

# Deneyisel osteoartrit erken döneminde gelişen histopatolojik değişiklikler

Ömer BİLGİN<sup>1</sup>, Öner GEDİKOĞLU<sup>1</sup>, İlhan TUNCER<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji ABD, BURSA

<sup>2</sup>Çukurova Üniversitesi Fakültesi Patoloji ABD, ADANA

*Osteoartritin erken dönemlerinde, eklem kıkırdağı ve sinoviyal dokularda gelişen histopatolojik değişiklikleri, proteoglikan yıkımında rol oynadığı ileri sürülen müramidaz varlığını değerlendirerek osteoartrit etyopatogenezine açıklık getirme amacıyla yaptığımız çalışmada 42 Yeni Zelanda tavşanı kullanıldı.*

*Deneyisel osteoartrit oluşturulan dizlerde, 2. günde medial kompartmanda daha yüksek olmak üzere her iki eklem kompartmanında osteoartritin ortaya çıktığı, sinoviyal dokudaki inflamasyonun 2. günde başlayarak 10. günde en yüksek düzeye ulaştığı, müramidaz varlığının sinoviyal dokuda kıkırdağa göre 2. günden başlayarak daha fazla oranda arttığı ve bunun sinoviyal inflamasyon derecesiyle uyumlu olduğu belirlendi.*

*[Türk Tıp Araştırma 1992, 10(1): 13-17]*

**Anahtar Kelimeler:** Deneyisel Osteoartrit, Histopatoloji, Müramidaz

Yaşlıların önemli ortopedik sorunlarından birisi olan osteoartritin etyopatogenezinde kıkırdak yıkımına neden olan etkenler ve bunların kaynakları günümüzde tam olarak aydınlatılamamıştır.

Normalde eklem kıkırdağında dengeli olarak seyreden yapım ve yıkım olayları gözlenir (1-3). Normal koşullarda ve osteoartritte, kıkırdak yıkımına neden olan ana etken lizozomal enzimlerdir (4-8). Fizyolojik olan bu dengeyi bozarak yıkım olayını başlatan lizozomal enzim kaynağının kıkırdak dokunun kendisi veya sinoviyal zar olabileceği ileri sürülmüştür (9-17). İnsanlarda osteoartrite yönelik çalışmaların çoğu kez geç devrelerde yapılabilmesi nedeniyle, osteoartritin erken dönemindeki çalışmalara olanak veren deneyisel osteoartrit modelleri geliştirilmiştir (18-28).

Osteoartritin erken devresinde kıkırdak ve sinoviyal dokularda ortaya çıkan değişiklikleri ince-

leyerek, kıkırdak yıkımını başlatan etken kaynağını araştırma ve tartışmalara neden olan bu konuya açıklık getirme çalışmamızda amaç alındı.

## MATERYEL VE METOD

Bu çalışma, ağırlıkları 1.4-2.5 kg, yaşları 4-8 ay arasında olan 42 adet Yeni Zelanda tavşanının 84 adet diz eklemine yapıldı.

Intramüsküler olarak %2'lik 0.1 cc/kg Xylazin Hydrochloride (Rompun), 20 mg/kg Ketamin Hydrochlorur (Ketalar) yapılarak uyutulan hayvanların sağ diz eklemlerine parapatellar medial kesiyle yaklaşıldı. Osteoartrit geliştirme amacıyla ön çapraz bağlar kesildi, parsiyel medial menisektomi yapıldı. Ameliyattan sonra ekstremiteler tesbit edilmeyip, serbest bırakıldı. Sol dizler kontrol amacıyla kullanıldı.

Tavşanlar, postoperatif 2., 5., 10., 21. ve 30. günler için herbir grupta 7'şer adet olmak üzere 6 gruba ayrıldı. Denekler belirlenen günlerde yüksek dozda intramüsküler olarak ketamin verilerek sakrifiye edildi. Steril koşullarda, önceden ameliyat edilen sağ ve kontrol amacıyla kullanılan sol dizlere medial parapatellar kesi ile girilerek, subtotal sinoviyektomi yapıldı. Diz eklemine iç ve dış kompart-

Geliş Tarihi: 8.12.1990

Kabul Tarihi: 7.9.1991

Yazışma Adresi: İlhan TUNCER

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Patoloji ABD, Balcalı - ADANA

Tablo 1. Kıkırdak dokuda gelişen histopatolojik değişiklikler ve sayısal değerler

I listopatolojik değişikliklerin Derecesi	Yüzeysel düzensizlik kondrosi nukleusunda piknoz, sitoplazmasında daralma ve metakromazi kaybı	kıkırdak dokuda diğer histopatolojik değişiklikler
1+	1/8-1/7 eklem kıkırdak kalınlığı	ödem Kondrosit sayısında artma
2+	1/6-1/5 eklem kıkırdak kalınlığı	Ödem, Fragmentasyon
3+	1/4-1/3 eklem kıkırdak kalınlığı	Ödem, Fragmentasyon
4+	1/2-1/1 eklem kıkırdak kalınlığı	Ödem, Fragmentasyon Pannus Oluşumu

manlarını oluşturan femur ve tibianın ağırlık taşıyan eklem yüzeylerinden subkondral bölgeyi de içerecek şekilde kıkırdak örnekleri alındı. Alman sinovya ve kıkırdak doku örnekleri, %10'luk Buffer Formaldehit solüsyonunda tesbit edildi. Rulin takip işlemlerinden geçen doku örneklerinden 5 mikron kalınlıkta parafin kesitleri alındı. Kıkırdak doku kesitleri Hematoksilen-Eozin, Toluidin Blue ve Pas-Alcian Blue ile boyandı. Sinoviyal doku örnekleri ise Hematoksilen Eozin ile boyandı, bu dokularda gelişen histopatolojik değişiklikler ışık mikroskopunda değerlendirildi.

Kıkırdak dokuda gelişen histopatolojik değişikliklerin değerlendirilmesinde Tablo 1'de verilen histolojik kriterler ve sayısal değerler kullanıldı.

Deney grubunda saptadığımız histopatolojik bulgular 1+ ile 4+ arasında derecelendirildi. Bu değerler her olgu için sayısal olarak belirlendi ve sayısal değerler ile uyum gösteren Osteoartrit derecesi Tablo 2'deki gibi gösterildi.

Tablo 2. Histopatolojik kriterlere göre kıkırdak dokudaki osteoartrit derecesi

Sayısal Değer	Osteoartrit Derecesi	Sayısal Değer	Sinoviyal inflamasyon derecesi
0	0 (Normal)	0	0 (Normal)
1-3	1 (Hafif)	1-5	1 (Hafif)
4-6	2 (Orta)	6-10	2 (Orta)
7 ve üzeri	3 (Şiddetli)	11 ve üzeri	3 (Şiddetli)

Tablo 4. Sinoviyal ve kıkırdak dokudaki müramidaz varlığının sayısal değerleri

Sayısal Değerler	Sinoviyal Doku	Kıkırdak doku
0	1-5 sinoviositte, 1-3 monositte ve PMNL'de varolması (normal bulgu) Fokal 2-3 sıralı sinoviositte, 3-10 monosit ve polimorfonükleer	Nüramidazyokluğu (normal bulgu)
1+	lökositler var olması	1-3 kondrositte ve stromada var olması
2+	Fokal 3 veya daha fazla sıralı sinoviositte, 10-20 monosit, polimorfonükleer lökositte var olması	6 ve üzeri kondrositte ve stromada var olması
3+	Diffüz 2-3 sıralı sinoviositte, 20 ve üzeri monosit-polimorfonükleer lökositte var olması	6 ve üzeri kondrositte ve stromada var olması
4+	Diffüz 3 veya daha fazla sıralı sinoviositte, 20 ve üzeri monosit polimorfonükleer lökositte var olması	6 ve üzeri kondrositte ve stromada var olması

Sinoviyal dokunun infiamatuar cevabının değerlendirilmesinde Salyali (29) tarafından tanımlanan histolojik kriterler ve sayısal değerler kullanıldı.

Bu histolojik kriterlere göre elde edilen sayısal değerler ile sinoviyal inflamasyonun derecesi, Tablo 3'de görüldüğü gibi belirlendi.

Sinoviya ve kıkırdak dokudaki müramidaz varlığını saptamak için Peroksidaz-Antiperoksidaz immunohistokimyasal yöntemi (biobak Katalog no LYI003) kullanıldı (30). Sinovya ve kıkırdak dokuda sinoviyal epitel hücreleri, monosit, polimorfonükleer lökosit ara madde de ve kondrositte kahverengi renkte boyanarak gözlenen müramidaz varlığı Tablo 4'de verilen şekilde sayısal olarak değerlendirildi (Tablo 4).

Osteoartrit geliştirilen sağ, kontrol amacıyla kullanılan sol dizlerin sinoviyal ve kıkırdak dokularında saptanan sayısal değerler, Mann-Whitney U

Tablo 3. Histopatolojik kriterlere göre sinoviyal inflamasyon

testi uygulanarak birbiriyle karşılaştırıldı ve istatistik analizi yapıldı.

### SONUÇLAR

Osloartrilin, cerrahi uygulanan sağ diz eklem kıkırdaklarının her iki kompartmanında ikinci günde (Grup 1) başladığı, osteoartrit derecesinin, medial kompartmanda daha fazla olmak üzere her iki kompartmanda zamanla orantılı olarak ve istatistik yönden belirgin şekilde arttığı saptandı (Tablo 5).

Tablo 5. Sağ ve sol diz eklemlerinin medial-lateral kompartman kıkırdak dokularında osteoartritin Derecelerinin Karşılaştırılması

Diz eklemi kompartmanları	GRUPLAR					
	1	2	3	4	5	6
Medial Sağ Diz	3.00*	4.28*	5.14*	4.28*	6.57*	5.57*
Sol Diz	0.71"	0.28*	1.00"	0.85*	1.14"	0.42*
lateral Sağ Diz	2.57*	3.57*	4.70*	6.28*	6.14*	6.00"
Sol Diz	0.71*	0.42*	0.28*	0.57*	1.57"	0.57"

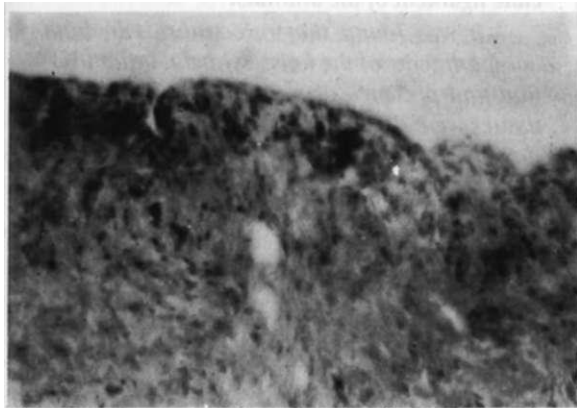
\*p<0.01

Tablo 6. Sağ diz eklemi sinoviyal doku inflamasyon derecesinin gruplara göre dağılımı

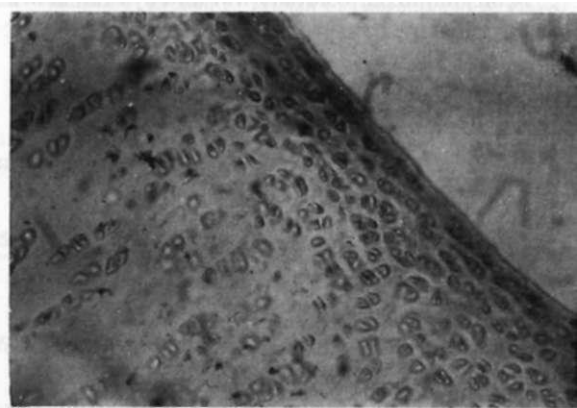
İnflamasyon Derecesi	GRUPLAR					
	1	2	3	4	5	6
	3.85	5.14	7.00	4.00	5.28	6.41

Tablo 7. Sinoviyal ve kıkırdak dokudaki müramidaz varlığının gruplara göre dağılımı

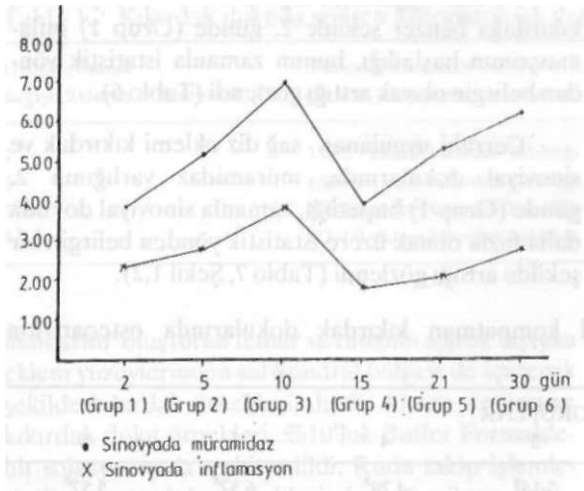
Sağ Diz Eklem Dokuları	GRUPLAR					
	1	2	3	4	5	6
Sinoviya	2.42	2.71	3.85	1.71	2.14	2.71
Kıkırdak	0.42	0.85	0.28	0.42	2.00	0.57



Şekil 1. Sağ diz sinoviyal doku epitel hücrelerinde, doku stromasında monosit ve polimorfonükleer lökositlerde belirgin müramidaz varlığı (Peroxidaz antiperoksidaz yöntemi x 100).



Şekil 2. Sağ diz eklem kıkırdığında ara maddede ve yer yer kondrosit lakunaları içerisinde müramidaz varlığı (Peroxidaz-antiperoksidaz yöntemi x 200).



Şekil 3. Sağ di/ eklemi sinoviyal doku inflmasyon derecesi ve müramidaz varlığı.

Sağ diz eklem sinoviyasında müramidaz varlığı ve inflmasyon derecelerindeki artımın birbirleriyle uyum gösterdiği saptandı (Şekil 1).

## TARTIŞMA

Osteoartrilin erken devresinde, kıkırdak ve sinoviyal dokularda gelişen histopatolojik değişiklikleri birlikte incelemek ve etyopatogeneizde karanlık kalmış konulara ışık tutma amacıyla yaptığımız çalışmada, günümüzde en sık uygulanan deneysel osteoartrit model (25,27) seçildi. Kıkırdak dokudaki erken değişikliklerin yavaş seyretmesi, bu değişikliklerin gelişim ve morfolojisinin insanlardaki osteoartritle uyum göstermesi nedeniyle çalışmamızda deney hayvanı olarak tavşan kullanıldı (31-36).

Çalışmamızda, osteoartrilin ameliyattan sonra iki gün gibi kısa bir sürede orlaya çıkması, Troyer (36)'ın çalışma sonucuyla uyum göstermektedir. Troyer (36) tesbil osteoartrü oluşturmuş ve kıkırdak dokuda ikinci günde başlayan melakromazi kaybı gözlemiştir. Çalışmamıza özgün olarak, cerrahi uygulanan sağ diz eklem kompartımanlarından kıkırdak dokularında saptadığımız osteoartril dereceleri ilginçtir (Tablo 6). Cerrahi uygulanan medial kompartmanda saptanan, zamanla artan yüksek derecelerdeki osteoartril nedeninin, Meachim (37), ve Campbell (38)'inde belirttiği gibi lokal travmanın sınırlı dejenerasyon oluşturacağı görüşüne bağlanabilmesine karşın bu görüş, lateral kompartımanda benzer şekilde ve daha düşük derecelerde gelişen osteoartriti açıklayamamaktadır. Eklem lateral kompartıman kıkırdağında, medial tarafa benzer

şekilde, iki gün gibi kısa bir sürede ortaya çıkan ve /amanla artan osteoartril nedeninin lokal travma dışında başka etkenlerde arama gereği ortaya çıkmaktadır.

Cerrahi uygulanan sağ diz eklemi sinoviyasında kıkırdak dokudaki histopatolojik değişikliklerle uyum gösterecek şekilde, ikinci günde başlayan, 10. günde en yüksek düzeye ulaşarak devam eden inflmasyon, sinoviyal dokunun, osteoartritte kıkırdak doku yıkımının başlamasında ana elken olabileceğini düşündürmektedir. Lokal travmanın uygulanmadığı lateral eklem kompartıman kıkırdağında saptadığımız osteoartril bulguları, bu düşüncemizi desteklemektedir. Bu düşüncenin, daha ileri lizozomal enzim çalışmaları ile açıklık kazanması gerekmektedir.

Çalışmamıza özgün olan ve müramidaz varlığının kıkırdak dokuya göre sinoviyal dokuda 2. günde başlayarak daha fazla oranda artması, bu artışın sinoviyadaki inflmasyon derecesinin artışı ile uyum göstermesi, müramidaz'ın proteoglikan katabolizmasında düzenleyici olarak rol oynadığı savının güçlendirmekte ve kıkırdak doku yıkımında bir etken olan sinoviyal zarın önemini birkez daha vurgulamaktadır.

## Histopathological changes in experimental osteoarthritis

*In order to enlighten the ethiopathogenesis of osteoarthritis, histopathological changes and the presence of muramidase in cartilage and synovial tissues were investigated on 42 New Zealand rabbits. Experimental osteoarthritis was developed in the right knee by partial medial meniscectomy-sectioning of anterior cruciate ligament of the animals.*

*It was found that osteoarthritis in both compartments of the knee, synovial inflammation and presence of muramidase in synovial tissues were developed in the 2<sup>nd</sup> postoperative day and increased in the course of disease. A significant relation was found between synovial inflammation and muramidase in synovial tissues.*

[TurkI Med Res 1992, 10(1): 13-17J

**KeyW'ords:** Experimental osteoarthritis, Histopathology. Muramidase).

## KAYNAKLAR

1. Tüfek SI. Orthopaedics. Principles and Their Application. Third Edition. Philadelphia. JB Lippincott Company 1977; 14:147.

2. Kelley WN, Harris LD, Ruddy S, Sledge CB. Textbook of Rheumatology. Philadelphia: WB Saunders Company 1964; 255.
3. Mankin HL. The turnover of the matrix and articular cartilage. *Journal of Bone Joint Surgery* 1969; 51A: 1591.
4. Gedikoglu O. The Etiopathogenesis of Osteoarthritis. *Istanbul Medical Journal* 1986; 19:3133.
5. Gedikoglu O, Bayliss MT, Ali SY, Tuncer I. Biochemical and histological changes in osteoarthritic synovial membrane. *Annals of the Rheumatic Diseases* 1986; 45:289.
6. Peltonen L, Puranen J, Ixlinen K, Korhonen K: Proteolytic enzymes in joint destruction. *Scand J Rheumatology* 1981; 10:107.
7. Peltonen L, Draner J, Korhonen IK: Lysosomal hydrolases in different compartments of rheumatoid and osteoarthritic joints. *Scand J Rheumatology* 1981; 10:97.
8. Erlich MG, Armstrong AI, Treadwell BV, Mankin HL: Degradative enzyme systems in cartilage. *Clinical Orthopaedics and Related Research* 1986; 213:62.
9. Ali S, Bayliss MT. Enzymic changes in human osteoarthrotic cartilage. Normal and osteoarthrotic articular cartilage. Edited by Ali SY, Elves MW, Leback DH. Institute of Orthopaedics London 1974; 189.
10. Bjelle A, Osterlin S. Chondrocyte D activity in bovine articular cartilage synovial membrane and fluid. *The Journal of Rheumatology* 1976; 3:400.
11. Bollet AJ. Connective tissue polysaccharide metabolism and the pathogenesis of osteoarthritis. *Advances Internal Medicine* 1967; 13:33.
12. Christman OD, Pessel JM, Soulhwick WD. Experimental production of synovitis and marginal articular exostoses in the knee of dogs. *Yale Journal of Biology and Medicine* 1965; 37:407.
13. Harris ED Jr, Kranc SM. Collagenase II. *New England Journal of Medicine* 1974; 291:605.
14. Howell DS. Degradative enzymes in osteoarthritis human articular cartilage. *Arthritis and Rheumatism* 1975; 18:67.
15. Kempson G. The effects of proteoglycan and collagen degradation on the mechanical properties of adult human articular cartilage. *Journal of Bone and Joint surgery* 1976; 58B:373.
16. Slavkin HC, Greulich RC. Extracellular matrix influences on gene expression New York. Academic Press Chapter 22 1975.
17. Glynn EL. Primary lesion in osteoarthritis. *The Lancet* 1977; 12:574.
18. Hall MC. Cartilage changes after experimental relief of contact in the knee joint of the mctura rat. *Clin Orthop* 1969; 64.
19. Key JA. Experimental arthritis: The changes in joints produced by creating defects in the articular cartilage. *J Bone Joint Surg* 1931; 13:725.
20. Tschag H. Mitoses of chondrocytes in experimental "osteoarthritis" in rabbits *Clin Orthop* 1972; 86:224.
21. Evans EB, Riggers GWN, Butler JK and Blumcl J. Experimental immobilization and remobilization of rat knee joints. *J Bone Joint Surg* 1960; 42A:737.
22. Hall MC. Cartilage changes after experimental immobilization of the knee joint of the young rat. *J Bone Joint Surg* 1963; 45A: 36.
23. Castor C. Articular changes in the knee of the adult rat after prolonged immobilization in extension. *Clin Orthop* 1964;34:184.
24. Crelin ES and Soulhwick WO. Mitosis of chondrocytes induced in the knee joint articular cartilage of adult rabbits *Yale J Biol Med* 1960; 33:243.
25. Marshall JI. periarticular osteophytes *Clin orthop* 1969; 62:37.
26. Ginsberg JM, Eyring EJ and Curliss PH. Continuous compression of rabbit articular cartilage producing loss of hydroxamine. *J Bone Joint Surg* 1969; 51A:467.
27. Moskowitz RW, Davis W, Sammarco J, Martens M, Baker J, Mayor M, Burstein AH and Prankel VII. Experimentally induced degenerative joint lesions following partial meniscectomy in the rabbit. *Arthritis Rheum* 1973; 16:394.
28. Thompson Jr. RC and Bassett CVL. Histological observations on experimentally induced degeneration of articular cartilage. *J Bone Joint Surg* 1970; 52A:435.
29. Salvali IA, Granda JL, Mirra J, Wilson PD. clinical, enzymatic and histologic study of synovium in coxarthrosis *Inter orthop* 1977; 1:39.
30. Sternbeiger LA, Hardy PH, Cuculis JJ, Meeyer HG. The unlabelled antibody enzyme method of immunohistochemistry.
31. Paukkonen K, Jutvelli J, Illeminen HJ. Effects of immobilization on the articular cartilage in young rabbits. *Clin Orthop* 1986; 206:270.
32. Floman Y, Lyre DR, Glimcher MJ. Induction of osteoarthrosis in the rabbit knee joint. *Clin Orthop* 1980; 147:278.
33. Videman T, Eronen I, Friman C, Ingenskiöld A. Glycosaminoglycan metabolism of the medial meniscus, the medial collateral ligament and the hip joint capsule in experimental osteoarthritis caused by immobilization of the rabbit knee. *Acta Orthop scand* 1979; 50:465.
34. Bohr H. Experimental osteoarthritis in the rabbit knee joint. *Acta Orthop Scand* 1976; 47:558.
35. Paukonen K, Illeminen HJ. Chondrocyte Ultrastructure in exercise and experimental osteoarthrosis. *Clin orthop* 1987; 224:284.
36. Troyer H. The effect of short-term immobilization on the rabbit knee joint cartilage. *Clin Orthop* 1975; 107:249.
37. Meachim G. The effect of scarification on articular cartilage in the rabbit, *J Bone Joint surg* 1963; 45B:150.
38. Campbell CI. The healing of cartilage defects. *Clin Ortho p* 1969;64:45.