

Popularnonaukowy opis projektu

Celem doświadczenia jest zbadanie wpływu zapalenia spowodowanego podawaniem popularnych leków z grupy niesteroidowych leków przeciwzapalnych (NLPZ) na ekspresję substancji biologicznie czynnych w neuronach jelitowego układu nerwowego (ENS) w obrębie przewodu pokarmowego. Ze względu na wysokie podobieństwo, uważa się, że świnia domowa jest najlepszym stosowanym modelem badawczym wykorzystywanym w badaniach dotyczących fizjologii i patologii układu pokarmowego człowieka.

Doświadczenie wykonano na 16 loskach (mieszance dwurasowe duroc x pietrain) o masie ciała około 20 kg. Zwierzęta podzielono na 4 grupy eksperymentalne: grupę kontrolną (n=4), w której świniom podawano puste kapsułki żelatynowe, grupę eksperymentalną 1 (n=4), w której zwierzęta otrzymywały kwas acetylosalicylowy (100 mg/kg) doustnie przez 28 dni; grupę eksperymentalną 2 (n=4), w której podawano naproksen (50 mg/kg) per os przez 28 dni; grupę eksperymentalną 3 (n=4), w której zwierzęta otrzymywały indometacyna (10mg/kg) doustnie przez 28 dni. W kolejnym etapie doświadczenia, dokonano eutanazji oraz pobrano tkanki (3 cm fragmenty wybranych fragmentów żołądka i jelit) do dalszej analizy.

W kolejnym etapie badań sporządzone preparaty mrożeniowe zostaną poddane podwójnym barwieniom immunofluorescencyjnym w celu ustalenia fenotypów neuronów w obrębie zwojów mięśniowych i podśluzowych ENS a także gęstości włókien nerwowych immunoreaktywnych względem badanych substancji neuroaktywnych – VIP (wazoaktywny peptyd jelitowy), SP (substancja P), nNOS (neuronalna izoforma syntetazy tlenu azotu), GAL (galanina), PACAP (polipeptyd aktywujący przysadkową cyklazę adenylanową) oraz CART (transkrypt regulowany przez kokainę i amfetaminę). Przeciwciała przeciwko PGP 9.5 (produkt genu proteinowego 9.5) zostanie użyte w celu określenia ogólnej liczebności komórek nerwowych na terenie zwojów enterycznego układu nerwowego. Analiza wybarwionych preparatów zostanie wykonana przy użyciu mikroskopu fluorescencyjnego Olympus BX51. Zmiana filtrów w trakcie obserwacji preparatów umożliwi określenie ilości badanych substancji w ENS. Udział procentowy immunoreaktywnych neuronów określany zostanie poprzez zliczenie komórek wykazujących kolokalizację względem substancji neuroaktywnej w stosunku do ogólnej liczby neuronów danej populacji.

Leki z grupy NLPZ są powszechnie stosowanymi środkami o działaniu przeciwbólowym, przeciwzapalnym i przeciwgorączkowym. Dość często są widoczne skutki uboczne ich stosowania, które głównie dotyczą przewodu pokarmowego. U większości chorych, już po jednorazowej dawce klasycznych NLPZ są obserwowane endoskopowo nadżerki. U 10-30 % przewlekle leczonych występują owrzodzenia żołądka. Ryzyko rozwoju powikłań wrzodów (perforacje, krwawienia) u pojedynczego pacjenta jest niewielkie, jednak biorąc pod uwagę ogromną ilość osób stosujących substancje z grupy NLPZ, można stwierdzić, że skutki uboczne stosowania NLPZ są powszechnym zagrożeniem. Zgony z powodu powikłań gastroenterologicznych po stosowaniu NLPZ znajdują się na 15. miejscu w USA.

Analiza wyników doświadczenia pozwoli na pogłębienie wiedzy dotyczącej wpływu stanu zapalnego na fenotyp neuronów jelitowego układu nerwowego, a także na zrozumienie patomechanizmów występowania skutków ubocznych towarzyszących terapii przeciwbólowej u pacjentów stosujących NLPZ. Jelitowy układ nerwowy bierze udział w większości procesów fizjologicznych i patologicznych występujących w obrębie przewodu pokarmowego. Odpowiada za regulację perystaltyki, procesów wydzielania i przepływu krwi w obrębie unerwianych narządów. Jego rola w rozwoju polekowego stanu zapalnego na terenie żołądka i jelit jest niewątpliwa, a określenie zmian kodowania chemicznego substancji neuroaktywnych ENS będzie pomocne w określeniu ich udziału w odpowiedzi organizmu na czynnik zapalny. Wiedza ta będzie mogła być wykorzystana w dalszych badaniach mających na celu ograniczenie lub eliminację negatywnych skutków przyjmowania leków z grupy NLPZ.