Research on Medicine Original Article

The Quarterly journal of School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences 2020 ;Vol.43; No.2

Comparative Effects of Different Doses of Dextran Sodium Sulfate on the Induction of Chronic Colitis in C57BL /6 Mice

Maryam Heidari[1], Sedigheh Pouya[1], Seyed Mahmoud Hashemi [1], [2], Kaveh Baghaei [3], Mohammad Reza Zali [4]

1. Department of Immunology, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

2. Assistant Professor, Department of Applied Cell Sciences, School of Advanced Technologies in Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3. Assistant Professor Basic and Molecular Epidemiology of Gastrointestinal Disorders Research Center, Research institute for Gastroenterology and Liver Diseases, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4. Professor, Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Research Institute for Gastroenterology and Liver Diseases, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received: 2019/05/20 Accept:2019/07/31)

Abstract

***Backgrond**:IBD is a multifactorial disease in two general titles of Crohn's disease and ulcerative colitis. Animal models have provided extensive tools for identifying the underlying causes of the disease. Several methods, including the use of chemical compounds, have been introduced to induce animal model of colitis. In the present study, C57BL / 6 strains were used to induce colitis using dextran sodium sulfate (DSS) and due to the effect of the amount of this substance in the severity of clinical sign and survival, the effects of different doses of 2 ,1.5, and %3 DSS were evaluated to create a mouse model in different groups.*

***Methods:** In the current experimental study, to induce colitis, mice were divided into four case and control groups (5 mice in each group) and DSS was administrated in drinking water for 4 days and followed for 7 days with normal water. To create a chronic disease model, this process was repeated over three cycles. Clinical manifestations of colitis in mice were monitored daily including weight loss, bleeding, and diarrhea. The mice were sacrificed on day 34 and examined under microscopic and macroscopic examinations. The results of the study were analyzed and reported using Graph pad Prism 5 software.*

***Results:** In the DSS%3- group, high incidence of mortality with severe clinical symptoms was observed in 4 out of 5 mice in the study group (p-value <0.05), but in the DSS%1.5- group there was no significant difference in comparison with the healthy group. In addition, administration of %2 DSS resulted in the induction of moderate to no-mortality colitis in mice.*

***Conclusion:** It seems that using %2 DSS with the proposed protocol can induce experimental colitis in female C57BL / 6 mice as an optimal dose.*

***Keywords:** Inflammatory bowel disease; Animal model; Experimental colitis; Dextran sodium sulfate*

** Corosponding author: Seyed Mahmoud Hashemi*

Email:smmhashemi@sbmu.ac.ir

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-07-13]

پژوهش در پزشکی
مقاله پژوهشی
فصلنامه علمی پژوهشی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی
دور ٤٤، شماره ٢، ١٣٩٩، صفحات ٣٤٥ تا ٣٥١

بررسی تاثیر دوزهای مختلف دکستران سدیم سولفات در القای کولیت مزمن در موش C57BL/6

مریم حیدری[1]، صدیقه پویا[1]، سیدمحمود هاشمی*[1و2]، کاوه بقایی[3]، محمدرضا زالی[4]

۱- گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۲- گروه علوم سلولی کاربردی دانشکده فناوری‌های نوین دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۳- مرکز تحقیقات علوم پایه و اپیدمیولوژی مولکولی بیماری‌های دستگاه گوارش، پژوهشکده بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۴- مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد، پژوهشکده بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۸/۰۲/۳۰ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۸/ ۰۵/ ۰۹

چکیده:

سابقه و هدف: *IBD* بیماری چندین‌عاملی است که در دو عنوان عمومی بیماری کرون و کولیت اولسراتیو طبقه‌بندی می‌شود. تاکنون مدل‌های حیوانی ابزارهای گسترده‌ای برای شناسایی علل سببی این بیماری ارائه داده است. روش‌های متعددی از جمله استفاده از ترکیب‌های شیمیایی برای ایجاد مدل حیوانی کولیت معرفی شده‌اند. در این مطالعه، از سویه موشی *C57BL / 6* برای ایجاد کولیت با استفاده از دکستران سدیم سولفات (*DSS*) استفاده شد و به دلیل اثر این ماده در شدت علایم بالینی و بقای حیوانات، آثار دوزهای مختلف ۱/۵، ۲ و ۳٪ *DSS*، برای ایجاد مدل موشی ارزیابی شد.

روش‌ها: در این مطالعه تجربی، برای القای بیماری کولیت آزمایشگاهی، موش‌ها به چهار گروه مورد و شاهد (در هر گروه پنج موش) تقسیم شده و *DSS* به مدت چهار روز به آب آشامیدنی موش‌ها اضافه شد و به مدت هفت روز با آب معمولی پیگیری شد. برای ایجاد مدل مزمن بیماری، این روند در سه دوره تکرار شد. تظاهر بالینی کولیت در موش‌ها از جمله: کاهش وزن بدن، خونریزی و اسهال به طور روزانه بررسی شد، موش‌ها در روز ۳۴ قربانی شده و مورد بررسی‌های میکروسکوپی و ماکروسکوپی قرار گرفتند. نتایج مطالعه با استفاده از نرم‌افزار *Graphpad Prism* نسخه پنج تجزیهو تحلیل و گزارش شد.

یافته‌ها: در گروه ۳درصد *DSS*، بروز بالای مرگ و میر با علایم بالیني شدید مشاهده شد، چهار موش از پنج موش در گروه مطالعه، *(05/0 >p-Value)* ولی در گروه ۱/۵ درصد *DSS* تفاوت معناداري در مقایسه با گروه سالم مشاهده نشد. همچنین استفاده از ۲درصد *DSS* منجر به القای کولیت با علایم متوسط و بدون مرگ و میر در موش‌ها شد.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد استفاده از ۲درصد *DSS*، با پروتکل ارائه شده می‌تواند به عنوان یک دوز بهینه سبب القای کولیت تجربی در موش *C57BL/6* ماده شود.

واژگان کلیدی: بیماری التهابی روده، مدل حیوانی، کولیت تجربی، دکستران سدیم سولفات.

مقدمه:

بیماری التهابی روده (IBD) در انسان بیماری مزمن روده باواسطه بی‌نظمی در سیستم ایمنی است که به دو شکل کولیت اولسراتیو (Ulcerative colitis) و بیماری کرون (Crohn's disease) بروز می‌یابد. التهاب در بیماری کرون می‌تواند از دهان تا انتهای روده بزرگ را در بربگیرد ولی در کولیت اولسراتیو اغلب به روده بزرگ محدود می‌شود(۱). بیماری بیشتر در افراد جوان (۳۰ – ۱۵ سالگی) ظاهرشده و بر کیفیت زندگی افراد تاثیر می‌گذارد و به تحمیل هزینه‌های درمانی قابل‌توجه بر افراد مبتلا منجر می‌شود(۲). درحالی‌که دلیل دقیق بیماری التهابی روده هنوز ناشناخته است، می‌توان از عوامل زیست‌محیطی، ژنتیک، عوامل میکروبی، و نقص ایمنی مخاط(شکست تلورانس مخاطی) در بروز این بیماری نام برد(۳)؛ همچنین سدهای ناکارآمد اپیتلیالی به‌عنوان عامل اصلی فعال شدن پاسخ ایمنی مخاطی مطرح می‌شوند(۴).

داروهای سرکوبگر سیستم ایمنی مانند کورتیکواستروئیدها و درمان بیولوژیک با(anti-TNF-alpha (infliximab, adalimumab اغلب در درمان حالت فعال

نویسنده مسئول: سید محمود هاشمی
پست الکترونیک : *smmhashemi@sbmu.ac.ir*

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-07-13]

بیماری و نیز جلوگیری از عود دوباره استفاده می‌شوند(۵،۶)intr ظهور مدل‌های حیوانی التهاب مخاط گوارشی، به درک بهتری از مکانیسم‌های درگیر در هموستاز مخاطی و وقوع بیماری التهابی روده (IBD) منجر شده و نیز امکان شناسایی مکانیسم‌های بیماری‌زایی IBD را برای محققان فراهم کرده است. در مدل‌های حیوانی القاشده به روش شیمیایی با توجه به جنس و سویه حیوان ترکیب‌های شیمیایی ازجمله: Dextran Sulfate Sodium (DSS)، 2,4,6 –Trinitroben- zene sulfonic acid(TNBS) و Oxazolone به کار می‌روند (۷،۸).

از میان ترکیب‌های شیمیایی مورداستفاده، دکستران سولفات سدیم ترکیبی با انحلال‌پذیری بالا در آب، دارای بار مولکولی به‌شدت منفی به دلیل حضور گروه‌های سولفات در ساختار شیمیایی و آثار سمی بر سلول‌های اپیتلیال مخاطی است که به کاهش انسجام لایه مخاطی و افزایش نفوذپذیری سلول‌های لایه مخاط منجر می‌شود. در ادامه فلور میکروبی و آنتی‌ژن‌های حاصل از آن‌ها وارد فضای لامینا پروپریا می‌شود که به برانگیختگی عوامل لنفوییدی ذاتی و اکتسابی و ترشح ترکیب‌هایی مانند سایتوکاین‌ها، کموکاین‌ها و واسطه‌های پیش التهابی آن‌ها منجر می‌شود و آسیب سلولی در دیواره مخاطی روده ایجاد می‌شود(۹،۱۰). علایم بالینی و آسیب بافتی ناشی از مصرف DSS، شمایی مشابه التهاب مخاط در انسان به‌ویژه از نوع کولیت اولسراتیو را بارز می‌کند(۱۱). در مدل‌های حیوانی با توجه به هدف مطالعه، جنس، سن و وزن موش، کولیت به دو صورت حاد و مزمن القا می‌شود. در مدل مزمن، اغلب در بازه زمانی بین پنج تا هفت روز، DSS در محلول آب خوراکی حیوان استفاده شده و در ادامه با مصرف آب معمولی پیگیری می‌شود که تمام این پروسه در سیکل‌های متعددی از سه تا پنج سیکل با توجه به غلظت DSS و نیز بازه‌های زمانی انتخاب‌شده انجام می‌گیرد که طیفی از علایم بیماری شامل: کاهش وزن، اسهال، خونریزی و نیز آسیب بافتی را ایجاد می‌کند(۱۲،۱۳). مدل‌های موشی کولیت در حالت حاد، با تجویز دوز بالایی از DSS در یک دوره زمانی کوتاه، پنج تا ۱۰ روزه القاشده و در ادامه تست‌های تشخیصی انجام می‌شود(۷،۱۴).

ازآنجا که بیماری التهابی روده، بیماری مزمن چندعاملی است(۱۵) و در امور پژوهشی مربوط به آن، القای یک مدل آزمایشگاهی مناسب که بیشترین شباهت را به سیر بالینی بیماری در انسان داشته باشد، امری ضروری محسوب می‌شود. بنابراین این مطالعه با هدف سنجش و عیب یابی القای موفق کولیت در کشور ایران، با شرایط حیوانخانه های آموزشی و سویه های موشی رایج در کشور برای دستیابی به مقدار بهینه DSS استفاده شده و مدت زمان تجویز برای القای مدل کولیت تجربی در گروه ایمونولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی در سال ۱۳۹۶انجام شده است. در این مطالعه، دوزهای مختلف DSS شامل ۱/۵، ۲و ۳ درصد در سیکل‌های متوالی در القای مدل مزمن ازنظر علایم بالینی و آسیب‌شناسی بافتی ارزیابی و مقایسه شده است.

مواد و روش‌ها:

نوع مطالعه:

این مطالعه از نوع تجربی اصیل(original experimental research) است.

موش:

موش‌های C57BL/6 نر و ماده، ۸-۶ هفته، وزن ۲۰-۲۲ گرم، سالم از نظر بالینی، از پژوهشگاه رویان تهران خریداری شد. موش‌ها مدت دو هفته زودتر از انجام آزمایش برای تطابق در محیط جدید خریداری و در شرایط استاندارد و استریل آزمایشگاهی، در قفس‌های جداگانه نگه داری شدند. با توجه به هم‌ژن بودن موش‌ها و با نظر مشاور آماری در هر گروه مطالعه پنج موش قرار داده شد، دسترسی به آب و غذای کافی برای موش‌ها فراهم بوده و تمام آزمایش‌ها بر اساس مصوبه شورای نگه‌داری از حیوانات دانشگاه شهید بهشتی تهران انجام شد.

القای کولیت:

برای مقایسه غلظت‌های مختلف DSS (30-55 kDa; TdB Consultancy) در القای کولیت مزمن در موش‌های ماده، انواع ۳، ۲ و ۱/۵درصد آن در آب آشامیدنی، تهیه شد؛ موش‌های مطالعه شده به چهار گروه مورد(۱/۵، ۲، ۳ درصد DSS) و گروه کنترل (در هر گروه پنج موش) تقسیم شدند و کولیت مزمن در سه سیکل متوالی ۱۱روزه، شامل چهار روز مصرف آب حاوی DSS و در ادامه هفت روز مصرف آب معمولی، شد. در دوره القا، مدل موش‌های گروه کنترل آب معمولی دریافت کردند. تمامی محلول‌ها به‌صورت تازه و روزانه تهیه شدند.

پایش روزانه علایم بالینی:

در دوره ۳۴ روزه، علایم بالینی موش‌های گروه‌های مختلف شامل میزان بقا، تغییر وزن بدن (توزین روزانه موش‌ها با ترازو)، تغییر قوام مدفوع و شدت خونریزی مشاهده و ثبت شد. میزان شاخص فعالیت بیماری Disease Activity) DAI Index) که از معیارهای سنجش کولیت است، به‌صورت یک عدد واحد از مجموع درجه‌های شدت علایم بالینی شامل: کاهش وزن بدن، میزان خونریزی و اسهال تعریف می‌شود که درنهایت گردآوری و ثبت شد.

جمع‌آوری نمونه‌های بافتی و سنجش ماکروسکوپی:

تمامی موش‌ها در روز ۳۴، به‌صورت استنشاقی و با استفاده از CO2 قربانی شدند. سپس بافت کولون از بدن حیوان استخراج‌شده و پس از شست‌وشو با بافر PBS ازنظر طول با واحد mm و ازنظر وزن بافتی با کمک ترازو و واحد mg اندازه‌گیری شد. همچنین تعداد موش‌هایی که دچار مرگ‌ومیر شدند برای سنجش بقا ثبت شد. برای تعیین جنس موش مناسب برای القای کولیت، موش‌های نر در گروهی جداگانه، تحت القای مدل قرار گرفتند و به دلیل حساسیت بالا به آسیب ناشی از DSS، به‌سرعت در روزهای اولیه القای مدل دچار مرگ‌ومیر شدید شده امکان ارائه نتایج حاصل نشد و از روند مطالعه خارج شدند.

آنالیز بافت‌شناسی کولون:

نمونه‌های بافت روده، پس از جداسازی در فرمالین ۱۰ درصد فیکس شده و پس از تهیه مقطع و رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین، ازنظر شدت التهاب، تغییرات اپیتلیال روده و تغییر در ساختار مخاط، بررسی شدند.

آنالیز آماری:

برای آنالیز داده‌ها از نرم‌افزار Graphpad Prism نسخه ۵، استفاده شد. از داده‌ها میانگین گرفته‌شده و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون One Way ANOWA. Post Hoc Tukey Unpaired t test استفاده‌شد. سطح معناداری، کمتر از ۵درصد در نظر گرفته شد.

نتایج:

اثر دوزهای مختلف DSS بر علایم بالینی کولیت مزمن:

در این مطالعه اثر دوزهای مختلف DSS بر القای کولیت در چهار گروه موش‌های هم‌ژن C57BL/6 ارزیابی شد و درنتیجه مشاهده شد که استفاده از DSS در آب خوراکی موش‌ها سبب ایجاد علایم بالینی شدید همچون کاهش وزن موش، اسهال و خونریزی رکتال می‌شود. همچنین مشاهده‌های ماکروسکوپی بافتی نشان‌دهنده کاهش در طول روده، قرمزی و التهاب و نیز ضخامت در روده بود و در بررسی‌های آسیب‌شناسی بافتی به‌صورت میکروسکوپی شواهد مبنی بر وجود التهاب، ارتشاح سلولی و تخریب ساختار دیواره روده تایید شد(شکل E.۱). با سنجش اثر دوزهای مختلف DSS مشخص شد که استفاده از ترکیب ۳ درصد از DSS در آب آشامیدنی موش‌ها سبب بروز علایم بالینی بسیار شدید شامل کاهش وزن معنادار تا(۱۵ گرم) نسبت به گروه نرمال(۲۰-۲۲ گرم) می‌شود (05/0 >p-Value). شدت کاهش وزن موش‌ها در گروه ۳ درصد DSS به‌صورت معناداری بیشتر از سایر گروه‌ها بوده است (05/0 >p-Value). شدت خونریزی در هر دو گروه، ۳ و ۲ درصد DSS دارای تفاوت معنادار با گروه کنترل سالم و نیز گروه ۱/۵ درصد DSS بود (05/0 >p-Value). نتایج خونریزی در بین دو گروه سالم و ۱/۵ درصد DSS فاقد تفاوت معنادار بود. در بررسی قوام مدفوع و بروز اسهال که از عوارض شایع کولیت است، قوام مدفوع در چهار حالت (form، soft، watery، loose) از ۱تا۴ در حیوانات موردمطالعه رتبه‌بندی شد. بر اساس نتایج مشخص شد که وضعیت اسهال و قوام مدفوع در گروه ۳ درصد DSS دارای درجه بالاترچهار (وخیم‌تر) و دارای تفاوت آماری معنادار نسبت به سایر گروه‌ها و نیز گروه کنترل سالم بوده است (05/0 >p-Value). همچنین نتایج گروه ۲ درصد DSS نیز دارای تفاوت آماری معنادار نسبت به گروه‌های کنترل و نیز تست بود. در نتایج گروه ۱/۵ درصد DSS و کنترل سالم تفاوت آماری معنادار مشاهده نشد.

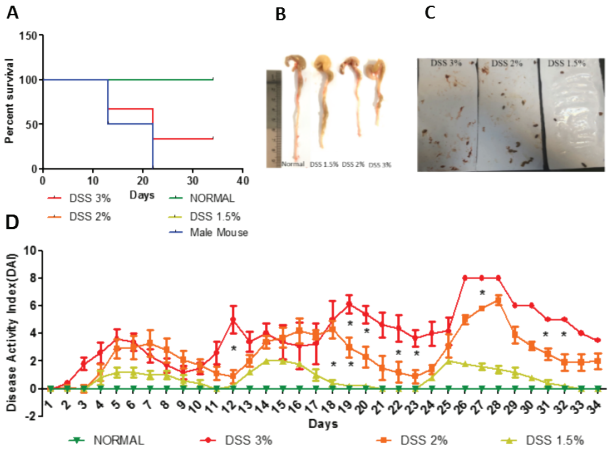
[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-07-13]

در رتبه‌بندی عوارض بالینی بیماری کولیت، DAI (کاهش وزن، قوام مدفوع و خونریزی) بر اساس نتایج، در بین گروه‌های ۳ و ۲درصد DSS تفاوت آماری معنادار با گروه کنترل و نیز گروه ۱/۵ درصد DSS ثبت شد (p-Value <05/0) همچنین نتایج گروه ۱/۵ درصد DSS در مقایسه با گروه کنترل سالم فاقد تفاوت معنادار بود(شکل۱.D).

بررسی‌های ماکروسکوپی ازنظر طول کولون، نشان داد که با بروز التهاب در روده موش‌های مطالعه شده پس از مصرف DSS، اندازه طول کولون کاهش‌یافته است و در بین گروه‌های مختلف مطالعه با دریافت مقدار متفاوت DSS و نیز در مقایسه با گروه کنترل سالم تفاوت آماری معن‌دار مشاهده شد (p-Value <05/0). تفاوت طول کولون در بین گروه ۱/۵ درصد DSS و ۲ درصد DSS ازنظر آماری معنادار نبود(شکل۱. B).

در سنجش بقا، در گروه ۳ درصد DSS میزان مرگ‌ومیر بسیار بالا (چهار موش از پنج موش موجود در گروه مطالعه) ثبت شد. در گروه ۲ درصد DSS میزان مرگ‌ومیر (فاقد مرگ‌ومیر) و نیز شدت بیماری در موش‌ها به‌طور معنادار نسبت به گروهی که میزان ۳درصد DSS دریافت کرودند، کمتر بوده است همچنین گروه ۱/۵ درصد DSS فاقد موارد مرگ در موش‌های موردمطالعه بود. در نمودار بقا، گروه موش‌های نر نیز وارد شدند؛ در این گروه موش‌ها (۵ موش) در پنج روز اول دوره مصرف DSS دچار مرگ‌ومیر شده و از روند مطالعه حذف شدند(شکل۱.A).

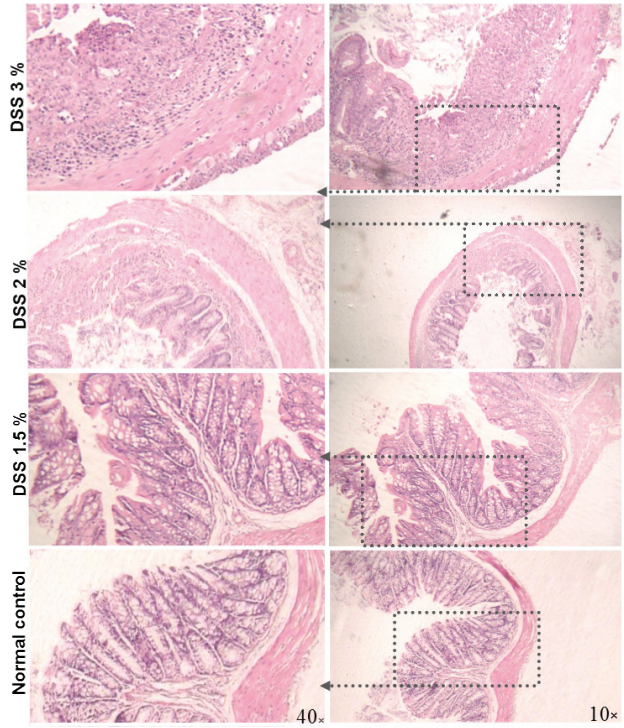
در گروه سوم این مطالعه با دوز ۱/۵ درصد DSS برای القای کولیت مزمن در موش‌ها، مشخص شد که علایم بالینی مبنی بر القای بیماری محسوس نبوده و در مواردی مانند میزان خونریزی رکتال، قوام مدفوع (شکل ۱. C) و نیز DAI (شکل۱.D) ، اختلاف معناداری در مقایسه با گروه کنترل موش‌های سالم مشاهده نشد.



شکل۱. سنجش اثر دوزهای مختلف DSS بر علایم بالینی کولیت مزمن موشی: A، بررسی درصد بقا. B. مقایسه طول روده و C. میزان خونریزی و قوام مدفوع در موش‌های مطالعه شده D، ارزیابی شاخص فعالیت بیماری (DAI). آزمون آماری استفاده شده One Way Anova. تفاوت آماری کمتر از ۵درصد معنادار در نظر گرفته‌شده است.

آثار پاتولوژیک دوزهای مختلف DSS بر بافت روده:

در بررسی‌های میکروسکوپی آسیب‌شناسی بافتی، در گروهی که میزان ۳ درصد DSS در آب آشامیدنی مصرف کرده بودند، تغییر بافتی به‌مراتب شدیدتری ایجادشده به‌نحوی‌که ساختار بافتی کریپت‌های روده به‌شدت تخریب‌شده و ارتشاح سلولی فراوان مشاهده شد. به‌این‌ترتیب به نظر می‌رسد که افزایش دوز DSS التهاب را به سمت مدل حاد پیش می‌برد؛ میزان آسیب بافتی در گروه ۲ درصد DSS نیز در مقایسه با بافت سالم مشهود بود؛ در گروه ۱/۵ درصد DSS میزان آسیب بافتی واردشده به کلون بسیار خفیف بوده و نسبت به گروه سالم تفاوت قابل‌ملاحظه‌ای مشاهده نشد(شکل۲)



شکل ۲. نمای آسیب‌شناسی بافتی: به ترتیب از بالا به پایین در نمای بافتی کولون استخراج‌شده از بدن حیوانات در گروه‌های مطالعه، ۳ درصد ، ۲ درصد، ۱/۵ درصد DSS و کنترل سالم کاهش شدت آسیب بافتی و ارتشاح سلول‌های التهابی مشاهده‌شده است.

بحث:

نتایج این مطالعه مشخص کرد که در دوره ۳۴ روزه آزمایش، غلظت‌های بالای DSS (۳ درصد)، ارتباط مستقیمی با بروز نوسانات شدید علایم بالینی، آسیب‌های ایجادشده در بافت روده و حتی افزایش مرگ‌ومیر داشت و در صورت استفاده از غلظت‌های پایین‌تر، علایم بیماری در بازه زمانی کوتاه‌تری رفع شدند و بهبودی حاصل شد. شایان توجه است که کولیت آزمایشگاهی، مدل تجربی است که در آن مرگ‌ومیر نقطه پایان آزمایش در نظر گرفته نمی‌شود، بنابراین با در نظر گرفتن موارد فوق، می‌توان تا حدودی از بروز مرگ‌ومیر ناخواسته در آزمایش اجتناب کرد(۱۳).

القای موفق و قابل تکرار کولیت ناشی از DSS بستگی به عوامل کلیدی متعددی دارد. از جمله منبع DSS، lot number، وزن مولکولی، غلظت، مدت زمان، سویه موشی، منبع تهیه موش، سن، جنس و وزن بدن و نیز عوامل محیطی از جمله شرایط بهداشت محل نگه‌داری(۱۶). با توجه به حاصل نشدن نتیجه لازم از گزارش مطالعه‌های پیشین در ارائه یک دوز مشخص و ثابت برای همه محققان، این مطالعه با هدف سنجش و عیب‌یابی القای موفق کولیت در کشور ایران، با شرایط حیوانخانه‌های آموزشی و سویه‌های موشی رایج در کشور برای دستیابی به مقدار بهینه DSS استفاده شده و مدت زمان تجویز برای القای مدل کولیت تجربی انجام شده است. علاوه بر غلظت و مقدار DSS به‌کاررفته، جنس موش‌ها نیز از فاکتورهای بسیار مهم و تاثیرگذار در کیفیت مدل القا شده است(۱۶) نقش جنسیت در بروز التهاب به اثبات رسیده است و هم در انسان و هم در موش بروز و پیشرفت بیماری‌های اتوایمیون در جنس مونث بیشتر گزارش‌شده است(۱۷،۱۸)در این مطالعه القای کولیت مزمن، در هر دو جنس نر و ماده طراحی شد، گروه موش‌های نر (پنج موش) در سیکل‌های مطالعه دچار مرگ و میر بسیار شدید شدند (هر پنج موش) و امکان ارائه نتایج بالینی وجود نداشت، بنابراین به دلیل طولانی بودن زمان مطالعه در مدل مزمن، در صورت استفاده از جنس نر، میزان مرگ‌ومیر افزایش خواهد یافت و مغایر با پروتکل‌های اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی است، استفاده از موش ماده برای القای کولیت مزمن تجربی پیشنهاد می‌شود. البته ذکر

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-07-13]

این نکته الزامی است که در مدل‌های حاد کولیت موشی، به دلیل مدت‌زمان کوتاه‌تر پایش، ۱۰-۷ روز، استفاده از موش‌های نر رایج‌تر است. برخی از مطالعه‌هاغلظت DSS را عامل مهمی برای توسعه مزمن کولیت نمی‌دانند، بلکه مجموعه عواملی همچون محیط نگه‌داری و سویه ژنتیک موش‌های مطالعه شده بر اثربخشی القای کولیت تجربی درنظر گرفته می‌شود(۳,۱۶) .

Silvia Melgar و همکاران در سال ۲۰۰۵ نشان دادند که موش‌های سویه C57BL/6 استعداد بیشتری در ابتلا به کولیت مزمن ناشی از DSS را دارند، در مقابل، موش BALB / c به سرعت پس از حذف DSS، از نظر علایم بالینی، آسیب بافتی و نشانگرهای التهابی بهبود می‌یابند. در مطالعه ما مشخص شد که غلظت ۲درصد DSS به مدت چهار روز برای ایجاد مدل مزمن در موش‌های C57BL/6 ماده از نظر علایم بالینی و وخامت بیماری وضعیت قابل قبولی را ایجاد می‌کند. این نتایج در مطالعه‌های دیگر نیز تایید شده است که در آن موش‌های C57BL / 6 در معرض ۲درصد DSS به مدت پنج روز در معرض کولیت مزمن قرار گرفتند(۱۹).

Bernhard Egger و همکاران در سال ۲۰۰۰، اثر غلظت‌های ۲/۵، ۵ و ۷ درصد DSS با جرم مولکولی KD ۴۰ از شرکت (ICN, Costa Mesa, Calif., USA) را به مدت هفت روز در موش‌های BALB/c، بررسی کردند و در نتیجه ارتباط خطی بین افزایش غلظت DSS و آسیب بافتی تایید شد(۲۰). Silvia Melgar و همکاران در سال ۲۰۰۰ اثر غلظت‌های ۳ و ۵ درصد DSS (45kDa; TdB ConsultancyM Uppsala, Sweden) در موش‌های C57BL/6 و BALB/c را مقایسه کردند که DSS5 درصد به بروز علایم بسیار شدیدی منجر شد (۱۹). در سال ۲۰۱۳ ، Hyung-Sik Kim و همکاران از DSS ۳ درصد برای القای کولیت حاد استفاده کردند؛ شامل هفت روز مصرف آب حاوی (DSS MPBiochemicals, Solon, OH, USA) و هفت روز مصرف آب معمولی. در نقطه پایانی آزمایش آن‌ها یعنی روز ۱۴، ۸۵ درصد جمعیت موش‌ها ازدست‌رفته بودند(۲۱)در آزمایشی که توسط Ahmed G. Abdel Salam و همکاران در سال ۲۰۱۴ انجام شد، اثر غلظت‌های ۲، ۴، و ۵ درصد DSS مقایسه شد و برای القای کولیت حاد، هفت روز مصرف DSS 4 درصد و در ادامه پنج روز آب معمولی برای سه سیکل متوالی به عنوان دوز بهینه درنظر گرفته شد(۳). نتایج حاصل از این آزمایش با نتایج حاصل از مطالعه حاضر در تضاد است، هرچند که نوع مدل ایجادشده در دو آزمایش متفاوت است و در مطالعه Ahmed G. Abdel Salam در ابتدا برای تعیین غلظت مناسب DSS، نوع حاد بیماری در نظر گرفته شد. در این مطالعه از DSS (30-55 kDa; TdB Consultancy) استفاده شد، ازآنجا که ترکیب DSS با وزن‌های مولکولی و نام‌های تجاری مختلف در دسترس محققان قرار دارد، به نظر می‌رسد هر مطالعه نیازمند ارزیابی دوز بهینه با توجه به منبع DSS موجود باشد. پس از مصرف DSS 2 درصد به شکل مزمن در سه سیکل ۱۱ روزه شامل چهار روز مصرف محلول DSS و هفت روز مصرف آب معمولی نتایج بالینی مورد نظر حاصل شد. طبق مطالعات انجام گرفته توسط همین تیم پژوهشی و مقاله‌های منتشر شده (۲۲,۲۳) در صورت استفاده از ترکیب DSS با نام تجاری و وزن مولکولی مشابه و موش با نژاد و سن و جنس مشابه، پروتکل استفاده شده دارای تکرارپذیری خواهد بود.

نتیجه‌گیری:

با توجه به مطالعه‌های موجود، استفاده از غلظت‌های بالای DSS در فرم حاد بیماری رایج بوده و در صورت استفاده از آن‌ها در فرم مزمن، تعداد زیادی از حیوانات آزمایشگاهی از دست خواهند رفت. بنابراین طبق نتایج به‌دست‌آمده، استفاده از DSS ۲درصد در القای فرم مزمن کولیت مناسب بوده و نتایج قابل قبولی را فراهم کرده است.

تشکر و قدردانی:

مقاله حاضر، حاصل اجرای طرح تحقیقاتی مصوب در معاونت پژوهشی دانشکده پزشکی با کد ثبت ۷۵۱۶ است.

این مطالعه با حمایت مالی مرکز تحقیقات گوارش و کبد بیمارستان طالقانی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی انجام شد. به این وسیله از همکاری صمیمانه آن مرکز تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع:

1. Dennis Kasper (Author), Anthony Fauci (Author), Stephen Hauser (Author), Dan Longo (Author), J. Jameson (Author) JL (Author). Harrison's Principles of Internal Medicine. 19th editi. McGraw-Hill Education; 3000 (595-596) p.

2. Hamid Afshar , Hamed Daghaghzadeh , Peyman Adibi , Monireh Seraj, Shadab Nasr, Nasrin Masaeli, Ali Toghiani RBS. The Stressors and Perceived Social Support in the Patients with Ulcerative Colitis. J Isfahan Med Sch. 2011;28(113, 1st):752–8.

3. Abdel Salam AG, Ata HM, Salman TM, Rashed L a., Sabry D, Schaalan MF. Potential therapeutic utility of mesenchymal stem cells in inflammatory bowel disease in mice. Int Immunopharmacol [Internet]. Elsevier B.V.; 2014;22(2):515–21.

4. Geremia A, Biancheri P, Allan P, Corazza GR, Di A. Autoimmunity Reviews Innate and adaptive immunity in in fl ammatory bowel disease. Autoimmun Rev [Internet]. Elsevier B.V.; 2014;13(1):3–10.

5. Lewis RT, Maron DJ. Efficacy and complications of surgery for Crohn's disease. Gastroenterol Hepatol. 2010;6(9):587–96.

6. Bressler B, Sands BE. Review article: Medical therapy for fistulizing Crohn's disease. Aliment Pharmacol Ther. 2006;24(August):1283–93.

7. Dothel G, Vasina V, Barbara G, Ponti F De. Pharmacology & Therapeutics Animal models of chemically induced intestinal in fl ammation : Predictivity and ethical issues. Pharmacol Ther [Internet]. Elsevier Inc.; 2013;139(1):71–86.

8. Gadaleta RM, Garcia-Irigoyen O, Moschetta A. Exploration of Inflammatory Bowel Disease in Mice: Chemically Induced Murine Models of Inflammatory Bowel Disease (IBD). Curr Protoc Mouse Biol. 2017;7(March):13–28.

9. Yan Y, Kolachala V, Dalmasso G, Nguyen H, Laroui H, Sitaraman S V., et al. Temporal and Spatial Analysis of Clinical and Molecular Parameters in Dextran Sodium Sulfate Induced Colitis. Bereswill S, editor. PLoS One [Internet]. 2009 Jun 29 [cited 2017 Mar 12];4(6):e6073.

10. Poritz LS, Garver KI, Green C, Fitzpatrick L, Ruggiero F, Koltun WA. Loss of the tight junction protein ZO-1 in dextran sulfate sodium induced colitis. J Surg Res [Internet]. 2007 Jun 1 [cited 2017 Mar 12];140(1):12–9.

11. Kiesler P, Fuss IJ, Strober W. Experimental Models of Inflammatory Bowel Diseases. C Cell Mol Gastroenterol Hepatol. 2015;1(February):154–70.

12. Kim JJ, Shajib MS, Manocha MM, Khan WI. Investigating Intestinal Inflammation in DSS-induced Model of IBD. J Vis Exp [Internet]. 2012;(February):1–6.

13. Chassaing B, Aitken JD, Malleshappa M, Vijay-Kumar M. Dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis in mice. Curr Protoc Immunol. 2014;(February):1–14.

14. Jiminez J a., Uwiera TC, Douglas Inglis G, Uwiera RRE. Animal

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-07-13]

models to study acute and chronic intestinal inflammation in mammals. Gut Pathog [Internet]. BioMed Central; 2015;7:29.
15. Ananthakrishnan AN, Xavier RJ, Podolsky DK. Inflammatory bowel diseases : pathogenesis. Yamada's Textb Gastroenterol. 2016;1364–77.
16. Sambasivarao S V. Dextran Sulfate Sodium (DSS)-Induced Colitis in Mice. NIH Public Access. 2013;18:1199–216.
17. Ngo ST, Steyn FJ, McCombe P a. Gender differences in autoimmune disease. Front Neuroendocrinol. Elsevier Inc.; 2014;35(3):347–69.
18. Bábíčková J, Tóthová Ľ, Lengyelová E, Bartoňová A, Hodosy J, Gardlík R, et al. Sex Differences in Experimentally Induced Colitis in Mice: a Role for Estrogens. Inflammation. 2015;38(5):1996–2006.
19. Melgar S, Karlsson A, Michaëlsson E. Acute colitis induced by dextran sulfate sodium progresses to chronicity in C57BL/6 but not in BALB/c mice: correlation between symptoms and inflammation. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2005;288(6):G1328-38.
20. Egger B, Bajaj-Elliott M, MacDonald TT, Inglin R, Eysselein VE, Büchler MW. Characterisation of acute murine dextran sodium sulphate colitis: cytokine profile and dose dependency. Digestion. 2000;62(4):240–8.
21. Kim HS, Shin TH, Lee BC, Yu KR, Seo Y, Lee S, et al. Human umbilical cord blood mesenchymal stem cells reduce colitis in mice by activating NOD2 signaling to COX2. Gastroenterology [Internet]. Elsevier, Inc; 2013;145(6):1392–403.
22. Heidari M, Aghdaei HA, Hashemi SM. The immunomodulatory effects of adipose - derived mesenchymal stem cells and mesenchymal stem cells - conditioned medium in chronic colitis. 2018;(April):1–13.
23. Pouya S, Heidari M, Baghaei K, Asadzadeh Aghdaei H, Moradi A, Namaki S, et al. Study the effects of mesenchymal stem cell conditioned medium injection in mouse model of acute colitis. Int Immunopharmacol [Internet]. Elsevier; 2018;54(October 2017):86–94.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-07-13]