

HELIKOBAKTĒRIJAS *HELICOBACTER* SPP. MĀJAS SUŅU (*CANIS FAMILIARIS*) KUŅĢA GĻOTĀDĀ

HELICOBACTER SPP. IN THE GASTRIC MUCOSA OF DOMESTIC DOGS (*CANIS FAMILIARIS*)

Bērziņa Dace¹, Birģele Edīte²

LLU Veterinārmedicīnas fakultāte, Latvija

Faculty of Veterinary Medicine, LUA, Latvia

dace.berzina@llu.lv¹, edite.birģele@llu.lv²

ABSTRACT

This study was carried out to evaluate the prevalence and amount of *Helicobacter* spp. in the gastric mucosa of domestic dogs (*Canis familiaris*). Mucosal samples were taken from several places of the cardiac, fundic and pyloric gland region of the stomach to detect helicobacters with the light histological examination. Eighteen dogs of seventeen sampled animals showed presence of *Helicobacter* spp. Compared to the gastric regions, this study showed significantly higher prevalence of *Helicobacter* spp. in the cardiac and fundic gland region than in the less affected pyloric gland region. *Helicobacter* spp. were detected at the superficial epithelium, gastric pits and deeper glandular epithelium of the gastric mucosa. The amount of *Helicobacter* spp. was relatively differentiated into four groups: as absent, mild, moderate and severe quantity of *Helicobacter* spp. The occurrence of *Helicobacter* spp. in the cardiac and fundic gland region showed a mild and moderate amount of *Helicobacter* spp. at the superficial epithelium and the gastric pits of the gastric mucosa. *Helicobacter* spp. are localized more deeper in the gastric pits and deeper glandular epithelium of the pyloric gland region than in the epithelium of the cardiac and fundic gland region. The amount of helicobacters in the gastric mucosa of the deeper glandular epithelium was more pronounced in the pyloric gland region than in the cardiac and fundic gland region.

KEY WORDS

Helicobacter spp., dogs, gastric, mucosa

IEVADS

Pētījumi par helikobaktēriju ietekmi uz cilvēku un dzīvnieku gastrointestinālā trakta morfoloģisko un funkcionālo stāvokli pasaulē joprojām ir aktuāli. Daļēji tās tiek uzskatītas kā normāla kuņģa un zarnu mikroflora (Simmons et al., 2000). Savukārt daudzas helikobaktēriju sugas ir patogēnas, kas var izraisīt dažādas kuņģa, zarnu un aknu patoloģijas – kuņģa čūlas, gastroenterītu, hepatītu un pat audzējus (Fox et al.; 1997; Solnick, Schauer, 2001).

Kopš pirmo reizi 1984. gadā cilvēkiem izolēja patogēno *Helicobacter pylori* (Marshall et al., 1984), helikobaktērijas atklātas arī vairākām dzīvnieku sugām: suņiem, kaķiem, cūkām, gepardiem, seskiem, polārlāčiem, jūras lauvām, pērtiķiem un grauzējiem (Eaton et al.; 1996; Jalava et al.; 1997; Neiger et al.; 1998; Hwang et al.; 2002). Helikobaktērijas konstatētas arī savvaļas jenotsuņiem (Bērziņa, Birģele, 2006).

Noskaidrots, ka helikobaktērijas galvenokārt ir fakultatīvi anaerobas, gramnegatīvas, spirālveida baktērijas ar multiplām terminālām viciņām un augstu fermenta ureāzes aktivitāti, kas ļauj tām izdzīvot skābā vidē (Eaton et al., 1996). Uzskata, ka baktēriju avots pamatā ir kontaminēta barība vai fekālijas, kas tiek uzņemtas perorāli (Bussac, 1999).

Helikobaktēriju noteikšanai bieži tiek izmantota histoloģiskā izmeklēšana. Ar tās palīdzību, izmantojot dažādas krāsošanas metodes, var novērtēt arī gļotādas vispārējo stāvokli un konstatēt dažādas izmaiņas tās struktūrā (Megroud, 1996). Jāatzīmē, ka tā ir salīdzinoši dārgāka un sarežģītāka metode nekā, piemēram, ureāzes tests un gļotādas virsmas noburzumu

citoloģija, kas arī plaši tiek izmantotas helikobaktēriju noteikšanai (Happonen, 1996; Bērziņa, Birģele, 2006).

Šī darba mērķis bija izpētīt helikobaktēriju lokalizāciju un to daudzumu mājas suņu (*Canis familiaris*) kuņģa gļotādā.

Darba uzdevumi:

1. Noteikt helikobaktērijas suņu kuņģa gļotādā ar histoloģiskās izmeklēšanas metodi;
2. Izpētīt helikobaktēriju izplatību kuņģa gļotādas kardiālo, fundālo un pilorisko dziedzeru zonā;
3. Novērtēt helikobaktēriju daudzumu kuņģa gļotādas virsmas epitēlijā, kuņģa bedrītēs, kā arī dziļāk esošajā kuņģa dziedzerepitēlijā.

MATERIĀLS UN METODIKA

Materiālu ieguvām LLU Veterinārmedicīnas fakultātes Mazo dzīvnieku klīnikā no 18 dažāda vecuma un dzimuma suņiem uzreiz pēc to eitanāzijas (saskaņā ar saimnieku vēlēšanos).

Gļotādas paraugi tika paņemti no stingri noteiktām vietām: četrām vietām kuņģa kardiālo dziedzeru zonā, astoņām vietām fundālo dziedzeru zonā un piecām vietām pilorisko dziedzeru zonā. Tādejādi no katra dzīvnieka tika iegūti 17 gļotādas paraugi un kopumā izanalizēti 306 gļotādas paraugi.

Gļotādas paraugus fiksēja 10% buferētajā neitrālajā formalīna šķīdumā. Parafīna bloku sagatavošanai izmantoja audu auto-procesoru *Tissue-Tek II* (Nīderlande). Tālāk preparātus sagriezta mikrotomā *SLEE Mainz Cut 4* μm biezios griezumos un krāsoja, izmantojot *Diff-Quick* metodi (Happonen et al., 1996). Histoloģiskos preparātus izvērtēja gaismas mikroskopā *Leica DM5000B* eļļas imersijā 1000 reižu lielā palielinājumā.

Histoloģiskās izmeklēšanas laikā noteicām helikobaktēriju lokalizāciju kuņģa gļotādā un to daudzumu kuņģa virsmas epitēlijā, kuņģa bedrītēs, kā arī dziļāk esošajā dziedzerepitēlijā (Hermanns et al., 1995; Happonen et al., 1996).

Kuņģa gļotādas dziļumu mērījām ar mikroskopisko attēlu iegūšanas, analīzes un mērīšanas programmu *Image-Pro Plus*. To noteicām tikai griezumos, kuros kuņģa gļotāda redzama visā dziļumā līdz *Lamina muscularis mucosae*.

Pēc iegūtā helikobaktēriju daudzuma attiecīgajā kuņģa gļotādas dziedzeru zonā paraugus varējām nosacīti iedalīt četrās grupās: helikobaktēriju vienā mikroskopa redzes laukā nav – rezultāts negatīvs; 1-10 helikobaktērijas vienā redzes laukā – nosacīti mazs to daudzums; 10-50 helikobaktērijas vienā redzes laukā – vidēji daudz; vairāk kā 50 helikobaktērijas vienā mikroskopa redzes laukā – ļoti daudz (Happonen et al., 1998; Neiger et al., 1998).

Iegūto rezultātu statistiskā apstrāde tika veikta ar SPSS 11.5 programmu. Helikobaktēriju lokalizācija un daudzums dažādās kuņģa gļotādas vietās kardiālo, fundālo un pilorisko dziedzeru zonā tika analizēts ar χ^2 kritēriju kā statistiskās neatkarības testu vairāku paraugkopu salīdzināšanai (Arhipova, Bāliņa, 2003).

REZULTĀTI UN DISKUSIJA

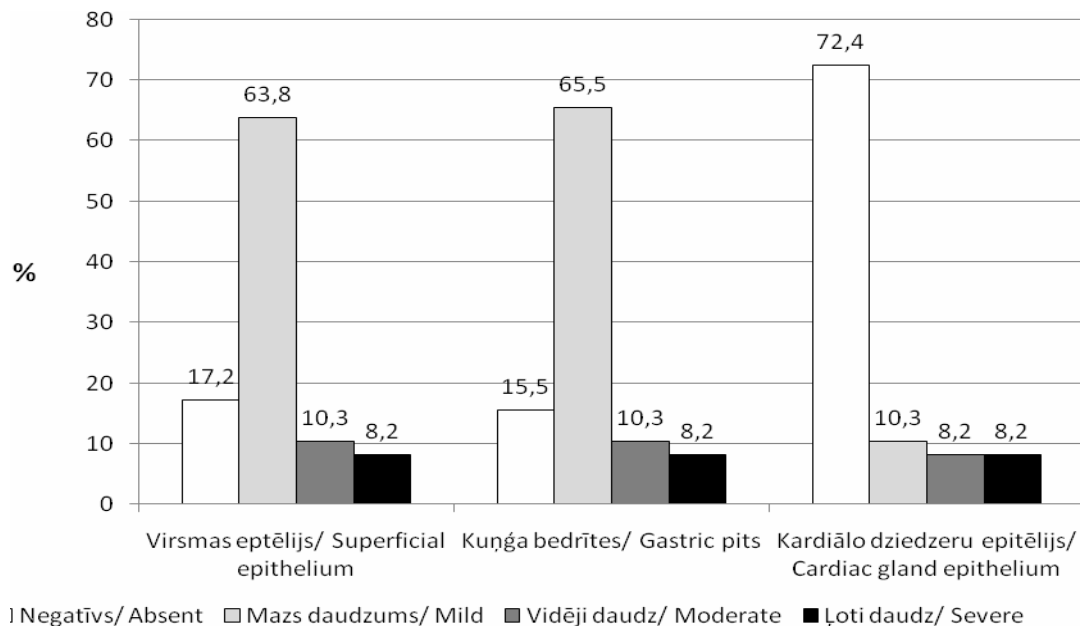
No 18 mūsu pētījumā izmeklētajiem suņiem 17 dzīvniekiem kuņģa gļotādā konstatējām helikobaktērijas. Nosakot helikobaktērijas 306 kuņģa gļotādas histoloģiskajos preparātos, pozitīvi rezultāti bija 236 preparātos - t.i. 77.1% gadījumos no mūsu izmeklētajiem paraugiem tika konstatētas helikobaktērijas.

Salīdzinot helikobaktēriju sastopamību dažādās kuņģa daļās, konstatējām, ka visaugstākais pozitīvais paraugu skaits ir fundālo dziedzeru zonā – 90.9% gadījumos, tad kardiālo dziedzeru zonā – 80.5% gadījumos. Kopumā tas ir gandrīz uz pusi vairāk nekā helikobaktēriju daudzums pilorisko dziedzeru zonā, kur tās attiecīgi izdalījām 52.2% gadījumos ($p < 0.05$). Šie mūsu iegūtie rezultāti principā saskan ar Happonen (1996) pētījumiem, kuros arī konstatēts,

ka suņiem helikobaktērijas visvairāk ir lokalizētas tieši kuņģa fundālo dziedzeru zonā. Ja salīdzinām šos rezultātus ar mūsu iepriekš iegūtajiem rezultātiem par helikobaktēriju izplatību jenotsuņu kuņģa gļotādā, tad varam secināt, ka jenotsuņiem atšķirībā no mājas suņiem helikobaktērijas visās kuņģa gļotādas daļās bija sastopamas apmēram vienādā daudzumā (Bērziņa, Birģele 2006).

Nākamais uzdevums, kas mums jānoskaidro bija helikobaktēriju daudzuma atšķirības atsevišķo kuņģa dziedzeru zonu dažādajos dziedzerepitēlija slāņos.

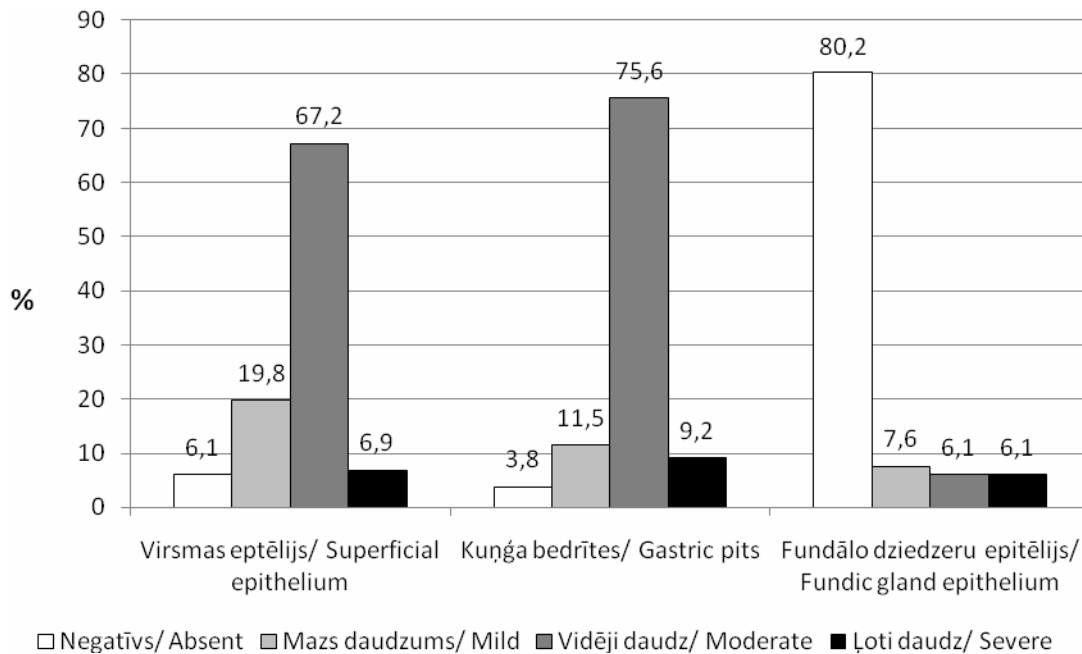
Kardiālo dziedzeru zonas gļotādā helikobaktērijas konstatējām kuņģa bedrītēs līdz 170 μm dziļumam, bet dziļāk esošajā dziedzerepitēlijā – līdz 350 μm dziļumam. Rezultāti, kas iegūti, izmeklējot kuņģa kardiālo dziedzeru zonu, atspoguļoti pirmajā attēlā.



1.attēls. *Helicobacter* spp. daudzuma atšķirības kuņģa kardiālo dziedzeru zonas gļotādā
Figure 1. Amount differences of *Helicobacter* spp. in the mucosa of the cardiac gland region

Kuņģa kardiālo dziedzeru zonas gļotādas virsmas epītēlijā un kuņģa bedrītēs pārsvarā tika konstatēti tikai mazs helikobaktēriju daudzums – attiecīgi 63.8% gadījumos virsmas epītēlijā un 65.5% gadījumos kuņģa bedrītēs ($p < 0.05$). Tomēr šajos gļotādas epītēlija slāņos 10.3% gadījumos varēja novērot vidēji daudz helikobaktēriju un 8.2% gadījumos – pat ļoti daudz šo baktēriju. Kas attiecas uz kardiālo dziedzeru dziļākajiem slāņiem – līdz 350 μm dziļumam – tad redzam, ka šajā dziļumā pārsvarā (72.4% gadījumos) helikobaktērijas nekonstatējām. Tomēr arī šajā gļotādas dziļumā kardiālo dziedzeru zonā helikobaktērijas varēja konstatēt: 10.3% gadījumos to bija maz, 8.2% gadījumos – vidēji daudz un 8.2% gadījumos – pat ļoti daudz (sk. 1.attēlu).

Fundālo dziedzeru zonas gļotādā tāpat kā kardiālo dziedzeru zonā helikobaktērijas konstatējām kuņģa bedrītēs līdz 170 μm dziļumam, bet dziļāk esošajā dziedzeru epītēlijā – līdz 350 μm dziļumam. Rezultāti, kas iegūti, izmeklējot kuņģa fundālo dziedzeru zonu, atspoguļoti otrajā attēlā.



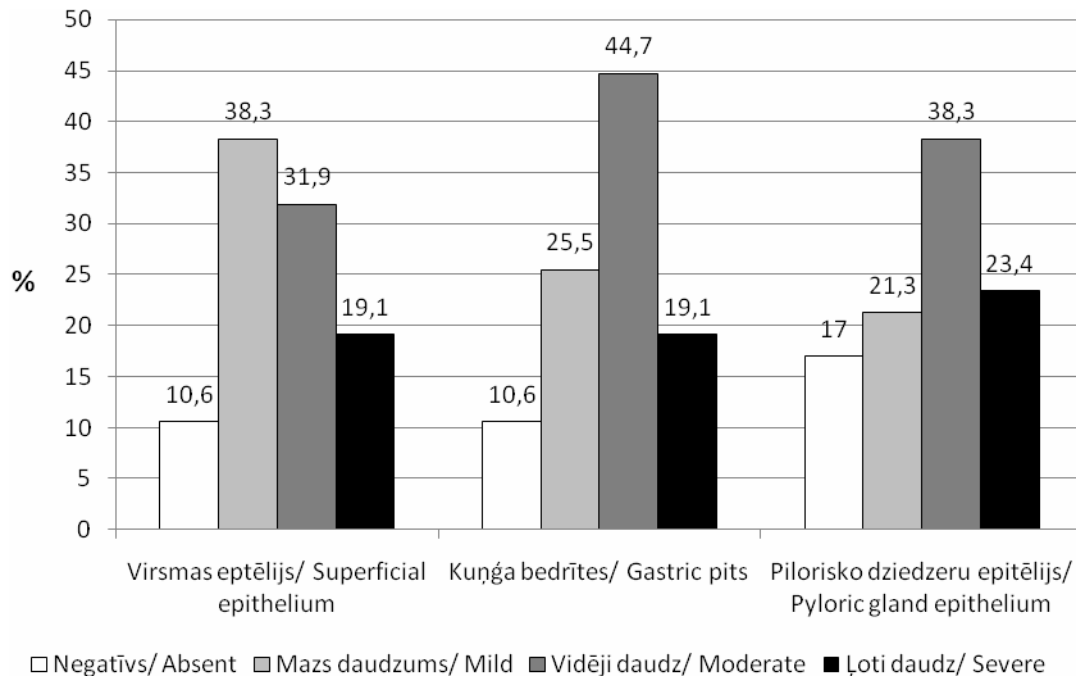
2.attēls. *Helicobacter* spp. daudzuma atšķirības kuņģa fundālo dziedzeru zonas gļotādā
 Figure 2. Amount differences of *Helicobacter* spp. in the mucosa of the fundic gland region

Kuņģa fundālo dziedzeru zonas gļotādas virsmas epitelijā un kuņģa bedrītēs pārsvarā konstatējām vidēji daudz helikobaktēriju – attiecīgi 67.2% gadījumos virsmas epitelijā un 75.6% gadījumos kuņģa bedrītēs. Mazs helikobaktēriju daudzums bija 19.8% gadījumos virsmas epitelijā un 11.5% gadījumos kuņģa bedrītēs, bet ļoti daudz helikobaktēriju bija 6.9%, gadījumos virsmas epitelijā un 9.2% gadījumos kuņģa bedrītēs. Kas attiecas uz fundālo dziedzeru dziļākajiem slāņiem līdz 350 µm dziļumam, tad redzam, ka šajā dziļumā pārsvarā (80.2% gadījumos) helikobaktērijas netika konstatētas. Tomēr arī šajā gļotādas dziļumā fundālo dziedzeru zonā maz helikobaktēriju varēja konstatēt 7.6% gadījumos, bet 6.1% gadījumos to bija vidēji un pat ļoti daudz (sk. 2. attēlu).

Tādējādi, līdzīgi kā kardiālo dziedzeru zonā arī fundālo dziedzeru zonā helikobaktērijas ir vairāk izplatītas virsmas epitelijā un kuņģa bedrītēs nekā dziļāk esošajā dziedzerepitēlijā ($p < 0.05$).

Pilorisko dziedzeru zonas gļotādā helikobaktērijas konstatējām kuņģa bedrītēs līdz 350 µm dziļumam, bet dziļāk esošajā dziedzerepitēlijā – līdz 760 µm dziļumam. Tātad, mājas suņiem kuņģa pilorisko dziedzeru zonas gļotādā gan kuņģa bedrītēs, gan dziedzerepitēlijā helikobaktērijas varēja konstatēt salīdzinoši dziļāk nekā tas bija kardiālo un fundālo dziedzeru zonā.

Helikobaktēriju daudzuma atšķirības pilorisko dziedzeru zonas gļotādā suņiem parādītas trešajā attēlā.



3.attēls. *Helicobacter* spp. daudzuma atšķirības kuņģa pilorisko dziedzeru zonas gļotādā
 Figure 3. Amount differences of *Helicobacter* spp. in the mucosa of the pyloric gland region

Redzams, ka kuņģa piloriskās dziedzeru zonas gļotādas virsmas epitēlijā 38.3% gadījumos konstatējām maz helikobaktēriju, 31.9% gadījumos – to bija vidēji daudz, bet 19.1% gadījumos – pat ļoti daudz helikobaktēriju. Kuņģa bedrītēs pārsvarā (44.7% gadījumos) konstatējām vidēji daudz helikobaktēriju, maz helikobaktēriju bija 25.5% gadījumos, bet 19.1% gadījumos to bija ļoti daudz. Dziļāk esošajā pilorisko dziedzeru zonas epitēlijā tāpat kā kuņģa bedrītēs pārsvarā konstatējām vidēji daudz helikobaktēriju – 38.3% gadījumos. Šajā gļotādas dziļumā 21.3% gadījumos konstatējām maz helikobaktēriju, bet 23.4% gadījumos – ļoti daudz helikobaktēriju. Savukārt negatīvo paraugu skaits dziļāk esošajā pilorisko dziedzeru zonas epitēlijā bija tikai 17% gadījumos (sk. 3. attēlu).

Tādejādi helikobaktēriju daudzums kuņģa gļotādas dziļāk esošajā dziedzerēpitēlijā pilorisko dziedzeru zonā ir ievērojami lielāks ($p < 0.05$) nekā tas attiecīgi bija kardiālo un fundālo dziedzeru zonā.

SECINĀJUMI

1. Mājas suņiem (*Canis familiaris*) helikobaktēriju daudzums kuņģa kardiālo un fundālo dziedzeru zonā ir gandrīz uz pusi lielāks nekā tas ir pilorisko dziedzeru zonas gļotādā.
2. Kuņģa kardiālo un fundālo dziedzeru zonas gļotādas virsmas epitēlijā un kuņģa bedrītēs pārsvarā konstatēts mazs un vidējs helikobaktēriju daudzums.
3. Kuņģa pilorisko dziedzeru zonā suņiem helikobaktērijas konstatētas dziļāk gan kuņģa bedrītēs, gan piloriskajā dziedzerēpitēlijā nekā attiecīgajās daļās kuņģa kardiālo un fundālo dziedzeru zonas epitēlijā.
4. Helikobaktēriju daudzums suņiem kuņģa gļotādas dziļāk esošajā dziedzerēpitēlijā pilorisko dziedzeru zonā ir ievērojami lielāks nekā tas attiecīgi ir kardiālo un fundālo dziedzeru zonas gļotādā.

LITERATŪRA

1. Arhipova I., Bāliņa S. Statistika ekonomikā. Datorzinību centrs, Rīga, 2003. 352 lpp.
2. Bērziņa D., Birģele E. Kuņģa *Helicobacter spp.* izplatība jenotsuņiem Korejas Republikas Čonbukas Provincē. Starptautiskās zinātniskās konferences “Dzīvnieki. Veselība. higiēna” raksti. Jelgava. Latvija, 2006. 1: 36-42.
3. Bussac G. *Helicobacter pylori* and the oral environment. Practical Periodontics Anesthetics Dentology. 1999. 11(8): 918-922.
4. Eaton K.A., Dewhirst F.E., Paster B.J., Tzellas N., Coleman B.E., Paola J., Sherding R. Prevalence and varieties of *Helicobacter* species in dogs from random sources and pet dogs: animal and public health implications. Journal of Clinical Microbiology. 1996. 34(12),3: 165-245.
5. Fox J.G., Lee A. The role of *Helicobacter* species in newly recognized gastrointestinal tract diseases of animals. Laboratory Animal. Science. 1997. 47(3): 222-277.
6. Happonen I., Linden J., Saari S., Karjalainen M., Hanninen M.L., Jalava K., Westermarck E. Detection and effects of helicobacters in the healthy dogs and dogs with signs of gastritis. Journal of the American Veterinary Medical Association. 1998. 213: 1767-1774.
7. Happonen I., Saari S., Castren L., Tyni O., Hanninen M.L., Westermarck E. Comparison of diagnostic methods for detecting gastric *Helicobacter*-like organisms in dogs and cats. Journal of Comparative Pathology. 1996. 115(2): 117-144.
8. Hermanns W., Kregel K., Breuer W., Lechner J. *Helicobacter* – like organisms: histopathological examination of gastric biopsies from dogs and cats. Journal of Comparative Pathology. 1995. 112: 307-318.
9. Hwang C.Y., Han H.R., Youn H.Y. Prevalence and clinical characterization of gastric *Helicobacter* species infection of dogs and cats in Korea. Journal of Veterinary Science. 2002. 3(2): 123-156.
10. Jalava K., Kaartinen M., Utriainen M., Happonen I., Hanninen M.L. *Helicobacter salmonis sp. nov.*, a canine gastric *Helicobacter* sp. related to *Helicobacter felis* and *Helicobacter bizzozeronii*. International Journal of Systemic Bacteriology. 1997. 47(4): 975- 982.
11. Marshall B.J., Warren J.R. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. Lancet. 1984. 16,1(8390): 1311-1316.
12. Megraud F. Advantages and disadvantages of current diagnostic tests for the detection of *Helicobacter pylori*. Scandinavian Journal of Gastroenterology. 1996. 215: 57-119.
13. Neiger R., Dieterich C., Burnens A., Waldvogel A., Corthesy – Theulaz I., Halter F., Lauterburg B., Schmassmann A. Detection and prevalence of *Helicobacter* infection in pet cats. Journal of Clinical Microbiology. 1998. 36: 634-637.
14. Neiger R., Dieterich C., Burnens A., Waldvogel A., I. Corthesy-Theulaz I., Halter F., Lauterburg B., Schmassmann A. Detection and prevalence of *Helicobacter* infection in pet cats. Journal of Clinical Microbiology. 1998. March: 634-637.
15. Simmons J.h., Riley L.K., Besch-Williford C., Franklin C.L. *Helicobacter mesocricetorum sp. nov.*, a novel helicobacter isolated from the feces of Syrian hamsters. Journal of Clinical Microbiology. 2000. 38: 1811-1817.
16. Solnick J.V., Schauer D.B. Emergence of diverse *Helicobacter* species in the pathogenesis of gastric and enterohepatic diseases. Clinical Microbiology. 2001. 14(1): 59-97.