

• Lauko S.¹
Gancarčíková S.¹
Hrčková G.²
Hajdučková V.¹
Kačírová J.¹



¹Ústav mikrobiológie a gnotobiológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

²Parazitologický ústav Slovenskej akadémie vied, Hlinkova 3, 040 01 Košice, Slovenská republika

Úvod

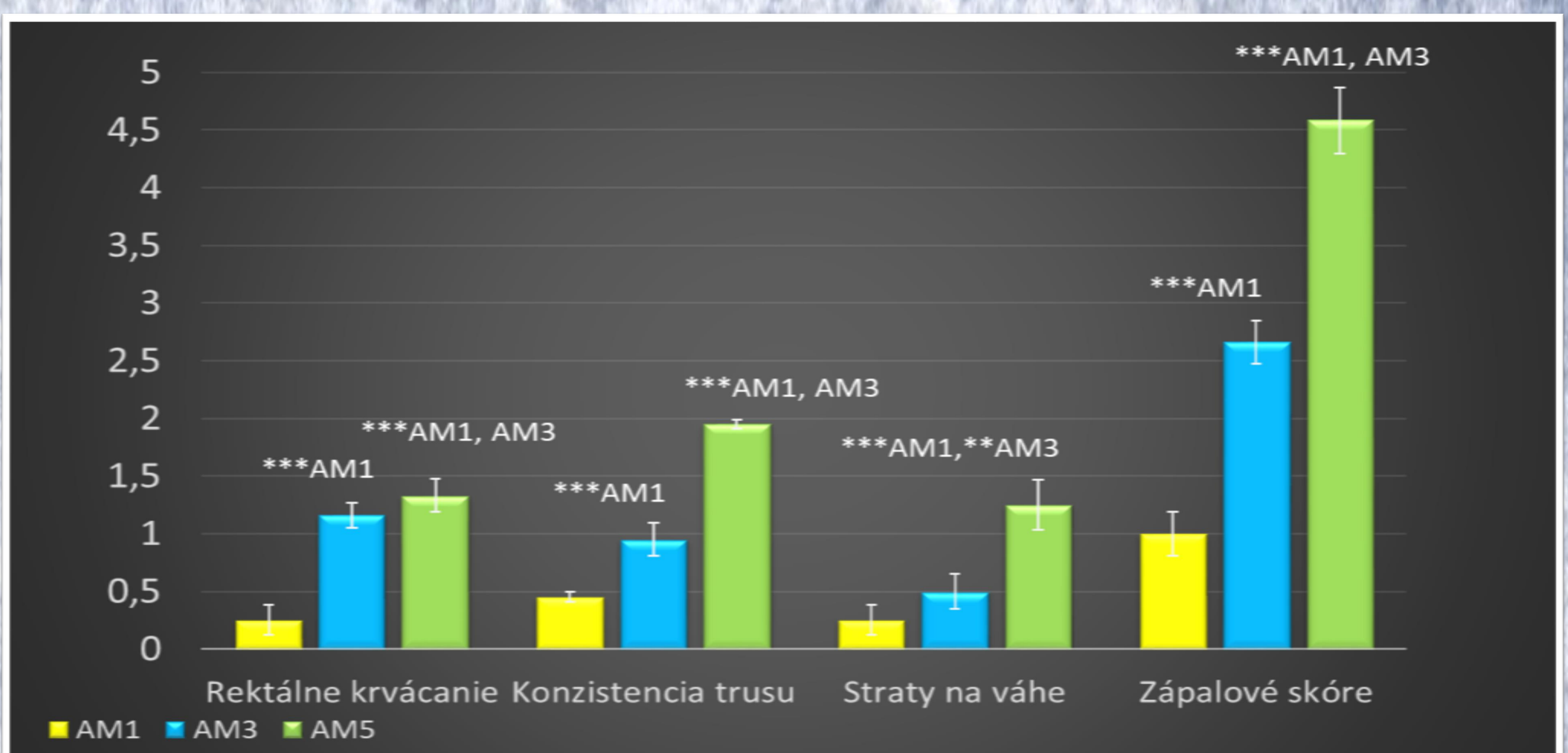
Idiopatické zápalové črevné ochorenia (inflammatory bowel disease, IBD) označujú skupinu chronických zápalových chorôb tráviaceho traktu so striedajúcimi sa obdobiami relapsu a remisie. Ulcerózna kolitída predstavuje jednu z dvoch hlavných manifestácií IBD. Vysoká morbidita s potenciálnou invalidizáciou a skrátením života pacienta sú dôvodom hľadania nových možností prevencie, racionálnej diagnostiky a liečby IBD. Črevnú mikrobiotu považujeme za dôležitého partnera ľudského organizmu interagujúcu s prakticky všetkými ľudskými orgánovými systémami. Jej kvalitatívne a kvantitatívne skúmanie vo vzťahu ku zdraviu, vzniku akútnych a chronických ochorení dominuje medicínskemu výskumu. Optimálne zloženie zdravej črevnej mikrobioty je pre každého jednotlivca odlišné. Narušenie tohto krehkého ekosystému medzi hositeľom a mikrobiotou môže narušiť vývoj imunitného systému, čo môže následne viesť k rozvoju chorobných stavov. Úloha črevnej mikrobioty je stále nedostatočne pochopená, avšak nad všetku pochybnosť bola preukázaná úzka súvislosť medzi dysbiózou črevnej mikrobioty a vznikom IBD. Experimentálne navodenie modelu IBD na gnotobiotických zvieratách umožňuje systematickú manipuláciu s premennými faktormi na overenie alebo vyvrátenie predpokladaných hypotéz. Cieľom našej štúdie bolo získanie animálneho gnotomodelu ulcerózneho kolitidy po chemickej indukcií prostredníctvom DSS (dextran sulfátu sodného).

Materiál a metodika

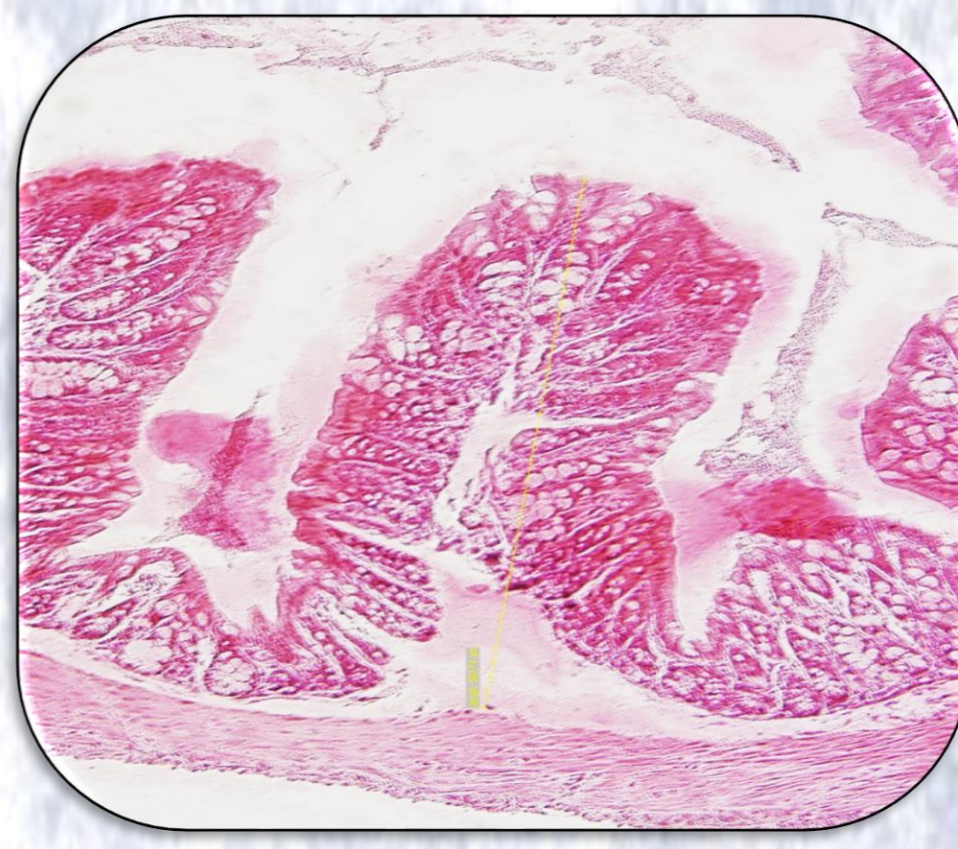
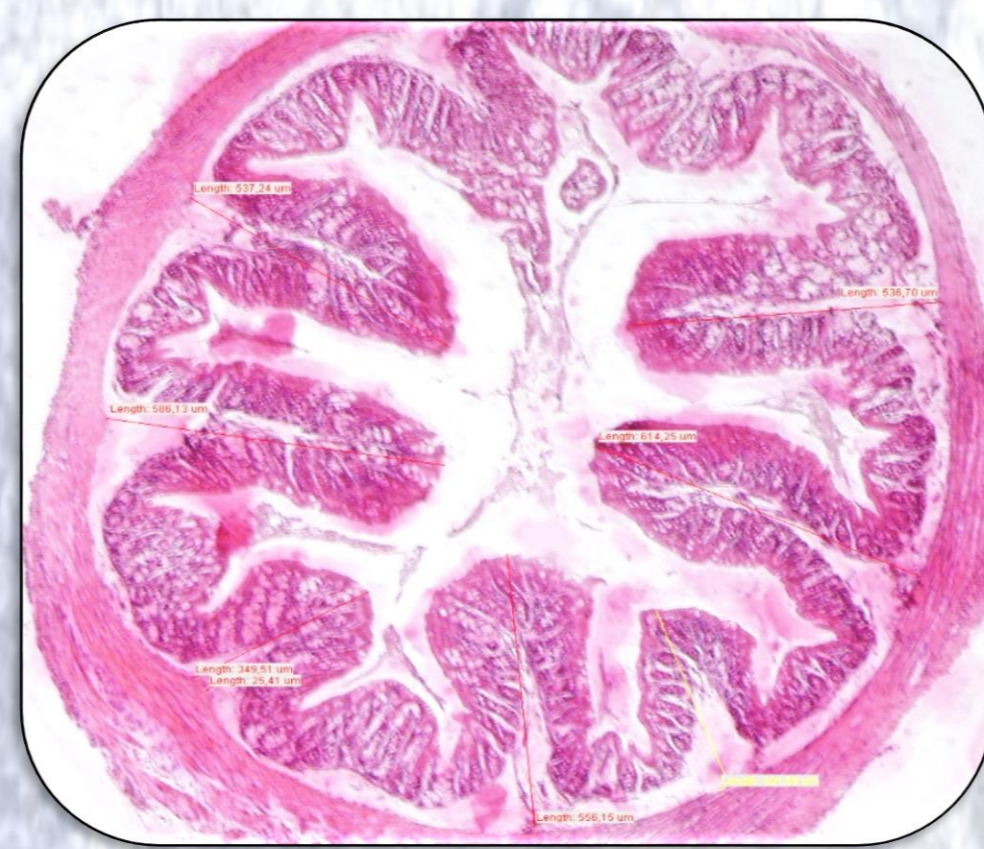
Skupina	Aplikácia antibiotík (každých 12 hodín po dobu 5 dní)	Rekonvalescencia	Indukcia IBD (chemicky DSS)
K (n=15)	Amoxicilín	10 dní v mikrobiologicky kontrolovanom prostredí gnotobiotického izolátora	-
AM1 (n=37)	potencovaný klavulanátom draselným v dávke 0,2 ml per os (s koncentráciou účinnej látky 387,11 mg/kg/myš)		vo vode v 1% koncentrácii po dobu 5 dní
AM3 (n=37)	+ Ciprofloxacín		vo vode v 3% koncentrácii po dobu 5 dní
AM5 (n=37)	v dávke 0,1ml s.c. (s koncentráciou účinnej látky 19,60 mg/kg/myš)		vo vode v 5% koncentrácii po dobu 5 dní

Výsledková časť

Klinické skóre jednotlivých pokusných skupín po 5 dňovej aplikácii DSS BALB/c myši

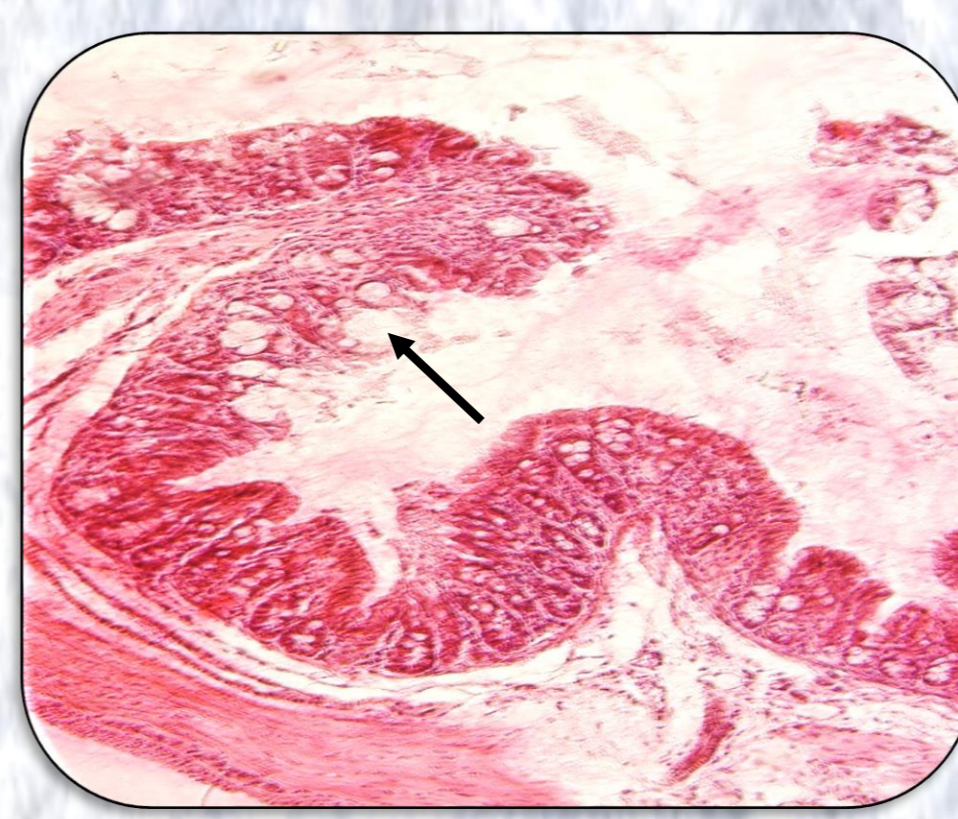
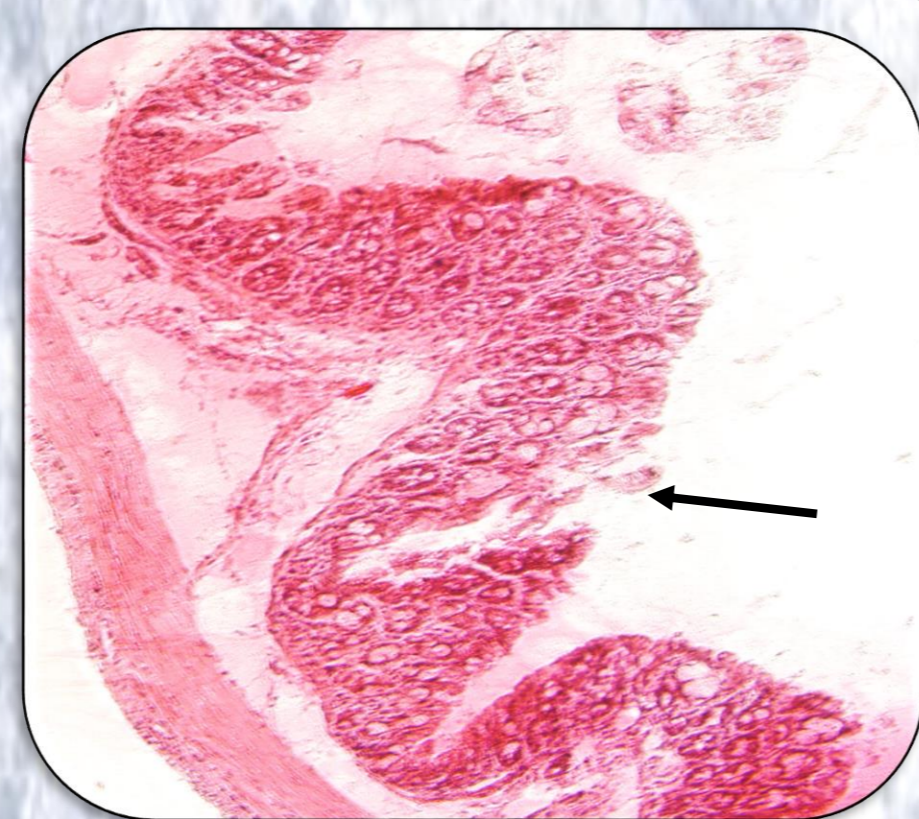


Zdravý kolón



5. dňová aplikácia DSS

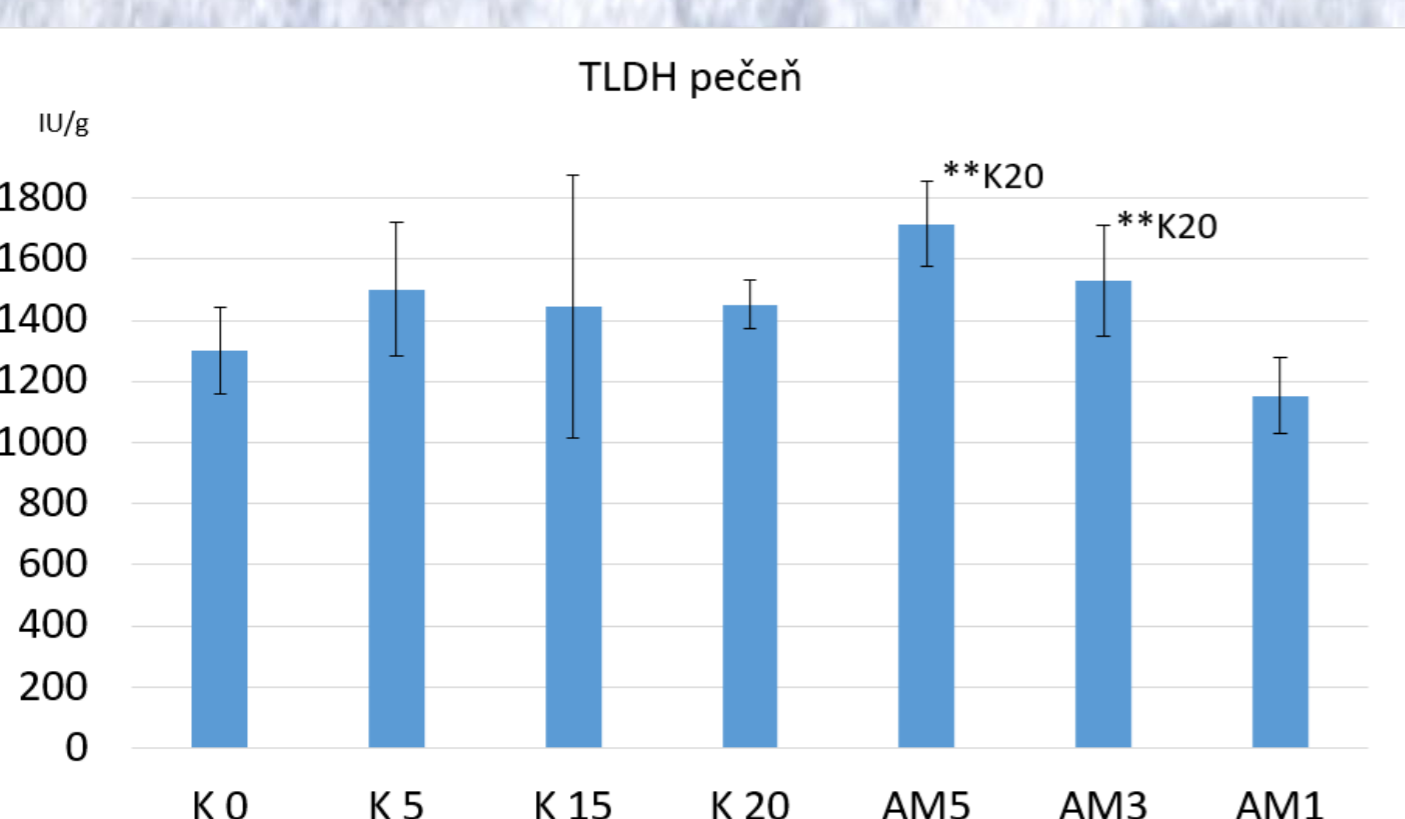
Kolón po aplikácii DSS



Parameter	Skupina		p-value
	Group	Mean ± SD	
Rezná plocha klkov (µm ²)	K	121300 ± 4089	
	AM1	93450 ± 997	p < 0,01 (AM1) p < 0,001 (AM3)
	AM3	92620 ± 1091	
	AM5	79840 ± 1091	
Obvod klkov (µm)	K	1165 ± 27,1	
	AM1	1124 ± 22,06	p < 0,001
	AM3	1080 ± 23,84	
	AM5	811,8 ± 32,2	
Výška klkov (µm)	K	430,5 ± 10,27	
	AM1	406,6 ± 6,26	p < 0,001
	AM3	371,9 ± 7,67	
	AM5	307,7 ± 11,26	
Hĺbka krýpt (µm)	K	120,2 ± 2,46	
	AM1	111,1 ± 1,303	p < 0,001
	AM3	103,3 ± 1,186	
	AM5	70,90 ± 2,028	

Po 5. dňovej aplikácii DSS nastali zmeny veľkosti reznej plochy klkov kolóna, erózie sliznice, sprevádzané rektálnym krvácaním

Animálny gnotomodel ulcerózneho kolitidy navodený 5% DSS



K0 - kontrola pred aplikáciou ATB,
K5 - po 5. dňovej aplikácii ATB,
K15 - po 10. dňovej rekonvalescencii,
K20 - 20. deň postupu bez aplikácie DSS,
AM1 - 1% DSS,
AM3 - 3% DSS,
AM5 - 5% DSS,

TLDH - celková laktátdehydrogenáza,
*** p < 0,001
** p < 0,01
(štatistika medzi skupinami)



Záver

Na základe sledovanej patogenézy ulcerózneho kolitidy pri rôznych koncentráciách jej chemickej indukcie sme získali optimálny animálny gnotomodel UC. Optimálna 5% koncentrácia chemickej indukcie UC mala za následok úbytok celkovej hmotnosti zvierat presahujúci 10%, sprevádzaný dehydratáciou a miernym až stredným krvácaním z rekta. Mikroskopia potvrdila atrofické zmeny a infiltráciu leukocytov v čreve. Získaný animálny gnotomodel ulcerózneho kolitidy bude následne použitý v postupoch s transplantáciou fekálnej mikrobioty pacientov s IBD.