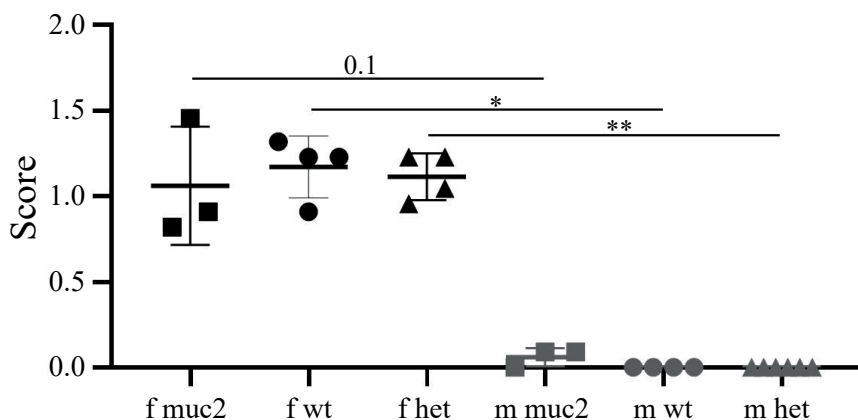


Рис. 2. Степень истощения, оцененная в баллах. Измерена в период с 13-й по 23-ю неделю жизни животных и представлена в виде среднего балла истощения у животного за период измерения. Mann-Whitney, * – $p < 0.05$; N_1 (f muc) = 3, N_2 (f wt) = 4, N_3 (f het) = 4, N_4 (m muc) = 3, N_5 (m wt) = 4, N_6 (m het) = 6.

Степень истощения у самок не зависела от генотипа. Таких же признаков истощения в исследуемый период мы не наблюдали у самцов *Muc2*^{-/-} мышей. Самцы как дикого типа и гетерозиготные, так и *Muc2*^{-/-} не демонстрировали признаков истощения на протяжении всего эксперимента. При этом наблюдалось статистически значимое отличие в степени истощения между самками и самцами дикого типа ($p < 0.05$), а также между гетерозиготными самками и гетерозиготными самцами ($p < 0.01$). Степень истощения самок *Muc2*^{-/-} была выше на уровне тенденции по сравнению с *Muc2*^{-/-} самцами ($p = 0.1$) (рис. 2).

Таким образом, относительно истощения полученные данные уверенно указывают на то, что различия по этому признаку связаны с полом, а не с генотипом: истощение достоверно выше у всех самок по сравнению со всем самцами – эта разница сохраняется при сравнении самок с самцами по любому из генотипов.

При анализе динамики истощения (рис. 3) у самок разных генотипов можно наблюдать, что независимо от генотипа все самки к 17-й неделе жизни демонстрируют признаки среднего истощения, которое прогрессирует со временем. Это свидетельствует о том, что истощение развивается схожим образом у самок любого из генотипов, в некоторых случаях степень истощения контрольных животных может превышать данный показатель у *Muc2*^{-/-} самок. Стоит заметить, что более позднее проявление сильного

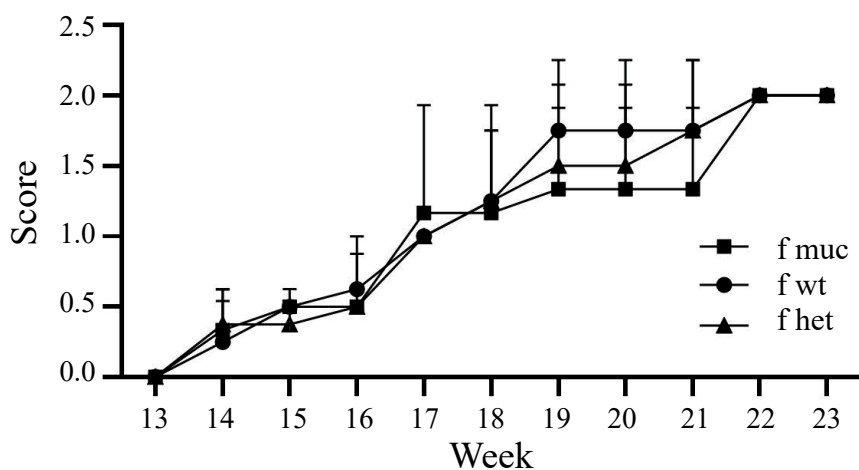


Рис. 3. Динамика истощения у самок (данные представлены в виде медианы и интерквартильного разброса, по оси ординат – истощение в баллах). $N_1(f\text{ muc}) = 3$, $N_2(f\text{ wt}) = 4$, $N_3(f\text{ het}) = 4$.

истощения у нокаутных самок связано с тем, что симптомы ВЗК имеют значительную индивидуальную вариабельность, это при небольшом количестве животных может дать такую картину из-за случайных факторов. В конечном итоге к концу наблюдения степень истощения самок всех генотипов достигает максимального значения. Таким образом, получается, что параметры истощения у диких самок и нокаутов могут перекрываться, и этот показатель не подходит, чтобы отделять одних от других.

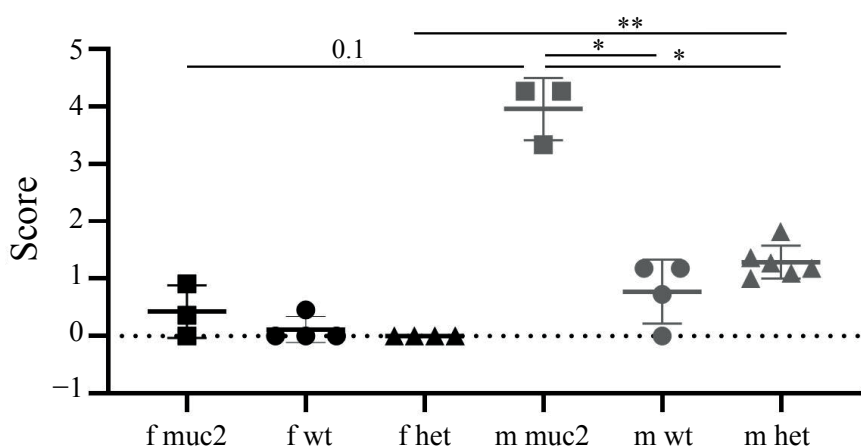


Рис. 4. Степень проявления ректального пролапса и кровотечения, оцененная в баллах в период с 13-й по 23-ю неделю жизни животных и представленная в виде среднего балла проявления ректального пролапса с кровотечением или без него у животного за период измерения. Mann-Whitney, * – $p < 0.05$; ** – $p < 0.01$; $N_1(f\text{ muc}) = 3$, $N_2(f\text{ wt}) = 4$, $N_3(f\text{ het}) = 4$, $N_4(m\text{ muc}) = 3$, $N_5(m\text{ wt}) = 4$, $N_6(m\text{ het}) = 6$.

За время измерения клинических симптомов ВЗК после 3-й недели измерений (15-я неделя жизни) один из самцов *Muc2*^{-/-} достиг признаков гуманной конечной точки (наблюдалось сильное кровотечение и сильнейшее выпадение кишечника) и был умерщвлен. К 13-й неделе жизни у большинства *Muc2*^{-/-} самок не наблюдалось признаков ректального пролапса и совсем не наблюдалось признаков ректального кровотечения. Признаки ректального пролапса у самок *Muc2*^{-/-} в некоторых случаях проявлялись к 23-й неделе жизни (данные не показаны). При этом признаки ректального пролапса совсем не наблюдались у самок дикого типа и гетерозиготных самок (рис. 4).

Почти у всех самцов *Muc2*^{-/-} мышей к 13-й неделе жизни наблюдались признаки ректального пролапса в виде слизевых пробок (начальная стадия), в некоторых случаях уже с 3-й месяца наблюдалось выпадение прямой кишки (рис. 1). К 23-й неделе жизни у большинства самцов *Muc2*^{-/-} развивался ректальный пролапс со следами крови, а в некоторых случаях выявлялось сильное выпадение прямой кишки с постоянными кровотечениями. При этом у большинства самцов дикого типа признаки ректального пролапса наблюдались ближе к концу периода измерений и не достигали крайней стадии, в то время как у многих гетерозиготных самцов ректальный пролапс развивался более выражено по сравнению с самцами дикого типа. Таким образом, степень проявления ректального пролапса и кровотечения у *Muc2*^{-/-} самцов была статистически значимо выше по сравнению с самцами дикого типа ($p < 0.05$) и по сравнению с гетерозиготными самцами ($p < 0.05$). При этом степень проявления ректального пролапса была больше на уровне тенденций ($p = 0.1$) у *Muc2*^{-/-} самцов по сравнению с *Muc2*^{-/-} самками, а также значимо выше у гетерозиготных самцов по сравнению с гетерозиготными самками ($p < 0.01$) (рис. 4).

Таким образом, в отличие от истощения, можно уверенно говорить о связи степени проявлений пролапса с генотипом: у безмуциновых самцов она достоверно выше, чем у самцов других генотипов.

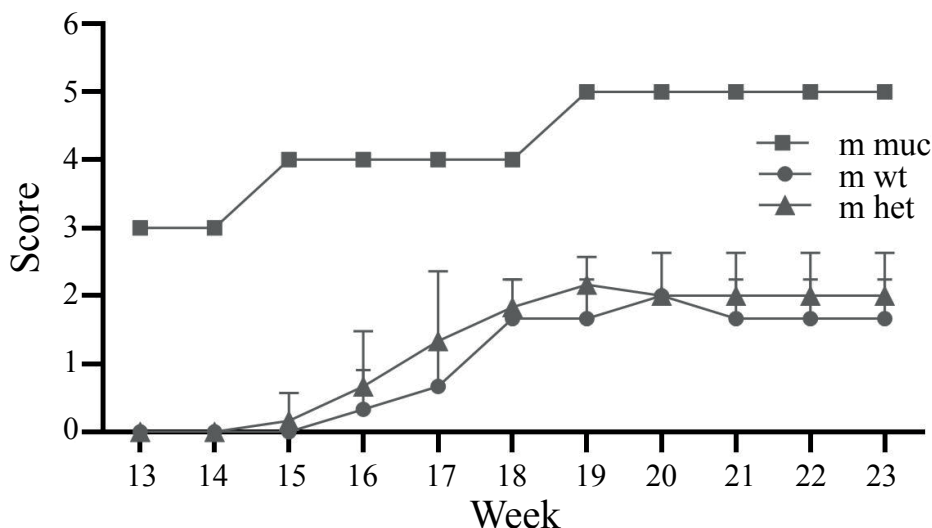


Рис. 5. Динамика развития ректального пролапса и кровотечения у самцов (медианные значения), выраженная в баллах оценки проявления пролапса. $N_4(m\text{ muc}) = 3$, $N_5(m\text{ wt}) = 4$, $N_6(m\text{ het}) = 6$.

Ректальный пролапс начальной и средней стадии (выпадение кишки и/или начальная степень выпадения с обильным выделением слизи) наблюдался уже с 13-й недели жизни у самцов *Muc2*^{-/-} (рис. 5). В то же время у самцов дикого типа и гетерозиготных самцов пролапс начальной стадии (слизистые выделения и слизистая пробка, а также начальная степень выпадения с обильным выделением слизи) проявлялся лишь к началу 15-16-й недели жизни животных. В дальнейшем степень проявления пролапса у гетерозигот и дикого типа достигала начального уровня, характерного для *Muc2*^{-/-} мышей, и больше не прогрессировала.

Стоит заметить, что выпадение кишечника не может вернуться к исходному состоянию, в то время как наличие слизистых выделений и слизистая пробка, а также детектируемая начальная стадия выпадения прямой кишки могут носить транзиторный характер.

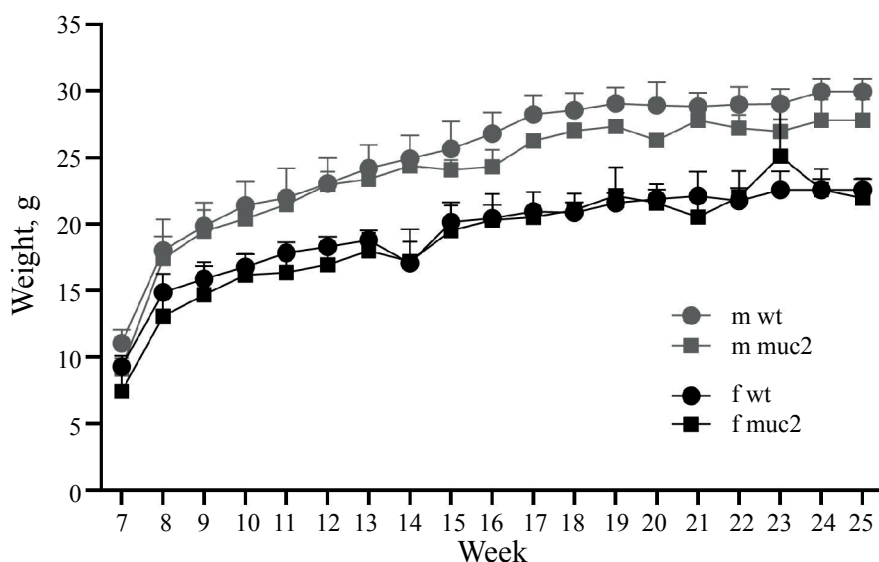


Рис. 6. Динамика набора массы тела с 7-й по 25-ю неделю жизни. Данные представлены в виде среднего значения массы тела всех животных определенного пола и генотипа в исследуемой точке. $N_1(f\text{ muc}) = 3$, $N_2(f\text{ wt}) = 4$, $N_3(m\text{ muc}) = 3$, $N_4(m\text{ wt}) = 4$.

Динамика набора массы тела у наших мышей в период измерения соответствует данным других исследований [16, 29]. Как и ожидалось, все самки имели меньший вес, чем самцы, независимо от генотипа (рис. 6), что повторяет картину, наблюдаемую у линии C57Bl/6 – генетического фона модели [30]. Видно, что самки *Muc2*^{-/-} в первые недели измерения имели небольшое отставание в наборе массы тела по сравнению с самками дикого типа, в дальнейшем эта разница нивелировалась. Однако у самцов наблюдалась обратная картина. С 14-й недели *Muc2*^{-/-} самцы начинали отставать в наборе массы тела по сравнению с самцами дикого типа, что соответствует литературным данным [16]. Тем не менее наблюдалась не такая значительная разница в весе между нокаутными и дикими самцами по сравнению с тем, что описано в других работах [16, 17, 22], где в некоторых случаях потеря массы тела могла составлять 30–40% [22].

В работе оценивалось нарушение стула у животных. Наблюдались признаки диареи, однако ее наличие не коррелировало с развитием пролапса, так же как и наличие пролапса не гарантировало развитие диареи. При подсчете встречаемости нарушений стула мы обнаружили признаки диареи у 8 из 11 самок, при этом только у трех самок наблюдалось развитие первой степени пролапса (выделение слизи, опухлость) с середины или к концу измерительного периода. В то же время у самцов диарея встречалась только у четырех из 13 животных, из которых только у двух наблюдалась крайняя стадия ректального пролапса. Немаловажным является и тот факт, что признаки диареи не сохранялись на протяжении всего эксперимента. Нарушение стула могло как появляться, так и исчезать со временем и возникать вновь. Таким образом, признаки диареи и измененный стул чаще наблюдались у самок, чем у самцов (данные не показаны).

В настоящей работе мы также отмечали признаки аллопеции у животных. У пяти самок наблюдалась временная или постоянная аллопеция, выражавшаяся в прореживании волос на голове и туловище. Признаки аллопеции встречались и у самцов. В нашем эксперименте мы наблюдали у трех из четырех самцов дикого типа полное отсутствие усов и безволосые мордочки. У подопытных мышей аллопеция также не носила постоянный характер и наблюдалась чаще у самок.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Клинические симптомы ВЗК являются важнейшим признаком проявления ВЗК как у людей, так и в моделях на животных. При помощи клинических симптомов можно оценивать тяжесть патологий, так как они позволяют оценить целостную реакцию организма. В случае *Muc2*^{-/-} мышей клинические симптомы используются не только при детекции заболевания и тяжести его протекания, но и для верификации эффективности терапии.

Тем не менее наличие вариабельности признаков усложняет этот процесс, поэтому исследование фоновой изменчивости признаков имеет принципиальное значение. В этой работе практически впервые принята попытка оценить межполовую разницу проявления симптомов ВЗК у самцов и самок *Muc2*^{-/-} мышей (ранее в работе Fijneman RJA с соавт. было показано, что частота и динамика появления опухолей у самцов и самок *Muc2*^{-/-} мышей разная [31]). Нам удалось увидеть снижение массы тела у самцов с нокаутом гена муцина 2 по сравнению с самцами дикого типа, однако степень снижения массы тела была не такой значимой, как в других работах. У самок мы наблюдали незначительное отставание в наборе массы тела *Muc2*^{-/-} самок на первых неделях измерения, после чего вес самок *Muc2*^{-/-} и самок дикого типа не отличался. У самцов *Muc2*^{-/-} мышей мы также наблюдали сильное выпадение прямой кишки, сопровождающееся постоянным кровотечением. Ректальный пролапс наблюдался не только у нокаутных самцов, но и у гетерозиготных и самцов дикого типа [16]. В то же время признаки истощения у самок мы четко видели с первых недель измерения. Самки каждого генотипа демонстрировали значительные признаки истощения, прогрессирующего со временем, при этом почти не демонстрируя признаков ректального пролапса. На протяжении всего измерительного периода ни у одной самки *Muc2*^{-/-} не было отмечено выпадение кишечника, проявлялись лишь его начальные стадии, и в некоторых случаях наблюдались кровяные выделения. Гетерозиготные самки и самки дикого типа демонстрировали либо полное отсутствие признаков ректального пролапса, либо только наличие слизи пробки (первый признак, указывающий на возможное выпадение кишечника).

Известно, что симптомы ВЗК вызываются не только воспалительным процессом, но также опосредуются изменением в составе микрофлоры. С учетом того, что в нашем эксперименте мыши разных генотипов содержались вместе, не исключено, что ряд симптомов, которые мы наблюдали, вызван в большей степени общей микрофлорой, чем воспалительными процессами, связанными с отсутствием муцина 2 [32].

Таким образом, при совместном содержании сибсов динамика клинических симптомов ВЗК у линии мышей *Muc2*- не дает однозначной картины, позволяющей отделить гомозиготы от гетерозигот и от дикого типа. Наше исследование выявляло разную значимость симптомов ВЗК: истощение и диарея не позволяют однозначно отделить дикий тип от нокаута; пролапс, в свою очередь, позволяет это сделать, особенно при сильной выраженности признака.

Второй важный результат – это неодинаковая значимость признаков у самцов и самок. Так, проявление пролапса у самцов позволяет однозначно отделить нокаутных самцов от животных дикого типа, а у самок не позволяет.

При использовании модели в исследованиях, предполагающих оценку тяжести заболевания (DAI) в ответ на терапию, следует учитывать половую специфику и возрастную динамику клинических симптомов. В таких исследованиях необходимо включать в исследовательскую выборку и самцов, и самок, при этом совместное содержание безмусулиновых мышей с сибсами других генотипов позволяет отделить признаки, опосредованные микрофлорой, от тех, которые вызваны отсутствием муцина. Следует отметить, что в соответствии с современными представлениями обоеполые выборки должны быть стандартом в биомедицинских исследованиях, что вполне перекликается с нашими результатами [33].

В настоящей работе животные из одного выводка содержались совместно и рассаживались только по полу. Известно, что при совместном содержании животных из разных выводков (не сибсов), которых рассаживали по полу и по генотипу, наблюдалось более сильное проявление симптомов и последствий ВЗК, в том числе опухолей [34]. Одним из возможных объяснений этого явления может быть хронический социальный стресс, вызванный внутригрупповой агрессией при ссаживании взрослых неродственных мышей. Хронический стресс может служить триггером, на фоне которого клинические симптомы ВЗК проявляются гораздо сильнее, чем у нестрессированных *Muc2*-/- мышей. Мы считаем, что в случае совместного содержания животных из одного выводка наличие клинических симптомов и видимая степень их проявления у дикого типа и гетерозигот опосредованы микробиотой, общей с нокаутными животными.

Таким образом, при интерпретации результатов исследований с участием мышей линии *Muc2*- необходимо учитывать формат содержания и рассадки животных. Для того чтобы выделить собственно клинические последствия отсутствия муцина, нужно использовать обоеполые выборки с совместным содержанием сибсов разных генотипов.

ВКЛАДЫ АВТОРОВ

Идея работы и планирование эксперимента (В. С. П. и К. С. М.), сбор данных (К. С. М.), обработка данных (К. С. М.), написание и редактирование манускрипта (В. С. П. и К. С. М.).

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 19-75-30007, <https://rscf.ru/project/19-75-30007>).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Эксперименты с животными проводились в соответствии с международными рекомендациями по проведению биомедицинских исследований с лабораторными животными и осуществлялись в соответствии с ГОСТ 33216-2014 [24]. Содержание животных в виварии и все манипуляции, произведенные в этой работе, были одобрены биоэтической комиссией МГУ (“№ 3.6-сод.” от 19.05.2024 и “№ 183-ж” от 12.08.2024 г.).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы исследования декларируют отсутствие конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Knyazev OV, Shkurko TV, Kagramanova AV, Veselov AV, Nikonov EL* (2020) Epidemiology of inflammatory bowel disease. State of the problem (review). *Russ J Evidence-Based Gastroenterol* 9: 66–73.
<https://doi.org/10.17116/dokgastro20209021662>.
2. *Chen C, Xu J, Han T, Chen G, Yu K, Du C, Shen W, Sun Y, Zeng X* (2024) Microencapsulation as a Protective Strategy for Sialylated Immunoglobulin G: Efficacy in Alleviating Symptoms of Dextran Sulfate Sodium-Induced Colitis in Mice and Potential Mechanisms. *J Agric Food Chem* 72: 4074–4088.
https://doi.org/10.1021/ACS.JAFC.3C07733/SUPPL_FILE/JF3C07733_SI_001.PDF
3. *Liu F, Smith AD, Solano-Aguilar G, Wang TTY, Pham Q, Beshah E, Tang Q, Urban JF, Xue C, Li RW* (2020) Mechanistic insights into the attenuation of intestinal inflammation and modulation of the gut microbiome by krill oil using in vitro and in vivo models. *Microbiome* 8: 1–21.
<https://doi.org/10.1186/S40168-020-00843-8/FIGURES/9>
4. *Fantini MC, Guadagni I* (2021) From inflammation to colitis-associated colorectal cancer in inflammatory bowel disease: Pathogenesis and impact of current therapies. *Digestive and Liver Disease* 53: 558–565.
<https://doi.org/10.1016/J.DLD.2021.01.012>
5. *Colombel JF, Shin A, Gibson PR* (2019) AGA Clinical Practice Update on Functional Gastrointestinal Symptoms in Patients With Inflammatory Bowel Disease: Expert Review. *Clin Gastroenterol Hepatol* 17: 380–390.e1.
<https://doi.org/10.1016/J.CGH.2018.08.001>
6. *Yu YR, Rodriguez JR* (2017) Clinical presentation of Crohn's, ulcerative colitis, and indeterminate colitis: Symptoms, extraintestinal manifestations, and disease phenotypes. *Semin Pediatr Surg* 26: 349–355.
<https://doi.org/10.1053/J.SEMPEDSURG.2017.10.003>
7. *Sankaran-Walters S, Macal M, Grishina I, Nagy L, Goulart L, Coolidge K, Li J, Fenton A, Williams T, Miller MK, Flamm J, Prindiville T, George M, Dandekar S* (2013) Sex differences matter in the gut: Effect on mucosal immune activation and inflammation. *Biol Sex Differ* 4: 10.
<https://doi.org/10.1186/2042-6410-4-10>
8. *Князев ОВ, Шкурко ТВ, Фадеева НА, Бакулин ИГ, Бордин ДС* (2017) Эпидемиология хронических воспалительных заболеваний кишечника. Вчера, сегодня, завтра. Экспер клин гастроэнтерол 139: 4–12. [*Knyazev OV, Shkurko TV, Fadeeva NA, Bakulin IG, Bordin DS* (2017) Epidemiology of chronic inflammatory bowel diseases. Yesterday, today, tomorrow. *Exp Clin Gastroenterol* 139: 4–12. (In Russ)].
9. *Malaty HM, Hou JK, Thirumurthi S* (2010) Epidemiology of inflammatory bowel disease among an indigent multi-ethnic population in the United States. *Clin Exp Gastroenterol* 3: 165–170.
<https://doi.org/10.2147/CEG.S14586>
10. *Singh Jaggi A, Kaur Randhawa P, Singh K, Singh N* (2014) A Review on Chemical-Induced Inflammatory Bowel Disease Models in Rodents. *Korean J Physiol Pharmacol* 18: 279–288.
<https://doi.org/10.4196/kjpp.2014.18.4.279>
11. *Kim JJ, Shajib MS, Manocha MM, Khan WI* (2012) Investigating Intestinal Inflammation in DSS-induced Model of IBD. *J Vis Exp* (60): 3678.
<https://doi.org/10.3791/3678>
12. *Kawada M, Arihiro A, Mizoguchi E* (2007) Insights from advances in research of chemically induced experimental models of human inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 13: 5581.
<https://doi.org/10.3748/WJG.V13.I42.5581>
13. *Mizoguchi A* (2012) Animal Models of Inflammatory Bowel Disease. *Prog Mol Biol Transl Sci* 105: 263–320.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394596-9.00009-3>
14. *Bhan AK, Mizoguchi E, Smith RN, Mizoguchi A* (1999) Colitis in transgenic and knockout animals as models of human inflammatory bowel disease. *Immunol Rev* 169: 195–207.
<https://doi.org/10.1111/J.1600-065X.1999.TB01316.X>
15. *Wenzel UA, Magnusson MK, Rydström A, Jonstrand C, Hengst J, Johansson MEV, Velcich A, Öhman L, Strid H, Sjövall H, Hansson GC, Wick MJ* (2014) Spontaneous Colitis in Muc2-Deficient Mice Reflects Clinical and Cellular Features of Active Ulcerative Colitis. *PLoS One* 9: e100217.
<https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0100217>

16. *Van der Sluis M, De Koning BAE, De Bruijn ACJM, Velcich A, Meijerink JPP, Van Goudoever JB, Büller HA, Dekker J, Van Seuningen I, Renes IB, Einerhand AWC* (2006) Muc2-Deficient Mice Spontaneously Develop Colitis, Indicating That MUC2 Is Critical for Colonic Protection. *Gastroenterology* 131: 117–129.
<https://doi.org/10.1053/j.gastro.2006.04.020>
17. *Borisova MA, Achasova KM, Morozova KN, Andreyeva EN, Litvinova EA, Ogienko AA, Morozova MV, Berkaeva MB, Kiseleva E, Kozhevnikova EN* (2020) Mucin-2 knockout is a model of intercellular junction defects, mitochondrial damage and ATP depletion in the intestinal epithelium. *Scient Rep* 10: 1–17.
<https://doi.org/10.1038/s41598-020-78141-4>
18. *Estaki M, Morck DW, Ghosh S, Quin C, Pither J, Barnett JA, Gill SK, Gibson DL* (2020) Physical Activity Shapes the Intestinal Microbiome and Immunity of Healthy Mice but Has No Protective Effects against Colitis in MUC2 $-/-$ Mice. *mSystems* 5(5): e00515-20.
https://doi.org/10.1128/MSYSTEMS.00515-20/SUPPL_FILE/MSYSTEMS.00515-20-SF007.EPS
19. *Burger-van Paassen N, van der Sluis M, Bouma J, Korteland-van Male AM, Lu P, van Seuningen IV, Boehm G, van Goudoever JB, Renes IB* (2011) Colitis development during the suckling-weaning transition in mucin muc2-deficient mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 301: 667–678.
https://doi.org/10.1152/AJPGI.00199.2010/SUPPL_FILE/FIGURE4-REV.PDF
20. *Милутинович КС, Попов ВС* (2024) Изменчивость гистологических признаков в модели ВЗК муцин2-дефицитных мышей. В: ХИМБИОСЕАНСЫ 2024. Калининград. 185. [*Milutinovich KS, Popov VS* (2024) Variability of histological features in the IBD model of mucin 2-deficient mice. *CHEMBIOSEASONS* 2024. 185. (In Russ)].
21. *Morampudi V, Dalwadi U, Bhinder G, Sham HP, Gill SK, Chan J, Bergstrom KSB, Huang T, Ma C, Jacobson K, Gibson DL, Vallance BA* (2016) The goblet cell-derived mediator RELM- β drives spontaneous colitis in Muc2-deficient mice by promoting commensal microbial dysbiosis. *Mucosal Immunol* 9: 1218–1233.
<https://doi.org/10.1038/mi.2015.140>
22. *Гао Ю, Постовалова ЕА, Добрынина МТ, Макарова ОВ* (2016) Половые различия морфологических изменений и иммунных нарушений при экспериментальном остром язвенном колите. *Клин экспер морфол* 1: 37–43. [*Gao Yu, Postovalova EA, Dobrynina MT, Makarova OV* (2016). Sex differences in morphological changes and immune disorders in experimental acute ulcerative colitis. *Clin Exp Morphol* 1: 37–43. (In Russ)].
23. *Karp NA, Katial R, Thacker K* (2020) Sex in studies: The first level of personalisation. *Physiol News* 32–35.
<https://doi.org/10.36866/PN.118.32>
24. ГОСТ 33216-2014. Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами. Accessed 4 Dec 2024. [ГОСТ 33216-2014. Guidelines for the care and maintenance of laboratory animals. Rules for the maintenance and care of laboratory rodents and rabbits. Accessed 4 Dec 2024. (In Russ)].
<https://internet-law.ru/gosts/gost/62388/>. Accessed 4 Dec 2024
25. *Velcich A, Yang WC, Heyer J, Fragale A, Nicholas C, Viani S, Kucherlapati R, Lipkin M, Yang K, Augenlicht L* (2002) Colorectal cancer in mice genetically deficient in the mucin Muc2. *Science* 295(5560): 1726–1729.
https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1069094/SUPPL_FILE/1069094S7_THUMB.GIF
26. *Zhou Y, Ji G, Yang X, Chen Z, Zhou L* (2023) Behavioral abnormalities in C57BL/6 mice with chronic ulcerative colitis induced by DSS. *BMC Gastroenterol* 23: 1–10.
<https://doi.org/10.1186/S12876-023-02718-2/FIGURES/6>
27. *Murthy SNS, Cooper HS, Shim H, Shah RS, Ibrahim SA, Sedergran DJ* (1993) Treatment of dextran sulfate sodium-induced murine colitis by intracolonic cyclosporin. *Dig Dis Sci* 38: 1722–1734.
<https://doi.org/10.1007/BF01303184>
28. *Lan D, Niu J, Miao J, Dong X, Wang H, Yang G, Wang K, Miao Y* (2016) Expression of guanylate cyclase-C, guanylin and uroguanylin is downregulated proportionally to the ulcerative colitis disease activity index. *Scient Rep* 2016 6: 1–6.
<https://doi.org/10.1038/srep25034>
29. *Park YH, Kim N, Shim YK, Choi YJ, Nam RH, Choi YJ, Ham MH, Suh JH, Lee SM, Lee CM, Yoon H, Lee HS, Lee DH* (2015) Adequate Dextran Sodium Sulfate-induced Colitis Model in Mice and Effective Outcome Measurement Method. *J Cancer Prev* 20: 260–267.
<https://doi.org/10.15430/JCP.2015.20.4.260>
30. Body Weight Info – B6 000664 The Jackson Laboratory.
<https://www.jax.org/jax-mice-and-services/strain-data-sheet-pages/body-weight-chart-000664>. Accessed 6 Jan 2025

31. *Fijneman RJA, Peham JR, van de Wiel MA, Meijer GA, Matise I, Velcich A, Cormier RT* (2008) Expression of Pla2g2a prevents carcinogenesis in Muc2-deficient mice. *Cancer Sci* 99: 2113–2119. <https://doi.org/10.1111/J.1349-7006.2008.00924.X>
32. *Bets VD, Achasova KM, Borisova MA, Kozhevnikova EN, Litvinova EA* (2022) Role of Mucin 2 Glycoprotein and L-fucose in Interaction of Immunity and Microbiome within the Experimental Model of Inflammatory Bowel Disease. *Biochemistry (Moscow)* 87: 301–318. <https://doi.org/10.1134/S0006297922040010/FIGURES/5>
33. *Karp NA, Katial R, Thacker K* (2020) Sex in studies: The first level of personalisation. *Physiol News* 32–35. <https://doi.org/10.36866/pn.118.32>
34. *Wu M, Wu Y, Li J, Bao Y, Guo Y, Yang W* (2018) The Dynamic Changes of Gut Microbiota in Muc2 Deficient Mice. *Int J Mol Sci* 19: 2809. <https://doi.org/10.3390/ijms19092809>
35. Body condition scoring for mice. The Icahn School of Medicine at Mount Sinai (USA). <https://icahn.mssm.edu/files/ISMMS/Assets/Research/CCMS/BodyConditionScoringForMice.pdf>

Peculiarities of IBD Clinical Symptoms Manifestation in *Muc2*- Mice During Siblings Cohousing

K. S. Milutinovich^{a,*} and V. S. Popov^a

^a*Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*

[#]*e-mail: Milutinovic.Ksenija@yandex.ru*

Clinical symptoms of inflammatory bowel diseases (IBD) are one of the indicators of the severity of the disease. A clear understanding of the variability in the manifestation of clinical symptoms and the time of their manifestation is extremely important to monitor the effect of treatment methods on the course of inflammatory bowel diseases. One of the effective models of inflammatory bowel diseases is the *Muc2*-mouse line, which is characterized by the manifestation of similar clinical symptoms of IBD as in humans. In this regard, we decided to study the features of IBD symptoms in male and female *Muc2*-line mice, so that in the future we could create a protocol for assessing the effect of drugs on the development and course of the disease. In our work, we observed that clinical symptoms tend to manifest themselves differently depending on the sex of the animal. Thus, rectal prolapse with bleeding was manifested mainly in males of the *Muc2*- lineage, while signs of exhaustion were characteristic mainly of females.

Keywords: inflammatory bowel disease clinical symptoms, *Muc2*–/– mice, model of IBD, prolapse, exhaustion, *muc2*-deficient mice