

DENEYSEL SEPTİK ARTRİT TEDAVİSİNİN ERKEN DÖNEMİNDE İNTRAARTİKÜLER OZMİK ASİT (OsO₄) KULLANIMININ EKLEM KIKIRDAĞI ÜZERİNE ETKİLERİ

Abdullah EREN*, **Duygu KOYUNCU****, **Onur UYSAL****, **Firdevs GÜRER****
Varol ŞAHİNTÜRK**, **Nuri KİRAZ*****

ÖZET

Giriş: Septik artrit eklemler fonksiyonunun kaybolmasının temel nedeni kıkırdak yıkımıdır. Erken antibiyotik tedavisi ve drenaj ile eklem içi basıncının azaltılmasına rağmen, eklemlerde sekonder değişiklikler ortaya çıkmaktadır. Kıkırdak yıkımını önlemek için klasik tedaviye eklenen sinovektomiden yarar sağlanmaktadır. Ozmik asit (OsO₄) son yıllarda geç dönem kimyasal sinovektomide kullanılan bir sklerozan ajandır. Çalışmamızda, septik artrit erken döneminde antibiyotik ve iğne aspirasyonu yanısıra OsO₄ ile kimyasal sinovektomi yapılmasının, tedaviye katkısı olup olmadığını araştırdık.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda 55 adet beyaz Yeni Zelanda tavşanı diz eklemi kullanıldı. Kontrol olarak (Grup 1 ve 2) intraartiküler 0.3 ml serum fizyolojik (SF) uygulandı. Septik artrit oluşturulan diz eklemlerine antibiyotik, lavaj ve drenaj (SA+KT) uygulama sonuçları bu çalışma için klasik tedavi olarak (Grup 5 ve 6) adlandırıldı. Klasik tedaviye ek olarak 3. gün (Grup 7 ve 9) ve 5. gün (Grup 8 ve 10) ozmik asit ile kimyasal sinovektomi tedavisi gerçekleştirildi. Ozmik asidin normal eklem kıkırdığına etkisi ise enfekte edilmemiş diz eklemlerinde gözlemlendi (Grup 3 ve 4). Tavşanların yarısı 3. haftada kalan yarısı 5. haftada histolojik olarak incelendi. Femoral kondil ve tibia eklem yüzlerinden kesit alınacak şekilde, histolojik doku takip ve boyamaları yapılan diz eklemleri Salter'in histolojik puanlama yöntemiyle ışık mikroskopik düzeyde puanlandırıldı. Her bir parametrenin ortalama puanları ile toplam kıkırdak yıkımını gösteren toplam ortalama puanları Kolmogorov-Smirnov Çift Örneklem Testi kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirildi.

Bulgular: Elde edilen sonuçlar tibia için;

1. İntraartiküler SF-3. hafta ve İntraartiküler OsO₄-3. hafta grupları arasında kondrosit sayısında kayıp açısından OsO₄ kayba neden oldu ve iki grup arasında istatistiksel önemi olan fark bulundu (p<0.05).

2. SA+KT-3. hafta ve SA+KT+3. gün OsO₄-3. hafta grupları arasında hücreler arası matrikste ortokromazi kaybı, pannus oluşumu, yüzeysel matriks kaybı ve toplam skor açısından; istatistiksel önemi olan fark vardı (p<0.05).

3. SA+KT-5. hafta ve SA+KT+5.gün OsO₄-5. hafta grupları arasında toplam skor açısından istatistiksel önemi olan fark bulundu (p<0.05).

Femur için;

4. İntraartiküler SF-3. hafta ve İntraartiküler OsO₄-3. hafta grupları arasında kondrosit sayısı açısından (p<0.05) ve toplam skor açısından (p<0.01) istatistiksel önemi olan fark vardı.

5. SA+KT-3. hafta ve SA+KT+3. gün OsO₄-3. hafta grupları arasında yüzeysel matriks kaybı ve toplam skor açısından; istatistiksel önemi olan fark bulundu (p<0.05).

Tartışma: Septik artrit erken döneminde özellikle 5. gün OsO₄ uygulaması, uygulanan sürede ve tavşan dizleri için; kalıcı hasarlara yol açabilecek zanlı sinovial membranın ortadan kaldırılmasında etkili bulundu. Ancak OsO₄ uygulamasının, inflamasyonu alevlendirmede, dolayısıyla sekonder komplikasyonların şekillenmesinde, süreye bağlı bir etki yaptığı gözlemlendi. Bu süre insan ve tavşan yaşam süreleri dikkate alındığında örneğin 5. hafta tavşan için geç dönem olarak değerlendirildi. Erken dönemde, fakat olabildiğince 5. gün sonrasında kullanımın, bu komplikasyonları azaltabileceği kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: Deneysel Septik Artrit, Erken Dönem Kimyasal Sinovektomi, Ozmik Asit.

* Yrd. Doç. Dr., Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı.

** Arş. Gör., Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı.

*** Prof. Dr., Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı.

SUMMARY**EFFECTS OF EARLY PHASE INTRAARTICULAR OSMIC ACID (OsO₄) THERAPY OF EXPERIMENTAL SEPTIC ARTHRITIS ON JOINT CARTILAGE**

Introduction: Main cause of the loss of joint function in septic arthritis is destruction of cartilage. Although intraarticular pressure can be decreased by both early antibiotic therapy and drainage, secondary changes occur in the joint. Synovectomy combined with conventional therapy brings benefit for preventing of destruction of cartilage. Osmic acid is a sclerosing agent used currently in late period chemical synovectomy. In our study we investigated that if chemical synovectomy with OsO₄ contributes to the treatment in early period of septic arthritis as well as conventional therapy.

Materials and Methods: In our study 55 white New Zealand rabbits' knee joints were used. Intraarticular 0.3 ml of serum physiologic (SP) was administered in control groups (Group 1 and 2). Experiments performed in four main groups as follows: In knee joints where septic arthritis was formed, antibiotic lavage plus drainage (conventional therapy) were used in Group 5 and 6; chemical synovectomy with osmic acid combined with conventional therapy in day 3 (Group 7 and 9) and in day 5 (Group 8 and 10). Effect of osmic acid on normal joint cartilage was also observed in non-infected knee joints (Group 3 and 4). Slices were cut from femoral condyl and tibia joint surfaces of knee joints exposed histological tissue process and staining and these slices were scored in light microscopy according to Salter's histological score method. Average score of all parameters and total average score indicating total destruction of cartilage were evaluated statistically by Kolmogorov-Smirnov 2-Sample Test.

Results: Results obtained in tibia;

1. A statistical significant difference was found between Group 1 and 3 in terms of number of chondrocyte (p<0.05).
2. There was a significant difference between Group 5 and 7 in terms of loss of orthochromasy in extracellular matrix, formation of pannus, loss of surface matrix and total score (p<0.05).
3. There was a significant difference between Group 6 and 8 in terms of total score (p<0.05). Results obtained in femur;
4. There was a significant difference between Group 1 and 3 in terms of number of chondrocyte (p<0.05) and total score (p<0.01).

5. There was a significant difference between Group 5 and 7 in terms of loss of surface matrix and total score (p<0.05).

Discussion: In treatment of early period of septic arthritis OsO₄ administration especially in day 5 was found to be effective in elimination of synovial membrane which can induce permanent damage. However, it was observed that OsO₄ administration has a time-dependent effect on exacerbation of inflammation and formation of secondary complications. It was concluded that use of OsO₄ in early period but as possible as after day 5 could reduce these complications.

Key Words: *Experimental Septic Arthritis, Early Period Chemical Synovectomy, Osmic Acid.*

GİRİŞ

Septik artrit her yaş grubunda ancak genellikle çocuklarda görülür. Eklem fonksiyonunun kaybolması sonucu kalıcı ağır sakatlıklara yol açabilir. Piyojenik organizmaların sıklıkla da Staphylococcus aureus'un neden olduğu ciddi bir eklem enfeksiyonudur. Septik artritte eklem fonksiyonunun kaybolmasının temel nedeni eklem kıkırdak yıkımıdır. Septik artrit tedavisinde uygulanan klasik yöntemler antibiyotik uygulaması ve gerektiğinde eklem drenajıdır¹⁻³.

Pek çok araştırmacı septik artrit semptomların başlangıcından sonra ilk 24-48 saat içinde yoğun bir şekilde antibiyotikle tedavi edilmesi gerektiğini, aksi takdirde geriye dönüşümsüz kıkırdak harabiyetiyle sonuçlanacağını göstermiştir⁴. Ayrıca antibiyotik uygulaması ve drenaja, sinovektomi eklenmesiyle, iyi sonuçlar alındığı bildirilmiştir⁵⁻⁷.

Sinovektomi açık artrotomi ya da artroskopik olarak yapılabilir. Artroskopik girişim için pahalı ekipmanlara ve özel eğitilmiş cerrahlara gereksinim vardır. Bu sinovektomi yöntemleri dışında kimyasal sinovektomi ya da kimyasal sinoviortez adıyla bilinen bir başka sinovektomi yöntemi daha vardır. Kimyasal sinovektomi, özellikle romatoid artrit tedavisinde yaygın olarak kullanılan ve iyi sonuçlar alındığı bildirilen bir yöntemdir^{8,11}. Kimyasal sinovektominin cerrahi sinovektomiye benzer endikasyonları yanısıra kolayca uygulanabilmesi, gerektiğinde tekrarlanabilmesi gibi avantajları vardır. Kimyasal sinovektomi için halen intraartiküler olarak ozmik asit (OsO₄), varicocid (balık yağı yağ asidi sodyum tuzu) gibi sklerozan ajanlar kullanılmaktadır⁸⁻¹¹. Bunlar içinde en çok kullanılan ve araştırılan ozmik asittir. Bizim bilgilerimize göre septik artrit erken dönemlerinde klinik ve deneysel

olarak kimyasal sinovektominin uygulandığı bir çalışma yoktur. Yalnızca tedavi edilmiş septik artrit sonrası görülen inatçı postenfeksiyöz artrit olgularında uygulandığı bildirilmiştir^{10,11}. Çalışmamızın amacı septik artrit erken dönemlerinde antibiyotik tedavisi ve drenaj yanısıra ozmik asit ile uygulanan kimyasal sinovektominin kıkırdak hasarına etkisini histolojik olarak araştırmak, olumlu sonuç alındığında bu yöntemin diğer sinovektomi yöntemleri yerine kullanılabilirliğini göstermektir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada ağırlıkları 3 ile 4 kg arasında değişen toplam 55 adet (15 kontrol, 40 deney grubu) beyaz Yeni Zelanda tavşanı diz eklemi kullanıldı. Osmangazi Üniversitesi Tıbbi ve Cerrahi Araştırmalar Merkezi (TICAM)'nde, çalışmamızda kullanılan tavşanlar standart laboratuvar diyetiyle beslenerek her biri ayrı kafeste ve standart etik kurallara uyularak izlendi.

Tavşan diz eklemine septik artrit oluşturmak için klinik örneklerden üretilmiş *Staphylococcus aureus* klinik izolat süspansiyonu kullanıldı. Ön çalışma ile virulansı test edildi. Enfekte edilecek her diz eklemine 1 ml *Staphylococcus aureus* süspansiyonu (103/ml) enjekte edilip, enfeksiyon geliştiğini doğrulamak için 72. saatte diz ekleminden aspirasyon sıvısı alınıp, Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında kültür yapıldı. Ayrıca çalışma bitiminde histolojik inceleme için, örnek alınmadan önce tekrar kültür yapıldı. Antibiyotik uygulanan tüm deneklere 75 mg/kg/gün dozunda Seftriakson (Rocephin R) intra müsküler olarak 3. günden başlanıp 3 hafta süre ile uygulandı. Drenaj yapılacak her tavşana Atropin Sülfat (0.25 mg/kg) premedikasyonunu takiben intra müsküler Ksilazin hidroklorid (Rompun R) 0.2 mg/kg ve subkutan Ketamin hidroklorür (Ketalar R) 10 mg/kg anestezisi uygulandı^{7,12}.

Kimyasal sinovektomi için ozmium tetraoksit (OsO_4 -ozmik asit), intraartiküler enjeksiyon şeklinde 3. ve 5. günlerde, drenaj-lavajı takiben ve diz eklemi tamamen kapalıyken tek doz olarak ve her bir diz eklemi için 0.3 ml %1 (OsO_4) olarak uygulandı⁹. İntraartiküler 0.3 ml serum fizyolojik uygulanan kontrol grupları (Grup 1 ve 2) hariç, deney grupları 4 ana gruba ayrıldı:

Grup A: Enfekte edilmeyen grup (Grup 3 ve 4): Bu grupta 10 adet tavşanın, 1'er dizi kullanılmıştır ve ölüm nedeni bir kayıp olmamıştır. Bu gruptaki tavşanların diz eklemleri enfekte edilmeyip,

tavşanlara intraartiküler ozmik asit enjekte edilerek izlendi. Tavşanların yarısı 3. haftada kalan yarısı 5. haftada aşırı doz anestezi ile öldürülerek diz eklemleri çıkartılıp histolojik olarak incelendi. Bu grupta ozmik asidin normal eklem kıkırdağına etkisinin gözlenmesi amaçlandı.

Grup B: Antibiyotik + drenaj uygulanan grup (Grup 5 ve 6): Bu grupta 12 adet tavşanın, 11 adet dizi kullanılmıştır. 1 adet tavşan, septisemi nedeni ölmüştür. Bu gruptaki tavşanların diz eklemleri daha önce belirtilen yöntemle enfekte edilip, enfeksiyon üçüncü gün kültür ile doğrulandıktan sonra, anestezi altında diz eklemine aspirasyon yöntemiyle drenaj yapıldı ve eklem ringer laktat ile yıkandı. İzleme sonucu tavşanların yarısı 3. haftada diğer yarısı 5. haftada aşırı doz anestezi ile öldürülerek diz eklemleri histolojik inceleme için çıkartıldı.

Grup C: Antibiyotik + drenaj + 3. gün ozmik asit uygulanan grup (Grup 7 ve 9): Bu grupta 12 adet tavşanın, 8 adet dizi kullanılmıştır. 4 adet tavşan septisemi nedeni ölmüştür. Bu gruptaki tavşanların diz eklemleri enfekte edilip enfeksiyon doğrulandıktan sonra, 3. gün anestezi altında diz eklemine aspirasyonla drenaj ve ringer laktat ile lavaj yapıldı. Bu işlemi takiben eklem içine ozmik asit enjekte edildi. İzleme sonucu tavşanların yarısı 3. haftada diğer yarısı 5. haftada aşırı doz anestezi ile öldürülerek diz eklemleri histolojik olarak incelendi.

Grup D: Antibiyotik + drenaj + 5. gün ozmik asit uygulanan grup (Grup 8 ve 10): Bu gruptaki 12 adet tavşanın, 11 adet dizi kullanılmıştır. 1 adet tavşan septisemi nedeni ölmüştür. Bu gruptaki tavşanlara Grup C'den farklı olarak ozmik asit 5. gün uygulandı.

Çalışmaya 2 adet kontrol; 10 adet enfekte edilmeyen A ana grubu ve 12'şer adet enfekte edilen B,C ve D ana grupları olmak üzere; toplam 48 adet tavşan ile başlandı. Ancak bakteri inokülasyonu sonrası gelişen septisemi nedeni ile B grubundan 1 adet, C grubundan 4 adet ve D grubundan ise 1 adet olmak üzere; toplam 6 adet tavşan öldü. A grubu ve kontrol grubunda ise ölüm gözlenmedi. Deney gruplarında her bir tavşanın tek dizi kullanılırken; kontrol grubunda her iki diz de kullanıldı. 2 adet kontrol grubuna ait tavşanın 3 adet dizi; histolojik kondrosit sayısı standardizasyonu için, 1 adet dizi de enfeksiyon kontrolü için kullanıldı. Bu ön çalışmanın ardından, 6 adet kontrol tavşanı daha her iki dizi de kullanılmak üzere, deneye eklendi. Septisemi nedeni ölümler, gruplarda eşit sayıda denek sayısı olmasını önlemiştir.

Çalışmamızın grupları, Tablo I'de özetlenmiştir.

Tablo I
Deney Grupları, Yapılan Çalışmalar ve Deney Süreleri

Gruplar	Uygulamalar	Deney Süresi
Grup 1 (n=8)	Kontrol-İntraartiküler SF	3 hafta
Grup 2 (n=7)	Kontrol-İntraartiküler SF	5 hafta
Grup 3 (n=5)	OsO ₄ Kontrol-İntraartiküler OsO ₄	3 hafta
Grup 4 (n=5)	OsO ₄ Kontrol-İntraartiküler OsO ₄	5 hafta
Grup 5 (n=5)	Septik artrit + Drenaj ve antibiyotik tedavisi (klasik tedavi)	3 hafta
Grup 6 (n=6)	Septik artrit + Drenaj ve antibiyotik tedavisi (klasik tedavi)	5 hafta
Grup 7 (n=4)	Septik artrit + Drenaj ve antibiyotik tedavisi (klasik tedavi) 3. gün OsO ₄ uygulaması	3 hafta
Grup 8 (n=4)	Septik artrit + Drenaj ve antibiyotik tedavisi (klasik tedavi) 3. gün OsO ₄ uygulaması	5 hafta
Grup 9 (n=4)	Septik artrit + Drenaj ve antibiyotik tedavisi (klasik tedavi) 5. gün OsO ₄ uygulaması	3 hafta
Grup 10 (n=7)	Septik artrit + Drenaj ve antibiyotik tedavisi (klasik tedavi) 5. gün OsO ₄ uygulaması	5 hafta

Histolojik İnceleme: Çalışma bitiminde tavşanlardan çıkartılan diz eklemleri %10 formalinle tespit edilip, eşit miktar %45 formik asit ve %20 sodyum sitrat içinde 3-4 hafta süreyle dekalsifiye edildi. Dekalsifikasyon işlemi takiben yıkanıp, dereceli etanol solüsyonlarında uzun süreli dehidratasyon, ksilol yerine kloroform ile şeffaflandırma işlemlerinden geçirilerek paraplast plus bloklama yapıldı. Femoral kondil ve tibia eklem yüzlerinden alınan 5 mm'lik kesitler; Hematoksilin-Eozin, Fast green+Demirli Hematoksilin+Safranin-O'dan oluşan metakromatik boya modifikasyonlu Weigert'in Demirli Hematoksilini ile boyandı^{7,13}. Kıkırdak harabiyetinin belirlenmesinde Mankin'nin, Salter'ın yada Burkhardt'ın skorlama sistemleri kullanılabilir. Ancak deneysel planımızda yararlandığımız çalışmalar eklem yüzleri kıkırdak harabiyeti yönünden Salter'in histolojik puanlama yöntemini kullandıklarından ve sonuçta benzer kriterler olduğundan, beş ana parametreye göre Salter'ın kriterleri esas alındı^{7,14,15}. Histolojik çalışmalar Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında gerçekleştirildi.

Salter'in histolojik puanlama sistemi aşağıda belirtilmiştir:

A) Kıkırdak Hücre Sayısı

Normal hücre sayısı	(0)
<%10 hücre kaybı	(1)
%10-25 hücre kaybı	(2)
>%25 hücre kaybı	(3)

B) Yüzeysel Matriks Kaybı

Kayıp yok	(0)
<%10 yüzeysel kaybı	(1)
%10-25 yüzeysel kaybı	(2)
>%25 yüzeysel kaybı	(3)

C) Kondrositlerde Kümeleşme

Kümeleşme yok	(0)
<%10 kondrositte kümeleşme	(1)
%10-25 kondrositte kümeleşme	(2)
>%25 kondrositte kümeleşme	(3)

D) Yapışıklık-Pannus Oluşumu

Yapışıklık pannus oluşumu yok	(0)
Sadece kıkırdak kenarlarında	(1)
%50'den az yüzeyi kaplıyor	(2)
%50'den fazla yüzeyi kaplıyor	(3)

E) Safranin-O ile Ortokromazi Kaybı

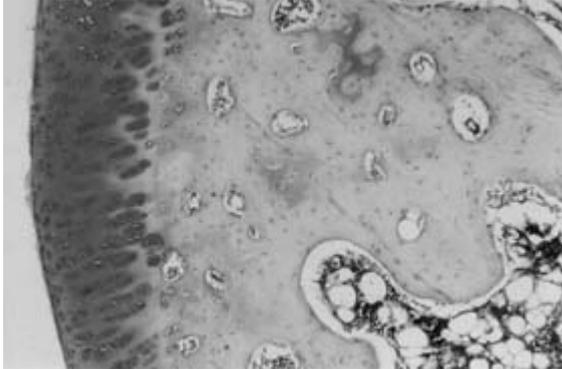
Normal ortokromazi	(0)
Önemsiz yama tarzı ortokromazi k.	(1)
Orta derecede ortokromazi kaybı	(2)
Ciddi ortokromazi kaybı	(3)

Her bir parametrenin ortalama puanları ile toplam kıkırdak yıkımını gösteren toplam ortalama puanları Kolmogorov-Smirnov Çift Örneklem Testi kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirildi.

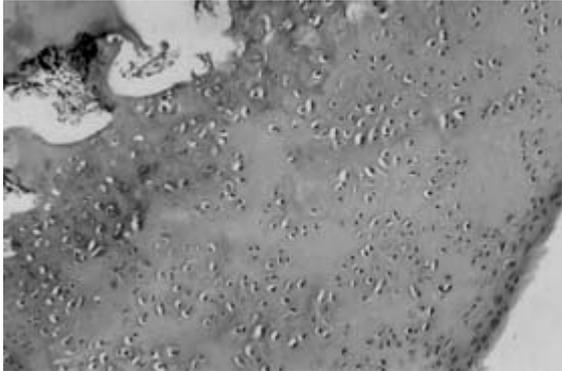
BULGULAR

Geç dönem iyileşmede sekeller bırakması nedeniyle, tedavisinde güçlükler gösteren septik artritte, bu problemlerin minimuma indirilebilmesi için erken tedavisinin önem kazanması sonucu;

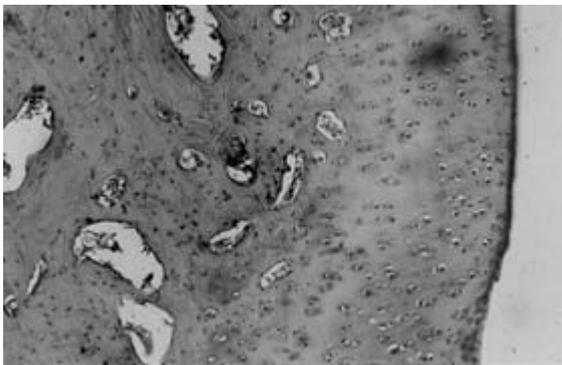
kimyasal sinovektominin de erken döneme çekilmesinin etkisini gözlemek için planladığımız çalışmada Tablo I'de özetlenen gruplara ait sonuçlar, kontrol grubu sonuçları ve birbirleri ile karşılaştırıldı. Histomikroskopik bulgular Resim 1, 2a-b, 3a-b-c-d, 4a-b, 5a-b'de gösterilmiştir.



Resim 1: Normal eklem yüzeyinde ortokromazi kaybı yok (0 puan). Kontrol grubu (Grup 1) femurundan alınan kesit. Kümeleşme göstermeyen normal hücre sayısı ve pannus gözlenmeyen, kayıpsız yüzeyel matriks. Safranin-O X 33.

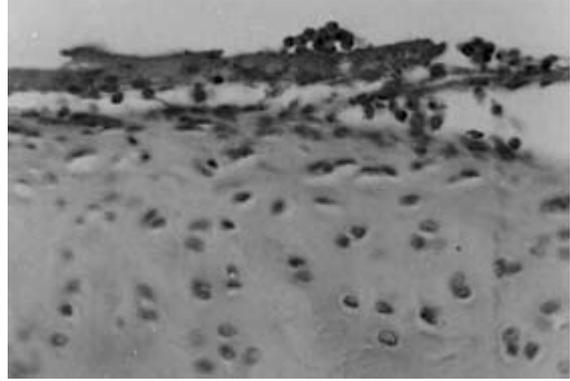


Resim 2a: Önemsiz yama tarzı ortokromazi kaybı (GAG kaybı için 1 puan). Ozmik asit 3. hafta (Grup 3) tibiasından alınan kesit. Kümeleşme göstermeyen ancak hücre kaybı gözlenen eklem yüzeyi. Safranin-O X 33.



Resim 2b: Aynı grup femurundan alınan kesitte, benzer bulgular. Safranin-O X 33.

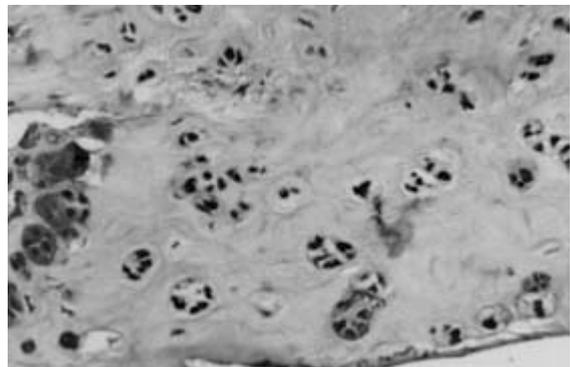
Elde edilen ortalama toplam hasar bulguları, tibia ve femur için ayrı ayrı Tablo II'de görülmektedir. Söz konusu değişikliklere ek olarak, tüm grubu kapsamayacak şekilde sporadik gözlenen bulguların dağılımı ise Tablo III'te gösterilmiştir. Bu sporadik bulgular aşağıdaki şekildedir:



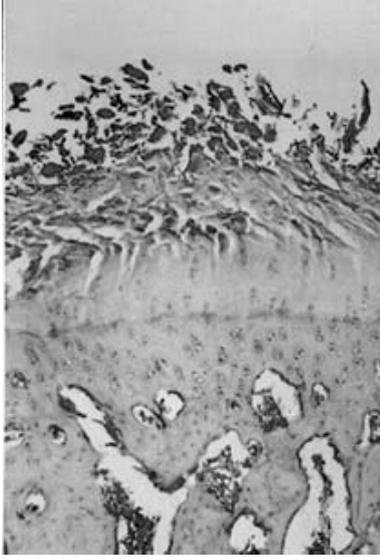
Resim 3a: Septik artritte eklem yüzeyinde 3. haftada (Grup 5) PMNL içeren ve tüm yüzeyi kaplayan pannus oluşumu (3 puan)'na karşılık, henüz yüzeyel matriks kaybının olmadığına (0 puan) dair bulgular. H-E X 132.



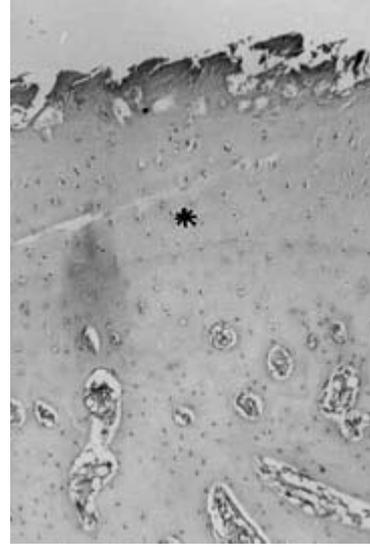
Resim 3b: Aynı uygulamanın 5. haftada (Grup 6) ilerleyen reaksiyonlarla %25'ten fazla hücre, yüzey kaybı (3 puan) ve %50'den fazla yüzeyi kaplayan pannus oluşumuna neden olduğu (3 puan)'na dair bulgular. H-E X 33.



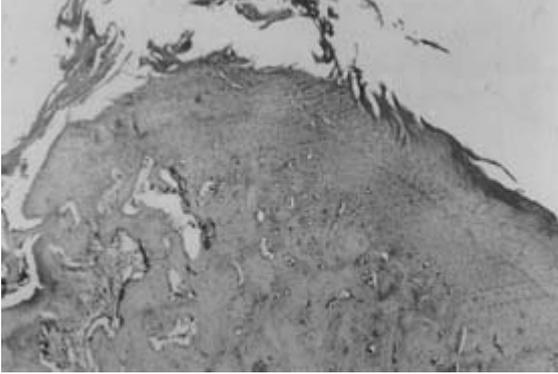
Resim 3c: %25'ten fazla kondrositte kümeleşme (3 puan) ve ciddi ortokromazi kaybı olduğunu (3 puan) gösteren eklem yüzeyi (Grup 6). Safranin-O X 66.



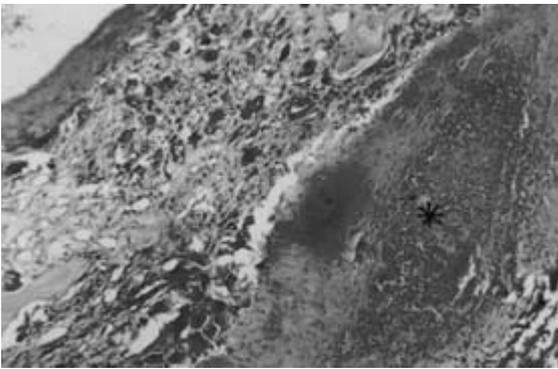
Resim 3d: Açıkta kalıp ileride basınca direkt maruz kalacak kollajenler (Grup 6). H-E X 33.



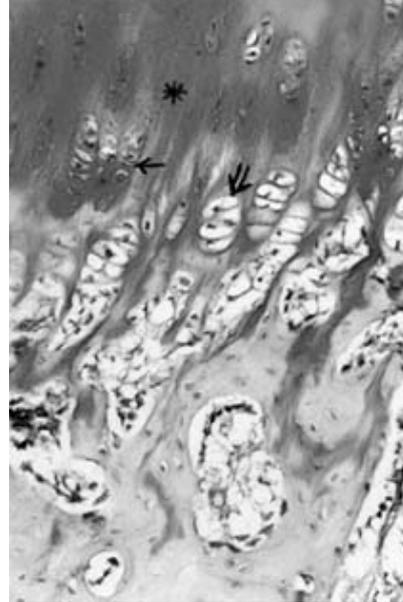
Resim 5a: Septik artritte 3. haftada gözlenen yüzeyel kayıptan fazla (1 puan), ancak 3. gün OsO₄ uygulamasına göre düşük puanlı (1 puan) ve ciddi GAG kaybına rağmen (3 puan), yıkımı tamir edecek kondrositlerin rezerve kaldığı (*) yüzeyel haraplanma gözlenen 5. gün OsO₄ uygulamasında (Grup 9) 3. hafta eklem kırıkdağı. Safranin-O X 33.



Resim 4a: Tedaviye 3. günde OsO₄ ile sinovektomi eklenmesi ile (Grup 7), 3. haftada gözlenen kayıptan fazla bir yüzeyel kayıp olduğu (3 puan), ancak PMNL içeren pannusun sadece kırıkdağ kenarlarında bulunması nedeniyle (1 puan), geç dönem yıkımına predispozisyonun azaldığına dair bulgular. H-E X 13.2.



Resim 4b: Buna karşılık Grup 7'de sporadik de olsa artan sekonder enfeksiyona predispozisyon. Apse odağı içeren (*) osteomyelit. H-E X 33.



Resim 5b: 5. gün OsO₄ uygulaması ile geç dönemde (Grup 10) tamiratın daha iyi olabildiğini gösteren, GAG kaybının olmadığı (*), normal ortokromazi (0 puan) ve düzgün proliferasyonlu (®) ve hipertrofik kondrositler (Ş). Safranin-O X 66.

SF uygulaması ve OsO₄ uygulamasının 3 haftalık grubunda bir değişiklik gözlenmezken, OsO₄ uygulamasının 5 hafta sonraki incelemesinde hafif artrit, kondrofit, geçirilmiş myelit ve kronik tendinit görüldü.

Tablo II
**Salter'in Kriterlerine Göre Değerlendirilen
 Tibia ve Femur Eklem Yüzeylerinin
 Ortalama Hasar Skorlarının
 Gruplara Göre Dağılımı**

Gruplar	Femur X Ortalama	Tibia X Ortalama
Grup 1	0.125	1
Grup 2	1.6	2
Grup 3	3	2
Grup 4	2.6	1.4
Grup 5	5	3
Grup 6	7.8	8.3
Grup 7	11	7.6
Grup 8	5	4
Grup 9	5	5
Grup 10	3.7	3.8

(Fx ort: 1<2 <4 <3 <10 <5, 8, 9 <<7).

(Tx ort: 1 <4 <2, 3 <5 <10 <8 <9 <7 <6).

Sonuçta, tibia ve femur için ayrı ayrı elde edilen bulgular şu şekilde özetlenmiştir:

Tibia için;

1. İntraartiküler SF-3 hafta ve İntraartiküler OsO₄-3 hafta (Resim 2a) grupları arasında kondrosit sayısı açısından, istatistiksel önemi olan fark bulundu (p<0.05).

2. SA+KT-3 hafta (Resim 3a) ve SA+KT+3. gün OsO₄-3 hafta grupları arasında hücreler arası matrikste ortokromazi kaybı, pannus oluşumu, yüzeyel matriks kaybı ve toplam skor açısından; istatistiksel önemi olan fark vardı (p<0.05).

3. SA+KT-5 hafta ve SA+KT+5.gün OsO₄-5 hafta (Resim 5b) grupları arasında toplam skor açısından istatistiksel önemi olan fark bulundu (p<0.05).

Tablo III
Histolojik Bulguların Deneklere Göre Dağılımı

Gruplar	Denek	Bulgular							
		Hafif Artrit	Artrit	Süpüratif Artrit	Süpüratif Pannus	Eklem Kapsülünde Konjesyon	Kondrofit	Osteomyelit/Sınırlı Süpüratif Odaklar	Tendinit/Kalsifikasyon
Grup1	Tüm denekler								
Grup 2	Tüm denekler								
Grup 3	Tüm denekler								
Grup 4	2 denek	√					√	√	√
Grup 5	2 denek	√	√					√	
Grup 6	3 denek			√			√	√	
Grup 7	3 denek			√	√		√	√	
Grup 8	1 denek			√	√				
Grup 9	4 denek	√	√						
Grup 10	3 denek		√			√		√	

SA+KT-3 haftada hafif artrit, artrit ve osteomyelit görülürken, SA+KT-5 haftada süpüratif artrit, kondrofit ve osteomyelit görüldü.

SA+KT+3.gün OsO₄-3 haftada süpüratif artrit, osteomyelit, tendinit, tendonda kalsifikasyon ve süpüratif pannus görülürken; SA+KT+3. gün OsO₄-5 haftada yalnızca süpüratif artrit ve süpüratif pannus oluştu.

SA+KT+5. gün OsO₄-3 haftada hafif artrit ve artrit görülürken; SA+KT+5. gün OsO₄-5 haftada artrit, küçük apseler şeklinde sınırlanmış spuratif odaklar, eklem kapsülünde aseptik aktif hiperemi ve minimum ekstrasvazyon görüldü.

Femur için;

4. İntraartiküler SF-3 hafta (Resim 1) ve İntraartiküler OsO₄-3 hafta (Resim 2b) grupları arasında kondrosit sayısı açısından (p<0.05) ve toplam skor açısından (p<0.01) istatistiksel önemi olan fark vardı.

5. SA+KT-3 hafta ve SA+KT+3. gün OsO₄-3 hafta (Resim 4a) grupları arasında yüzeyel matriks kaybı ve toplam skor açısından; istatistiksel önemi olan fark bulundu (p<0.05). Kontrol ve deney gruplarıyla ilgili her bir parametrenin gösterdiği farklılıkların istatistiksel olarak önemi Tablo IV'de ve Tablo V'de özetlenmiştir.

Tablo IV

Tibia için Salter'in Kriterlerine Göre Değerlendirilen Bulguların Karşılaştırmalı İstatistiksel Sonuçları (Kolmogorov-Smirnov 2-Sample Test)

Aralarında Karşılaştırma Yapılan Gruplar	Kondrosit Kümeleşmesi	Kondrosit Sayısı	Ortokromazi Kaybı	Pannus	Yüzeyel Matriks Kaybı	Toplam
Grup 1 ile 2	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
Grup 3 ile 4	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
Grup 5 ile 6	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
Grup 7 ile 8	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
Grup 9 ile 10	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
Grup 1 ile 3	P > 0.05	P < 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
Grup 2 ile 4	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
Grup 5 ile 7	P > 0.05	P > 0.05	P < 0.05	P < 0.05	P < 0.05	P < 0.05
Grup 5 ile 9	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
Grup 6 ile 8	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
Grup 6 ile 10	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P < 0.05
Grup 7 ile 9	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
Grup 8 ile 10	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05

Tablo V

Femur için Salter'in Kriterlerine Göre Değerlendirilen Bulguların Karşılaştırmalı İstatistiksel Sonuçları (Kolmogorov-Smirnov 2-Sample Test)

Aralarında Karşılaştırma Yapılan Gruplar	Kondrosit Kümeleşmesi	Kondrosit Sayısı	Ortokromazi Kaybı	Pannus	Yüzeyel Matriks Kaybı	Toplam
Grup 1 ile 2	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
Grup 3 ile 4	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
Grup 5 ile 6	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
Grup 7 ile 8	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
Grup 9 ile 10	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
Grup 1 ile 3	P > 0.05	P < 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P < 0.01
Grup 2 ile 4	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
Grup 5 ile 7	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P < 0.05	P < 0.05
Grup 5 ile 9	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
Grup 6 ile 8	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
Grup 6 ile 10	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
Grup 7 ile 9	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05
Grup 8 ile 10	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05

TARTIŞMA

Septik artrit; eklem hasarı ve fonksiyon kaybına neden olan; tedavide güçlükler gösteren bir sorun olup, antibiyotik uygulaması ve drenaja sinovektominin eklenmesi ile umut verici sonuçlar alınmaya başlanmıştır⁵⁻⁷.

Ozmik asit, kimyasal sinovektomide kullanılan sklerozan bir ajandır⁸⁻¹¹. Ancak kullanımına yönelik bilgiler geç dönemlere ait olup, erken dönem kullanımına dair çalışmalar bulunmamaktadır.

Oysa, sinovektomi ile ilgili çalışmalar 6. günden sonra yani geç dönemde tedaviye eklenen sinovektominin, kırıldak harabiyetini önleyemediğini göstermekte, enfeksiyon ve proteolitik enzim kaynağı olan sinovyanın erken dönemde çıkarılması ile drenaj ve antibiyotik tedavisine katkıda bulunabileceği önerilmektedir³.

Septik artrit erken döneminde, antibiyotik ve iğne aspirasyonu yanısıra ozmik asit ile kimyasal sinovektomi yapılmasının, kırıldak harabiyetini

önlemede tedaviye katkısını araştırmak için planlanan çalışmamızda; gerek mikrobiyolojik gerekse histolojik bulgular, deneysel septik artritin oluşturulabildiğini ve bunun tavşandaki kıkırdak harabiyetini gösteriyordu.

Bilindiği gibi eklem içi basınç artışı ve enzimatik yıkım, eklem kıkırdak harabiyetinden sorumlu tutulan temel etkenlerdir. Eklem kıkırdak harabiyetine neden olan enzimler özetle pü içinde birikmiş olan PMNL, kıkırdak ve sinoviyumdan serbestleşen lizozomal enzimler ve Staphylococcus aureus'un ürettiği ekstrasellüler proteolitik enzimlerdir. Sinoviyal dokuda lizozomların bulunduğu ve bunların diğer lizozomların bütün özelliklerine ve enzim içeriğine sahip olduğu, patolojik durumlarda lizozom sayısının ve enzim aktivite düzeylerinin arttığı gösterilmiştir. Erken antibiyotik uygulaması ve drenajla birlikte lavajın eklem içi basıncı azaltmada ve eklemi temizlemedeki rolü büyüktür. Ancak bunlara rağmen eklemde sekonder değişikliklerin ortaya çıktığı bilinmektedir. Yani bu uygulama sadece eklem içi basıncı ortadan kaldırıp, PMNL kaynaklı enzimleri ve Staphylococcus aureus'un ürettiği proteolitik enzimleri etkisiz hale getirmektedir. Deneysel olarak da yalnız başına antibiyotik uygulamasının eklem kıkırdak harabiyetini önlemede yetersiz kaldığı, sadece erken uygulamanın kıkırdak harabiyet oranını biraz düşürdüğü saptanmıştır. Antibiyotik uygulaması ile birlikte iğne aspirasyonunun ise kıkırdak harabiyetini önlemediği, ancak geciktirdiği bildirilmiştir. Nitekim çalışmamızda septik artrit ile başlayan yıkıcı mekanizmaların giderek ilerlediği, Resim 3a ve 3b, c karşılaştırmasında gözlenebilmektedir. Bu ileri yıkımda, 5. haftada yüzeysel ve intersellüler matriksin tümüyle yıkıldığı ve eklem basıncına direkt maruz kalacak kollajenin açıkta kaldığını (Resim 3d) gözledik. Bu bulgularımız PMNL ve sinovial membran kaynaklı kollejenaz ile proteoglikan degradasyonu ve kollejenolitik aktivasyon sonucu; eklem hareketi ile oluşan mekanik etkiye, kollajenin duyarlı hale gelmesini kıkırdak yıkımı için esas gören çalışmacıları, yıkımının fizyopatolojisini ortaya koymak yönünden desteklemektedir¹⁵⁻¹⁷.

Ayrıca klasik tedaviye rağmen, 3. ve 5. haftada tavşan için geç dönemde, kıkırdak harabiyetinin arttığını gösteren bulgularımız; geç dönem sekellerinden, zanlı sinovial membranın sorumlu olduğunu gösteriyordu. Bu durumda sonuçlarımız eklem içinde canlı mikroorganizma bırakmayarak, kıkırdak harabiyetinden sorumlu lizozomal enzimlerin inhibe edilmesi ya da bu enzimlerin sentezinin ve sekresyonunun kontrol edilmesi gerektiğini ileri süren çalışmalarını desteklemektedir^{1,18-23}.

Bu bilgiler ışığında ozmik asit ile erken dönem sinovektominin, kıkırdak yıkımını tibiada gerek 3. gerekse 5. hafta sonuçlarında, femurda ise 3. hafta sonucunda istatistiksel önemi olan bir farklılıkla önlemesi; septik artrit ile ilerleyici sakatlıkların bakterilerce tetiklenen ancak enzimlerle sürekliliği kılınan olaylar zincirini destekler niteliktedir. Bu sonuçlar, kimyasal sinovektominin operatif sinovektomiye göre daha başarılı sonuçlar vermesinin nedenine de açıklık getirmektedir. Subtotal sinovektomi yapılan Yeni Zelanda tavşanlarının diz eklemlerinde, sinovial membranın 60 günde yenilenebildiği ve kıkırdak matriks metakromazisinin 45 gün sonra düzelebildiği gösterilmiştir²⁴. Çalışmalar septik proses ile başlayan, ancak enzimatik ve immunolojik prosesle devam eden yıkımı, gerek antibiyotik gerekse drenaj ve lavaj tedavisinin önleyememesini; hasarlı kondrositlerin matriks ve kollajeni yenileyememelerine örneğin; cerrahi lavajın kollajen kaybını geciktirse de, tümüyle koruyamamasına bağlamaktadırlar. Enfeksiyon sinovial membranda lokalize olduğundan, drenaj ve lavajın yetersiz kalması nedeniyle gerekli görülen sinovektominin ise; erken dönemde yapılması gereği gösterilmektedir. Örneğin proteoglikan kaybının ilk 48 saat içinde %40 olması nedeniyle, septik artrit operatif sinovektominin bile, semptomlar başladıktan 24-48 saat sonra yapılması önerilmektedir^{2,5,6,20}. Bu süre en geç 1 hafta olarak bildirilmektedir²⁵. Bakteri inokülasyonundan sonra, 5-7 gün sonra uygulanan operatif sinovektominin, operasyonsuz iyileşmeden farklı olmadığını gösteren sonuçlar⁷, kimyasal sinovektomi ile gerek femur gerekse tibiada 3. haftada, yalnız tibiada ise 3. ve 5. haftada yüzeysel ve/veya intrasellüler matriks kaybı yanısıra, toplam hasarın istatistiksel önemi olan bir farklılık gösteren sonuçlarımızla karşılaştırıldığında; sinovektominin kimyasal yapılmasının yararını göstermektedir. Nitekim deneysel olarak tavşanlarda artrotomi ile yapılan sinovektominin enfekte olmayan diz eklemlerinde bile minimal kıkırdak kaybına neden olduğu görülmüş, bunun operatif travmaya ve immobilizasyona bağlı olabileceği düşünülmüştür^{5,7}. Ayrıca artrotomi ile yapılan sinovektomide cerrahın becerisine bağlı olarak eklem ulaşılabilen bazı bölgelerinde, özellikle de sakroiliak eklem gibi derin eklemlerde sinoviyal doku kalma olasılığı vardır²². Genel olarak erken dönemde (3. gün) yapılan sinovektominin geç dönemde yapılanlara göre kıkırdak harabiyetini önlemede daha etkin olduğu bildirilmiştir^{7,22}.

Çalışmamızda kullanılan ozmik asidin normal kıkırdak üzerine etkisi tartışmalı olmakla birlikte

bunun doza bağımlı olduğu gösterilmiştir^{9,11}. Taramalı elektron mikroskop sonuçları, OsO₄ ile yüzeyel kondrosit nekrozu olduğunu, ancak insanda 1-3.5 ay sonra bu hasarın düzeldiğini göstermektedir⁹. Çalışmamızda kontrol grubu ve OsO₄'ün özellikle kondrosit sayısı açısından istatistiksel önemi de olan bir farklılık gösteren sonuçları, bu görüşü desteklemektedir. Ancak kontrol grubunda da, istatistiksel önemi olmasa da 3. haftada daha düşük, ileri döneme uyan 5. haftada ise artan total kıkırdak harabiyetine ilgili bulgularımız, özellikle de basınçla daha fazla karşılaşan tibiada yarı yarıya olan bu ilerleyiş, ozmik asidin direkt kondrotoksik etkisinden çok, 0.3 ml olsa da intraartiküler basınç artışına ilgili görünmektedir. Ancak tavşan dizleri ve uygulanan süre için; gerek romatoid sinovitte gerekse geç enflamatuvar fenomenlerde, ozmik asidin tercih edilen yardımcı lokal tedavi edici etkisi ve bunu ozmik asidin kimyasal sinovektomi yanısıra bakterisid oluşuna da ilgili gören sonuçlarla birlikte değerlendirilmelidir^{8,10,11}. Bu bilgiler, geç dönem geri dönüşümsüz hücresel ve matriks kıkırdak yıkımının gözlenmediğini gösteren (Resim 3d ve 5a-b) bulgularımızla birlikte değerlendirildiğinde, erken dönemde ancak tavşan için en az 5. günden itibaren kullanımının yararını göstermektedir. İnsan diz eklemine en yakın anatomisi nedeniyle tercih edilen tavşanın^{14,15} insan septik artritide örtüşen günleri ise, ileri çalışmalar ile ortaya konup; erken dönem kimyasal sinovektomi için, sekonder komplikasyonları provoke etmeyecek ancak geç de kalınmayacak etkili tedavi günleri saptanmalıdır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Osmangazi Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- Kelly PJ, Martin WJ, Coventry MB. Bacterial (Suppurative) arthritis in the adult. *J. Bone Joint Surg* 1970; 52 A: 1595-602.
- Smith RL, Schurman DJ. Bacterial arthritis. *Astaphylococcal proteoglycan-releasing factor. Arthritis and Rheumatism* 1986; 11: 1378-1386.
- Gürün M, Bilgen ÖF, Gedikoğlu Ö, Aydın U. Deneysel septik artritide geç dönemdeki tedavi yöntemlerinin sonuçları. *Acta Orthop Traumatol Turc* 1993; 27: 265-268.
- Paterson DC. Acute suppurative arthritis in infancy and child-hood. *J. Bone Joint Surg.* 1970; 52-B: 474-82.
- Riegels-Nielsen P, Jensen JS. Septic arthritis of the knee. *Acta Orthop Scand* 1984; 55: 657-659.
- Törholm C, Hedström SA, Lidgren L. Synovectomy in bacterial arthritis. *Acta Orthop Scand* 1983; 54: 748-753.
- Riegels-Nielsen P, Frimodt-Moller N, Sorensen M, Jensen JS. Synovectomy for septic arthritis. *Acta Orthop Scand* 1991; 62: 315-318.
- Sheppard H, Aldin A, Ward DJ. Osmic acid versus yttrium 90 in rheumatoid synovitis of the knee. *Scand J Rheumatology* 1981; 10: 234-236.
- Niculescu U, Tomescu E, Ionescu C, et al. Ultrastructural changes in cartilage after intra-articular administration of osmium tetroxide and the sodium salts of fish oil fatty acids (Varicocid). *Scand J Rheumatology* 1976; 5 133: 133-140.
- Jarvinen P, von Essen R, Nissila M. Intraarticular osmic acid in postinfectious arthritis persisting after treated bacterial arthritis. *The Journal of Rheumatology* 1990; 17-12: 1704-6.
- Deproges-Gotteron R., Labrousse C, Treves R., Dibon J, M, Clement A, Pitrou E. Les synoviortheses a l'acide osmique dans les infections osteoarticulaires non tuberculeuses. *Rev Rhum Mal Osteoartic* 1981; 48: 201-203.
- Riegels-Nielsen P, Frimodt-Moller N, Sorensen M, Jensen JS. Antibiotic treatment insufficient for established septic arthritis. *Acta Orthop. Scand* 1989; 60-1: 113-115.
- Smith A, Bruton J. *Histological Staining Techniques.* Wolfe Medical Publication. London: 1977.
- Riegels-Nielsen P, Frimodt-Möller N, Jensen JS. Rabbit model of septic arthritis. *Acta Orthop Scand* 1987; 58: 14-19.
- Salter RB, Bell RS, Keely FW. The protective effect of continuous passive motion on living articular cartilage in acute septic arthritis: An experimental investigation in the rabbit. *Clin Orthop* 1981; 159: 223-246.
- Ehrlich MG, Armstrong AL, Treadwell BV, Mankin HJ. Degradative enzyme systems in cartilage. *Clin Orthop and Rel Res* 1986; 213: 62-68.
- Harris ED, Parker HG, Radin EL, Krane M. Effects of proteolytic enzymes on structural and mechanical properties of cartilage. *Arthritis and Rheumatism* 1972; 15-15: 497-503.
- Dingle JT. The role of lysosomal enzymes in skeletal tissues. *J Bone Joint Surg* 1973; 55-B: 87-95.
- Smith RL, Schuman DJ, Kajiyama BA, Mell M, Gilkerson E. The effect of antibiotics on the destruction of cartilage in experimental infectious arthritis. *J Bone Joint Surg* 1987; 69-A: 1063-1068.
- Daniel D, Akeson W, Amiel D, Ryder M, Boyer J. Lavage of septic joints in rabbits: Effects of chondrolysis. *J Bone Joint Surg* 1976; 58-A: 393-395.
- Ivey M, Clark R. Arthroscopic debridement of the knee for septic arthritis. *Clin Orthop* 1985; 199: 201-206.
- Esterhai JL, Gelb I. Adult septic arthritis. *Orthopedic Infection* 1991; 22-3: 503-514.
- Taşkıran D, Taşkıran E, Özsoy H, Lök V. Effects of surgical trauma on articular cartilage. *Tr J of Medical Sciences* 1999; 29: 177-180.
- Mitchell SN, Cruon RL. The effect of synovectomy in articular cartilage. *J Bone Joint Surg* 1967; 99-A-6: 1099-108.
- Goldenberg DL, Brandt KD, Cohen AS, Cathcart ES. Treatment of septic arthritis. Comparison of needle aspiration and surgery as initial modes of joint drainage. *Arthritis and Rheumatism* 1975; 18-1: 83-90.