

Possibilities of *in vitro* modeling of intestinal diseases in dogs

Literature review

A. V. Móritz^{1,2*}
Á. Jerzsele^{1,2}
R. Psáder³
O. Farkas^{1,2}

1. Gyógyszertani és Méregtani Tanszék, Állatorvostudományi Egyetem, H-1078 Budapest, István u. 2.

2. Fertőző Állatbetegségek, Antimikrobiális Rezisztencia, Állatorvosi Közegészségügy és Élelmiszerlánc-biztonság Nemzeti Laboratóriuma, Állatorvostudományi Egyetem, Budapest

3. Belgyógyászati Tanszék és Klinika, Állatorvostudományi Egyetem, Budapest

*e-mail: moritz.alma.virag@univet.hu

Kutya bélrendszeri megbetegedéseinek *in vitro* modellezési lehetőségei

Irodalmi összefoglaló

Móritz Alma Virág^{1,2*}, Jerzsele Ákos^{1,2}, Psáder Roland³, Farkas Orsolya^{1,2}

ÖSSZEFOGLALÁS

A gyomor-bélrendszer jelentős felülettel érintkezik a szájon át a szervezetbe jutó káros ágensekkel, és összetett funkciója révén jelentős szerepet játszik a kórokozó mikroorganizmusok távoltartásában. A gyulladós bélbetegségek kutatása és terápiás lehetőségeinek vizsgálata tekintetében elengedhetetlen az *in vitro* modellek alkalmazása. A szerzők irodalmi összefoglalójukban bemutatják kutyák bélbetegégeinek tanulmányozására kifejlesztett *in vitro* modelleket. A homogén, kétdimenziós, fenntartható daganatos eredetű sejtvonalak mellett megjelentek olyan heterogén sejtösszetételű háromdimenziós organoidtenyészetek is, amikkel az *in vivo* körülmények jobban modellezhetővé váltak.

SUMMARY

The gastrointestinal tract has a large surface area in contact with harmful agents that enter the body through the oral route, and through its complex function, it plays a significant role in keeping pathogenic microorganisms and other hazardous compounds away. Almost every fifth dog is affected by some form of enteropathies. Intestinal diseases can be divided into acute and chronic forms. In order to establish the exact diagnosis, various additional tests, including faecal examination, abdominal ultrasound, gastroscopy, and histopathological examination may be indispensable. Often not only the diagnosis, but also the treatment is very complex and complicated. The use of *in vitro* models is essential for a more precise understanding of the cause of inflammatory bowel diseases and for examining its therapeutic possibilities. Several *in vitro* models have become widely used to study intestinal diseases in dogs. In addition to the homogeneous two-dimensional sustainable cell lines of tumour origin, such as the Caco-2 and HT-29 colon carcinoma cell lines, which are very popular for permeability studies, three-dimensional organoid cultures with a heterogeneous cell composition have also appeared, which allow improved modelling of *in vivo* conditions. From the results of *in vitro* intestinal research studies in dogs, root causes of diseases can be better understood, and new therapeutic options can be revealed, which can ensure more successful treatment and a better quality of life for our canine patients. From the results, relevant conclusions can be drawn for human medicine, based on the similarity of the environment and nutrition of dogs and humans, of the structure of the intestinal system, and the composition of the microbiota, and of intestinal diseases.

Az emésztőszervrendszer legnagyobb részét a vékonybél teszi ki, amely nagy felületen érintkezik a külső környezettel. A táplálékkal vagy az eleséggel antigének, allergének, toxinok és patogén mikrobák is a szervezetbe juthatnak [1], amelyek immuntoleranciát vagy immunválaszt válthatnak ki. A bélrendszer az eleség emésztése és felszívása mellett különleges szövettani felépítésének és az immunrendszerrel való szoros kapcsolatának köszönhetően fontos szerepet tölt be az exogén kórokok elleni védekezésben. A bélrendszer védelmi vonala négy részre osztható, aminek az első eleme a bélsatornában élő mikroorganizmusokból álló mikrobiológiai barrier, a második pedig az immunkémiai barrier, ami antimikrobiális hatású molekulákból, szekretoros IgA molekulákból és mucinból áll. A harmadik vonalat, a mechanikai barrier-t a bélhámsejtek és a köztük lévő szoros sejtkapcsolatok (tight junction, TJ), míg a negyedik, immunológiai barrier-t az immunsejtek alkotják [2]. A kutyák gyomor-bélrendszeri mikrobiótája egy olyan egyedi és stabil ökoszisztéma [3], amit 10^{12} – 10^{14} mikroba hoz létre [4]. A kutyák mikrobiótájának az összetétele jobban hasonlít az emberekéhez, mint a sertéseké vagy az egereké [5], a mikrobák nagy része a *Firmicutes*, a *Fusobacteria*, a *Bacteroidetes* és a *Proteobacteria* törzsbe sorolható [6, 7]. A bélmikrobióta elemei részt vesznek a tápanyag- és gyógyszer-metabolizmusban, befolyásolják a bélrendszer motilitását és a felszívást, valamint K-vitamint, biotint és különböző enzimeket, többek között poliszacharidokat bontó enzimeket, béta-glikozidázt és epesó-hidrolázt szintetizálnak [8, 9]. Emellett gátolják a kórokozók tapadását, stimulálják a bélhámsejtek megújulását (cell turnover), az immunsejtek védekezőképességét és a szisztémás immunrendszert [10].

A bélrendszer fontos szerepet tölt be az exogén kórokok elleni védekezésben

A kutyák mikrobiótájának az összetétele jobban hasonlít az emberekéhez, mint a sertéseké vagy az egereké

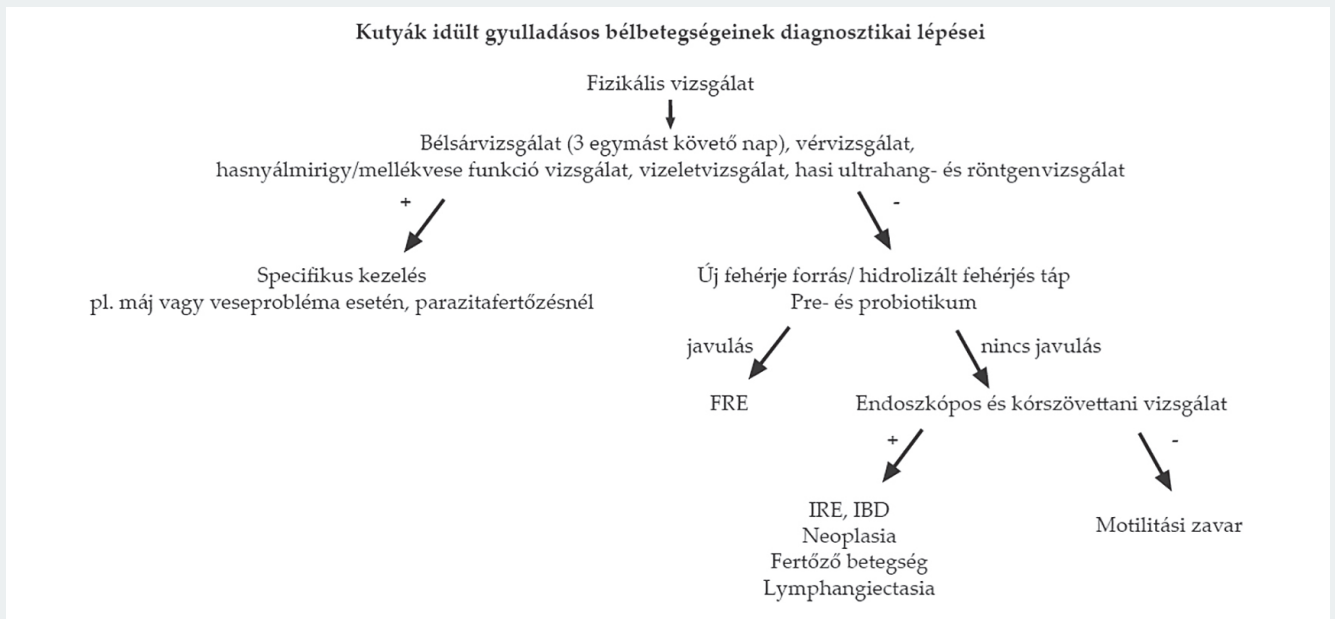
Az idült gyulladós bélbetegségek valamely formája közel minden ötödik kutyát érint

Az idült gyulladós bélbetegségek (chronic inflammatory enteropathy, CIE) valamely formája közel minden ötödik kutyát érint [11]. Jellemzően több mint három hete tartó hányással, hasmenéssel, folyamatosan romló vagy visszatérő panaszokkal járó állapotot jelent, és a diagnózis különböző kiegészítő vizsgálatok (bél-sárvizsgálat, hasi ultrahangvizsgálat, gyomor-, béltükrözés, kórszövettan) segítségével állapítható meg (1. ábra) [12]. Diagnosztizálásuk előtt ki kell zárni az extraintestinalis eredetet, az idült parazitás és bakteriális bélfertőzéseket, a bélelzáródást és a béldaganatokat [13, 14]. Hagyományosan diétás táplálással, gyógyszerek és probiotikumok adagolásával orvosolhatók, de nem minden esetben eredményesen [11, 15].

Kialakulásuk hátterében a lokális immunrendszer sérülése, esetleg kóros immunválasz állhat. Genetikai hajlam is szerepet játszhat a betegség létrejöttében, valamint korábbi vírus-, baktérium-, ill. parazitafertőzés és antibiotikumkezelés is a bélnyálkahártya permeabilitását növelő és mikrobiótát károsító tényezőként hathat. A létrejött allergiás és gyulladós folyamatok a CIE eleségre reagáló (food-responsive enteropathy, FRE), antibiotikumra reagáló (antibiotic-responsive enteropathy, ARE), immunszuppresszív kezelésre reagáló (immunosuppressant-responsive enteropathy, IRE) és a terápiára nem reagáló (non-responsive enteropathy, NRE) formáját alakítják ki. Az FRE forma a leggyakoribb, ami a krónikus gyulladós bélbántalmak közel kétharmadát teszi ki. Az ARE hátterében a dysbiosis vagy a baktériumok vékonybélben történő túlszaporodása állhat [14]. Az IRE és NRE csoportba tartozik az idiopathicus gyulladós bélbetegség (inflammatory bowel disease, IBD) is, aminek a kialakulása ismeretlen oktanú, és a megállapításához a bélnyálkahártya kórszövettani vizsgálata is szükséges.

Kórszövettanilag az IBD lehet lymphocytás-plazmasejtes bélgyulladás, eosinophilsejtes bélgyulladás, eosinophilsejtes gyomorbélgyulladás, neutrophiliás bélgyulladás, aminek a hátterében *Salmonella* vagy *Campylobacter* fertőzést gyanítanak, valamint granulomatosisus bélgyulladás. Az IBD német juhász, sharpei és basenji kutyákban a leggyakoribb, de előfordulhat macskákban is, gyakran hasnyálmirigy- és epevezető-gyulladással együtt (triaditis). A bélgyulladás

A kutyák gyulladós bélbetegsége lehet:
- eleségre reagáló,
- antibiotikumra reagáló,
- immunszuppresszív kezelésre reagáló és
- terápiára nem reagáló



1. ÁBRA. Kutyák idült gyulladós bélbetegségeinek diagnosztikai lépései

Fizikális vizsgálat után extraintestinalis és fertőző okok kizárása, majd a gyomor-bélrendszer specifikus vizsgálata. +: diagnosztikai lépéssel a pontos diagnózis állítható fel, -: diagnosztikai lépéssel a pontos diagnózis nem állítható fel. FRE: eleségre reagáló bélbántalom (food-responsive enteropathy), IRE: immunosuppresszív kezelésre reagáló bélbántalom (immunosuppressant-responsive enteropathy), IBD: idiopathicus gyulladós bélbetegség (inflammatory bowel disease)

(Az ábra CERQUETELLA és mtsai munkája alapján készült [12])

FIGURE 1. Diagnostic steps for chronic enteropathies in dogs

After a physical examination, extraintestinal and infectious causes are ruled out, followed by a specific examination of the gastrointestinal tract. +: diagnostic step allows an accurate diagnosis, -: diagnostic step does not allow an accurate diagnosis. FRE: food-responsive enteropathy, IRE: immunosuppressant-responsive enteropathy, IBD: inflammatory bowel disease

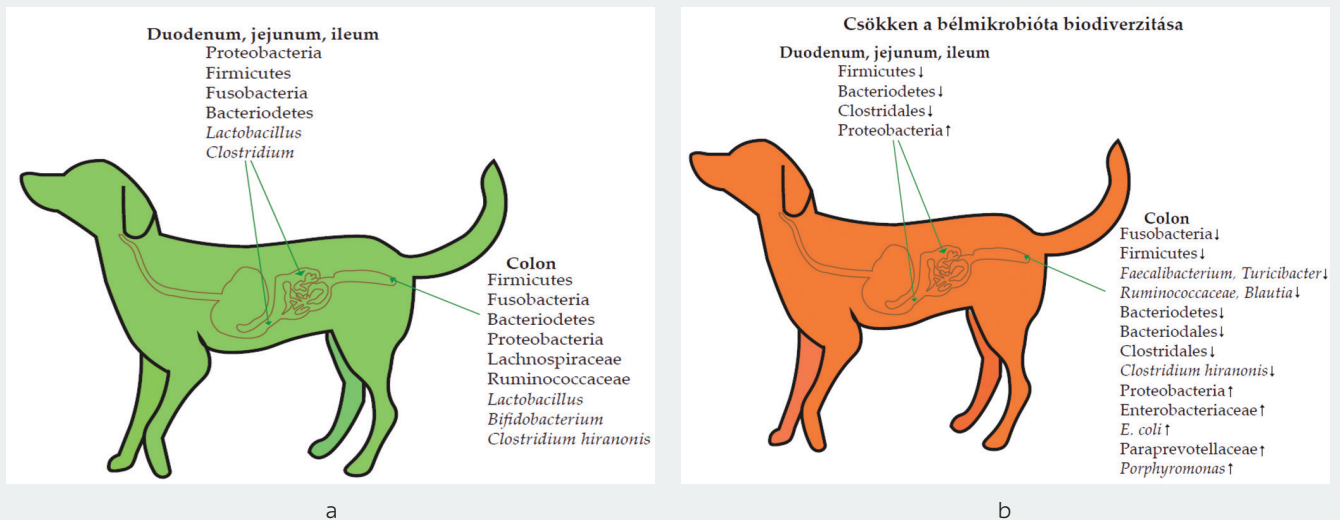
(The Figure based on the work of CERQUETELLA et al [12])

A kutya jó modellállata lehet az ember gyulladós bélbetegségének

következtében kialakuló malabsorptio hypoproteinaemiát eredményezhet [14]. A bélrendszer mikrobióta-összetétele megváltozik. A *Proteobacteria*, a *Paraprevotellaceae* és az *Enterobacteriaceae* törzsek képviselői nagyobb, míg a *Firumicutes*, a *Fusobacteria* és *Bacteriodes* törzseké kisebb számban találhatók meg a vastagbélben és a bélsárban (2. ábra) [7]. Bélsárból történt szekvenálások alapján úgy tűnik, hogy az IBD hátterében *Escherichia coli* (*E. coli*) fertőzés is állhat [16], ill. a *Clostridium hiranonis* csökkenése is fontos szerepet játszik a kórfejlődésben. A kutya és az ember bélrendszerének anatómiai és élettani hasonlósága, ill. kutya-gazda diétájának és napi ritmusának hasonlósága révén a kutya jó modellállata lehet az ember multifaktoriális és komplex betegségének, az IBD-nek [17, 18].

VÉKONYBÉL-MODELLEK

Az állatkísérletek tervezésénél figyelembe kell venni az ún. 3R elvet. A kifejezés a tökéletesítés (refinement), a csökkentés (reduction) és a helyettesítés (replacement) szavak angol megfelelőinek kezdőbetűit takarja. Az elv lényege, hogy a kísérletek során törekedni kell olyan modellek létrehozására és alkalmazására, amelyek a lehető legkevesebb, de még reprezentatív számú állat felhasználását igénylik, és az állatok számára a lehető legkisebb mértékű szenvedést okozzák. Amennyiben lehetséges, az állatkísérletek egyéb módszerek használatával helyettesítendőek [19]. A helyettesítő módszerek közé tartoznak az *in vitro* sejtkultúrák



2. ÁBRA. Egészséges (a) és IBD-s (b) kutya bélmikrobiótája

Az IBD esetén megváltozik a mikrobióta összetétele.

(Az ábra GRZEŚKOWIAK és mtsai [3], MINAMOTO és mtsai [6], ill. HERNANDEZ és mtsai [7] munkája alapján készült)

FIGURE 2. Gut microbiota of a healthy dog (a) and a dog with IBD (b)

The composition of the microbiota changes in IBD

(The Figure is based on the work of GRZEŚKOWIAK et al [3], MINAMOTO et al [6] and HERNANDEZ et al [7])

**A primer
sejttenyészeteket az
eredeti szövetből vagy
szervből izolálják,
a sejtvonalak pedig
folyamatosan
osztódó, fenntartható
sejtkultúrák**

kísérletek. A sejtkultúrák között meg lehet különböztetni primer sejttenyészeteket és sejtvonalakat. A primer sejttenyészetek létrehozásakor a sejteket a kísérlet előtt az eredeti szövetből vagy szervből izolálják. Ezek a tenyészetek általában nehezebben fenntarthatók, kisebb az osztódási arányuk, mint a genetikailag viszonylag egységes sejtvonalak, amelyek vagy daganatos eredetűek, vagy pedig egészséges sejtek *in vitro* transzformációja által hozhatók létre, pl. retrovirális transzdukciós onkogén transzfekeció révén. Folyamatosan osztódó sejtvonalak kialakulhatnak spontán transzformációval is, de ez ritkán fordul elő.

HUMÁN IMMORTALIZÁLT SEJTVONALAK

Az elmúlt évtizedekben a humán colorectalis carcinoma eredetű sejtvonalak használta volt a leginkább elterjedt, igen gyakran alkalmazzák ezeket permeabilitási kísérletekben. Ebbe a csoportba tartozó sejtvonal többek között a Caco-2 és a HT-29 [20]. A Caco-2 sejtvonal a leggyakrabban használt sejtalapú modell a farmakokinetikai kísérletekben [21]. A Caco-2 sejteket először az 1970-es években izolálták humán vastagbél-adenocarcinomból [22]. A tenyészetekben főként kefeszegélyekkel és mikrovillusokkal rendelkező, vékonybélhámsejtekhez hasonló sejtek alakulnak, amik között TJ-kapcsolatok jönnek létre, és a bélhámsejtekre jellemző aminopeptidáz N, szacharáz-izomaltáz és dipeptidil-peptidáz IV enzimeket is termelnek [21]. A tenyészetek heterogének, nem csak abszorptív enterocytákból állnak, hanem egyéb differenciált sejtek is megjelennek, ezáltal szubklónok kialakítása lehetséges [23]. A Caco-2 sejtvonal szubklónjaként előállítható a TC-7 sejtvonal, amely gyorsabb sejtosztódású, ezért rövidebb idő alatt hoz létre egyrétegű tenyészetet, mint a Caco-2 sejtvonal, ill. kisebb transepitheliális elektromos ellenállás (transepithelial electrical resistance, TEER) értékkel rendelkezik, emiatt jobban hasonlít a vékonybélhám sejtekhez [24]. A hasmenéses kutyák bélsárából izolált hemolitikus *E. coli* baktériumtörzsek bálhámsejtekhez tapadásának és azokba való bejutásának vizsgálatára is használhatók a Caco-2 sejtek [25]. Emellett kutyák hemorrágiás sokkjában a melatonin lokális hatásainak és a nyálkahártya barrierfunkciójának *in vitro* modellezésére is alkalmasak [26]. A HT-29 sejtvon-

**A Caco-2 sejtvonalat
humán vastagbél-
adenocarcinomból
állították elő**

nal szintén humán vastagbél-adenocarcinomából származik, érett bélhámsejt jellemzőkkel rendelkezik és polarizált egyrétegű tenyészeteket hoz létre [27]. Kefeszegélyasszociált hidralázts is termel, de kisebb mennyiségben, mint *in vivo* a bélhámsejtek. A HT-29 sejtek bélhámsejtekre jellemző abszorpciós tulajdonságuk mellett szekréciós aktivitást is mutatnak, mucinszerű váladékot képeznek [21]. A nyálkatermelésének köszönhetően olyan biohasznosulási és bakteriális bélrendszeri fertőzések immunfolyamatainak vizsgálatára is használják ezeket, amelyek befolyásolhatják a kiválasztódó nyálka tulajdonságait. Mucintermelésüket kihasználva Caco-2 sejtekkel ko-kultúrákban is alkalmazzák a HT-29 sejteket [28]. A HT-29 sejtvonalnak a tenyésztési körülmények módosításával kétféle szubklónja állítható elő. A HT 29-18C1 sejtvonal esetén az abszorptív, míg a HT 29-18N2 sejtvonalnál a szekréciós jellemzők dominálnak [29]. Kutya bélésárból izolált probiotikus törzsek tapadási vizsgálatai is elvégezhetők a HT-29 sejteken [30, 31].

ÁLLATI EREDETŰ SEJTVONALAK

A patkányvékonybélből származó IEC-6 és az IEC-18 sejtvonalak vékonybélhámsejt-jellemzőkkel bírnak

Kevés nem-transzformált vékonybélhám-sejtvonal érhető el [32], de pl. a patkányvékonybélből származó IEC-6 és az IEC-18 sejtvonalak tipikus vékonybélhámsejt-jellemzőkkel bírnak. Kefeszegélyeket és mikrovillusokat, valamint citokeratinokat, F-aktin filamentumokat sejtkapcsolófehérjék közül ZO1-t, dez-moplakint, mikrovillus fehérjék közül villint és ezrint képeznek, ill. a bazális membránra emlékeztető amorf anyagot termelnek. A sejtek nem alakítják ki a polarizált columnaris morfológiát teljesen, a sejtek között a TJ-kapcsolatok hiányoznak, és nem expresszálnak elegendő, vékonybélre jellemző diszacharidot és peptidet [29]. Alkalmazásukat leírták többek között koleszterinszintézis- és növekedési faktor vizsgálatokban [21]. Kutya vékonybél modellezésére nem használják ezeket, de a szintén rágcslóeredetű MODE-K sejteket kutya probiotikum-vizsgálataihoz már igénybe vették [33]. A MODE-K sejtvonal egérduodenum-eredetű simian vírus 40 (SV40) plazmiddal immortalizált és immunitás vizsgálatokra alkalmas [34]. A sertésbélhámsejt-eredetű sejtvonalak közül a felnőtt sertés ileumból az IPI-2I szintén SV40 plazmiddal transzformált. Emellett az újszülött malacból származók közül az ileum- és jejunumsejteket tartalmazó IPEC-J1 és a kizárólag jejunális sejtekből álló IPEC-J2 sejtvonalak különíthetők el [35]. A sejtvonalak apicalis felületén kialakulnak a mikrovillusok, ill. a sejtek közötti TJ kapcsolatok is. IPEC-J2 sejtek eredményesen alkalmazhatók az emlősállatok bélbeli folyamatainak modellezésére [36].

Az újszülött malacból származó IPEC-J1 ileum- és jejunumsejtekből, míg az IPEC-J2 kizárólag jejunumsejtekből álló sejtvonal

KUTYAEREDETŰ SEJTEK

A kutyaese-eredetű immortalizált MDCK sejtek elsősorban permeabilitási vizsgálatokra alkalmasak

A Caco-2 sejtvonal mellett a kutyaeredetű immortalizált MDCK sejtek is elsősorban permeabilitási vizsgálatokra alkalmasak [37]. Először Madin és Darby izolálta ezeket kutya veseszövetéből [38]. Veseszöveti eredete ellenére nem csak veseszövet modellezésére használható, hanem bélhámsejtmodellként is elterjedt alkalmazása. Sejtjei polarizált columnaris egyrétegű sejttenyészetet alkotnak kefeszegélyekkel, mikrovillusokkal és a sejtek között szoros sejtkapcsolatokkal [39]. Két szubklónja különíthető el a sejtek közötti kapcsolatok erőssége alapján. Az MDCK-I szorosabb sejtkapcsolatokkal és nagyobb TEER értékkel, míg az MDCK-II jobban áteresztő sejtréteggel, kisebb TEER értékkel rendelkezik. Az MDCK-II permeabilitása jobban hasonlít az egészséges bélhámsejtekéhez, mint a Caco-2 sejteké. Az MDCK sejtek további előnye a Caco-2 sejtekhez képest az, hogy tenyésztésük kevésbé időigényes, 3-5 nap alatt konfluens tenyészetet hoznak létre, ezért kevésbé hajlamosak a befertőződésre [39]. Az MDCK sejtek sem képesek nyálka termelésre, ennek kiküszöbölésére HT29-MTX sejtekkel tenyészthetők együtt, ezáltal jobban szimulálhatók az *in vivo* körülmények, és a sejttenyészetek integritása is növelhető [40].

A sejtvonalak mellett a csontvelőből származó mesenchymalis őssejtekből differenciált enterocytá-szerű sejtek is alkalmasak tápanyagvizsgálatokra [41, 42].

Primer kutyabélhám-sejttenyészet készíthető újszülött kutyák duodenum-hámsejtjeiből

A 3D organoidok lumennel is rendelkeznek és átmenetet jelentenek a hagyományos sejttenyészetek és az állatkísérletek között

Az organoidok segítségével jól modellezhetővé válnak a bélrendszeri kórokozók és a bélhámsejtek közötti kapcsolatok

Primer kutyabélhám-sejttenyészet készíthető újszülött kutyák duodenum-hámsejtjeiből [43]. A félig áteresztő membránon tenyésztett primer bélhámsejtekkel permeabilitás kísérletek is elvégezhetők [32]. A primer tenyészetekben a bélhámsejtek egy rétegben helyezkednek el és TJ-sejtkapcsolatokat formálnak. A primer vékonybél-sejttenyészeteket a kezdetekben 1 napig sikerült csak fenntartani [44], a sejttenyészetek fenntarthatósága a régebben elérhető 72 órától átlagosan két hétre növekedett [43, 45]. Fenntartható egyrétegű vékonybélhám-sejttenyészet létrehozható a primer bélhámsejtek SV40 T-antigénnel (T-Ag) történő immortalizációjával [46], de SV40 T-Ag hatására megváltozhatnak a fiziológias jelátviteli útvonalak [47].

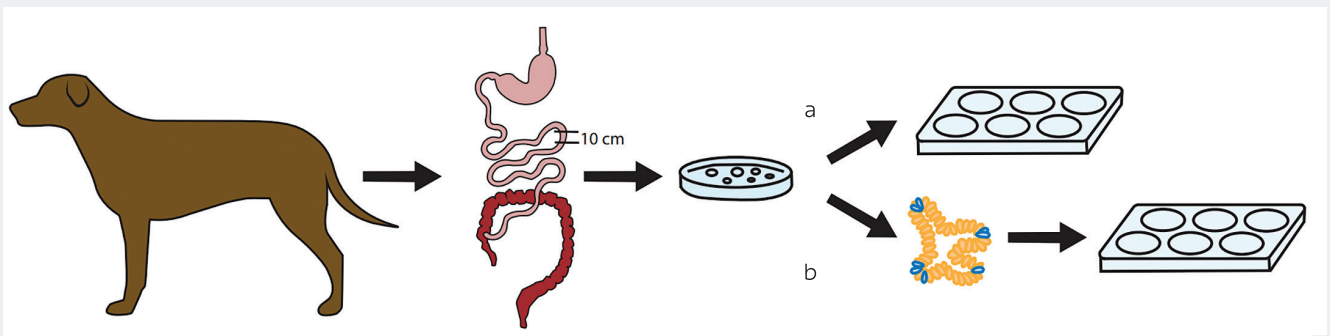
3D ORGANOIDOK

Manapság elterjedt *in vitro* bélrendszer modellek az organoidok, amelyek átmenetet jelentenek a hagyományos egyrétegű tenyészetek és az állatkísérletek között [48]. Az organoidok jobban tükrözik a bélrendszer élettani és molekuláris sajátosságait, mint a kétdimenziós tenyészetek. A sejttenyésztő edényeken ún. „mini belek” jönnek létre, amik bélrendszerhez hasonlóan lument formálnak [49]. A vékonybél organoidmodelljeit gyakran használják humán kutatási területeken, többek között az IBD, a béldaganatok és a bélrendszeri vírusos megbetegedések tanulmányozására [45]. A vékonybéltenyészetek mellett egérbélhámsejt-tenyészetek mintája alapján optimalizálták a humán vastagbéltenyészeteket is [50]. Az organoidok létrehozásához a sebészi kimetszést vagy biopsziás mintavételt követően intestinalis őssejtek (intestinal stem cell, ISC) izolálása szükséges. Az izolált vékonybélhám ISC-k Matrigélen, ill. 3D laminin és kollagéngazdag mátrixban tenyészthetők [51]. *In vitro* körülmények között a vékonybélmodellekben az *in vivo* folyamatokkal megegyező sejtmegegyezés lehetséges, a kriptákban Lgr5+ őssejtek, Paneth-sejtek és TA-sejtek figyelhetők meg, itt osztódnak és differenciálódnak a sejtek, amik nagyjából 5 nap után elvesztik a funkciójukat és leválnak az aljatról [52]. A humán tenyészetek elterjedése után különböző állatoknál is elkészültek az organoidok tenyésztéséhez szükséges protokollok. Lovak bélhámsejtjeiből kiinduló kultúrák [53] mellett madárenteroid-modellek is kidolgozásra kerültek [54]. A kutya ISC kultúrák jól utánozzák a vékonybélrendszer fiziológias felépítését és funkcióját. A tenyészetek kiindulási sejtjei nem csak egészséges szövetekből származhatnak, hanem IBD-s és daganatos bélbiopsziákban is. Ezáltal a kóreltani és a terápiás lehetőségek vizsgálata *in vitro* is lehetséges [55]. Az organoidok segítségével jól modellezhetővé válnak a bélrendszeri kórokozók és a bélhámsejtek közötti kapcsolatok [56], a különböző vírusos megbetegedések, mint pl. a kutyák parvo- és koronavírus-fertőzései [57].

Az organoidok *in vivo* bélrendszerhez hasonlító felépítése viszont megnehezíti a tápanyagtranszport- és gyógyszermechanizmusok vizsgálatát [58]. A lumen csak mikroinjektálással érhető el, ezért a tápanyagok, mikroorganizmusok, bioaktív és toxikus anyagok vizsgálata megkönnyíthető a háromdimenziós tenyészetek kétdimenziós egyrétegű tenyészeteké alakításával (3. ábra) [59]. Háromdimenziós organoidokból kialakított kétdimenziós tenyészetek létrehozásának protokollja elérhető többek között sertések, egerek és kutyák esetében is [37, 58–60].

MEGVITATÁS

Az *in vivo* vizsgálatok mellett az idült vékonybélbántalmak kórfolyamatainak és a gazdaszervezet-patogén interakciók sejtszintű vizsgálataihoz a kutyavékonybél-modellek alkalmazása elengedhetetlen [43]. Nehéz modellezni a bélrendszer dinamikus környezetét és az egyedi mikrobiótát. Nem létezik egyetlen tökéletes modell, amivel minden élettani és patológias folyamat jellemezhető, ezért a különböző módszerek kombinációja szükséges lehet [61]. A Caco-2 sejtek sokáig a legjobbnak bizonyultak a permeabilitás-kísérletekhez annak ellenére, hogy a tenyésztési



3. ÁBRA. Primer béleredetű egyrétegű sejtenyésztés létrehozása bélhámsejtekből (a) és organoidokból (b).

Eutanáziát követően/endoszkópos vizsgálat során bélszövet kinyerése, sejtek homogenizálása, a: sejtenyésztő lemezen bélhámsejtek elszaporítása, homogén tenyészetek alakulnak, b: matrigélen organoidok kialakulását követően újabb homogenizálás, belsejtek lerakása sejtenyésztő plate-re, ahol heterogén tenyészetek alakulnak ki

FIGURE 3. Creation of a primary intestinal monolayer cell culture from intestinal epithelial cells (a) and organoids (b). After euthanasia/endoscopic examination, intestinal tissue is harvested, cells are homogenised, a: intestinal epithelial cells are propagated on a cell culture plate, homogeneous cultures are formed, b: after formation of matrigelial organoids, further homogenisation, intestinal cells are deposited on a cell culture plate, heterogeneous cultures are formed

A kétdimenziós egyrétegű sejtenyészetek elég jól alkalmazhatók élettani folyamatok vizsgálatára

Az organoidok nélkülözhetetlenek az összetett krónikus betegségek, mint az IBD és a colorectalis daganatok modellezéséhez

idejük hosszú és nem termelnek nyálkát [40], de nagy pontosságú osztódással, hosszú sejtelképességgel és jól reprodukálható transzcelluláris folyamatokkal jellemezhetők [21]. Kutyák bélrendszerének modellezésére a Caco-2 sejtek helyett inkább a vesehámsejtekből álló MDCK sejtvonal alkalmazása terjedt el, de mivel nem vékonybél eredetű hámsejtekből áll, ezért ez sem a legmegfelelőbb a bélrendszer modellezésre [62]. Ennek ellenére humán területen a Caco-2 sejtek mellett permeabilitási vizsgálatokra is alkalmazzák. Hiányosságai ellenére a kétdimenziós egyrétegű sejtenyészetek elég jól alkalmazhatók élettani folyamatok vizsgálatára, de egyféle sejtípussal kevésbé jellemezhető a bélrendszer komplexitása. A TJ-k megváltozottan jelenhetnek meg, előfordulhat, hogy a sejtek nem teljesen differenciáltak és egyes receptorok is hiányozhatnak [37]. Ezeknek a hiányosságoknak a kiküszöbölésére törekednek az organoid és mikrofluid rendszerek [20]. Az organoidok nélkülözhetetlenek az összetett krónikus betegségek, mint az IBD és a colorectalis daganatok modellezéséhez [63], viszont változatos sejtfelépítésük hátrányt is jelenthet nehezebb standardizálásuk és fenntartásuk miatt [29].

A krónikus bélbántalmak az emberek jelentős részének rontják az életminőségét [64]. A kutyaorganoid-modellek eredményeiből a humángyógyászatban alkalmazható következtetések is levonhatók [63], mivel a kutya és az ember bélrendszerének anatómiája [37], életvitele, diétája és a mikrobiótájának összetétele hasonló [5]. A kutatások során kutyákon elvégzett kísérletek eredményei hozzájárulhatnak az emberek életminőségének javulásához is [17, 18]. A humán kutatási területeken nem csak kutyaorganoidokat alkalmaznak, hanem humán bélsejteredetű organoidokból kétdimenziós tenyészetekkel [65] és organoid-immunsejt ko-kultúrákkal is dolgoznak [66]. A nehezebben modellezhető betegségekhez, amikor a sejtek heterogenitása és mikrokörnyezete is fontos, „on chip” rendszereket hoznak létre [67, 68]. A bélrendszeri kutatáshoz választott *in vitro* modelleknek csak a képzelet, a ráfordítható idő és az anyagi háttér szabhat határt.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A TKP-32-1/PALY-2020 számú projekt a Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Alapból biztosított támogatással, a Tématerületi Kiválósági Program 2020 (2020-4.1.1-TKP2020) pályázati program finanszírozásában valósult meg.

Az RRF-2.3.1-21-2022-00001 számú projekt a Helyreállítási és Ellenállóképességi Eszköz és Nemzeti Helyreállítási Alapból nyújtott támogatásával, az RRF-2.3.1-21 pályázati program finanszírozásában valósult meg.

IRODALOM

- Suzuki T (2013) Regulation of Intestinal Epithelial Permeability by Tight Junctions. *Cell Mol Life Sci CMLS* 70:631–659 <https://doi.org/10.1007/s00018-012-1070-x>
- Natividad JMM, Verdu EF (2013) Modulation of Intestinal Barrier by Intestinal Microbiota: Pathological and Therapeutic Implications. *Pharmacol Res* 69:42–51 <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2012.10.007>
- Grzeškowiak Ł, Endo A, Beasley S, Salminen S (2015) Microbiota and Probiotics in Canine and Feline Welfare. *Anaerobe* 34:14–23 <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2015.04.002>
- Suchodolski JS, Markel M.E, Garcia-Mazcorro JF, Unterer S, Heilmann RM, Dowd SE, Kachroo P, Ivanov I, Minamoto Y, Dillman EM, Steiner JM, Cook AK, Toresson L (2012) The Fecal Microbiome in Dogs with Acute Diarrhea and Idiopathic Inflammatory Bowel Disease. *PLoS One* 7:e51907 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051907>
- Coelho, LP, Kultima JR, Costea PI, Fournier C, Pan Y, Czarnecki-Maulden G, Hayward MR, Forslund SK, Schmidt TSB, Descombes P, Jackson JR, Li Q, Bork P (2018) Similarity of the Dog and Human Gut Microbiomes in Gene Content and Response to Diet. *Microbiome* 6:72 <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0450-3>
- Minamoto Y, Otoni CC, Steelman SM, Büyükleblebici O, Steiner JM, Jergens AE, Suchodolski JS (2015) Alteration of the Fecal Microbiota and Serum Metabolite Profiles in Dogs with Idiopathic Inflammatory Bowel Disease. *Gut Microbes* 6:33–47 <https://doi.org/10.1080/19490976.2014.997612>
- Hernandez J, Rhimi S, Kriaa A, Mariaule V, Boudaya H, Drut A, Jablaoui A, Mkaouar H, Saidi A, Biourge V, Borgi MA, Rhimi M, Maguin E (2022) Domestic Environment and Gut Microbiota: Lessons from Pet Dogs. *Microorganisms* 10:949 <https://doi.org/10.3390/microorganisms10050949>
- Sommer F, Bäckhed F (2013) The Gut Microbiota—Masters of Host Development and Physiology. *Nat Rev Microbiol* 11:227–238 <https://doi.org/10.1038/nrmicro2974>
- Rowland I, Gibson G, Heinken A, Scott K, Swann J, Thiele I, Tuohy K (2018) Gut Microbiota Functions: Metabolism of Nutrients and Other Food Components. *Eur J Nutr* 57:1–24 <https://doi.org/10.1007/s00394-017-1445-8>
- Viggiano D, Ianiro G, Vanella G, Bibbò S, Bruno G, Simeone G, Mele G (2015) Gut Barrier in Health and Disease: Focus on Childhood. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 19:1077–1085
- Dandrieux JRS, Mansfield CS (2019) Chronic Enteropathy In Canines: Prevalence, Impact And Management Strategies. *Vet Med Res Rep* 10:203–214 <https://doi.org/10.2147/VMRR.S162774>
- Cerquetella M, Rossi G, Suchodolski JS, Schmitz SS, Allenspach K, Rodríguez-Franco F, Furlanello T, Gavazza A, Marchegiani A, Unterer S, Burgener IA, Pengo G, Jergens AE (2020) Proposal for Rational Antibacterial Use in the Diagnosis and Treatment of Dogs with Chronic Diarrhoea. *J Small Anim Pract* 61:211–215 <https://doi.org/10.1111/jsap.13122>
- Simpson, KW, Jergens AE (2011) Pitfalls and Progress in the Diagnosis and Management of Canine Inflammatory Bowel Disease. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 41:381–398 <https://doi.org/10.1016/j.cvs.2011.02.003>
- Vörös K, Bende B, Dudás GyZ, Falus F, Gaál T, Hetey Cs, Jerzsele Á, Kungl K, Magdus M, Manczur F et al. (2019) Állatorvosi Belgyógyászat: A Kuttyák És a Macskák Betegségei. *Kamarai Állatorv Magyar Állatorvosi Kamara Szakmai És Inf Folyóirata* 14:108–116
- Berlanda M, Innocente G, Simionati B, Di Camillo B, Facchin S, Giron MC, Savarino E, Sebastiani F, Fiorio F, Patuzzi I (2021) Faecal Microbiome Transplantation as a Solution to Chronic Enteropathies in Dogs: A Case Study of Beneficial Microbial Evolution. *Animals* 11:1433 <https://doi.org/10.3390/ani11051433>
- White R, Atherly, T, Guard, B, Rossi, G, Wang, C, Mosher, C, Webb, C, Hill, S, Ackermann, M, Sciabarra P, Allenspach K, Suchodolski J, Jergens AE (2017) Randomized, Controlled Trial Evaluating the Effect of Multi-Strain Probiotic on the Mucosal Microbiota in Canine Idiopathic Inflammatory Bowel Disease. *Gut Microbes* 8:451–466 <https://doi.org/10.1080/19490976.2017.1334754>
- Alessandri G, Milani C, Mancabelli L, Mangifesta M, Lugli GA, Viappiani A, Duranti S, Turroni F, Ossiprandi MC, van Sinderen D, Ventura M (2019) Metagenomic Dissection of the Canine Gut Microbiota: Insights into Taxonomic, Metabolic and Nutritional Features. *Environ Microbiol* 21:1331–1343 <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14540>
- Lyu T, Liu G, Zhang H, Wang L, Zhou S, Dou H, Pang B, Sha W, Zhang H (2018) Changes in Feeding Habits Promoted the Differentiation of the Composition and Function of Gut Microbiotas between Domestic Dogs (*Canis Lupus Familiaris*) and Gray Wolves (*Canis Lupus*). *AMB Express* 8:123 <https://doi.org/10.1186/s13568-018-0652-x>
- Russel WMS, Burch RL (1960) The Principles of Humane Experimental Technique. *Med J Aust* 1:500 <https://doi.org/10.5694/j.1326-5377.1960.tb73127.x>
- Franco YL, Da Silva L, Cristofaletti R (2021) Navigating Through Cell-Based In Vitro Models Available for Prediction of Intestinal Permeability and Metabolism: Are We Ready for 3D? *AAPS J* 24:2 <https://doi.org/10.1208/s12248-021-00665-y>
- Fedi A, Vitale C, Ponschin G, Ayehunie S, Fato M, Scaglione S (2021) In Vitro Models Replicating the Human Intestinal Epithelium for Absorption and Metabolism Studies: A Systematic Review. *J Controlled Release* 335:247–268 <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2021.05.028>
- Fogh J, Fogh JM, Orfeo T (1977) One Hundred and Twenty-Seven Cultured Human Tumor Cell Lines Producing Tumors in Nude Mice. *J Natl Cancer Inst* 59:221–226 <https://doi.org/10.1093/jnci/59.1.221>
- Lea T (2015) Caco-2 Cell Line. In: The Impact of Food Bioactives on Health: in vitro and ex vivo models. Verhoeckx K, Cotter P, López-Expósito I, Kleiveland C, Lea T, Mackie A, Requena T, Swiatecka D, Wichers H Eds, Springer International Publishing, Cham, pp 103–111 ISBN 978-3-319-16104-4
- Ferrec EL, Fardel O (2012) Applications Using Caco-2 and TC7 Cells for Drug Metabolism Studies. In: Encyclopedia of Drug Metabolism and Interactions. John Wiley & Sons, Ltd, pp 1–16 ISBN 978-0-470-92192-0
- Starčić M, Johnson JR, Stell AL, van der Goot J, Hendriks HGCM, van Vorstenbosch C, van Dijk L, Gaastra W (2002) Haemolytic *Escherichia Coli* Isolated from Dogs with Diarrhea Have Characteristics of Both Uropathogenic and Necrotoxicogenic Strains. *Vet Microbiol* 85:361–377 [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(02\)00003-2](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(02)00003-2)

26. Truse R, Nolten I, Schulz J, Herminghaus A, Holtmanns T, Gördes L, Raupach A, Bauer I, Picker O, Vollmer C (2020) Topical Melatonin Improves Gastric Microcirculatory Oxygenation During Hemorrhagic Shock in Dogs but Does Not Alter Barrier Integrity of Caco-2 Monolayers. *Front Med* 7:510
27. Fogh J, Trempe G (1975) New Human Tumor Cell Lines. In: *Human Tumor Cells in Vitro*. Fogh J Ed, Springer US: Boston, MA, pp 115–159 ISBN 978-1-4757-1647-4
28. Martínez-Maqueda D, Miralles B, Recio I (2015) HT29 Cell Line. In: *The Impact of Food Bioactives on Health: in vitro and ex vivo models*. Verhoecx K, Cotter P, López-Expósito I, Kleiveland C, Lea T, Mackie A, Requena T, Swiatecka D, Wichers H Eds, Springer: Cham (CH) ISBN 978-3-319-15791-7
29. Sambuy Y, Ferruzza S, Ranaldi G, Angelis I (2001) Intestinal Cell Culture Models: Applications in Toxicology and Pharmacology. *Cell Biol Toxicol* 17:301–317 <https://doi.org/10.1023/A:1012533316609>
30. Jang H-J, Son S, Kim J-A, Jung MY, Choi Y-J, Kim D-H, Lee HK, Shin D, Kim Y (2021) Characterization and Functional Test of Canine Probiotics. *Front Microbiol* 12:625562 <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.625562>
31. Kainulainen V, Tang Y, Spillmann T, Kilpinen S, Reunanen J, Saris PE, Satokari R (2015) The Canine Isolate *Lactobacillus Acidophilus* LAB20 Adheres to Intestinal Epithelium and Attenuates LPS-Induced IL-8 Secretion of Enterocytes in Vitro. *BMC Microbiol* 15:4 <https://doi.org/10.1186/s12866-014-0337-9>
32. Weng X-H, Beyenbach KW, Quaroni A (2005) Cultured Monolayers of the Dog Jejunum with the Structural and Functional Properties Resembling the Normal Epithelium. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol* 288:G705–717 <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00518.2003>
33. Raheem A, Wang M, Zhang J, Liang L, Liang R, Yin Y, Zhu Y, Yang W, Wang L, Lv X, Jia Y, Qin T, Zhang G (2022) The Probiotic Potential of *Lactobacillus Plantarum* Strain RW1 Isolated from Canine Faeces. *J Appl Microbiol* 132:2306–2322 <https://doi.org/10.1111/jam.15341>
34. Vidal K, Grosjean I, Revillard J-P, Gespach C, Kaiserlian D (1993) Immortalization of Mouse Intestinal Epithelial Cells by the SV40-Large T Gene: Phenotypic and Immune Characterization of the MODE-K Cell Line. *J Immunol Methods* 166:63–73 [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(93\)90329-6](https://doi.org/10.1016/0022-1759(93)90329-6)
35. Gonzalez-Vallina R, Wang H, Zhan R, Berschneider HM, Lee RM, Davidson NO, Black DD (1996) Lipoprotein and Apolipoprotein Secretion by a Newborn Piglet Intestinal Cell Line (IPEC-1). *Am J Physiol.-Gastrointest Liver Physiol* 271:G249–G259 <https://doi.org/10.1152/ajpgi.1996.271.2.G249>
36. Brosnahan, AJ, Brown DR (2012) Porcine IPEC-J2 Intestinal Epithelial Cells in Microbiological Investigations. *Vet Microbiol* 156:229–237 <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.10.017>
37. Gabriel V, Zdyski C, Sahoo DK, Dao K, Bourgois-Mochel A, Atherly T, Martinez, MN, Volpe DA, Kopper J, Allenspach, K, Mochel J (2022) Canine Intestinal Organoids in a Dual-Chamber Permeable Support System. *JoVE J Vis Exp* e63612, <https://doi.org/10.3791/63612>
38. Sarmiento B, Andrade F, da Silva SB, Rodrigues F, das Neves J, Ferreira D (2012) Cell-Based in Vitro Models for Predicting Drug Permeability. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 8:607–621 <https://doi.org/10.1517/17425255.2012.673586>
39. Le Ferrec E, Chesne C, Artusson P, Brayden D, Fabre G, Gires P, Guillou F, Rousset M, Rubas W, Scarino M-L (2001) In Vitro Models of the Intestinal Barrier: The Report and Recommendations of ECVAM Workshop 461,2. *Altern. Lab. Anim.* 29:649–668 <https://doi.org/10.1177/026119290102900604>
40. Vo DS (2022) Co-Culture of MDCK Cells and HT29-MTX Cells to Mimic the Intestinal Epithelium
41. Choi K, Ortega MT, Jeffery B, Riviere JE, Monteiro-Riviere NA (2016) Oxidative Stress Response in Canine in Vitro Liver, Kidney and Intestinal Models with Seven Potential Dietary Ingredients. *Toxicol Lett* 241:49–59 <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2015.11.012>
42. Ortega MT, Jeffery B, Riviere JE, Monteiro-Riviere NA (2016) Toxicological Effects of Pet Food Ingredients on Canine Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells and Enterocyte-like Cells. *J Appl Toxicol* 36:189–198 <https://doi.org/10.1002/jat.3158>
43. Golaz JL, Vonlaufen N, Hemphill A, Burgener IA (2007) Establishment and Characterization of a Primary Canine Duodenal Epithelial Cell Culture. *Vitro Cell Dev Biol Anim* 43:176–185 <https://doi.org/10.1007/s11626-007-9034-4>
44. Browning TH, Trier JS (1969) Organ Culture of Mucosal Biopsies of Human Small Intestine. *J Clin Invest* 48:1423–1432
45. Kramer N, Pratscher B, Meneses AMC, Tschulenk W, Walter I, Swoboda A, Krutwagen HS, Schneeberger K, Penning LC, Spee B, Kieslinger M, Brandt S, Burgener I (2020) Generation of Differentiating and Long-Living Intestinal Organoids Reflecting the Cellular Diversity of Canine Intestine. *Cells* 9:822 <https://doi.org/10.3390/cells9040822>
46. Quaroni A, Beaulieu J (1997) Cell Dynamics and Differentiation of Conditionally Immortalized Human Intestinal Epithelial Cells. *Gastroenterology* 113:1198–1213 <https://doi.org/10.1053/gast.1997.v113.pm9322515>
47. Farquhar MJ, McCluskey E, Staunton R, Hughes KR, Coltherd JC (2018) Characterisation of a Canine Epithelial Cell Line for Modelling the Intestinal Barrier. *Altern Lab Anim ATLA* 46:115–132 <https://doi.org/10.1177/026119291804600304>
48. Costa J, Ahluwalia A (2019) Advances and Current Challenges in Intestinal in Vitro Model Engineering: A Digest. *Front Bioeng Biotechnol* 7:144
49. Joseph, JS, Malindisa ST, Ntwasa M (2018) Two-Dimensional (2D) and Three-Dimensional (3D) Cell Culturing in Drug Discovery. *IntechOpen* ISBN 978-1-78984-867-0
50. Sato T, Stange DE, Ferrante M, Vries RGJ, Van Es JH, Van den Brink S, Van Houdt WJ, Pronk A, Van Gorp J, Siersema PD, Clevers H (2011) Long-Term Expansion of Epithelial Organoids From Human Colon, Adenoma, Adenocarcinoma, and Barrett's Epithelium. *Gastroenterology* 141:1762–1772 <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2011.07.050>
51. Sato T, Clevers H (2013) Growing Self-Organizing Mini-Guts from a Single Intestinal Stem Cell: Mechanism and Applications. *Science* 340:1190–1194 <https://doi.org/10.1126/science.1234852>
52. Clevers H (2013) The Intestinal Crypt, a Prototype Stem Cell Compartment. *Cell* 154: 274–284 <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.07.004>
53. Stewart AS, Freund JM, Gonzalez LM (2018) Advanced Three-Dimensional Culture of Equine Intestinal Epithelial Stem Cells. *Equine Vet J* 50:241–248 <https://doi.org/10.1111/evj.12734>
54. Acharya M, Arsi K, Donoghue AM, Liyanage R, Rath NC (2020) Production and Characterization of Avian Crypt-Villus Enteroids and the Effect of Chemicals. *BMC Vet. Res.* 16:179 <https://doi.org/10.1186/s12917-020-02397-1>
55. Chandra L, Borchering DC, Kingsbury D, Atherly T, Ambrosini YM, Bourgois-Mochel A, Yuan W, Kimber M, Qi Y, Wang Q, Wannenmuehler M, Ellinwood NM, Snella E, Martin M, Skala M, Meyerholz D, Estes M, Fernandez-Zapico ME, Jergens AE, Mochel JP, Allenspach K (2019) Derivation of Adult Canine Intestinal Organoids for Translational Research in Gastroenterology. *BMC Biol* 17:33 <https://doi.org/10.1186/s12915-019-0652-6>
56. Zachos NC, Kovbasnjuk O, Foulke-Abel J, In J, Blatt SE, de Jonge

- HR, Estes MK, Donowitz M (2016) Human Enteroids/Colonoids and Intestinal Organoids Functionally Recapitulate Normal Intestinal Physiology and Pathophysiology. *J Biol Chem* 291:3759–3766 <https://doi.org/10.1074/jbc.R114.635995>
57. Meneses AMC, Schneeberger K, Kruitwagen HS, Penning LC, van Steenbeek FG, Burgener IA, Spee B (2016) Intestinal Organoids—Current and Future Applications. *Vet Sci* 3:E31 <https://doi.org/10.3390/vetsci3040031>
58. Ambrosini YM, Park Y, Jergens AE, Shin W, Min S, Atherly T, Borcharding DC, Jang J, Allenspach K, Mochel JP, Kim HJ (2020) Recapitulation of the Accessible Interface of Biopsy-Derived Canine Intestinal Organoids to Study Epithelial-Luminal Interactions. *PLoS ONE* 15:e0231423 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0231423>
59. van der Hee B, Loonen LMP, Taverne N, Taverne-Thiele JJ, Smidt H, Wells JM (2018) Optimized Procedures for Generating an Enhanced, near Physiological 2D Culture System from Porcine Intestinal Organoids. *Stem Cell Res* 28:165–171 <https://doi.org/10.1016/j.scr.2018.02.013>
60. Altay G, Larrañaga E, Tosi S, Barriga FM, Batlle E, Fernández-Majada V, Martínez E (2019) Self-Organized Intestinal Epithelial Monolayers in Crypt and Villus-like Domains Show Effective Barrier Function. *Sci Rep* 9:10140 <https://doi.org/10.1038/s41598-019-46497-x>
61. Nash T, Vervelde L (2022) Advances, Challenges and Future Applications of Avian Intestinal *In Vitro* Models. *Avian Pathol* 51:317–329 <https://doi.org/10.1080/03079457.2022.2084363>
62. Gartzke D, Fricker G (2014) Establishment of Optimized MDCK Cell Lines for Reliable Efflux Transport Studies. *J Pharm Sci* 103:1298–1304 <https://doi.org/10.1002/jps.23901>
63. Schneider B, Balbas-Martinez V, Jergens AE, Troconiz IF, Allenspach K, Mochel JP (2018) Model-Based Reverse Translation Between Veterinary and Human Medicine: The One Health Initiative. *CPT Pharmacomet Syst Pharmacol* 7:65–68 <https://doi.org/10.1002/psp4.12262>
64. Kopper JJ, Iennarella-Servantez C, Jergens AE, Sahoo DK, Guillot E, Bourgois-Mochel A, Martinez MN, Allenspach K, Mochel JP (2021) Harnessing the Biology of Canine Intestinal Organoids to Heighten Understanding of Inflammatory Bowel Disease Pathogenesis and Accelerate Drug Discovery: A One Health Approach. *Front Toxicol* 3:773953 <https://doi.org/10.3389/ftox.2021.773953>
65. Haynes J, Palaniappan B, Tsopmegha E, Sundaram U (2022) Regulation of Nutrient and Electrolyte Absorption in Human Organoid-Derived Intestinal Epithelial Cell Monolayers. *Transl Res* 248:22–35 <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2022.04.008>
66. Noel G, Baetz NW, Staab JF, Donowitz M, Kovbasnjuk O, Pasetti MF, Zachos NC (2017) A Primary Human Macrophage-Enteroid Co-Culture Model to Investigate Mucosal Gut Physiology and Host-Pathogen Interactions. *Sci Rep* 7:45270 <https://doi.org/10.1038/srep45270>
67. Kasendra M, Luc R, Yin J, Manatakis DV, Kulkarni G, Lucchesi C, Sliz J, Apostolou A, Sunuwar L, Obrugewitch J, Jang K-J, Hamilton GA, Donowitz M, Karalis K (2020) Duodenum Intestine-Chip for Preclinical Drug Assessment in a Human Relevant Model. *eLife* 9:e50135 <https://doi.org/10.7554/eLife.50135>
68. Shin W, Kim HJ (2018) Intestinal Barrier Dysfunction Orchestrates the Onset of Inflammatory Host-Microbiome Cross-Talk in a Human Gut Inflammation-on-a-Chip. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 115:E10539–E10547 <https://doi.org/10.1073/pnas.1810819115>

Közlésre ér.: 2022. dec. 20.