

DENEYSEL MENENJİT MODELLERİ

9 BÖLÜM

Gülnur KUL

GİRİŞ

Deneysel araştırma, herhangi bir konuyu aydınlatmak, bir soruna çözüm getirmek, belirli kavramlara, kuramlara ya da yasalara ulaşabilmek için yapılan planlı ve bilimsel bir çalışma olarak tanımlanmaktadır(1). Günümüzde tıp alanındaki gelişmelerde hayvan deneylerinin rolü bilinen bir gerçektir. Deneysel araştırmaların; planlanma, yürütme, sonuçları değerlendirme ve yayınlama olmak üzere 4 aşaması vardır. Planlama aşamasında konu seçimi, gözlem, amaç ve değişkenlerin belirlenmesinin yanı sıra hipotez kurulması önemli bir yer tutmaktadır(2, 3).

Deney hayvanına dayalı araştırmanın planlanmasında dikkate alınması gereken temel noktalardan biri hayvan deneyinin standartlara uymasıdır. Standartlaşma; bir deneyden elde edilen verilerin ortalamasının, deney tekrarlandığında aynı veya yakın sonuçlar üretilebilmesini amaçlar. Bu da, aynı veya benzer çalışmalardan elde edilen veriler arasında yakınlığın artmasını ve dolayısıyla araştırma sonuçlarına duyulan güvenin artmasını sağlar(4).

Deneysel araştırmalarda hayvanlara alternatiflerin aranmasında Russell ve Burch tarafından tanımlanan 3R kuralı önemli katkı sağlamış-

tır(5). Bu üç ilkenin yanı sıra The International Foundation for Ethical Research (IFER) 1985 yılında hem hayvanlarda hem de insanlarda yapılacak araştırmalarda “Sorumluluk” ilkesini oluşturarak ilkeleri 4R biçiminde geliştirmiştir. Böylelikle bir araştırmacı deneysel araştırmasını planlarken 4R kuralına uymalıdır. “4R” kuralı: İngilizce kelimeler olan; reduction, refinement, replacement ve responsibility kelimelerinin baş harfleridir. Reduction; hayvan sayısının azaltılması, refinement; araştırmada kullanılacak hayvanların yaşamlarını uygun koşullarda sürdürmesi, replacement; mümkünse omurgalı hayvanlar yerine başka şeylerin kullanılması tercih edilmesi ve responsibility; kişisel sorumluluğunun artırılması şeklindedir(6).

Hayvanlar 19. yüzyıl ortalarından itibaren hastalıkların bulaş yollarının ve patojenezlerinin anlaşılmasına aracılık etmektedirler. Günümüzde ise antimikrobiyal maddelerinin denenmesi, bakterisidal etkinliklerinin belirlenmesi, mikroorganizmaların virülans faktörlerinin kontakta ve enfeksiyondaki rolü gibi birçok farklı amaçla kullanılmaktadır(7). Çalışmalarda en fazla kullanılan deney hayvanlarının; sıçan, fare, balık ve tavşan, orta düzeyde kullanılanların ise domuz, kobay, hamster ve maymun olduğunu görülmektedir. Özellikle sıçan ve fare gibi küçük

muhtemelen bu maddeler BOS'tan temizlenir. Yetişkin tavşan modeli, geniş bir deneysel parametre spektrumunun belirlenmesine izin verir. BOS tekrar tekrar örneklenebilir. Örneğin, pnömokokal menenjitli tavşanlarda 8 saatlik bir deney sırasında her 2 saatte bir 0.3 mL BOS örneği elde etmek mümkündür. Tam gelişmiş menenjitte bakteriyel titreler ve BOS lökosit sayıları tipik olarak 10^6 ila 10^9 cfu / mL ve 1000 ila 10.000 hücre arasındadır. Protein, glikoz ve laktat konsantrasyonları dahil olmak üzere BOS'un kimyasal parametreleri de ölçülebilir ve bakteriyel menenjitli insanlarda gözlenenlerle benzer değişiklikler gösterebilir(19). Bu modelle antimikrobiyal ilaç konsantrasyonlarını ve enflamatuvar konakçı faktör seviyelerini (örn., Sitokinler, prostaglandinler) belirlemek mümkündür. Model ayrıca kan-beyin bariyeri bütünlüğü gibi intrakraniyal değişiklikleri de izleme olanağı sağlar.

Yetişkin tavşan modelinin avantajları arasında incelemeler için kullanılacak yeterince büyük BOS ve kan örneklerinin tekrar tekrar edinilmesine izin veren hayvanların nispeten büyük boyutu, farklı inokulum ürünleri kullanma olasılığı ve çoklu patofizyolojik parametrelerin ölçülmesinin imkân sağlaması sayılabilir. Modelin en belirgin sınırlaması ise, insanlarda patogenezi taklit etmeyen enfeksiyon modu ile ilgilidir.

Sonuç

Özetle; fare ve ratlarda yapılan çalışmalar klinik ve nörolojik semptomları saptamaya, postenfeksiyöz sekelleri incelemeye ve BOS parametrelerinin ölçülmesine olanak sağlarken hayvanların küçük olması nedeniyle alınabilen BOS miktarları kısıtlıdır. Tavşanlarda ise hayvanların büyük olması alınabilecek BOS ve kan miktarının artmasına olanak sağlarken menenjit patogenezi insanlardakinden farklıdır. Günümüzde, deneysel hayvan modelleri bakteriyel menenjit patogenezi incelemek ve hastalığa karşı tedavi stratejilerini değerlendirmek için önemli bir araç olmaya devam etmektedir. Farklı modeller

bakteri suşuna, inokulasyon yoluna (örn., İntrasisternal, intraserebral, intranasal, intraperitoneal / hematogen veya otolojik) ve kullanılan türlere (örn., Fareler, sıçanlar, tavşanlar) göre farklılık gösterir. Planlanan çalışmalarda; geniş bir literatür çalışması yapılarak araştırma konusu iyi belirlenmeli, araştırma protokolü detaylı bir şekilde hazırlanmalı, bu protokole uygun hayvan modeli, hayvan türü, yaşı, cinsi ve sayısı saptanmalı ve kullanılacak ajanın uygulama miktarı ve yolu doğru bir şekilde uygulanmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Wolfensohn S, Lloyd M. Handbook of laboratory animal management and welfare: John Wiley & Sons; 2008.
2. Peters JL, Sutton AJ, Jones DR, Rushton L, Abrams KR. A systematic review of systematic reviews and meta-analyses of animal experiments with guidelines for reporting. Journal of Environmental Science and Health, Part B. 2006;41(7):1245-58.
3. Festing MF, Altman DG. Guidelines for the design and statistical analysis of experiments using laboratory animals. ILAR journal. 2002;43(4):244-58.
4. Gjerde E-AB, Eide DM, Brønstad A, Reed RK. Problems in physiological experimental animal models investigated with factorial design. Journal of Experimental Animal Science. 2004;43(1):1-12.
5. Russell WMS, Burch RL. The principles of humane experimental technique: Methuen; 1959.
6. Güneli E, Ateş M, Gümüştekin M. ical and Analytica l M e d icine. Journal of Clinical and Analytical Medicine.6:2.
7. Knudsen JD, Frimodt-Moller N. Animal models in bacteriology. Contributions to microbiology. 2001;9:1-14.
8. Beam Jr TR, Gilbert DN, Kunin CM. General guidelines for the clinical evaluation of anti-infective drug products. Clinical infectious diseases. 1992;15(Supplement_1):S5-S32.
9. Hau J, Van Hoosier Jr GL. Handbook of laboratory animal. Washington, DC: CRC Press; 2003.
10. Tülek N, Enfeksiyonlarına TESSS, Bakış G. Topçu WA, Söyletir G, Doğanay M.(editörler). Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri. 2017:1375-90.
11. Kastenbauer S, Pfister HW. Pneumococcal meningitis in adults: spectrum of complications and prognostic factors in a series of 87 cases. Brain. 2003;126(5):1015-25.
12. McCormick AW, Whitney CG, Farley MM, Lynfield R, Harrison LH, Bennett NM, et al. Geographic diversity and temporal trends of antimicrobial resistance in Streptococcus pneumoniae in the United States. Nature medicine. 2003;9(4):424-30.
13. Petersdorf RG, Swarner DR, Garcia M. Studies on the

- pathogenesis of meningitis. II. Development of meningitis during pneumococcal bacteremia. *The Journal of clinical investigation*. 1962;41(2):320-7.
14. Richard Moxon E, Glode MP, Sutton A, Robbins JB. The infant rat as a model of bacterial meningitis. *Journal of Infectious Diseases*. 1977;136(Supplement_1):S186-S90.
 15. Quagliarello V, Long W, Scheld W. Morphologic alterations of the blood-brain barrier with experimental meningitis in the rat. Temporal sequence and role of encapsulation. *The Journal of clinical investigation*. 1986;77(4):1084-95.
 16. Dacey RG, Sande MA. Effect of probenecid on cerebrospinal fluid concentrations of penicillin and cephalosporin derivatives. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1974;6(4):437-41.
 17. Paul R, Koedel U, Pfister H-W. Using knockout mice to study experimental meningitis. *ARCHIVUM IMMUNOLOGIAE ET THERAPIAE EXPERIMENTALIS-ENGLISH EDITION*. 2003;51(5):315-26.
 18. Gerber J, Raivich G, Wellmer A, Noeske C, Kunst T, Werner A, et al. A mouse model of *Streptococcus pneumoniae* meningitis mimicking several features of human disease. *Acta neuropathologica*. 2001;101(5):499-508.
 19. Koedel U, Pfister H-W. Models of experimental bacterial meningitis: role and limitations. *Infectious disease clinics of North America*. 1999;13(3):549-77.
 20. Chiavolini D, Pozzi G, Ricci S. Animal models of *Streptococcus pneumoniae* disease. *Clinical microbiology reviews*. 2008;21(4):666-85.
 21. Koedel U, Scheld WM, Pfister H-W. Pathogenesis and pathophysiology of pneumococcal meningitis. *The Lancet infectious diseases*. 2002;2(12):721-36.
 22. Tsai Y, Hirth R, Leitner F. A murine model for listerial meningitis and meningoencephalomyelitis: therapeutic evaluation of drugs in mice. *Chemotherapy*. 1980;26(3):196-206.
 23. Wellmer A, Noeske C, Gerber J, Munzel U, Nau R. Spatial memory and learning deficits after experimental pneumococcal meningitis in mice. *Neuroscience letters*. 2000;296(2-3):137-40.
 24. Klein M, Schmidt C, Kastenbauer S, Paul R, Kirschning CJ, Wagner H, et al. MyD88-dependent immune response contributes to hearing loss in experimental pneumococcal meningitis. *The Journal of infectious diseases*. 2007;195(8):1189-93.
 25. Iizawa Y, Hiroe K, Nakao M, Okonogi K. Therapeutic efficacy of ceftiozan in a murine model of haematogenous pneumococcal meningitis. *Chemotherapy*. 1998;44(4):265-71.
 26. Tan TQ, Smith CW, Hawkins EP, Mason Jr EO, Kaplan SL. Hematogenous bacterial meningitis in an intercellular adhesion molecule-1-deficient infant mouse model. *Journal of Infectious Diseases*. 1995;171(2):342-9.
 27. Tsao N, Chang W, Liu C-C, Lei H-Y. Development of hematogenous pneumococcal meningitis in adult mice: the role of TNF- α . *FEMS Immunology & Medical Microbiology*. 2002;32(2):133-40.
 28. Zwijnenburg PJ, van der Poll T, Florquin S, van Deventer SJ, Roord JJ, van Furth AM. Experimental pneumococcal meningitis in mice: a model of intranasal infection. *The Journal of infectious diseases*. 2001;183(7):1143-6.
 29. Kostyukova N, Volkova M, Ivanova V, Kvetnaya A. A study of pathogenic factors of *Streptococcus pneumoniae* strains causing meningitis. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*. 1995;10(2):133-7.
 30. Carp RI, Davidson AI, Mhrz PA. A method for obtaining cerebrospinal fluid from mice. *Research in veterinary science*. 1971;12(5):499.
 31. Kim KS, Itabashi H, Gemski P, Sadoff J, Warren RL, Cross AS. The K1 capsule is the critical determinant in the development of *Escherichia coli* meningitis in the rat. *The Journal of clinical investigation*. 1992;90(3):897-905.
 32. Rodriguez AF, Kaplan SL, Hawkins EP, Mason Jr EO. Hematogenous pneumococcal meningitis in the infant rat: description of a model. *Journal of Infectious Diseases*. 1991;164(6):1207-9.
 33. Wei BP, Shepherd RK, Robins-Browne RM, Clark GM, O'Leary SJ. Pneumococcal meningitis: development of a new animal model. *Otology & neurotology: official publication of the American Otological Society, American Neurotology Society [and] European Academy of Otology and Neurotology*. 2006;27(6):844.
 34. Leib SL, Clements JM, Lindberg RL, Heimgartner C, Loeffler JM, Pfister L-A, et al. Inhibition of matrix metalloproteinases and tumour necrosis factor α converting enzyme as adjuvant therapy in pneumococcal meningitis. *Brain*. 2001;124(9):1734-42.
 35. Kesser BW, Hashisaki GT, Spindel JH, Ruth RA, Scheld WM. Time course of hearing loss in an animal model of pneumococcal meningitis. *Otolaryngology—Head and Neck Surgery*. 1999;120(5):628-37.
 36. Klein M, Koedel U, Pfister HW, Kastenbauer S. Morphological correlates of acute and permanent hearing loss during experimental pneumococcal meningitis. *Brain pathology*. 2003;13(2):123-32.
 37. Østergaard C, Yieng-Kow RV, Benfield T, Frimodt-Møller N, Espersen F, Lundgren JD. Inhibition of leukocyte entry into the brain by the selectin blocker fucoidin decreases interleukin-1 (IL-1) levels but increases IL-8 levels in cerebrospinal fluid during experimental pneumococcal meningitis in rabbits. *Infection and immunity*. 2000;68(6):3153-7.
 38. Østergaard C, Sørensen TK, Knudsen JD, Frimodt-Møller N. Evaluation of moxifloxacin, a new 8-methoxyquinolone, for treatment of meningitis caused by a penicillin-resistant pneumococcus in rabbits. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 1998;42(7):1706-12.