



*На правах рукописи*

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'М.Борисова'.

Борисова Мария Александровна

**ОСОБЕННОСТИ ПОВЕДЕНИЯ САМЦОВ МЫШЕЙ НА МОДЕЛЯХ  
ХРОНИЧЕСКОГО КОЛИТА**

1.5.5. Физиология человека и животных

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Новосибирск – 2026

Работа выполнена в лаборатории генетики лабораторных животных ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (г. Новосибирск).

**Научный руководитель:** **Кожевникова Елена Николаевна**, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией моделирования патологий человека Института молекулярной и клеточной биологии СО РАН (г. Новосибирск)

**Официальные оппоненты:** **Тихонова Мария Александровна**, доктор биологических наук, главный научный сотрудник, и.о. заведующий лабораторией нейробиологических механизмов нейродегенеративных процессов, зам. директора по экспериментальной нейронауке ФГБНУ «Научно-исследовательский институт нейронаук и медицины» (г. Новосибирск)

**Ситдикова Гузель Фаритовна**, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой физиологии человека и животных ФГАОУ ВО "Казанский (Приволжский) федеральный университет" (г. Казань)

**Ведущая организация:** ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН (г. Санкт-Петербург)

Защита диссертации состоится «\_\_» \_\_\_\_\_ 2026 г. в \_\_ часов на заседании диссертационного совета 24.1.239.03, созданного на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» в конференц-зале Института по адресу: 630090, г. Новосибирск, проспект ак. Лаврентьева, 10, т. (383) 363-49-06.

E-mail: dissov@bionet.nsc.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ИЦиГ СО РАН и на сайте Института <https://www.icgbio.ru>

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2026 г

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
кандидат биологических наук



А.С. Цыбко

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы исследования

Воспалительные заболевания кишечника (ВЗК) – это хронические заболевания желудочно-кишечного тракта, основными симптомами которых являются воспаление, изъязвление, нарушение кишечной проницаемости, диарея (Baumgart, Sandborn, 2007). Нередко пациенты с ВЗК страдают от тревожности, депрессии, биполярного расстройства, бессонницы и других расстройств (Neuendorf *et al.*, 2016, Conley *et al.*, 2021), однако данные об особенностях их протекания в качестве коморбидной патологии остаются противоречивыми (Massironi *et al.*, 2025).

Для понимания механизмов взаимосвязи между воспалением кишечника и нарушениями функционирования головного мозга в настоящем исследовании были использованы две модели хронического колита на мышах. Одной из моделей стали мыши с нокаутом гена, кодирующего муцин-2 (*Muc2*), у которых наблюдаются изменения морфологии кишечных крипт и спонтанный колит (Van der Sluis *et al.*, 2006). Результаты исследований поведения мышей с нокаутом гена *Muc2* немногочисленны и не охватывают социальное поведение этих животных (Barnett *et al.*, 2025). Второй моделью нарушения морфологии и функции кишечника является модель, индуцированная добавлением натриевой соли сульфата декстрана (dextran sulfate sodium salt, DSS) в питьевую воду. Такое химически индуцированное воспаление ассоциировано с поведенческими изменениями у мышей (Bercik *et al.*, 2011, Hassan *et al.*, 2014, Reichmann *et al.*, 2015). Тем не менее, особенности социального поведения при непосредственном взаимодействии исследуемых животных с незнакомыми самкой и самцом после предоставления DSS до этого исследования не изучались и не были описаны в литературе.

Развитие воспаления кишечника ассоциировано с изменениями в кишечной микробиоте, которые могут быть как причиной, так и следствием ВЗК (Kostic *et al.*, 2014). Связь между микробиотой и работой головного мозга показана и на лабораторных животных (Sudo *et al.*, 2004, Desbonnet *et al.*, 2010, Bravo *et al.*, 2011, Bercik *et al.*, 2011, Hsiao *et al.*, 2013, Selkrig *et al.*, 2014, Savignac *et al.*, 2015). Изучение механизмов и путей регуляции оси «микробиота – кишечник – мозг» не только представляет интерес для описания причин изменений поведения, но и поможет разобраться в этиологии других расстройств, сопутствующих ВЗК, что позволит предложить новые пути для терапии коморбидных патологий, сопровождающих хронический колит.

## Цель и задачи исследования

Цель работы: выявить особенности поведения самцов мышей с использованием моделей генетически обусловленного и химически индуцированного хронического колита и оценить вклад микробиоты кишечника и ассоциированных с ней метаболитов в регуляцию поведенческих реакций.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1) Оценить целостность кишечного и гематоэнцефалического барьеров, особенности поведения и активации нейронов вентромедиального гипоталамуса и метаболический профиль головного мозга самцов мышей на модели хронического колита, обусловленного нокаутом гена, кодирующего муцин-2.

2) Охарактеризовать особенности поведения и метаболический профиль крови самцов мышей на модели хронического колита, индуцированного потреблением натриевой соли сульфата декстрана.

3) Оценить влияние бактериальной микробиоты кишечника на поведение самцов мышей на моделях генетически обусловленного либо химически индуцированного хронического колита.

4) Изучить вклад моносахарида фукозы в регуляцию поведенческих реакций на модели хронического колита, индуцированного потреблением натриевой соли сульфата декстрана.

## Научная новизна работы

В данной работе были обнаружены изменения поведенческих паттернов, опосредующих взаимодействие исследуемых самцов мышей с самцами и самками. Такие поведенческие паттерны были ассоциированы с хроническим воспалением кишечника и изменением состава микробиоты. Для самцов мышей *Muc2*<sup>-/-</sup> показано нарушение целостности кишечного и гематоэнцефалического барьеров в сравнении с контрольной линией C57BL/6. Для модели хронического воспаления, генетически обусловленного дефицитом белка муцина-2, впервые показано снижение тревожности и стереотипного поведения, увеличение продолжительности социальных контактов с самцом и доли животных, демонстрирующих садки на самца-интродера. Особенности социального поведения у самцов мышей *Muc2*<sup>-/-</sup> сопровождаются изменениями в характере активации нейронов вентромедиального гипоталамуса (ВМГ) после предоставления социального

стимула. Для модели химически-индуцированного хронического воспаления, вызванного предоставлением в питье DSS, впервые показано отсутствие предпочтения самцами запаха самки при отсутствии нарушений социального взаимодействия с самкой- и самцом-интродером. Выявлено, что изменения социального поведения, обуславливающего межполовые взаимодействия, у самцов мышей с хроническим воспалением кишечника сопровождаются изменением содержания метаболитов крови и головного мозга. Впервые обнаружено, что нарушения социального взаимодействия с самкой- и самцом-интродерами у самцов мышей с хроническим колитом определяются, по крайней мере отчасти, изменением кишечной микробиоты. Показано, что моносахарид L-фукоза при предоставлении в питье изменяет состав микробиоты кишечника и восстанавливает предпочтение запаха самок самцами мышей на фоне DSS-индуцированного колита.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Полученные данные могут способствовать пониманию механизмов работы оси «микробиота – кишечник – мозг». Результаты проведенного исследования расширяют представление о влиянии бактерий кишечной микробиоты на социальное поведение, обуславливающее межполовые взаимодействия, а именно на предпочтение самцами мышей социально значимых запахов и взаимодействие самцов мышей с разнополыми интродерами. Предложенный в данной работе в качестве потенциального пробиотика моносахарид L-фукоза может быть в дальнейшем использован как инструмент для разработки методов коррекции поведенческих нарушений у пациентов с ВЗК.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Изменение состава кишечной микробиоты мышей при хроническом воспалении, обусловленном нокаутом гена, кодирующего муцин-2, нарушает межполовые взаимодействия у самцов, а при колите, индуцированном потреблением натриевой соли сульфата декстрана, – предпочтение запаха самки.

2. Нарушения социального поведения самцов мышей, ассоциированные с хроническим колитом различного происхождения и опосредованные изменением состава кишечной микробиоты, связаны с изменением содержания аминокислот – глицина в головном мозге и триптофана в крови животных.

3. Моносахарид фукоза модулирует состав микробиоты кишечника, что приводит к повышению уровня триптофана в крови и восстановлению

предпочтения запаха самки у самцов мышей с химически индуцированным колитом.

### **Личный вклад соискателя**

Автором самостоятельно выполнялись гистологические и иммуногистохимические исследования (приготовление препаратов, гистологический и иммуногистохимический анализ, оценка по гистологической шкале), работа с животными (получение химически индуцированной модели хронического колита, предоставление антибиотиков в питье, оценка проницаемости кишечника и гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) в Центре генетических ресурсов лабораторных животных ИЦиГ СО РАН. Поведенческие тесты и их анализ были выполнены совместно с к.б.н. Кожевниковой Е.Н. и к.б.н. Морозовой М.В. Тест поведения в домашней клетке был выполнен к.б.н. Хоцкиным Н.В. в Центре генетических ресурсов лабораторных животных ИЦиГ СО РАН. Анализ метаболитов методом ЯМР был выполнен совместно с к.б.н. Снытниковой О.А. в Центре коллективного пользования «Масс-спектрометрические исследования» Международного томографического центра (МТЦ) СО РАН. Метагеномный анализ кишечной микробиоты был выполнен компанией Novogene (Novogene Co., Ltd., Пекин, Китай) совместно с Кожевниковой Е.Н. Анализ образцов с помощью просвечивающей электронной микроскопии был выполнен к.б.н. Морозовой К.Н. и к.б.н. Киселевой Е.В. в Центре микроскопического анализа биологических объектов ИЦиГ СО РАН. Изображения препаратов иммуногистохимического окрашивания с антителами к белку клаудин-3 получали в Центре коллективного пользования «Молекулярная и клеточная биология» Института молекулярной и клеточной биологии (ИМКБ) СО РАН.

### **Апробация работы**

По материалам диссертации опубликовано 14 работ в рецензируемых изданиях, из них 7 статей (WoS, Scopus) и 7 тезисов конференций.

### **Объем и структура диссертации**

Диссертация включает введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследований, результаты, обсуждение результатов, выводы, список сокращений и список литературы. Работа изложена на 150 страницах, содержит 25 рисунков, 8 таблиц и 2 страницы приложений к диссертации. Библиографический указатель включает 314 источников литературы.

## ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Обзор литературы включает в себя четыре раздела и заключение. В обзоре приведены сведения о ВЗК, описана связь этих заболеваний с нарушениями кишечной микробиоты. Рассмотрены сопутствующие ВЗК патологии ЦНС и изменения поведения, а также описаны механизмы, связывающие головной мозг и пищеварительную систему. Также описаны модели ВЗК на лабораторных животных, используемые в современной практике.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Животные

Эксперименты проводили в Центре генетических ресурсов лабораторных животных ИЦиГ СО РАН с использованием мышей линии C57BL/6JNskrc - потомков линии C57BL/6J (далее по тексту C57BL/6) и мышей линии *Muc2<sup>-/-</sup>*. Мышей линии *Muc2<sup>-/-</sup>* получали с помощью редеривации мышей линии *Muc2<sup>tm1Avel</sup>/Muc2<sup>tm1Avel</sup>*, далее проводили возвратные скрещивания на линию C57BL/6. Мышей линии *Muc2<sup>-/-</sup>* и их однопометников (*Muc2<sup>+/+</sup>*) получали из скрещиваний самцов и самок *Muc2<sup>+/+</sup>*. Для проведения экспериментов на модели хронического генетически обусловленного воспаления кишечника использовали самцов мышей линии C57BL/6 в качестве контрольной линии, самцов мышей линии *Muc2<sup>-/-</sup>* и их однопометников *Muc2<sup>+/+</sup>*. В исследовании с моделированием химически индуцированного хронического воспаления кишечника самцов мышей линии C57BL/6 делили на 4 группы. Контрольная группа («Контроль») получала питьевую воду, группа «DSS» получала в питье 2% натриевую соль сульфата декстрана (DSS) в питьевой воде, группа «DSS + фукоза» получала 2% DSS в питьевой воде с добавлением 0,1% фукозы, группа «Фукоза» получала 0,1% фукозу в питьевой воде. Самцов мышей поили по описанной схеме в течение 7 дней, после чего питьевые растворы заменяли на воду еще на 7 дней. Цикл поения повторяли три раза, после чего проводили поведенческие тесты и собирали образцы.

### Проведение поведенческих тестов

В тесте «открытое поле» самца мыши помещали у бортика пластиковой арены диаметром 1 м и позволяли свободно перемещаться по арене в течение 5 минут. Все передвижения животного фиксировали с помощью видеокамеры. В тесте с закапыванием шариков подсчитывали количество шариков, закопанных как минимум на две трети за 30 минут.

В ходе теста на предпочтение социально значимого запаха животному в разные углы клетки помещали два ситечка с загрязненным подстилом: из клетки самок и из клетки самцов. Животному позволяли перемещаться по клетке и обнюхивать ситечки в течение 5 минут. Для теста с двумя

интродерами в домашнюю клетку к самцу-резиденту одновременно помещали незнакомых интродеров (самца и эстральную самку линии BALB/c) на 15 минут. Поведение животных записывали на видеокамеру.

#### **Гистологический анализ**

Парафиновые срезы (4 мкм) окрашивали с помощью ШИК-реакции.

#### **Иммуногистохимический анализ**

Активацию нейронов оценивали с помощью иммуногистохимического окрашивания с антителами к маркеру активации нейронов, белку c-Fos, после предоставления стимула (самец-интродер, самка-интродер либо салфетка с нейтральным запахом).

#### **Измерение проницаемости кишечного и гематоэнцефалического барьеров**

Проницаемость стенки кишечника и гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) оценивали с помощью введения FITC-Dextran 4 кДа.

#### **Измерение уровня содержания отдельных таксонов бактерий**

ДНК выделяли из образцов фекалий с использованием набора QIAamp DNA Stool Mini Kit (Qiagen, Германия) по инструкции производителя. Измерение уровня содержания отдельных таксонов бактерий проводили с помощью ПЦР в реальном времени.

#### **Метагеномный анализ кишечного микробиома**

Для проведения анализа ДНК выделяли из образцов фекалий животных с помощью набора QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit (Qiagen, Германия), следуя протоколу производителя. Последующую пробоподготовку проводили в компании Novogene (Китай).

#### **ЯМР-спектроскопия метаболитов в крови и в головном мозге**

Анализ проводили с помощью ЯМР спектрометра AVANCE III HD 700 MHz (Bruker BioSpin, Германия).

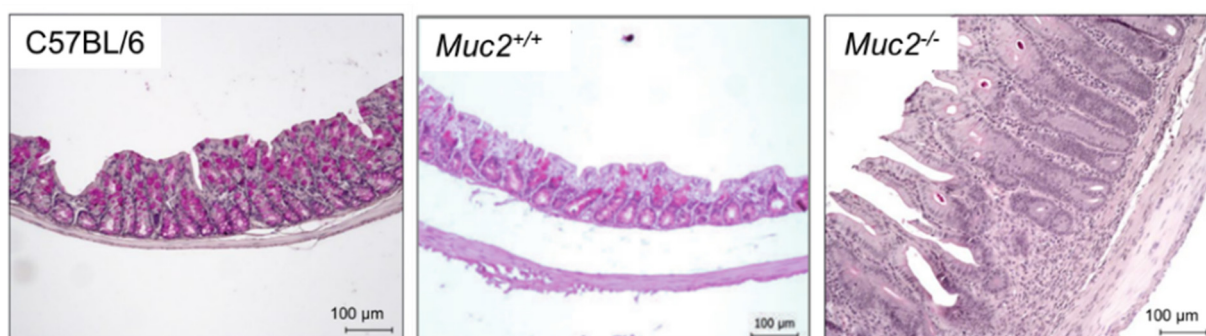
#### **Статистическая обработка**

Полученные выборки данных проверяли на соответствие нормальному распределению с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. Нормально распределенные выборки обрабатывали с помощью t-критерия Стьюдента и двухфакторного дисперсионного анализа (two-way ANOVA). Для обработки данных, не соответствующих нормальному распределению, использовали критерий Краскела-Уоллеса (Kruskal-Wallis ANOVA), U-критерий Манна-Уитни (Mann-Whitney U test) для независимых образцов, критерий  $\chi^2$ . Все данные представлены как среднее  $\pm$  стандартная ошибка среднего, кроме данных по представленности бактерий (в таких случаях представлены индивидуальные значения для каждого образца).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

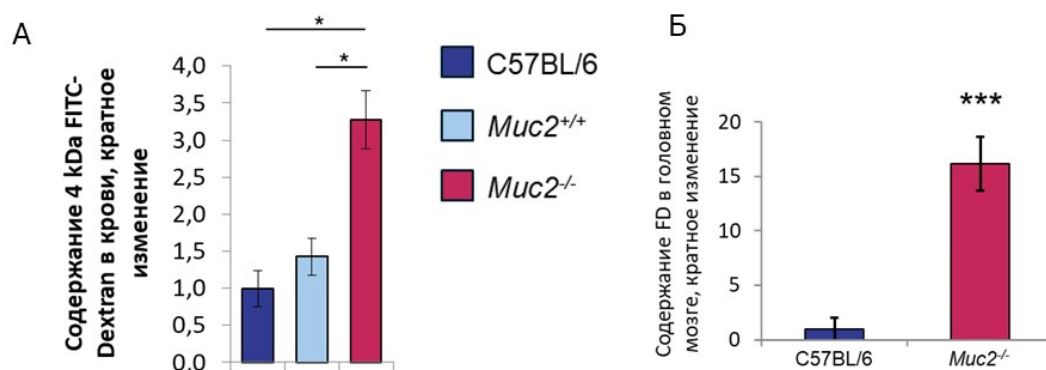
### Выраженность колита у мышей *Muc2*<sup>-/-</sup>

У животных с нокаутом гена *Muc2* наблюдались признаки хронического воспаления, тогда как у мышей контрольной линии C57BL/6 патологических изменений не наблюдалось (Рисунок 1). Клетки эпителия кишки мышей C57BL/6 образовывали непрерывный слой, изъязвления и эрозии отсутствовали. У мышей *Muc2*<sup>+/+</sup> не наблюдалось признаков кишечного воспаления. В эпителии кишки мышей линии *Muc2*<sup>-/-</sup> наблюдалось хроническое воспаление с усиленной пролиферацией колоноцитов и присутствием полиморфоядерных клеток (Рисунок 1).



**Рисунок 1. Выраженность хронического воспаления в толстой кишке мышей *Muc2*<sup>-/-</sup> в условиях SPF-вивария.** Гистологические срезы нисходящей толстой кишки, ШИК-окраска. Шкала 100 мкм. N = 5 – 6.

Для мышей линии *Muc2*<sup>-/-</sup> было показано увеличение проницаемости кишечной стенки для FITC-Dextran 4 кДа (FD), что является еще одним признаком хронического воспалительного процесса в кишечнике ( $Z = 2,55$ ,  $p = 0,011$  по сравнению с C57BL/6,  $Z = 2,65$ ,  $p = 0,011$ , по сравнению с *Muc2*<sup>+/+</sup>,  $U$ -критерий Манна-Уитни, Рисунок 2 А).

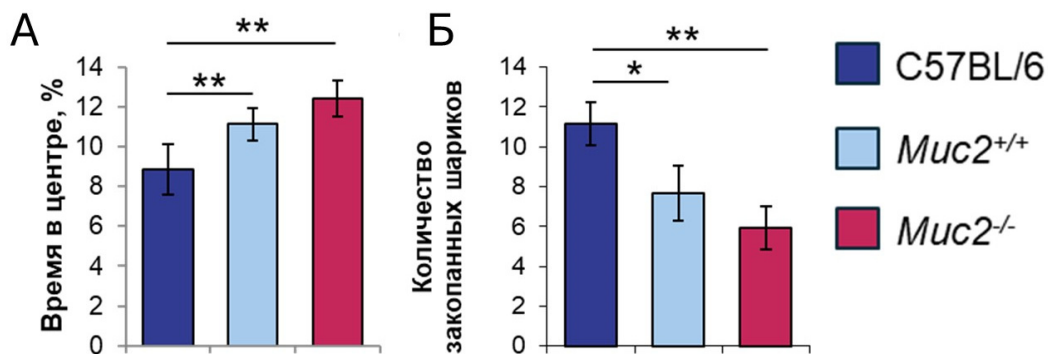


**Рисунок 2. Нарушение целостности кишечного и гематоэнцефалического барьеров у мышей *Muc2*<sup>-/-</sup>.** А. Оценка проницаемости кишечной стенки по содержанию FITC-Dextran 4 кДа в плазме крови \* =  $p < 0,05$ ,  $U$ -критерий Манна-Уитни. N = 6 для C57BL/6 и *Muc2*<sup>+/+</sup>, N = 9 для *Muc2*<sup>-/-</sup>. Б. Оценка проницаемости ГЭБ по содержанию FITC-Dextran 4 кДа в ткани головного мозга. \*\*\*  $p < 0,001$ ,  $U$ -критерий Манна-Уитни. N = 8.

Также у мышей *Muc2<sup>-/-</sup>* наблюдалось повышение проницаемости ГЭБ для FITC-Dextran 4-кДа по сравнению с C57BL/6 ( $Z = -3,31$ ,  $p < 0,001$ ,  $U$ -критерий Манна-Уитни, Рисунок 2 Б).

### Особенности поведения мышей групп *Muc2<sup>+/+</sup>* и *Muc2<sup>-/-</sup>*

В контексте полученных данных, важно проанализировать, как отсутствие наработки муцина-2 повлияет на работу оси «кишечник – мозг», и какие эффекты на поведение животных могут быть следствием хронического колита. По результатам теста «открытое поле» самцы мышей групп *Muc2<sup>+/+</sup>* и *Muc2<sup>-/-</sup>* значительно больше времени проводили в центре арены, чем самцы линии C57BL/6 (*Muc2<sup>+/+</sup>*:  $Z = -2,98$ ,  $p = 0,00286$ ; *Muc2<sup>-/-</sup>*:  $Z = -3,333$ ,  $p = 0,00128$ ,  $U$ -критерий Манна-Уитни, Рисунок 3 А), что свидетельствует о снижении тревожности. В тесте с закапыванием шариков самцы мышей *Muc2<sup>+/+</sup>* и *Muc2<sup>-/-</sup>* закапывали достоверно меньше шариков, чем самцы мышей C57BL/6, что говорит о снижении проявлений стереотипного поведения (*Muc2<sup>+/+</sup>*:  $Z = 2,22$ ,  $p = 0,026$ ; *Muc2<sup>-/-</sup>*:  $Z = 2,93$ ,  $p = 0,006$ ,  $U$ -критерий Манна-Уитни, Рисунок 3 Б).

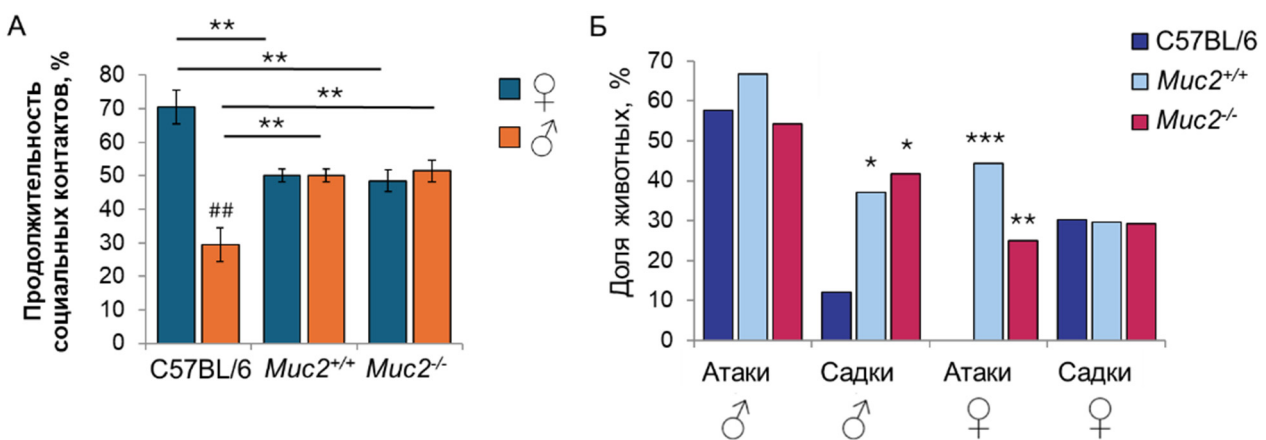


**Рисунок 3. Особенности поведения самцов мышей *Muc2<sup>+/+</sup>* и *Muc2<sup>-/-</sup>*. А. Тест «Открытое поле». Б. Тест с закапыванием шариков. \* =  $p < 0,05$ , \*\* =  $p < 0,01$ ,  $U$ -критерий Манна-Уитни. C57BL/6:  $N = 20$ , *Muc2<sup>+/+</sup>* и *Muc2<sup>-/-</sup>*:  $N = 18$ .**

В тесте с двумя интродерами самцы линии C57BL/6 демонстрировали предпочтение взаимодействия с самкой-интродером: продолжительность контактов с самкой была больше, чем с самцом ( $t = 4,08$ ,  $p = 0,0022$ ,  $t$ -критерий Стьюдента для зависимых образцов, Рисунок 4 А). Самцы *Muc2<sup>+/+</sup>* не демонстрировали выраженного предпочтения по отношению к самке-интродеру, больше взаимодействовали с самцом-интродером по сравнению с самцами C57BL/6 (продолжительность контактов самцов *Muc2<sup>+/+</sup>* с самцом/самкой по сравнению с C57BL/6,  $t = 3,67$ ,  $p = 0,0022$ ,  $t$ -критерий Стьюдента для независимых образцов). Самцы *Muc2<sup>-/-</sup>* не демонстрировали избирательность по отношению к какому-либо интродеру, и взаимодействовали с самкой достоверно меньше, а с самцом достоверно

больше, чем самцы контрольной линии C57BL/6 (продолжительность контакта с самкой либо самцом:  $t = 3,61$ ,  $p = 0,0022$ , t-критерий Стьюдента для независимых образцов, Рисунок 4 А).

Кроме того, в тесте с двумя интродерами около половины самцов во всех группах демонстрировали атаки на самца-интродера (Рисунок 4 Б). Самцы мышей линии C57BL/6 чаще атаковали самца-интродера, чем делали садки на него и не атаковали самок (Рисунок 4 Б). Самцы *Muc2<sup>+/+</sup>* демонстрировали садки на самцов-интродеров ( $p = 0,02$ , по сравнению с C57BL/6, критерий  $\chi^2$ ) и атаковали самок ( $p < 0.001$ , критерий  $\chi^2$ , по сравнению с C57BL/6, Рисунок 4 Б). Самцы мышей линии *Muc2<sup>-/-</sup>* чаще делали садки на самца-интродера, чем самцы линии C57BL/6 ( $p = 0.014$ , тест  $\chi^2$ ), и атаковали самок ( $p = 0.0048$ , тест  $\chi^2$ , по сравнению с C57BL/6, Рисунок 4 Б).

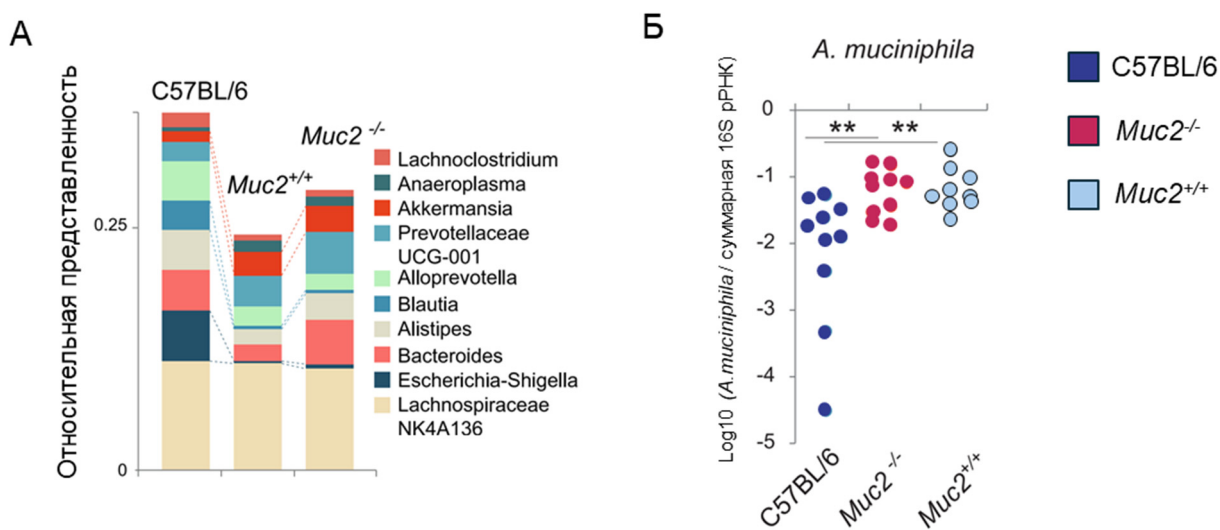


**Рисунок 4. Особенности поведения самцов мышей групп *Muc2<sup>+/+</sup>* и *Muc2<sup>-/-</sup>* в тесте с двумя интродерами. А.** Продолжительность контактов с самцом либо с самкой. Для C57BL/6, ## =  $p < 0,01$ , t-критерий Стьюдента для зависимых образцов. Продолжительность контактов с интродером по сравнению с C57BL/6, \*\* =  $p < 0,01$ , t-критерий Стьюдента для независимых образцов. N = 11 для C57BL/6, N = 10 для *Muc2<sup>+/+</sup>* и *Muc2<sup>-/-</sup>*. **Б.** Доля самцов, демонстрировавших атаки и садки на самок и самцов-интродеров. \* =  $p < 0,05$ , \*\* =  $p < 0,01$ , \*\*\* =  $p < 0,001$ , по сравнению с C57BL/6, критерий  $\chi^2$ . N = 33 для C57BL/6, N = 27 для *Muc2<sup>+/+</sup>*, N = 24 для *Muc2<sup>-/-</sup>*.

Активацию нейронов вентромедиального гипоталамуса оценивали после контакта с одним интродером. Количество с-Fos-позитивных ядер клеток в вентромедиальном гипоталамусе у самцов *Muc2<sup>-/-</sup>* после взаимодействия с самцом-интродером было достоверно больше, чем у самцов линии C57BL/6 (C57BL/6:  $9,3 \pm 0,6$ , *Muc2<sup>-/-</sup>*:  $20,9 \pm 2,9$ ,  $Z = 2.33$ ,  $p = 0,040$ , U-критерий Манна-Уитни, N = 5).

## Роль микробиоты в поведении мышей *Muc2<sup>+/+</sup>* и *Muc2<sup>-/-</sup>*

Для того, чтобы охарактеризовать кишечную микробиоту у мутантных мышей *Muc2<sup>-/-</sup>* и их однопаметников *Muc2<sup>+/+</sup>*, было проведено секвенирование гипервариабельного района V3-V4 гена 16S рРНК. Относительная представленность 10 самых многочисленных родов бактерий показана на Рисунке 5 А. Было отмечено снижение доли *Blautia* и *Escherichia-Shigella*, а также повышение количества *Akkermansia* у мышей *Muc2<sup>-/-</sup>* и *Muc2<sup>+/+</sup>* по сравнению с C57BL/6 (Рисунок 5 А). Достоверное повышение *Akkermansia muciniphila* было подтверждено с помощью ПЦР в реальном времени (*Muc2<sup>-/-</sup>* по сравнению с C57BL/6:  $Z = -2,80$ ,  $p = 0,0062$ , *Muc2<sup>+/+</sup>* по сравнению с C57BL/6:  $Z = -2,74$ ,  $p = 0,0062$ , *U*-критерий Манна-Уитни, Рисунок 5 Б).



**Рисунок 5. Анализ содержимого кишечника мышей *Muc2<sup>-/-</sup>* и *Muc2<sup>+/+</sup>*.**

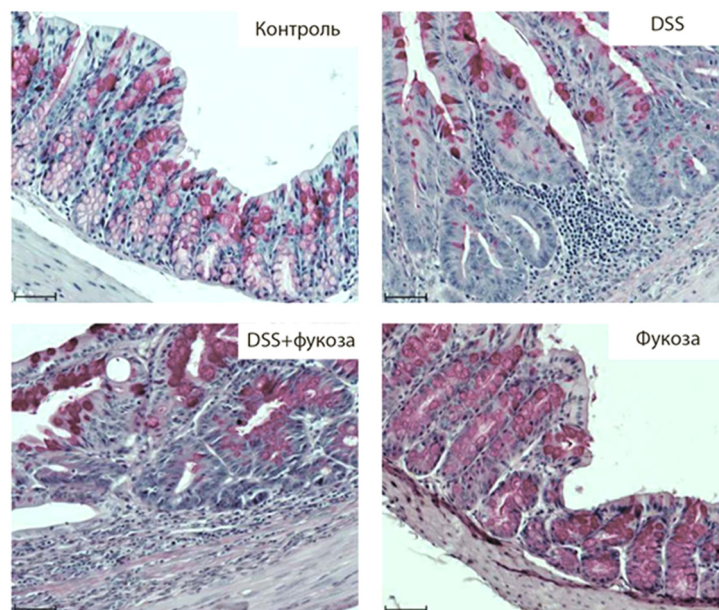
**А.** Качественные изменения относительной представленности 10 самых многочисленных родов бактерий.  $N = 4$ . **Б.** ПЦР в реальном времени.  $** = p < 0,01$ , *U*-критерий Манна-Уитни.  $N = 9 - 10$ .

Данные исследования показывают, что особенности поведения самцов групп *Muc2<sup>+/+</sup>* и *Muc2<sup>-/-</sup>*, по крайней мере отчасти, обусловлены изменениями в кишечной микробиоте, а не воспалением. Одним из элементов, связывающих работу кишечника и мозга у мышей с нокаутом гена, кодирующего муцин-2, могут быть изменения метаболизма, вызванные кишечной микробиотой. Методом ЯМР было показано увеличение количества глицина в ткани мозга относительно мышей C57BL/6 ( $1 \pm 0,07$ ) у мышей *Muc2<sup>+/+</sup>* ( $1,19 \pm 0,04$ ) и *Muc2<sup>-/-</sup>* ( $1,34 \pm 0,07$ ), что было подтверждено с помощью *U*-критерия Манна-Уитни (C57BL/6 и *Muc2<sup>-/-</sup>*:  $Z = 2,562$ ,  $p = 0,02$ , C57BL/6 и *Muc2<sup>+/+</sup>*:  $Z = 2,008$ ,  $p = 0,0446$ ,  $N = 6$  для C57BL/6,  $N = 5$  для *Muc2<sup>+/+</sup>* и *Muc2<sup>-/-</sup>*). Результаты ЯМР-спектроскопии мозга мышей позволяют предположить, что глицин является потенциальным ключевым медиатором, регулирующим поведение самцов

мышей на модели колита, ассоциированного с нокаутом в гене муцина-2. Предполагается, что механизм изменения поведения самцов мышей под влиянием кишечной микробиоты (а именно, бактерии *Akkermansia muciniphila*), включает в себя стимуляцию глициновых рецепторов и глицин-связывающих сайтов на NMDA-рецепторах. Изменение активации глициновых рецепторов в медиальном преоптическом ядре (Zhuravleva *et al.*, 2020) может быть частью механизма реализации изменений социального поведения самцов мышей на модели генетически обусловленного кишечного воспаления.

### **Выраженность хронического колита у мышей после химической индукции**

Хроническое воздействие DSS на ткани толстой кишки привело к выраженному воспалению («DSS» и «DSS+фукоза», Рисунок 6). Поение фукозой не оказало значимого эффекта на состояние кишечного эпителия («Фукоза» по сравнению с «Контролем») и не повлияло на выраженность кишечного воспаления в группе «DSS+фукоза» (Рисунок 6).



**Рисунок 6. Развитие воспаления в толстой кишке при хроническом химически индуцированном колите. ШИК-окраска срезов толстой кишки мышей. Шкала 50 мкм. N = 6.**

### **Социальное поведение мышей после химической индукции хронического колита совместно с предоставлением L-фукозы**

Поение DSS снижало предпочтение запаха самок, тогда как добавление фукозы к раствору DSS восстанавливало запаховые предпочтения. Двухфакторный дисперсионный анализ выявил достоверное взаимодействие факторов DSS и фукозы ( $F(1,53) = 7,1, p = 0,010$ ). Самцы группы «DSS» меньше обнюхивали образец запаха самок, чем самцы контрольной группы ( $t$

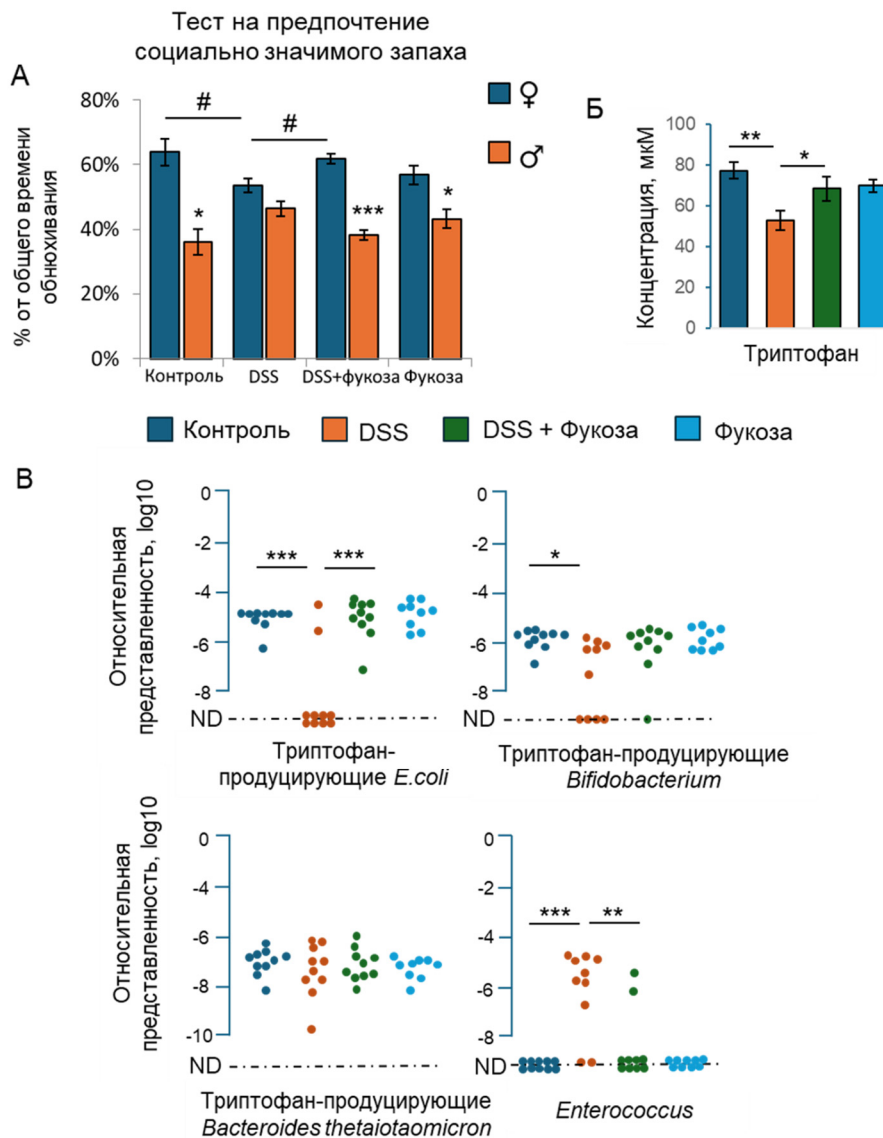
= 2,22,  $p = 0,0426$ , t-критерий Стьюдента, Рисунок 7 А). Добавление фукозы к раствору DSS привело к увеличению времени обнюхивания самцами группы «DSS+фукоза» образца подстила самок по сравнению с «DSS» ( $t = 5,68$ ,  $p = 0,0104$ , t-критерий Стьюдента, Рисунок 7 А). Самцы мышей контрольной группы предпочитали запах самки запаху самца ( $t = 3,41$ ,  $p = 0,01044$ , t-критерий Стьюдента, Рисунок 7 А). В группе с хроническим предоставлением DSS самцы не демонстрировали выраженного предпочтения запаха самки ( $t = 1,61$ ,  $p = 0,13$ , t-критерий Стьюдента, Рисунок 7 А). Добавление 0,1% L-фукозы к 2% раствору DSS отменяло эффект DSS на запаховые предпочтения, таким образом, самцы группы «DSS+фукоза» предпочитали запах самок ( $t = 8,00$ ,  $p < 0,001$ , t-критерий Стьюдента, Рисунок 7 А). Самцы группы «Фукоза» предпочитали запах самок запаху самцов ( $t = 2,37$ ,  $p = 0,0426$ , t-критерий Стьюдента, Рисунок 7 А).

С использованием метода ЯМР-спектроскопии была проведена оценка уровней содержания некоторых метаболитов в крови мышей. Было обнаружено достоверное снижение уровня триптофана в группе «DSS» по сравнению с контролем ( $t = 3,88$ ,  $p = 0,008$ , Рисунок 7 Б). При этом уровень триптофана статистически достоверно изменился в группе «DSS+фукоза» по сравнению с группой «DSS» ( $t = 2,24$ ,  $p = 0,042$ , t-критерий Стьюдента, Рисунок 7 Б).

Было обнаружено достоверное снижение уровня триптофан-продуцирующих *E. coli* и *Bifidobacterium* в группе «DSS» по сравнению с контролем (*E. coli*,  $p < 0,001$ , *Bifidobacterium*,  $p = 0,025$ , критерий  $\chi^2$ , Рисунок 7 В). Однако уровень триптофан-продуцирующих *Bacteroides thetaiotaomicron* не изменился после поения DSS (Рисунок 7 В). Добавление фукозы к раствору DSS привело к восстановлению уровня триптофан-продуцирующих *E. coli* ( $p < 0,001$ , критерий  $\chi^2$ , Рисунок 7 В), но не повлияло на уровень *Bifidobacterium*. Было обнаружено, что количество бактерий рода *Enterococcus* достоверно увеличилось в образцах группы «DSS» по сравнению с «Контролем» ( $p < 0,001$ , критерий  $\chi^2$ , Рисунок 7 В). Добавление фукозы к раствору DSS приводило к снижению количества *Enterococcus* до уровня ниже предела детекции в группе «DSS+фукоза» ( $p = 0,007$  по сравнению с «DSS», критерий  $\chi^2$ , Рисунок 7 В).

Сдвиг предпочтения социально-значимого запаха на модели химически индуцированного хронического воспаления связан со снижением уровня триптофана в крови, и, предположительно, происходит из-за нарушений в работе обонятельной системы. У мышей в рецепции запаховых молекул в ходе взаимодействия с конспецификами участвуют рецепторы следовых аминов TAAR5. У мышей с нокаутом гена, кодирующего белок TAAR5, было

показано значительное снижение уровня серотонина и его метаболитов в тканях нескольких областей мозга. Предполагается, что TAAR5 не просто является обонятельным рецептором, но и регулирует поведение, вероятно, посредством модуляции серотониновой системы (Espinoza *et al.*, 2020).



**Рисунок 7. Хронический химически индуцированный колит приводит к изменению предпочтений запахов у самцов мышей. А.** Доля времени обнюхивания образца запаха самок либо самцов от общего времени обнюхивания двух образцов. \* =  $p < 0,05$ , \*\*\* =  $p < 0,001$ , t-критерий Стьюдента для зависимых образцов, # =  $p < 0,05$ , t-критерий Стьюдента для независимых образцов. N = 15 для групп «Контроль» и «DSS», N = 14 для «DSS+фукоза», N = 13 для «Фукоза». **Б.** Концентрация триптофана в крови мышей. \* =  $p < 0,05$ , \*\* =  $p < 0,01$ , t-критерий Стьюдента для независимых образцов. N = 7 для всех групп, кроме «DSS+Фукоза» (N = 9). **В.** Количество бактерий в составе кишечной микробиоты, нормализованное на

универсальный район гена 16S рРНК. ND — not detected. \* =  $p < 0,05$ , \*\* =  $p < 0,01$ , \*\*\* =  $p < 0,001$ , критерий  $\chi^2$ . N = 9 – 10.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Самцы мышей с нокаутом в гене *Muc2* демонстрируют различия в морфологии кишки, составе кишечной микробиоты, проницаемости кишки и социальных взаимодействиях по сравнению с самцами мышей линии C57BL/6. Полученные данные указывают на то, что именно сдвиги состава кишечной микробиоты приводят к изменению социального поведения у самцов мышей. Модель DSS-индуцированного колита подтверждает возможность появления нарушений социального поведения после индукции хронического колита, однако характер этих изменений отличается от наблюдаемых нарушений поведения у самцов с нокаутом в гене, кодирующем белок муцин-2. Возможность модулировать поведение животных через предоставление L-фукозы подтверждает, что в основе поведенческих изменений у мышей с химически индуцированным колитом лежит изменение состава кишечной микробиоты.

## ВЫВОДЫ

1. Самцы мышей с хроническим колитом, обусловленным нокаутом гена, кодирующего муцин-2, и их однопометники без мутации характеризуются снижением тревожного и стереотипного поведения, нарушениями социального поведения и повышением уровня глицина в головном мозге по сравнению с контрольной линией C57BL/6.

2. Самцы мышей с хроническим колитом, обусловленным нокаутом гена, кодирующего муцин-2, характеризуются усилением активации нейронов вентромедиального гипоталамуса при контакте с самцом в сравнении с контрольной линией C57BL/6.

3. У самцов мышей с хроническим колитом, обусловленным нокаутом гена, кодирующего муцин-2, нарушена целостность кишечного и гематоэнцефалического барьеров в сравнении с контрольной линией C57BL/6.

4. Нарушения поведения самцов мышей с хроническим колитом, обусловленным нокаутом гена, кодирующего муцин-2, и их однопометников без мутации ассоциированы с изменением кишечной микробиоты.

5. Самцы мышей с хроническим колитом, индуцированным потреблением натриевой соли сульфата декстрана, характеризуются нарушениями предпочтения запаха самки и снижением уровня триптофана в крови.

6. Нарушения предпочтения запаха самки у самцов мышей с хроническим колитом, индуцированным потреблением натриевой соли сульфата декстрана,

ассоциированы со снижением уровня триптофан-продуцирующих бактерий в составе кишечной микробиоты.

7. Фукоза восстанавливает уровень триптофан-продуцирующих бактерий *Escherichia coli* в кишечнике, триптофана в крови и предпочтение запаха самки у самцов мышей с хроническим колитом, индуцированным потреблением натриевой соли сульфата декстрана.

## ПУБЛИКАЦИИ ПО МАТЕРИАЛАМ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в рецензируемых журналах:

1. Morozova M.V., Boldyreva L.V., **Borisova M.A.**, Kozhevnikova E.N. Investigating social communication in mice: A two-intruders test approach. // Journal of Neuroscience Research. – 2024. – Vol. 102(7). doi: 10.1002/jnr.25365. Индексируется в SCOPUS и WOS.

2. Morozova M.V.\*, **Borisova M.A.\***, Snytnikova O.A., Achasova K.M., Litvinova E.A., Tsentalovich Y.P., & Kozhevnikova E.N. Colitis-associated intestinal microbiota regulates brain glycine and host behavior in mice. // Scientific Reports. – 2022. – Vol.12. doi:10.1038/s41598-022-19219-z. Индексируется в SCOPUS и WOS. \* – Равный вклад.

3. Achasova K.M., Kozhevnikova E.N., **Borisova M.A.**, Litvinova E.A. Fucose ameliorates *Tritrichomonas* sp.-associated illness in antibiotic-treated *Muc2*<sup>-/-</sup> mice. // International Journal of Molecular Sciences. – 2021. – Vol. 22(19). doi: 10.3390/IJMS221910699 Индексируется в SCOPUS и WOS.

4. **Borisova M.A.\***, Achasova K.M.\*, Morozova K.N., Andreyeva E.N., Litvinova E.A., Ogienko A.A., Morozova M.V., Berkaeva M.B., Kiseleva E., Kozhevnikova E.N. Mucin-2 knockout is a model of intercellular junction defects, mitochondrial damage and ATP depletion in the intestinal epithelium. // Scientific Reports. – 2020. – Vol.10. doi:10.1038/s41598-020-78141-4. Индексируется в SCOPUS и WOS. \* – Равный вклад.

5. **Borisova M.A.**, Snytnikova O.A., Litvinova E.A., Achasova K.M., Babochkina T.I., Pindyurin A.V., Tsentalovich Y.P., Kozhevnikova E.N. Fucose ameliorates tryptophan metabolism and behavioral abnormalities in a mouse model of chronic colitis. // Nutrients. – 2020. – Vol. 12(2). doi: 10.3390/nu12020445. Индексируется в SCOPUS и WOS.

6. Литвинова Е.А., Ачасова К.М., **Борисова М.А.**, Женило С.В., Прохорчук Е.Б., Кожевникова Е.Н. Роль гена Kaiso в развитии воспаления у мышей с дефицитом Муцина-2. // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2018. – 22(8). – С. 1078-1083. doi: 10.18699/VJ18.453. Индексируется в SCOPUS, WOS, РИНЦ.

7. **Zolotykh (Borisova) M.A.**, Kozhevnikova E.N. The effect of social experience on olfactory preference in male mice. // *Applied Animal Behaviour Science*. – 2017. – Vol.189. – p. 85–90. Индексируется в SCOPUS и WOS.

Тезисы конференций:

1. Litvinova E., Achasova K., Kozhevnikova E., **Zolotykh (Borisova) M.**, Moshkin M. The role of mucin-2 and its monosaccharides in regulation of mucosal immunity. // 5th Annual meeting of the international Cytokine & Interferon Society (ICIS). Каназава, Япония, 2017. – С. 65-66.

2. **Золотых (Борисова) М.А.** Влияние проницаемости физиологических барьеров на социальное поведение мышей. // Ломоносов-2018. Москва, 2018.

3. **Borisova M.A.**, Snytnikova O.A., Litvinova E.A., Achasova K.M., Pindyurin A.V., Tsentalovich Y.P., Kozhevnikova E.N. L-fucose rescues behavioral abnormalities upon chronic colitis in male mice. // 26th Multidisciplinary International Neuroscience and Biological Psychiatry Conference «Stress and Behavior». Санкт-Петербург, 2019. – С. 40.

4. Kozhevnikova E.N., **Borisova M.A.**, Snytnikova O.A., Litvinova E.A., Tsentalovich Y.P. The role of microflora and its metabolism in regulation of social behavior in mouse models of intestinal inflammation. // 26th Multidisciplinary International Neuroscience and Biological Psychiatry Conference «Stress and Behavior». Санкт-Петербург, 2019. – С. 41.

5. **Борисова М.А.**, Снытникова О.А., Литвинова Е.А., Ачасова К.М., Пиндюрин А.В., Центалович Ю.П., Кожевникова Е.Н. Изменения социального поведения самцов мышей при вызванном колите. // Всероссийская мультikonференция с международным участием «Биотехнология – медицине будущего». Новосибирск, 2019. – С. 151.

6. Кожевникова Е.Н., **Борисова М.А.**, Снытникова О.А., Васильева Н.Р., Литвинова Е.А., Ачасова К.М., Дубовский И.М. Роль микрофлоры и метаболизма в регуляции поведения на модели животных с предрасположенностью к воспалению кишки. // Всероссийская мультikonференция с международным участием «Биотехнология – медицине будущего». Новосибирск, 2019. – С. 175.

7. **Borisova M.**, Litvinova E., Achasova K., Kozhevnikova E. Mucin-2 deficient mice display alterations in social behaviour. // 32nd ECNP Congress. Копенгаген, Дания. 2019. – P. 479.



Подписано в печать 15.04.2026

Формат 60 x 90 1/16. Печ. л. 1,0.

Тираж 100 экз. Заказ № 6

---

Отпечатано на полиграфической базе ИЦиГ СО РАН  
630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 10