

DENEYSEL OSTEOMYELIT MODELLERİ

59 BÖLÜM

Sadettin ÇİFTÇİ

Ortopedik patolojiler arasında tedavisi en zor olan hastalıklardan biri olan osteomyelit, kemik dokunun herhangi bir sebeple enfeksiyonu ve buna bağlı gelişen bir dizi komplikasyonun eşlik edebildiği süreçtir. Hastalık deniz dinazorları ve neandertallerde de görülmüş olduğundan omurgalıların varoluşu ile birlikte ortaya çıktığı düşünülmektedir [1, 2]. İnsan osteomyeliti ile ilgili ilk rapor Amerikan iç savaşında ateşli silah ile yaralanan bir kişinin kemiğinde meydana gelen morfolojik değişiklikler olarak tanımlandı [3].

Osteomyelit primer problem olarak görülebilmekle birlikte, ortopedik cerrahinin en can sıkıcı komplikasyonlarından biri olması, tedavisinin zorluğu ve yüksek maliyetleri nedeniyle sıkça araştırma konusu olmaktadır. Bu bölümde osteomyelit araştırmalarında sık kullanılan deneysel uygulamalardan bahsedilecektir.

ENFEKSİYON-İMLANT İLİŞKİSİ

Ortopedik cerrahi kırık redüksiyon ve fiksasyonu ya da eklem rekonstrüksiyonu amaçlı olarak sıklıkla implant kullanımı gerektirmektedir. İmplant kullanımı birçok kolaylık sağlasa da, bazı riskleride beraberinde getirmektedir. Bu risklerin başında ise implant ilişkili enfeksiyonlar bulunmaktadır. Kullanılmakta olan implantlar biyouyumlu modeller olsa bile, bu durum

implantın organizma için bir yabancı cisim olduğu gerçeğini değiştirmemekte ve başta yabancı cisim reaksiyonları olmak üzere enfeksiyonlara sebep olabilmektedir. Bu durum deneysel enfeksiyon modelleri için yabancı cisim kullanımının bir temel teşkil etmekte olduğunu açıklamaktadır.

Konunun net anlaşılması için implant-enfeksiyon ilişkisinin anlaşılması önemlidir. “Neden implant çevresinde daha kolay ve tedavisi daha zor enfeksiyonlar oluşmaktadır?” sorusunun cevabı deneysel model oluşturmak için neden implant(ya da yabancı cisim) kullanıldığını açıklığa kavuşturacaktır. Bu sebeple kısa ve kabaca da olsa değinmekte fayda olacaktır.

Yüzey İçin Yarış

İmplant organizma içine yerleştirildiği zaman Türkçede “yüzey yarışı” ya da “yüzey için yarış” olarak ifade edilebilecek “the race for the surface” süreci başlar [4]. Bu süreç implant enfeksiyonu ile ilgili ortaya atılmış ve günümüzde de en çok kabul gören hipotezdir. Hipoteze göre implant vücuda yerleştirildiği zaman organizmanın savunma hücreleri ile bakteri ya da enfeksiyona sebep olabilecek diğer mikroorganizmalar arasında implant yüzeyine yerleşmek için bir yarış başlar. Eğer ki uygulama sağlıklı

Tablo 4; Gross Patolojik ve Radyografik Değerlendirme [48]

Grade	Patolojik bulgular (Makroskopik)	Radyografik Bulgular
0	Normal	Normal
1	Kemikte değişiklik yok-yumuşak doku şişliği	Periost devamlılığında bozulma-elevasyon ve yumuşak doku şişliği
2	Yumuşak Doku apsesi(Kemik Genişliğinin %10'undan az	Normal kemik mimarisinin %10'dan bozulması
3	Apse genişliği %10'dan fazla	Kemik mimarisinin %40'a kadar kaybı
4	Kemik Yapının Bozulması	Kemik mimarisinin %40'tan fazla bozulması

Tablo 5; Radyografik Değerlendirme [49]

Bulgu	Değerlendirme	Skor
Diafizyel Periosteal Reaksiyon	Var Yok	1 0
Osteolizis	Var Yok	1 0
Sekestrum Oluşumu	Var Yok	1 0
Eklemler Efüzyonu	Var(Eklemler aralığında genişleme) Yok	1 0
Yumuşak doku şişliği	Var Yok	1 0

Histolojik Değerlendirmeler

Sakrifikasyon sonrasında çıkarılan kemiklerin patolojik incelenmesi makroskopik ve mikroskopik düzeyde yapılmalıdır. İlk makroskopik bakıda osteomyelitli ve enfekte dokunun değerlendirilmesi amaçlı eski ama güncel bir değerlendirme ölçeği olan Rissing skalası kullanılabilir(Tablo-6)[50]. Histolojik değerlendirme ise bakterileri, periosteal inflamasyon ve proliferasyonu, kortikal remodelasyonu, kemik iliği infla-

masyonunu ve sekestrumu araştırır [38]. Bu aşama da boyama amaçlı çoğu zaman hematoksilen eozin boyası kullanıldığı gibi daha özel boyalar da gerekebilir [38, 51].

Tablo 6; Rissing Skalası [50]

Grade	Bulgu
0	Enfeksiyon Bulgusu Yok
1	Kemik Destrüksiyonu ya da apse olmaksızın minimal eritem
2	Yeni kemik oluşumu ve minimal kemik destrüksiyonunun eşlik ettiği eritem
3	Yeni kemik oluşumu, kemik destrüksiyonu ve pürülan eksudalı apse
4	Ciddi kemik destrüksiyonu, Apse ve tüm kemiği ilgilendiren hastalık(panosteomyelit)

Radyolojik ve histolojik değerlendirmeler hayvan deneylerinde temeli oluştursa da; bilgisayarlı tomografi, sintigrafi gibi yeni tekniklerde kullanılmaktadır. Bir çalışma da ^{99m}Tc ve IL-8 taramasının bir deneysel hayvan modelinde bakteriyel süspansiyon enjeksiyonunun 4. Saatinde doğru bir şekilde akut osteomyeliti tanımladığı ve konvansiyonel radyografiye göre üstünlüğü bildirilmiştir[52].

Tüm bu post-sakrifikasyon işlemlerin yanında hayvanların metabolik durumlarının, verilen bir tedaviye anlık yanıtların değerlendirilebildiği bioluminesan incelemeler ortaya çıkmaktadır. Bu incelmeler aynı hayvanla daha fazla çalışmaya ve invivo olarak değerlendirmeler yapmaya fırsat sunmaktadır [53].

KAYNAKLAR

1. Odekerken, J., et al., Experimental models in orthopedic infection research, in Management of Periprosthetic Joint Infections (PJIs). 2017, Elsevier. p. 81-116.
2. Schulp, A.S., et al., Chronic bone infection in the jaw of Mosasaurus hoffmanni (Squamata). Oryctos, 2006. 6: p. 41-52.
3. Longmore, T., Remarks upon Osteomyelitis consequent on Gunshot Wounds of the Upper and Lower Extremities, and especially upon the Treatment of Stumps affected with Osteomyelitis after Amputation necessitated by such Injuries. Medico-chirurgical transacti-

- ons, 1865. 48: p. 43.
4. Gristina, A.G., Biomaterial-centered infection: microbial adhesion versus tissue integration. *Science*, 1987. 237(4822): p. 1588-1595.
 5. Høiby, N., et al., The clinical impact of bacterial biofilms. *International journal of oral science*, 2011. 3(2): p. 55-65.
 6. Busscher, H.J., et al., Biomaterial-associated infection: locating the finish line in the race for the surface. *Science translational medicine*, 2012. 4(153): p. 153rv10-153rv10.
 7. Odekerken, J., *Orthopaedic Infections: Pre-clinical Models, Diagnostic Tools and Novel Coatings*. 2015.
 8. Power, M., et al., A rat model of *Staphylococcus aureus* chronic osteomyelitis that provides a suitable system for studying the human infection. *Journal of medical microbiology*, 1990. 33(3): p. 189-198.
 9. Norden, C.W. and E. Kennedy, Experimental osteomyelitis. I. A description of the model. *The Journal of infectious diseases*, 1970: p. 410-418.
 10. SCHEMAN, L., M. JANOTA, and P. LEWIN, The production of experimental osteomyelitis: preliminary report. *Journal of the American Medical Association*, 1941. 117(18): p. 1525-1529.
 11. Norden, C., R. Myerowitz, and E. Keleti, Experimental osteomyelitis due to *Staphylococcus aureus* or *Pseudomonas aeruginosa*: a radiographic-pathological correlative analysis. *British journal of experimental pathology*, 1980. 61(4): p. 451.
 12. An, Y., Q. Kang, and C. Arciola, Animal models of osteomyelitis. *The International journal of artificial organs*, 2006. 29(4): p. 407-420.
 13. Andriole, V.T., D.A. Nagel, and W. Southwick, Chronic staphylococcal osteomyelitis: an experimental model. *The Yale journal of biology and medicine*, 1974. 47(1): p. 33.
 14. Andriole, V. and B. Lytton, The effect and critical duration of increased tissue pressure on susceptibility to bacterial infection. *British journal of experimental pathology*, 1965. 46(3): p. 308.
 15. Börzsei, L., et al., Examination of a novel, specified local antibiotic therapy through polymethylmethacrylate capsules in a rabbit osteomyelitis model. *Chemotherapy*, 2006. 52(2): p. 73-79.
 16. Zhang, X., et al., A rabbit model of implant-related osteomyelitis inoculated with biofilm after open femoral fracture. *Experimental and therapeutic medicine*, 2017. 14(5): p. 4995-5001.
 17. Schulz, S., H. Steinhart, and R. Mutters, Chronic osteomyelitis in a new rabbit model. *Journal of Investigative Surgery*, 2001. 14(2): p. 121-131.
 18. Jacob, E., et al., Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibodies to *Staphylococcus aureus* cell walls in experimental osteomyelitis. *Journal of clinical microbiology*, 1985. 22(4): p. 547-552.
 19. Rodeheaver, G.T., et al., A new model of bone infection used to evaluate the efficacy of antibiotic-impregnated polymethylmethacrylate cement. *Clinical orthopaedics and related research*, 1983(178): p. 303-311.
 20. Gillaspay, A.F., et al., Role of the accessory gene regulator (*agr*) in pathogenesis of staphylococcal osteomyelitis. *Infection and immunity*, 1995. 63(9): p. 3373-3380.
 21. Zhang, H., et al., Construction of vascularized tissue-engineered bone with polylysine-modified coral hydroxyapatite and a double cell-sheet complex to repair a large radius bone defect in rabbits. *Acta biomaterialia*, 2019. 91: p. 82-98.
 22. Wilson, J.M., P.E. Makidon, and I.L. Bergin, Rat Models of Infectious Disease, in *The Laboratory Rat*. 2020, Elsevier. p. 1107-1134.
 23. HAMBLEN, D.L., Hyperbaric oxygenation: its effect on experimental staphylococcal osteomyelitis in rats. *JBJS*, 1968. 50(6): p. 1129-1141.
 24. Buxton, T., et al., Bisphosphonate-ciprofloxacin bound to Skelite™ is a prototype for enhancing experimental local antibiotic delivery to injured bone. *British journal of surgery*, 2004. 91(9): p. 1192-1196.
 25. Solberg, B.D., A.P. Gutow, and M.R. Baumgaertner, Efficacy of gentamycin-impregnated resorbable hydroxyapatite cement in treating osteomyelitis in a rat model. *Journal of orthopaedic trauma*, 1999. 13(2): p. 102-106.
 26. Gracia, E., et al., Application of a Rat Osteomyelitis Model to Compare in Vivo and in Vitro Antibiotic Efficacy against Bacteria with High Capacity to Form Biofilms. *Journal of Surgical Research*, 1998. 79(2): p. 146-153.
 27. Zak, O., et al., Experimental staphylococcal osteomyelitis in rats: therapy with rifampin and cloxacillin alone or in combination. *Current chemotherapy and immunotherapy*. American Society for Microbiology, Washington, DC, 1982: p. 973-974.
 28. Rissing, J.P., et al., Arachidonic acid facilitates experimental chronic osteomyelitis in rats. *Infection and immunity*, 1985. 49(1): p. 141-144.
 29. Mendel, V., H. Simanowski, and H. Scholz, Synergy of HBO₂ and a local antibiotic carrier for experimental osteomyelitis due to *Staphylococcus aureus* in rats. *Undersea Hyperb Med*, 2004. 31(4): p. 407-16.
 30. Bisland, S.K., et al., Pre-clinical in vitro and in vivo studies to examine the potential use of photodynamic therapy in the treatment of osteomyelitis. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 2006. 5(1): p. 31-38.
 31. Lucke, M., et al., A new model of implant-related osteomyelitis in rats. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 2003. 67(1): p. 593-602.
 32. Harrasser, N., et al., A new model of implant-related osteomyelitis in the metaphysis of rat tibiae. *BMC musculoskeletal disorders*, 2016. 17(1): p. 152.
 33. Li, D., et al., Effects of antiresorptive agents on osteomyelitis: novel insights into the pathogenesis of osteonecrosis of the jaw. *Annals of the new york academy of sciences*, 2010. 1192(1): p. 84-94.
 34. Reizner, W., et al., A systematic review of animal models for *Staphylococcus aureus* osteomyelitis. *European cells & materials*, 2014. 27: p. 196.
 35. Penn-Barwell, J., C. Murray, and J. Wenke, Early antibiotics and debridement independently reduce infecti-

- on in an open fracture model. *The Journal of bone and joint surgery. British volume*, 2012. 94(1): p. 107-112.
36. Lindsey, B.A., et al., An animal model for open femur fracture and osteomyelitis—part ii: immunomodulation with systemic il-12. *Journal of Orthopaedic Research*, 2010. 28(1): p. 43-47.
 37. Fitzgerald, J.R., Experimental osteomyelitis: description of a canine model and the role of depot administration of antibiotics in the prevention and treatment of sepsis. *The Journal of bone and joint surgery. American volume*, 1983. 65(3): p. 371-380.
 38. Huneault, L.M., et al., Prevention and treatment of experimental osteomyelitis in dogs with ciprofloxacin-loaded crosslinked high amylose starch implants. *Journal of Orthopaedic Research*, 2004. 22(6): p. 1351-1357.
 39. Stewart, S., et al., Vancomycin-modified implant surface inhibits biofilm formation and supports bone-healing in an infected osteotomy model in sheep: a proof-of-concept study. *The Journal of bone and joint surgery. American volume*, 2012. 94(15): p. 1406.
 40. Whalen, J.L., J.R. Fitzgerald, and R. Morrissy, A histological study of acute hematogenous osteomyelitis following physeal injuries in rabbits. *The Journal of bone and joint surgery. American volume*, 1988. 70(9): p. 1383-1392.
 41. Morrissy, R.T. and D.W. Haynes, Acute hematogenous osteomyelitis: a model with trauma as an etiology. *Journal of pediatric orthopedics*, 1989. 9(4): p. 447-456.
 42. Johansson, Å., et al., Material and design in haematogenous implant-associated infections in a rabbit model. *Injury*, 1999. 30(10): p. 651-657.
 43. Hienz, S.A., et al., Development and Characterization of a New Model of Hematogenous Osteomyelitis in the Rat. *The Journal of Infectious Diseases*, 1995. 171(5): p. 1230-1236.
 44. Shiels, S.M., K.M. Bedigrew, and J.C. Wenke, Development of a hematogenous implant-related infection in a rat model. *BMC musculoskeletal disorders*, 2015. 16(1): p. 255.
 45. Emslie, K.R., N. Ozanne, and S. Nade, Acute haematogenous osteomyelitis: an experimental model. *The Journal of pathology*, 1983. 141(2): p. 157-167.
 46. Petty, W., et al., The influence of skeletal implants on incidence of infection. Experiments in a canine model. *The Journal of bone and joint surgery. American volume*, 1985. 67(8): p. 1236-1244.
 47. Crane, L.R., et al., Xeroradiographic, bacteriologic, and pathologic studies in experimental staphylococcus osteomyelitis. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 1977. 156(2): p. 303-314.
 48. Shirtliff, M.E., J.H. Calhoun, and J.T. Mader, Experimental osteomyelitis treatment with antibiotic-impregnated hydroxyapatite. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 2002. 401: p. 239-247.
 49. An, Y.H. and R.J. Friedman, Animal Models of Orthopedic Implant Infection. *Journal of Investigative Surgery*, 1998. 11(2): p. 139-146.
 50. Rissing, J.P., et al., Model of experimental chronic osteomyelitis in rats. *Infection and immunity*, 1985. 47(3): p. 581-586.
 51. Kishor, C., et al., Phage therapy of staphylococcal chronic osteomyelitis in experimental animal model. *The Indian journal of medical research*, 2016. 143(1): p. 87.
 52. Gratz, S., et al., 99mTc-Interleukin-8 for imaging acute osteomyelitis. *Journal of Nuclear Medicine*, 2001. 42(8): p. 1257-1264.
 53. Li, D., et al., Quantitative mouse model of implant-associated osteomyelitis and the kinetics of microbial growth, osteolysis, and humoral immunity. *Journal of Orthopaedic Research*, 2008. 26(1): p. 96-105.