Норма и патология у нокаутных мышей: проблема изменчивости симптомов в безмуциновой модели ВЗК

Автор доклада:

Милутинович Ксения

Аспирант ФФМ МГУ

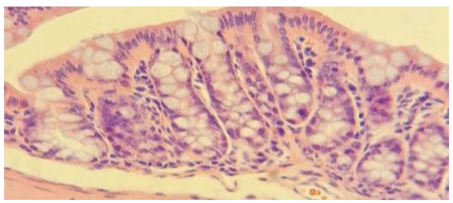
2025

Введение: безмуциновые мыши (*Muc2-/-*) – модель ВЗК

Colorectal Cancer in Mice Genetically Deficient in the Mucin Muc2

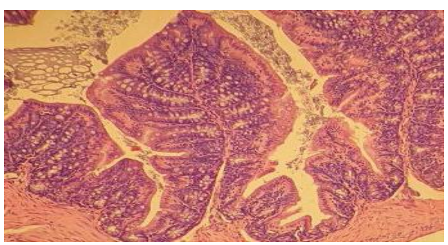
ANNA VELCICH, WANCAI YANG, JOERG HEYER, ALESSANDRA FRAGALE, COURTNEY NICHOLAS, STEPHANIE VIANI, RAJU KUCHERLAPATI, MARTIN LIPKIN, KAN YANG, AND LEONARD AUGENLICHT Authors Info & Affiliations

SCIENCE • 1 Mar 2002 • Vol 295, Issue 5560 • pp. 1726-1729 • DOI: 10.1126/science.1069094

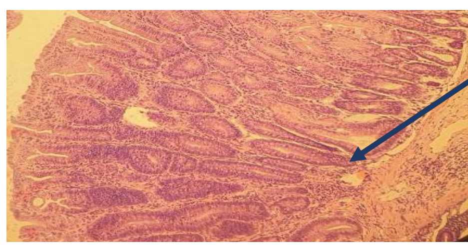


Гистология кишечника мышей контроль (молодые)

Гистология кишечника мышей muc2 (молодые)

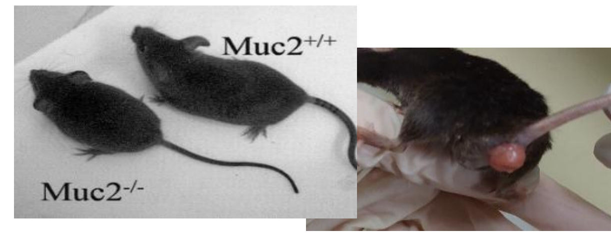


Гистология кишечника мышей контроль (старые)



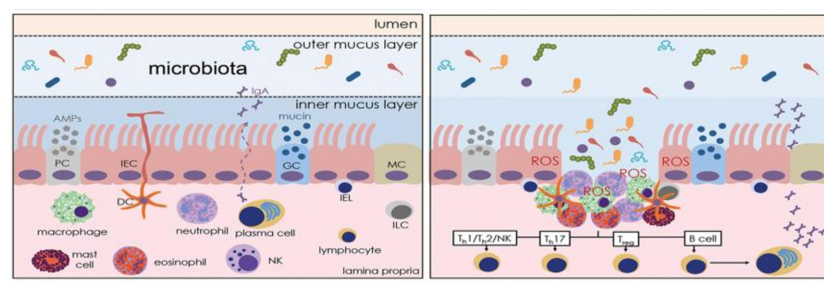
Гистология кишечника мышей muc2 (старые)

(*Милутинович и Попов, 2024*)



(*Wenzel et. al., 2014; Van der Sluis et.al., 2006*)

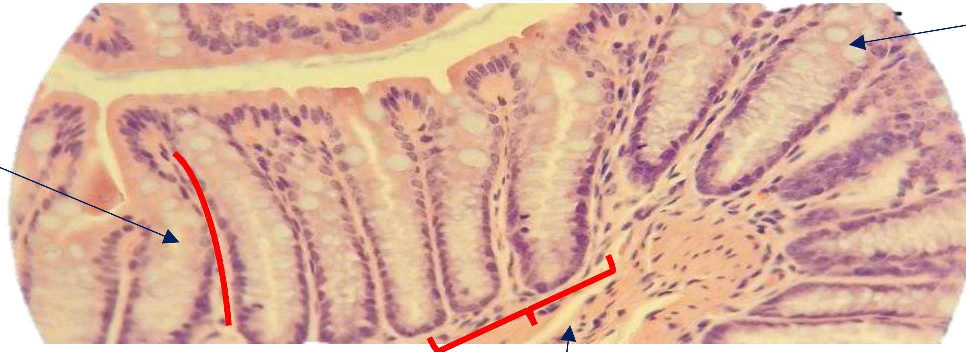
Удлинение ворсинки и Иммунный инфильтрат



(*Aviello and Knaus 2017*)

Методы: оценка гистологических и клинических симптомов ВЗК

Длина ворсинки – количество энтероцитов от основания до вершины ворсинки на 2х срезах.



При наличии бокаловидных клеток: подсчитывалось количество клеток на ворсинку на 2-х срезах.

Иммунный инфильтрат – количество иммунных клеток между 3 близко расположенными ворсинками на 2-х срезах.

норма	отклонение от нормы	средняя степень истощения	сильное истощение
0	0,5	1	2

Таблица 1. Оценка истощения в баллах

норма	слизистые выделени я	кровяные следы или незначительное выпячивание кишечника	ректальный пролапс	ректальный пролапс со следами крови	ректальный пролапс с активным кровотечением
0	1	2	3	4	5

Таблица 2. Оценка пролапса в баллах

норма	В клетке обнаружены следы диареи	У животного обнаружена диарея
0	1	2

Таблица 3. Оценка наличия диареи

Роль возраста животного в изменчивости в результатах эксперимента

▸ Lab Anim. 2016 Jun 15;51(2):160–169. doi: 10.1177/0023677216653984

Show available content in: English | French | German | Spanish

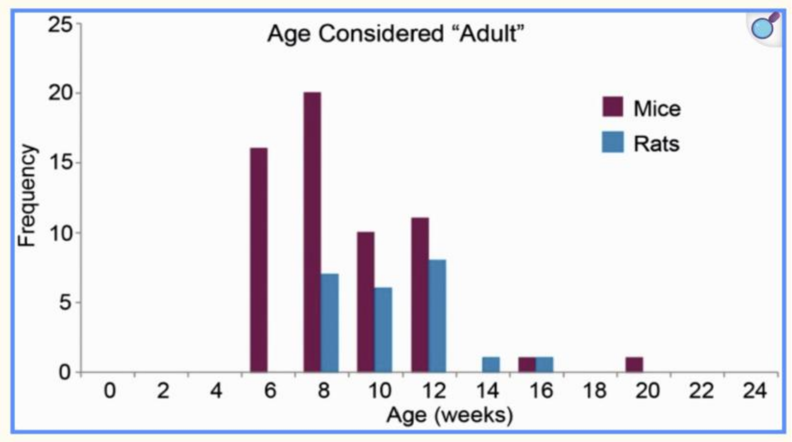
Does age matter? The impact of rodent age on study outcomes

Samuel J Jackson [1,*,✉], Nick Andrews [2], Doug Ball [3], Ilaria Bellantuono [4], James Gray [3], Lamia Hachoumi [5], Alan Holmes [6], Judy Latcham [7], Anja Petrie [8], Paul Potter [9], Andrew Rice [10], Alison Ritchie [11], Michelle Stewart [12], Carol Strepka [13], Mark Yeoman [5], Kathryn Chapman [1]

Возраст животного

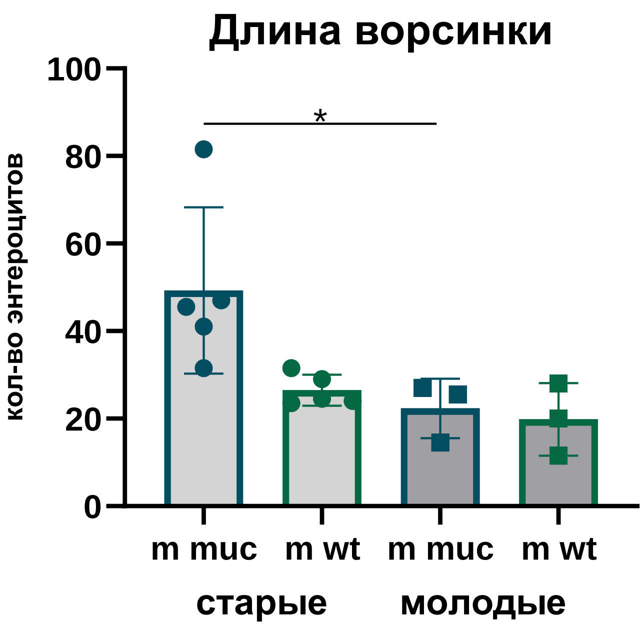
‘’…Taken together, these data demonstrate that: choosing an age of rodent relevant to the human disease being studied can have a critical impact on the performance of the model; the age of rodent is often based on practical considerations or convention; and the age of rodent reported as ‘adult’ is inconsistent between studies or laboratories…’’

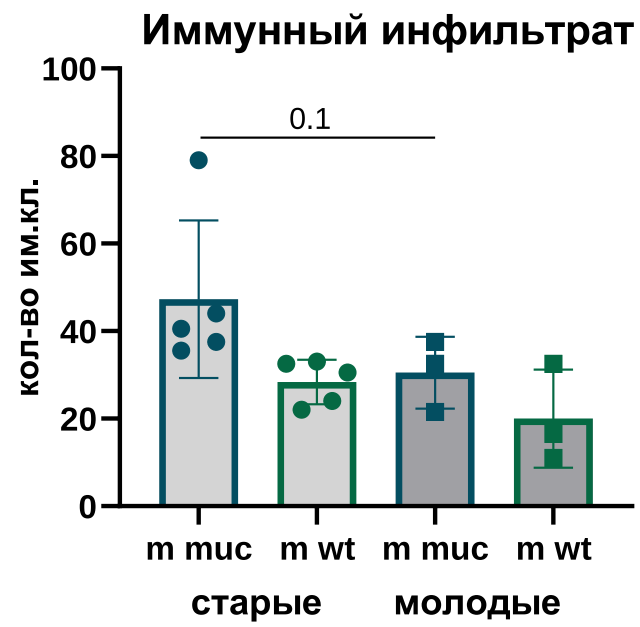
(Jackson et al. 2016)



Результаты: проявление гистологических симптомов ВЗК у самцов в зависимости от возраста

Животные: самцы *Muc2-/-* и wt;
Содержание: ИВК, барьерная зона, животные из одного выводка рассажены по полу;
Возраст: 4-5 месяцев и 8-12 месяцев;





Данные представлены как медианное значение показателя, посчитанного для каждого животного на двух гистологических срезах.

Роль пола животного в изменчивости в результатах эксперимента

Sex in studies

The first level of personalisation

Features

Full issue

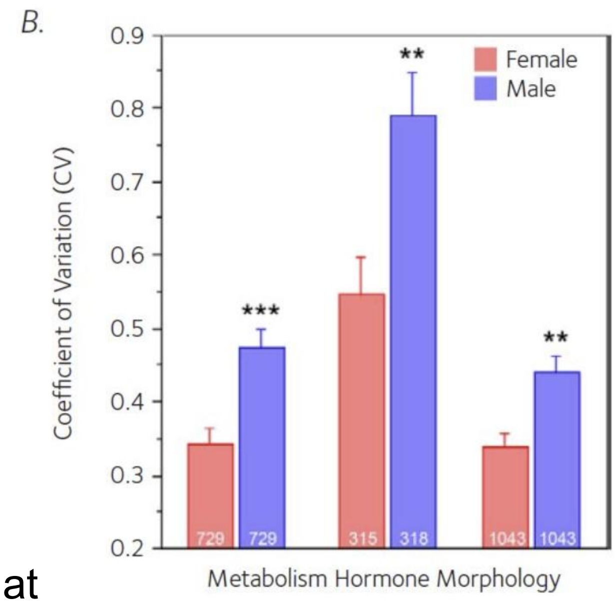
Natasha A Karp, AstraZeneca, Cambridge, UK

Rohit Katial, AstraZeneca, DE, USA

Karen Thacker, AstraZeneca, Cambridge, UK

https://doi.org/10.36866/pn.118.32

Пол животного

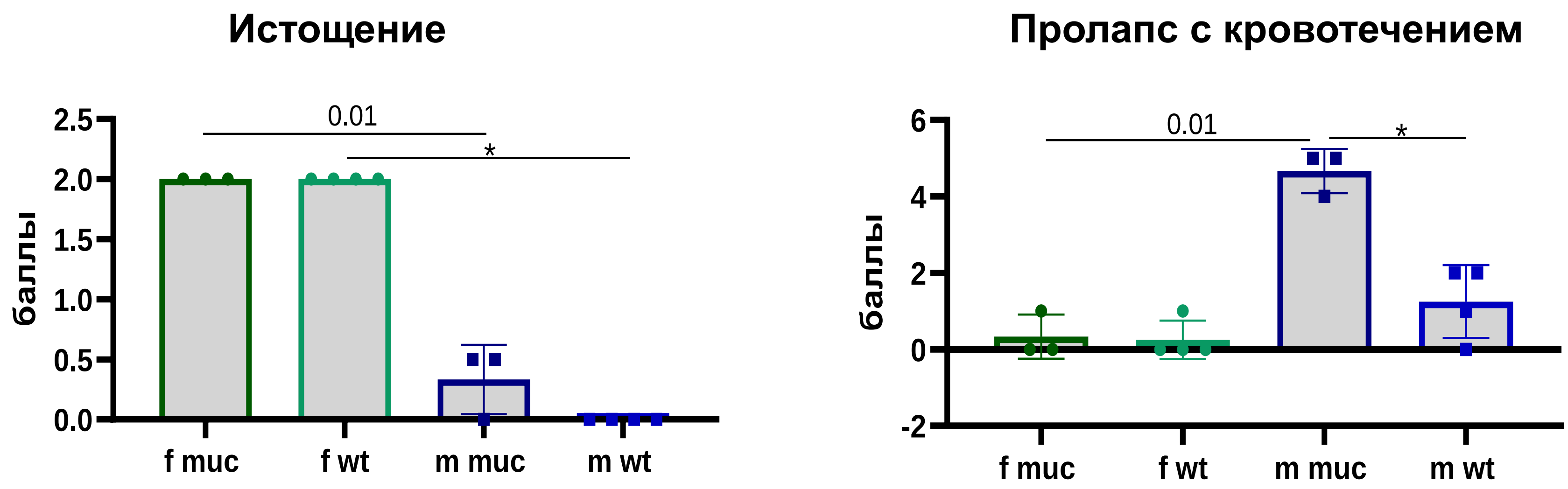


’’…Our sex is a fundamental evolutionarily conserved feature that divides our population into two. Yet our bench-to-bedside research neglects sex differences and assumes that knowledge gained from studying males will translate. Sex differences in disease prevalence, symptoms and progression, together with differences in treatment efficacy and side effects, are well accepted…’’

(Karp, Katial, and Thacker 2020)

Результаты: проявление клинических симптомов ВЗК у самцов и самок

Животные: самцы и самки *Muc2-/-* и wt;
Содержание: ИВК, барьерная зона, животные из одного выводка рассажены по полу;
Возраст: 5 месяцев;

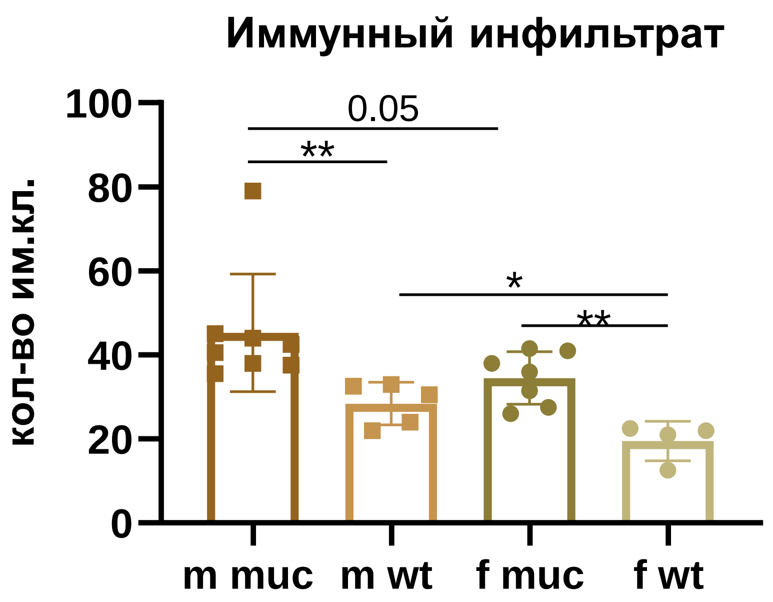


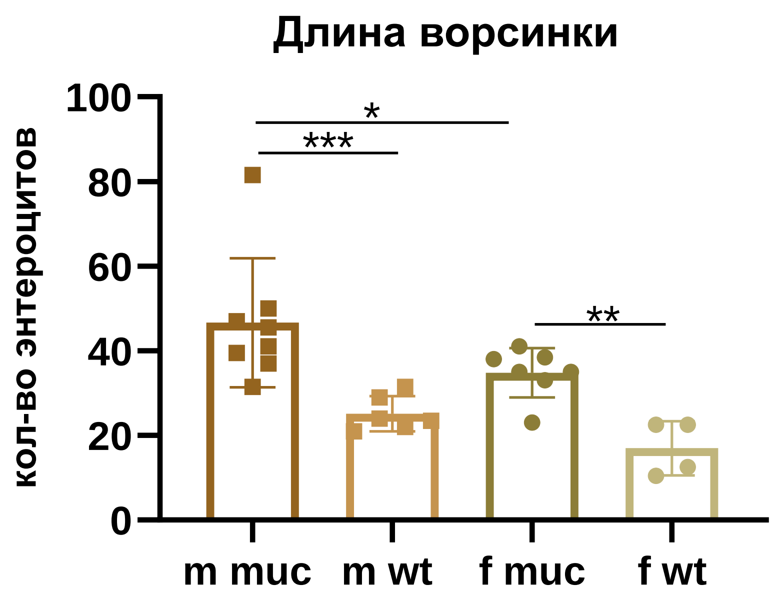
(Milutinovich and Popov 2025)

Данные представлены как балл в конечной точке измерения, полученных животными за 10 недель наблюдения.

Результаты: проявление гистологических симптомов ВЗК у возрастных самцов и самок

Животные: самцы и самки *Muc2-/-* и wt;
Содержание: ИВК, барьерная зона, животные из одного выводка рассажены по полу;
Возраст: от 6 до 12 месяцев;





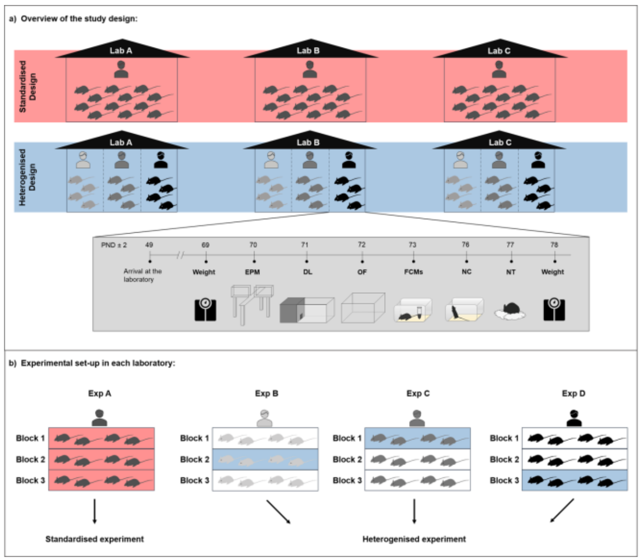
Данные представлены как медианное значение показателя, посчитанного для каждого животного на двух гистологических срезах.

Вклад вивария и экспериментатора в изменчивость в полученных результатах эксперимента

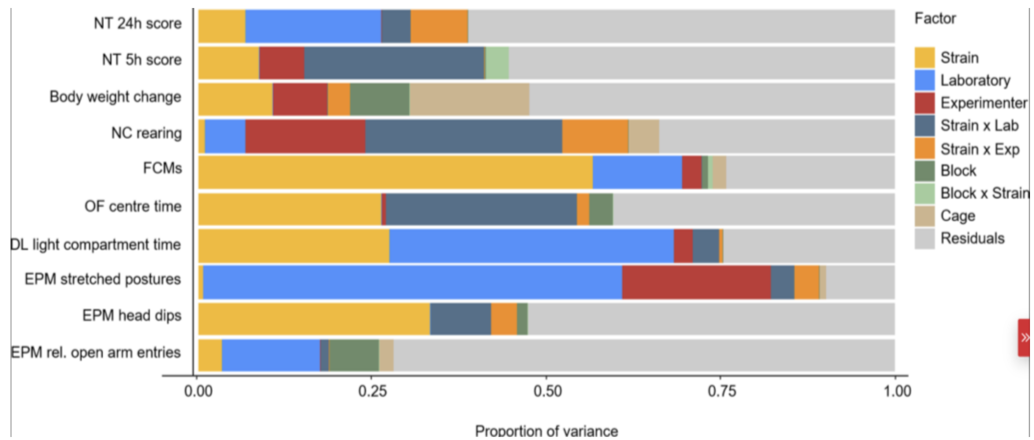
Do multiple experimenters improve the reproducibility of animal studies?

Vanessa Tabea von Kortzfleisch, Oliver Ambrée, Natasha A. Karp, Neele Meyer, Janja Novak, Rupert Palme, Marianna Rosso, Chadi Touma, Hanno Würbel, Sylvia Kaiser, Norbert Sachser, S. Helene Richter

Published: May 5, 2022 • https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3001564



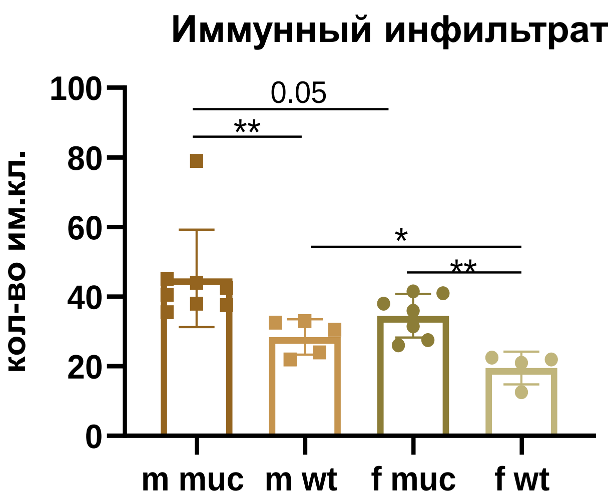
Место содержания животного и экспериментатор

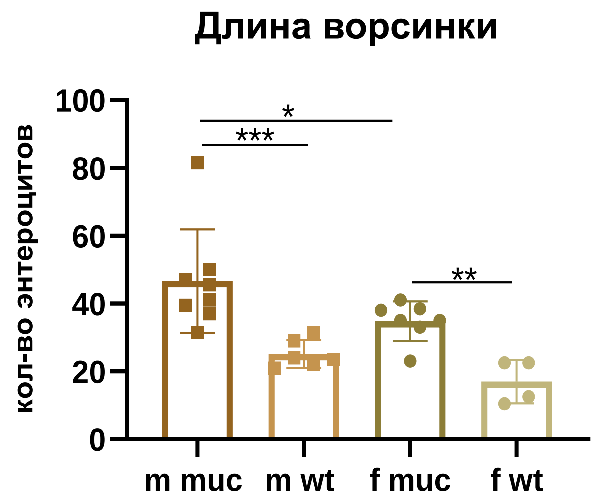


‘’…The aim of this study was to empirically compare an experimenter heterogenisation strategy with a conventionally standardised design in a multilaboratory study. In contrast to our expectations, the experimenter heterogenisation led neither to more consistency across the 3 laboratories nor to a better performance in detecting the overall treatment effect compared to a conventionally standardised design. This finding was independent of the concrete constellation of experimenters contributing to the standardised and the heterogenised designs, as it remained the same when basing the analysis on 10 alternative, randomised allocations…’’

(von Kortzfleisch et al. 2022)

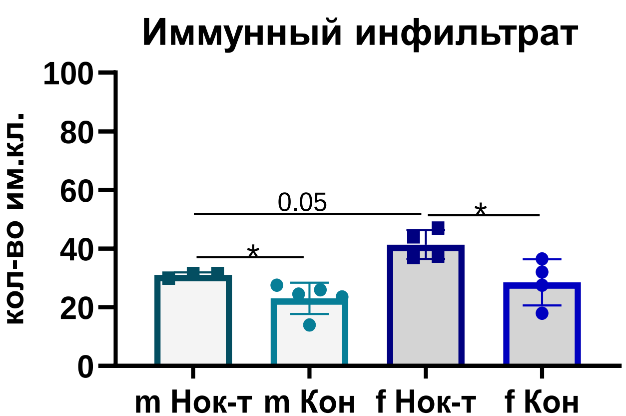
Результаты: проявление гистологических симптомов ВЗК у возрастных самцов и самок в зависимости от места содержания

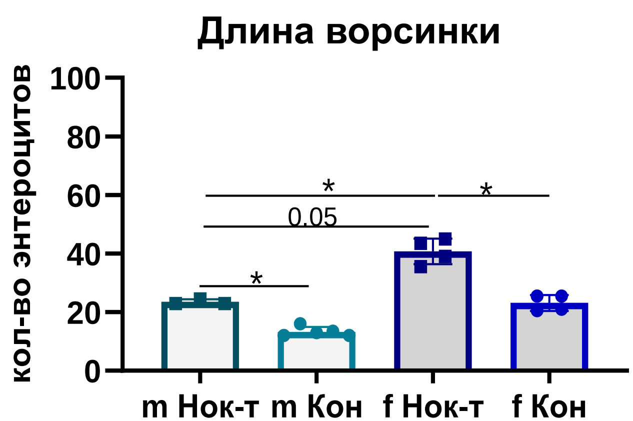




Животные: самцы и самки *Muc2-/-* и wt;
Возраст: от 8 до 12 месяцев;

Содержание: ИВК, барьерная зона, животные из одного выводка рассажены по полу;



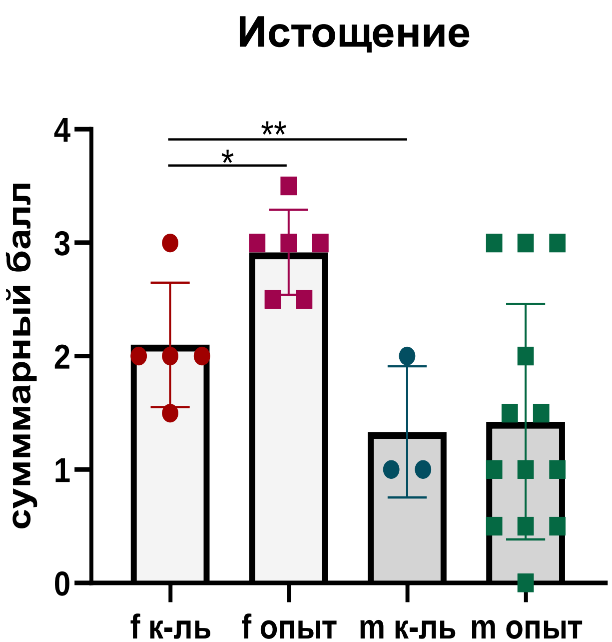


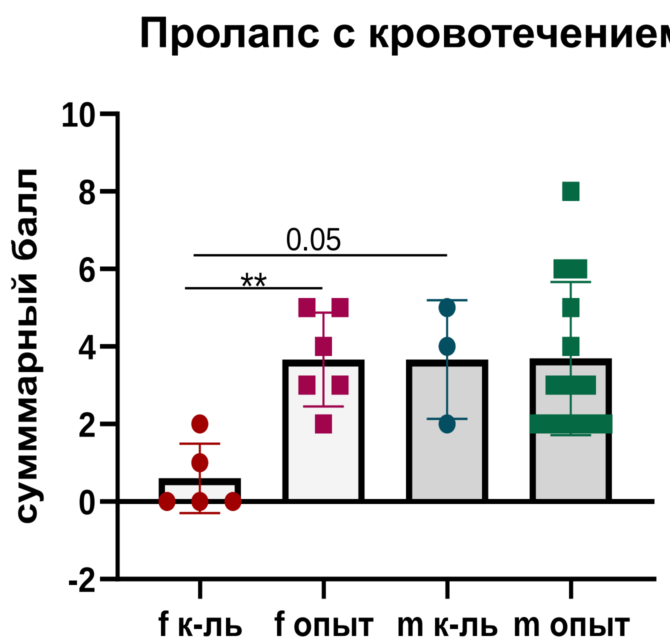
Содержание: клетки открытого типа**,** SPF-зона, животные рассажены по полу и по генотипу;

Данные представлены как медианное значение показателя, посчитанного для каждого животного на двух гистологических срезах.

Результаты: проявление клинических симптомов ВЗК у самцов и самок под действием социального стресса

Животные: самцы и самки *Muc2-/-*;
Содержание: ИВК, барьерная зона;
Рассадка: «опыт» – по полу и по генотипу по 6-7 животных в клетке, «контроль» – по полу по 3-4 животных в клетке;





Данные представлены как суммарное значение баллов, полученных животными за 8 недель наблюдения.

Роль клетки в изменчивости в результатах эксперимента

The influence of the cage environment on rodent physiology and behavior: Implications for reproducibility of pre-clinical rodent research

Linda A. Toth

Research Article

Suspected Lonely Mouse Syndrome as a Cage Effect in a Drug Safety Study

Xiaobu Ye,[1] MariaLisa Itzoe,[1] Rachel Sarabia-Estrada,[1] Louis DeTolla,[2] Betty M. Tyler,[1] and Michael Guarnieri[1]

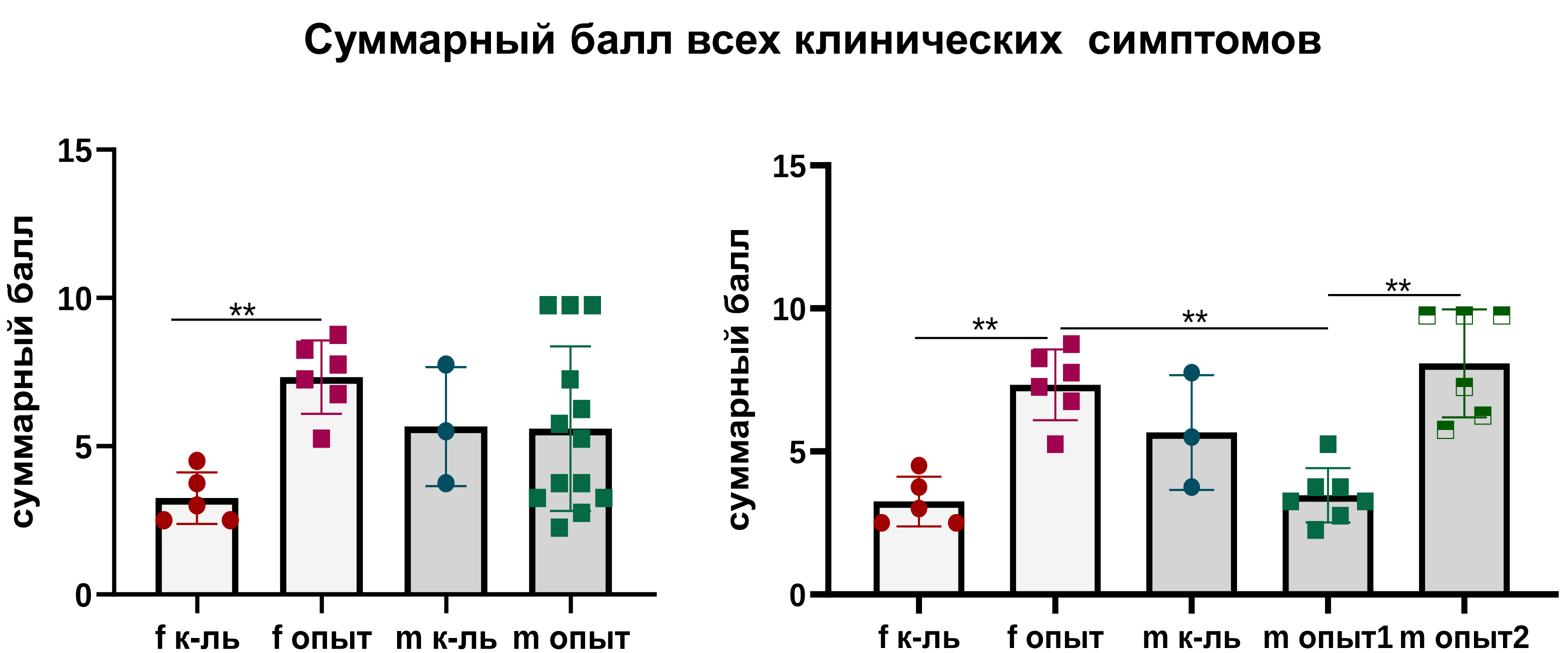
‘’…Furthermore, an important fact to recognize is that all mice housed in the same cage are not necessarily identical, even if highly inbred. Differences among cage mates may be visually obvious in cages with dominance hierarchies, which can occur in association with fighting and overt injury to some cage mates but not others…’’

(Toth 2015)

’’…This appears to be the first report of cage effects in a clinical trial for a veterinary drug…’’

(Ye et al. 2018)

Результаты: проявление клинических симптомов ВЗК у самцов и самок под действием социального стресса, роль клетки



Данные представлены как суммарное значение суммы баллов всех симптомов, полученных животными за 8 недель наблюдения.

Резюме:

Наши результаты подтверждают, что проявления признаков у трансгенных мышей зависят от пола и возраста животного, подвержены влиянию эффекта клетки, а также весомый вклад в вариабельность результатов вносит виварий.

Признаки, по которым оценивается патология в этой модели ВЗК, зависят от пола, возраста, а также подвергаются влиянию эффекта клетки и зависят от вивария. Вероятным механизмом, усиливающим симптомы ВЗК, является действие социального стресса на фоне нокаута по гену муцина2.

Полученные нами данные в очередной раз поднимают проблему необходимости использования гетерогенных выборок при проведении исследований на трансгенных моделях системных патологий.

Благодарности:

Научному руководителю – **Попову Владимиру Сергеевичу**,

Константину Собянину,

Ольге Григорьевой,

Ольге Фроловой,

Алене Шиловой,

Марии Дубровой,

Марии Павловой

Методы: оценка клинических симптомов

норма	отклонение от нормы	средняя степень истощения	сильное истощение
0	0,5	1	2

Таблица 1. Оценка истощения в баллах

норма	В клетке обнаружены следы диареи	У животного обнаружена диарея
0	1	2

Таблица 3. Оценка наличия диареи

норма	слизистые выделени я	кровяные следы или незначительное выпячивание кишечника	ректальный пролапс	ректальный пролапс со следами крови	ректальный пролапс с активным кровотечением
0	1	2	3	4	5

Таблица 2. Оценка пролапса в баллах

Рисунок 1. Наглядная схема оценки ректального пролапса с кровотечением