

Hangi deney-hangi model? Sepsis-peritonit

Prof Dr Fatih Ağalar

- Peritonit ve sepsis alanında hiç bir deneysel model kliniği tam olarak yansıtmaz.
- İdeal model basit, tekrarlanabilir ve kliniğe uygulanabilir olmalıdır.
- Sepsis ve peritonit modellerinin pek çoğunda kardiyopulmoner ve metabolik olaylar insanda görüldüğünden çok farklıdır.

İdeal deneysel sepsis modeli

- Lokalize bir infeksiyona bağlı yavaş gelişen bir sistemik cevap olmalı,
- Uzun süre devam etmeli,
- Çoklu organ yetmezliği gelişmeli,
- Anestezi almamış hayvanda gerçekleştirilmeli !

Hangi deney - hangi model?

- Değişik hayvan modelleri
- Türe bağlı sepsis fizyopatolojisi,
- Modelde oluşan cevaplar,
- İnsandaki cevaplar,
- Model tiplerinin özelliklerine ilişkin örnekler
- Uygun bakteri türleri

Tür-1

Küçük memeli hayvanlar

- Ucuzdurlar,
- Genetik özellikleri benzerdir.
- Spesifik patojen barındırmayabilirler.
- Survival bu modelin en önemli parametresidir.

Tür-2

Büyük memeli hayvanlar

- İnvazif monitörizasyon gerektiren fizyoloji çalışmalarında kullanılırlar.
- Domuz kardiyovasküler, renal ve GIS açısından insana benzerlik gösterir.
- Koyun, pulmoner yatak, lenfatik ve vasküler yatak çalışmaları için uygundur.
- Kedi ve köpeklerin deneylerde kullanılmaları zorlaşmıştır.
- Habeş maymunları sitokin bakımından insana en benzer canlıdır

Brigham Circ Res, 1979

Avila Surgery, 1985

Endotoksine cevap

Türler hatta aynı türün bireyleri arasında farklı olabilir.

- Yaş,
- Cinsiyet,
- Maturite,
- Östrojen durumu (premenstrüel devre),
- Kilo,
- Diyet (etle beslenenler, maternal süt)

İmmünosupresif model

- İmmüno inflamatuvar yolda konjenital ya da akkiz defektler
 - sitokinlerde,
 - bir hücre dizininde,
 - tüm immün sistemde olabilir

Bu tür model psödomonas sepsisi için idealdir.

Sepsisin patofizyolojisinin daha iyi anlaşılmasını sağlar

Collins J Infect Dis, 1989

Transgenic model

- Spesifik gende kopmalar- gen ürününde değişmelere yol açar.
- Embriyoda stem cell de spesifik gen yok edilir.
- Bu hayvanlar tekrar eşleştirilir.
- Homozigot gen defektli nesil elde edilir
- Sitokin çalışmaları için ideal modeldir.
- Diğer genlerdeki kompensatris değişmeler dezavantajıdır.

Bronson J, *J Biol Chem*, 1994

Sepsis-peritonitte hayvan modelleri

- Endotoksikosis,
- Fekal inoküla,
- Pooled fekal inoküla,
- Kültüre edilen pür bakteri-İP
- Kültüre edilen pür bakteri- IV infusion
- Bakteri- fibrin pıhtısı,
- Bakteri- jelatin kapsül,
- Bakteri- steril feçes,
- İzole avasküler ince barsak anısı,
- ÇLP.

Endotoksikozis modelleri

En basit sepsis modeli olduğu için araştırmacının tercih ettiği bir modeldir.

- LPS saf olarak elde edilir.
- Liyofilize halde uzun süre saklanabilir.
- Tartılabilir miktarı kolay ayarlanır.
- IV verilir.
- Dose bağımlı cevap vardır,
- Tekrar edilebilir özelliktedir.
- Kronik gidişli sepsis için uygun değildir.

Species differences in Kupffer cells and endotoxin sensitivity.

Infect Immun, 1984

- ***Endotoxin rezistan:***

- Habeş maymunları

- ***Endotoxin hassas:***

- Koyun,

- Şempanze

- Tavşan

Sepsis çalışmalarının çoğunda akut endotoxin zehirlenmesi dozu sözkonusudur.

Fizyopatolojik cevap- endotoxin

Küçük memleli hayvanlarda

IV yüksek doz;

- KVS kollapsa, vazodilatasyon ve erken ölüme neden olur.

IV düşük doz;

- Kardiyak outputta erken dönemde artma görülür.

Wyler F et al. *Am J Physiol*, 1970

Fink MP et al. *Circ Shock*, 1985

Fizyopatolojik cevap- endotoxin

Büyük memeli hayvanlarda;

- İnsanlarda görülen sepsise benzer bifazik bir tablo oluşur.
- Endotoksin infüzyon modelinde uzamış hiperdinamik cevap vardır.

Sugi K et al. *Am J Physiol*, 1991

Traber d et al. *Am J Physiol*, 1988

Characterization of an endotoxemic Baboon model of metabolic and organ dysfunction.

Lyndey DJ et al. *Circ Shock*, 1991

- Kronik LPS infüzyonu modelidir.
- IV yol ile uzun süre ve düşük dozda LPS verilir.
- Bu model subklinik koagülopati ve geç dönemde ortaya çıkan MOF ile ilgili araştırmalar için uygundur.

Continuous infusion of endotoxin from an osmotic pump in the conscious, unrestraint rat.

Spitzer JA et al. *Circ Shock*, 1984

Osmotik minipompa yöntemi ile LPS salınımı oluşturulur.

- Denekler anestezi etkisinde değildir,
- İştahsızlık,
- BK'de artma,
- Laktat düzeyinde artma,
- Miyokard perfüzyonunda bozulmalar olur.

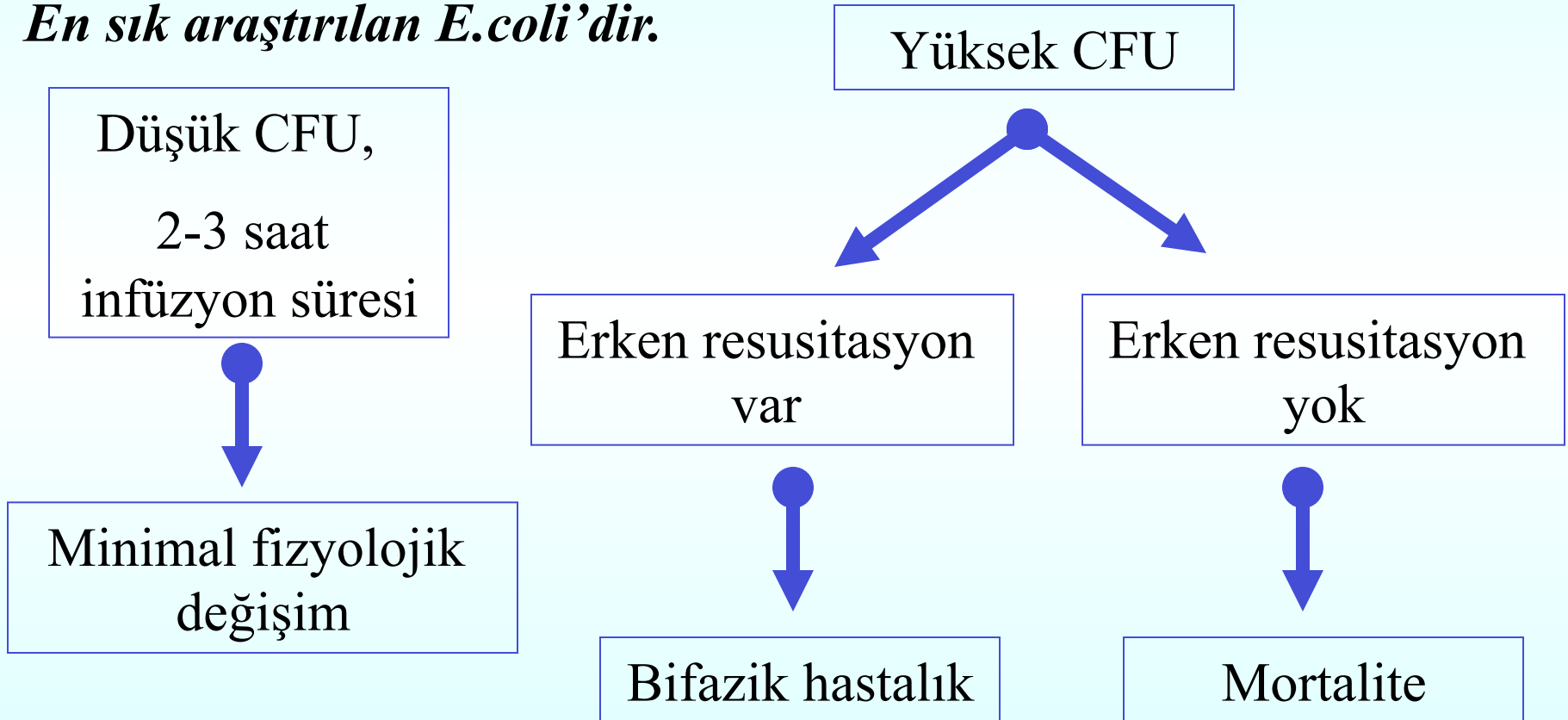
Klinikte endotoksin

- Sepsis hastalarının %75'inde kanda saptanabilir.
- Bulunan en yüksek değer 2×10^{-7} gr/lt'dir.
- Deneysel gr- sepsis modellerinde ancak 10^{-5} gr/lt' de septik şok oluşturulabilir.

Redl H, *J Infect Dis*,1991

IV bakteri infüzyon modelleri

En sık araştırılan E.coli'dir.



Sato T et al *Adv Shock Res*, 1982

IV bakteri infüzyon modelleri

Geliştirilme amacı:

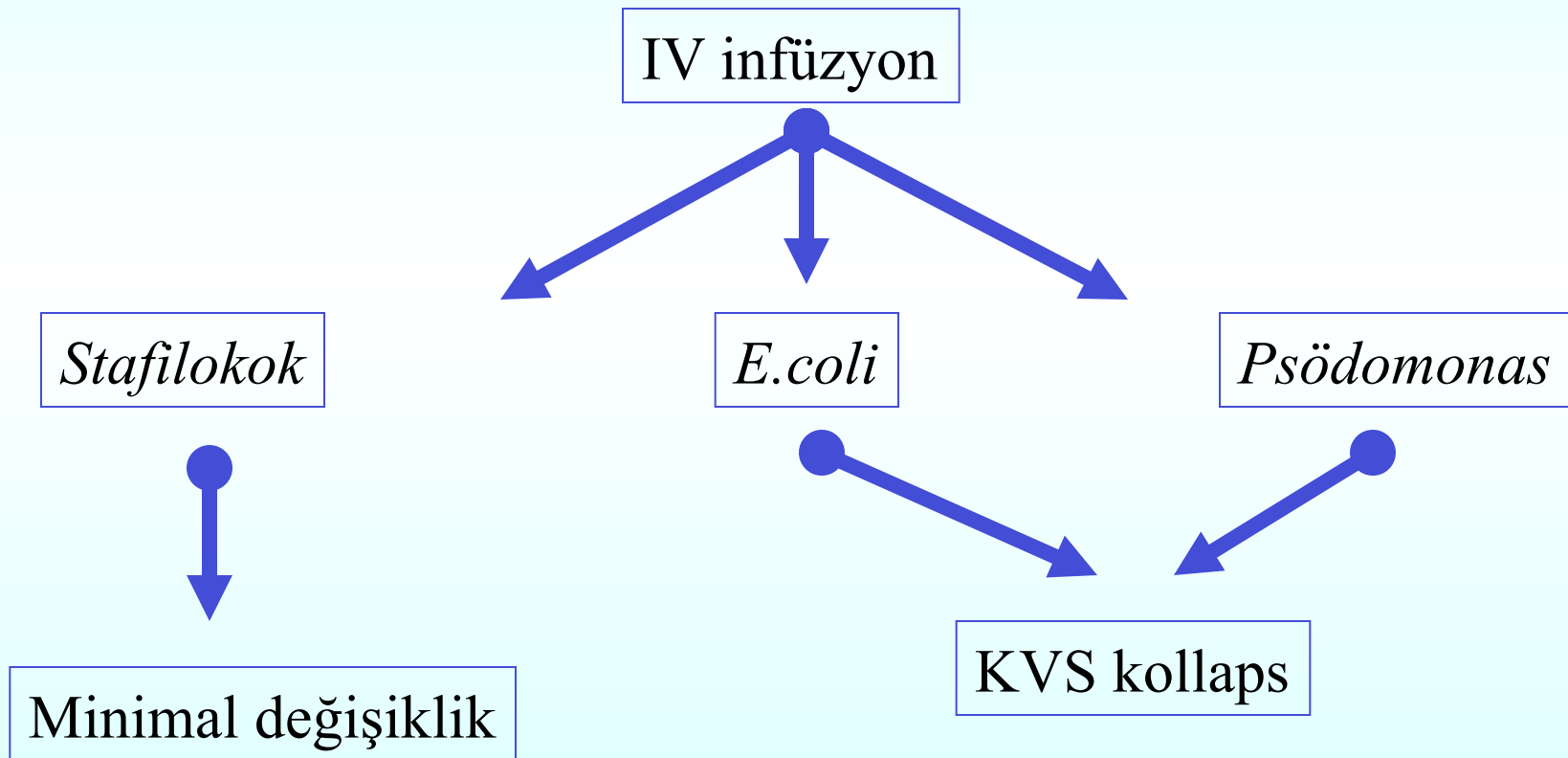
- Klinikte bakteriyemi tedavileri ile ilgili gelişmeler sağlamak için dizayn edilmiştir.

Dezavantajı:

- Klinik uyarlanımda sıkıntı vardır.
- IV verilen bakteriler deneklerde kolonizasyona yol açmamaktadırlar.

Comparison of live bacteria infusions in acute respiratory failure

Dehring DJ, et al. *J Surg Res*, 1983



Antimicrobial therapy of Experimental Intraabdominal Sepsis.

Weinstein W, Onderdonk A, Barlett C, Gorbach S.
J Infect Dis; 1975

Pooled fecal inocula + jelatin kapsül

Tedavi	Mortalite	Abse
--------	-----------	------

Tedavi yok	% 37	% 100
Gentamisin	% 4	% 98 [#]
Klindamisin	% 35	% 5 [*]
Kln+Genta	% 9	% 6

* koliformlar septik şoktan,

anaeroblar abseden sorumlu tutulmuştur.

Peritonit modelleri -1

İzole loop

İleal bir segment avasküler bir hale getirilir.

- Perforasyon ve peritonit başlangıcı değişkendir.
- Mikrobiyal flora değişkendir.

Schildt B, Acta chir Scand, 1966

ÇLP

kolonik içerik proksimale doğru sıvazlandıktan sonra çekum ileçekal seviyeden biraz yukarıda bağlanır. 18 -23 G iğne ile iki kez delinir

- İlk olarak ratlara uygulanmıştır.
- Resusitasyonla mortalite azalır
- Kliniğe uyarlanıma daha uygundur.
- Çok sayıda denek gerektirir.

Chaudry I, J Surg Res, 1980

Peritonit modelleri -2

Pooled fecal inocula

10 ratın gaitası homojenize edilir, pepton-yeast-glucose besi yerine ekilir, -70 C' ta saklanır. 0.5-1 ml yeterli dozdur.

- Mikrobiyolojik içerik;
 - aynı türden farklı hayvanlarda bile farklıdır,
 - hayvanlar kendi fekal floralarına tolerandır.
- Resüsite edilmeyen deneklerde standart mortalite ve hiperdinamik sepsis kliniği oluşur.
- Bakteriyolojik standardizasyon zordur.
- Çok sayıda denek gerektirir.

Lang GH, *J Surg Res*,1983

Peritonit- abse modellerinde adjuvan maddeler

- Steril rat feçesi
- BaSO₄
- Fibrin
- Safra
- Otolog hemoglobin
- Eldiven pudrası
- Nişasta

Peritonit modelleri -3

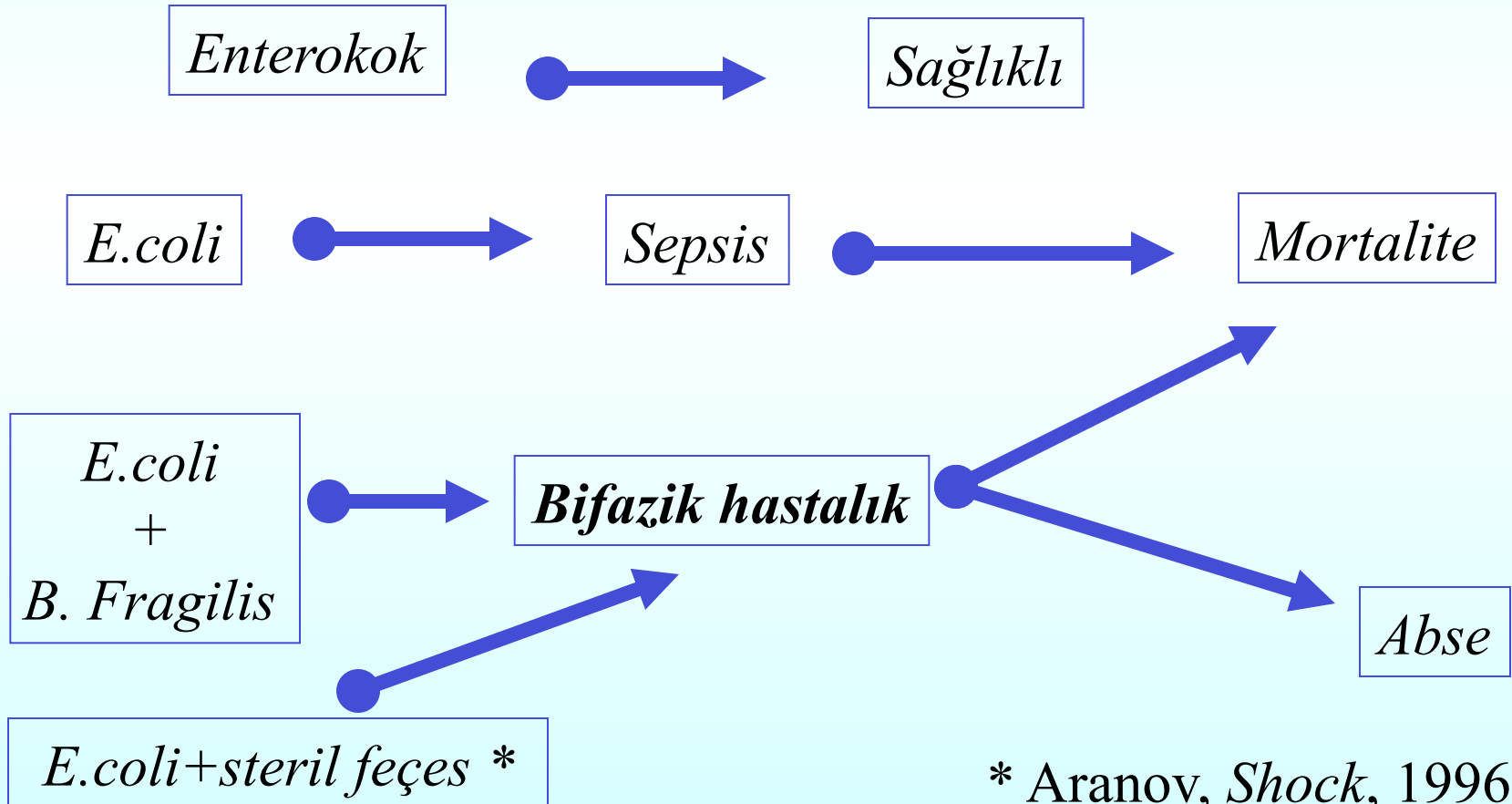
Bakteriyel Kültür Peritonit modeli

- Sayısı belli (CFU gr/ml), kontrollü, aynı büyüme fazındaki bakterinin verilebilmesi,
- Verilen bakteri türünün kesinliği,
- Birden fazla bakterinin beraber verilebilmesi avantajlarıdır.

Browne MK, *Br J Surg*, 1979

Peritonit modelleri -4

Bakteriyel Kültür peritonit modeli



* Aranov, Shock, 1996

**An improved clinically sepsis model
in the conscious rat**
Mathiak G et al. *Crit Care Med*, 2000

Bakteriyel kültür-fibrin pıhtısı

- $LD_{50}=5-7 \times 10^8$ cfu/ml E.coli
- Total periferel rezistansta düşme
- Stroke volümde artma
- Kalp hızı etkilenmez
- Ortalama arter basıncı etkilenmez
- Doz bağımlı trombositopeni, lökopeni
- TNF-alpha hafif yükselir
- Mortalite %50

Sepsis- *E. coli* - LD₅₀

- İnokülasyon dozu 0.5 log₁₀'a göre her grupta artırılır
10⁷ cfu/ml, 5x 10⁷ cfu/ml, 10⁸ cfu/ml, 5x10⁸cfu/ml. . .
- 48 saatlik mortalite oranları gözlenir.
- Deneklerin yarısını öldüren dozdur.
- Adjuvan materyaller için ayrıca LD₅₀ belirlenmelidir.
LD₅₀'nin 1 log altı = survival %100
LD₅₀'nin 1 log üstü = mortalite %100

Peritonit- sepsis modelleri

Model	Klinik uyarlanım
Standardizasyon	

ÇLP#	çok iyi	çok zor
Pür fekal inok	iyi	zor
Pooled inok #	iyi	çok zor
Bakt kül per	orta*	kolay
Bakt kül per+fibrin	iyi*	kolay
Bakt infuz modeli	kötü	kolay
LPS	kötü*	kolay

* mikrobiyal sinerji yoktur.

gruplarda çok denek gerektirir, tekrarlanım özelliği zayıftır.

Sepsis peritonit modellerinde mikrobun özelliği çok önemlidir!

Çoğu kez deney hayvanlarında hastalık çok yüksek sayıdaki E.coli ile oluşturulabilir

Bu; sepsis modelinden öte bir zehirlenme modelidir.

E.coli K12

E.coli O18:K1:H7

E.coli O86

E.coli O111



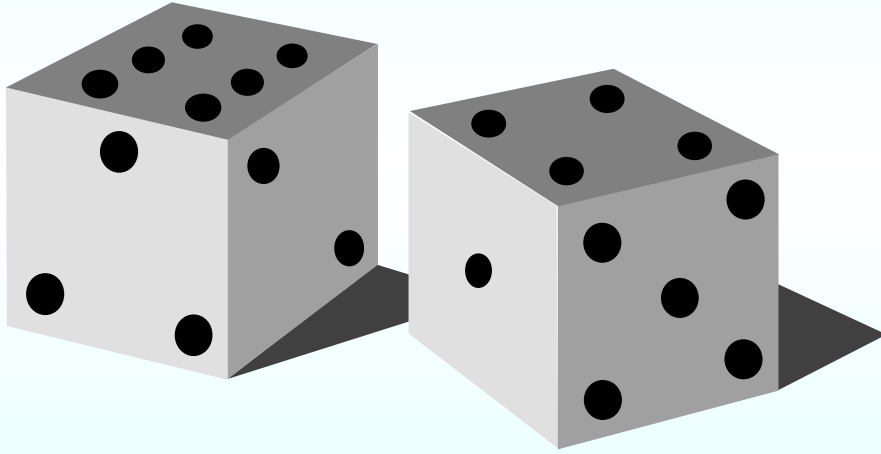
*Virulans
şiddeti*

Cohen J, J Infect Dis, 1990

Sonuç olarak;

Peritonit ve sepsis alanında hiç bir deneysel model ideal olmamakla birlikte ben sizlere;

- Peritonit için; gruplardaki denek sayısını fazla tutmak koşuluyla **CLP** modelini,
- Sepsis ve endotoksik şok için **bakteri kültürlü-peritonit** modellerini öneriyor;



ve de bu bol imkanlar (!!!)

içindeki siz araştırmacı

arkadaşlarıma deney

ve bilim serüvenlerinde

başarılar diliyorum