

Pengembangan Model Eksperimental Radang Kolon Menggunakan DSS: Studi pada Mencit C57BL/6 dan BALB/c

Fatiha Kamilah
fatihakamilah@apps.ipb.ac.id

Pemilihan hewan coba mencit dengan galur C57BL/6 berdasarkan studi literatur dimana hasil dari beberapa riset menunjukkan bahwa pasca induksi dengan DSS mencit dengan galur C57BL/6 mengalami diare dengan penurunan berat badan yang signifikan dan pendarahan pada dubur dimana hal tersebut merupakan gejala klinis yang timbul pada penderita kolitis. Selain itu mencit dengan galur C57BL/6 menunjukkan perubahan fisiologis dan histopatologis selama fase akut kolitis ketika diberikan DSS pada dosis tinggi (5% selama 7 hari pertama), kemudian 7 hari berikutnya diberikan DSS pada dosis lebih rendah (2,5%), gejala akut berubah menjadi kronis pada mencit C57BL/6 sementara pada mencit BALB/c masuk kedalam fase pemulihan tanpa melalui fase kronis [1]. Tingkat keparahan dan tingkat perkembangan penyakit jauh lebih tinggi pada mencit C57BL/6 dibandingkan dengan BALB/c bahkan pada fase akut. Penelitian lain menunjukkan hal yang sama Ketika mencit C57BL/6 dibandingkan dengan MSM/Ms yang diinduksi dengan DSS pada dosis masing-masing berturut-turut 2% dan 1,5%, hasil menunjukkan perkembangan kolitis kronis pada mencit C57BL/6 yang ditandai dengan terbentuknya lesi inflamasi, termasuk epitel hiperplastik yang menunjukkan adanya aktivitas proliferasi yang dominan di sekum, diikuti oleh kolon distal dan tengah. Sebaliknya, perubahan patologis jarang ditemukan di kolon proksimal. Selain kolitis, perubahan patologis terjadi pada mencit C57BL/6J sebagai akibat dari pemberian DSS yaitu, pembesaran limpa dan kelenjar getah bening ditemukan pada mencit C57BL/6 hari ke-11, dan kondisi tersebut tetap sama hingga hari ke-32. Pembesaran kelenjar getah bening disertai dengan agregasi makrofag dan plasmasitosis. Di limpa dan hati, hematopoiesis intramedulla sangat meningkat. Sementara itu pada organ utama lainnya, termasuk ginjal, paru-paru, jantung, pankreas, kelenjar adrenal, dan otak, tidak ada lesi yang berarti. Sebaliknya, MSM/Ms tidak menunjukkan respon inflamasi maupun perubahan sistemik seperti yang berhasil diamati pada mencit C57BL/6 [2].

Penelitian lain juga menunjukkan bahwa meskipun mencit BALB/c mengkonsumsi lebih banyak air yang mengandung DSS daripada mencit C57BL/6 tetapi penurunan berat badan, diare, pendarahan rektum dan perubahan fisiologis lainnya lebih intens terjadi pada mencit C57BL/6. Selama periode pemberian DSS, penurunan berat badan secara bertahap terlihat pada mencit C57BL/6, hal yang sama juga terlihat pada keparahan diare, perdarahan rektal dan adanya darah samar feses. Berdasarkan kriteria tersebut skor keparahan penyakit dihitung dan ditemukan bahwa skor keparahan penyakit mencit C57BL/6 yang diberi perlakuan DSS secara signifikan lebih tinggi daripada mencit BALB/c. Pemendekan panjang usus besar, indeks limpa dan indeks lemak peritoneum juga diukur untuk menentukan tingkat keparahan kolitis, dimana pemendekan kolon yang konsisten terlihat pada mencit C57BL/6 tetapi pada mencit BALB/c hanya terlihat selama 7 hari pertama, dan berangsur kembali normal pada hari ke-15 [3].

Selain itu penelitian lain juga menunjukkan bahwa pemberian DSS 5% selama 7 hari pertama menunjukkan tingkat keparahan yang hampir sama untuk kedua galur baik C57BL/6 dan BALB/c. Jaringan usus besar dari mencit yang diberikan dengan DSS menunjukkan terbentuknya lesi inflamasi yang semakin parah secara ekstensif di seluruh mukosa selama

minggu pertama pemberian DSS. Ulkus, pemendekan dan hilangnya kriptas terlihat di seluruh usus besar. Untuk strain C57BL/6 kondisi ini bertahan hingga akhir penelitian, bahkan ketika diberikan dosis DSS yang lebih rendah tetapi tetap tidak menunjukkan pemulihan yang signifikan. Berbeda halnya pada mencit BALB/c dimana dosis DSS yang lebih rendah selama 7 hari terakhir membantu mencit tersebut untuk pulih dari kondisi histopatologis akut sebelumnya. Pembersihan neutrophil dan limfosit dari lamina propria dimulai sebagai bagian dari proses pemulihan. Hasil skor histopatologi secara signifikan lebih tinggi pada mencit C57BL/6 yang diberikan DSS jika dibandingkan dengan mencit BALB/c, dimana ulserasi, edema, infiltrasi neutrofil pada mukosa dan sub-mukosa dan lesi inflamasi parah serta cedera epitel dianggap sebagai peristiwa awal hilangnya fungsi penghalang sel epitel [4].

Gangguan pada struktur epitel dan infiltrasi sel inflamasi di dalam usus besar dari hasil pembacaan preparat histopatologi merupakan indikasi adanya fungsi penghalang usus yang terganggu. Mencit C57BL/6 mengalami peningkatan permeabilitas membran secara bertahap pada kelompok perlakuan ketika dibandingkan dengan kontrol dan mencapai titik tertinggi pada hari ke-15 perlakuan DSS. Sementara pada BALB/c terdapat adanya sedikit perbedaan, dimana permeabilitas usus paling tinggi terjadi pada hari ke-7 ketika diberi perlakuan DSS dan kemudian mulai terjadi penurunan secara bertahap seiring dengan penurunan dosis DSS. Selain itu, protein *tight junction* memiliki peran yang sangat penting dalam menjaga permeabilitas usus. Beberapa ekspresi protein tersebut ditekan dalam kondisi radang kolon yaitu Claudin-1 dan Occludin-1, namun beberapa diekspresikan secara berlebihan. Claudin-2, adalah salah satu protein *tight junction*, yang dikenal sebagai protein *tight junction* pembentuk saluran yang permeabel terhadap kation kecil dan air. Ekspresi Claudin-2 meningkat pada mencit C57BL/6 dan BALB/c pada hari ke-7 pemberian DSS. Sedangkan pada hari ke-15, saat dosis DSS diturunkan, terjadi peningkatan bertahap ekspresi gen claudin-2 pada kelompok perlakuan C57BL/6, namun pada kelompok perlakuan BALB/c ekspresi gen mulai menurun dan cenderung normal. Pada kondisi sakit, gangguan fungsi *barrier* usus membuka jalan bagi mikroba luminal usus yang sebagian besar bersifat patogen untuk bermigrasi ke sistem peredaran darah *host*, yang pada akhirnya menyebabkan infeksi sistemik pada *host*. Diantara mikroba patogen tersebut, bakteri gram negatif memiliki kemampuan untuk melepaskan endotoksin yang mendorong aktivasi mekanisme pertahanan *host* dengan mengaktifkan respons inflamasi *host*. Dari hasil studi literatur tersebut menunjukkan bahwa mencit C57BL/6 memiliki kepekaan yang lebih tinggi terhadap pemberian DSS dibandingkan dengan mencit BALB/c dan MSM/Ms, dimana hal tersebut juga dipengaruhi oleh besarnya dosis yang diberikan [5].

DSS digunakan untuk menginduksi terjadinya radang kolon pada mencit C57BL/6. Pemberian DSS yang merupakan suatu polisakarida sulfat yang bersifat toksik terhadap epitel kolon menyebabkan gangguan pada permeabilitas sel epitel, serta mampu menginduksi respon imun sehingga mengganggu fungsi *barrier* mukosa di seluruh epitel kolon. Jadi, DSS tidak secara langsung menyebabkan peradangan usus; sebaliknya, DSS menyebabkan gangguan *barrier* pada epitel usus, mengakibatkan lamina propria (LP) terpapar keluar sehingga antigen luminal dan bakteri dapat masuk dengan mudah serta memicu terjadinya peradangan. Efektivitas kolitis yang diinduksi DSS bergantung pada beberapa faktor, termasuk dosis (biasanya 1%–5%), durasi (akut atau kronis), strain hewan, jenis kelamin hewan (tikus jantan lebih rentan), dan lingkungan mikroba hewan (misalnya, bebas kuman [GF] versus bebas

patogen spesifik [SPF]). Selain itu, hewan coba yang diberi DSS juga menunjukkan tingkat keparahan penyakit yang sangat bervariasi. Namun demikian, kolitis yang diinduksi DSS masih umum digunakan, mengingat kemudahan pemberiannya (biasanya dalam air minum) dan kemudahan dalam mengontrol dosis (untuk menentukan tingkat keparahan) dan durasinya (untuk mempelajari proses inflamasi atau pemulihan). Dengan demikian, pemberian DSS ke mencit didalam air minum untuk waktu yang singkat mampu menyebabkan peradangan akut pada usus besar yang ditandai dengan terjadinya erosi/ulkus, hilangnya kriptas, dan infiltrasi granulosit. Atas dasar ini, DSS kerap kali digunakan untuk mempelajari mekanisme imun yang terlibat dalam perkembangan inflamasi usus [6].

Referensi

- [1] D. C. Baumgart and W. J. Sandborn, "Inflammatory bowel disease: clinical aspects and established and evolving therapies," *Lancet*, vol. 369, no. 9573, pp. 1641–1657, 2007.
- [2] Low D, Nguyen DD, & Mizoguchi E. Animal models of ulcerative colitis and their application in drug research. *Drug, design, development and therapy* 2013;7 (1341-1357).
- [3] Mukhopadhyay S & Aich P. Comparative severity analysis of colitis C57BL/6 than BALB/c mice: A novel and rapid model of DSS induced colitis. *bioRxiv*, 2020.
- [4] Oh SY, Cho KA, Kang JL, Kim KH & Woo SY. Comparison of experimental mouse models of inflammatory bowel disease. *International journal of molecular medicine*, 33:333-340, 2014.
- [5] Kiesler P, Fuss IJ, Strober W. Experimental Models of Inflammatory Bowel Diseases. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*, 2015.
- [6] Nakanishi M, Tazawa H, Tsuchiya N, Sugimura T, Tanaka T & Nakagama H. Mouse strain differences in inflammatory responses of colonic mucosa induced by dextran sulfate sodium cause differential susceptibility to Phip-induced large bowel carcinogenesis. *Japanese cancer association*, 2007 Vol.98 (8):1157-1163.