

**FARE DİZ VE DİRSEK EKLEMLERİ SİNOVİAL MEMBRANLARINDAKİ
A VE B HÜCRELERİNİN YAŞA GÖRE HİSTOKİMYASAL YÖNTEMLERLE
IŞIK MİKROSKOBİ DÜZEYİNDE İNCELENMESİ xx**

Dr. İrfan ERDEMLİ (x)

ÖZET :

Bu çalışmada 10 adet gebe fare kullanıldı. Farelerden 16.18 günlerinde elde edilen fötüslerin diz ve dirsek eklemleri alındı. Bu eklemlerin prenatal ve patolojik gelişimleri histolojik ve histokimyasal yöntemlerle ışık mikroskopik düzeyde incelendi. Fötal evrenin 16.ncı gününde fötüslerin diz ve dirsek eklemleri mezenşimal hücrelerle örtülmüştü. 18. günlük fötüs eklemlerindeki sinovial boşluk ve sinovial membran taslağının gelişimi biraz daha ileri safhada idi. Postnatal yaşamda giderek sinovial membranın matür yapısı ile A ve B hücrelerinin gelişimi izlendi. Erişkin sinovial membranın A ve B hücrelerinin salgılama fonksiyonunu belirleyen granüler yapılar gözlemlendi ve görevi tartışıldı.

GİRİŞ :

Memeli eklemlerindeki sinovial membranın yapısı ve genel kompozisyonu günümüze kadar bir çok araştırma ve tartışmanın konusu olmuştur.

İlk çalışmalar Hucter (1743) Bichat (1801) ile başlamıştır. (13) Langer ve Huth (1960) sinovial membranın daha derinde bulunan bağ dokusundan, bir bazal membran ile ayrılan ve birbirine bitişik bir hücre tabakası ile örtülü olduğunu bildirmişlerdir. (14)

Nirohata ve Kobayashi (1964), Wyllie ve arkadaşları (1964), Groth (1975), Fell ve Glauert (1976) B hücrelerinin tanımını yapmışlar. Sonra bu çalışmalara ilave olarak bir çok araştırmacı A ve B hücreleri arasında ilişkiler olduğuna dikkati

x- Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Bilim Dalı Öğretim Üyesi

xx- Doçentlik tezinin kısaltılmış şeklidir ve Atatürk Üniversitesi Genel Tıp Kongresinde tebliğ edilmiştir(1986)

çekmişler, B hücrelerini fibroblastlardan kesin olarak ayıramamışlardır. B hücrelerinin sinovial membranın spesifik salgı yapan hücresi olup olmadığını açık bir şekilde belirtememişler. (2,7,13)

Sinovial membran üzerinde, fonksiyonel önemi nedeni ile devamlı çalışılmıştır. Sinovial membran, eklem kıkırdığı için besleyici bir ortamdır. Bu olayda metabolik sinovial örtü tabakasının çeşitli hücreleri, hücreler arası matriks, kan ve lenf damarlarının düzenleri ve sayıları bakımından özel bir yapıya sahip olan subsinovialis gibi tüm yapı elemanları rol alır. (13) Işık mikroskopik düzeyde yapılan bu çalışma ile amacımıza yönelik olarak farelerin sinovial membranının gelişmesi ve yapısı üzerine, değişik histokimyasal yöntemler uygulamak oldu. Fötal ve postnatal evrelerde farelerin diz ve dirsek eklemlerindeki sinovial membran ve membranda salgı yapan B hücrelerinin zamana göre gösterdikleri özellikleri ışık mikroskobu düzeyinde göstermeye çalıştık.

MATERYAL METOD :

Bu çalışmada 15 adet dişi ve 15 adet erkek fare kullanıldı. Fekondasyon ve embriyolojik gelişmeleri sağlanarak takip edilen dişi farelerden smear alınarak gebelik günleri tespit edildi. Gebeliğin fötal döneminde 16 ve 18. günlük fötüstan ve doğumdan sonra 20,30,40,50 günlük yavrulardan diz ve dirsek eklemleri alındı.

Parçalar formalin ve EDTA da fikse ve dekalsifiye edildikten sonra rutin takip işlemi yapıldı ve parafin bloklar elde edildi. Bu bloklardan 3-5 mikron kalınlığında kesitler alındı. Histomorfolojik farklılıkların belirlenmesi amacı ile Hematoksilen-Eosin (1) boyası, Histoşimik modifikasyonların (glikoprotein ve asit mukopolisakkarid) belirlenmesi için Toluidin Blue (4) Aleion Blue (6) PAS (10) boya yöntemleri uygulandı.(6)

BULGULAR :

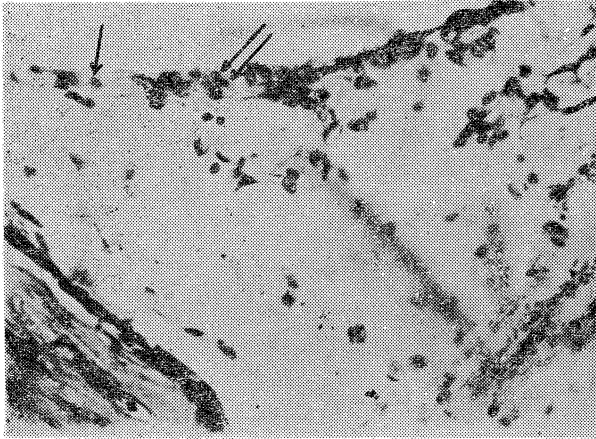
Preparatlarımızda saptamayı amaçladığımız sinovial membranın embriyolojik gelişimi belirgin olarak izlenebildi. Prenatal fötal dönemde 16 günlük fötüste diz ve dirsek eklemlerindeki kıkırdak modellerde bir kemikleşme gözlenmedi. Eklem yüzeyinde sinovia henüz gelişmemişti. İki taraflı kemik taslakları kıkırdak ile kuşatılmıştı. Bu dönemde sinovianın gelişeceği bölgeler iki kondrojenik tabaka arasında, sinovial boşluk, ince aralıklar şeklinde idi. Boşluk yüzeyi mezenşim şim hücrelerine oranla, oldukça yassı hücrelerle kesintili olarak kuşatılmıştı. Bu artiküler ara bölge primitif bir aralıktı. Fötal evrenin 18.nci gününde diz ve dirsek eklemlerinde daha ileri bir gelişim gözleniyordu. Primitif aralık Toluidin ile matokromatik boyanmış bir materyal ile dolu idi. Bu aralıkta mezenşimal hücrelerde bulunuyordu. (Resim: 1)



Resim: 1- Fötal evrenin 18 ci gününde dirsek eklemi; Artiküler ara bölgede kapillerler bo miktarda mezenşimal doku vardı. Eklem boşluğu metakromatikboyanmış meteryal ile dolu idi (Toluidin Blne Boyası 200x).

POSTANAL DÖNEM: Materyal olarak aldığımız diz ve dirsek eklemlerinde morfolojik olarak herhangi bir farklılık gözleyemediğimiz için bulgularımızı dirsek ekleminde izledik.

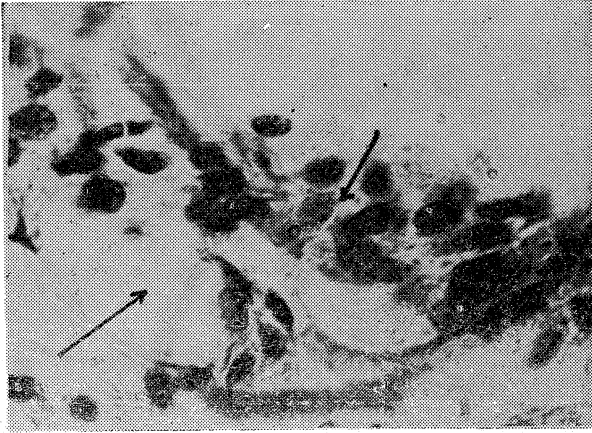
Dirsek Eklemi ; Hematoksilen-Eosin Boyası: 20 günlük farede; Sinovial boşluğu döşeyen hücrelerde ve altındaki bağ dokusunda yapı, prenatal döneme oranla oldukça değişti. Prenatal dönemde sinovial boşluğu yer yer kuşatan hücrelerin yerinde bazen 1 bazen 2 veya daha fazla sıralı bir hücre katı izleniyordu. Bu hücrelerin bazıları mekik şeklinde gözlenirken bazıları iri ve toparlak yapıdaydı. (Resim: 2) Sinovial membranın A ve B hücreleri ayrılabilirdi. Ancak bu hücre katı altında yer alan doku henüz gelişmiş bir bağ dokusu yapısında değildi. Daha çok yıldız şeklindeki hücrelerden ve aralarında prekollagen liflerden (oluşmuş embriyonal (müköz) bağ dokusuna benziyordu.



Resim: 2- 20 Günlük farede dirsek eklemi Sinovial membranı; A hücresi (çift ok) B hücresi (tek ok), ayrılıyordu Altındaki doku henüz gelişmiş bağ dokusu initeliginde değildi. (Hematoksilen-Eozin boyası 400x).

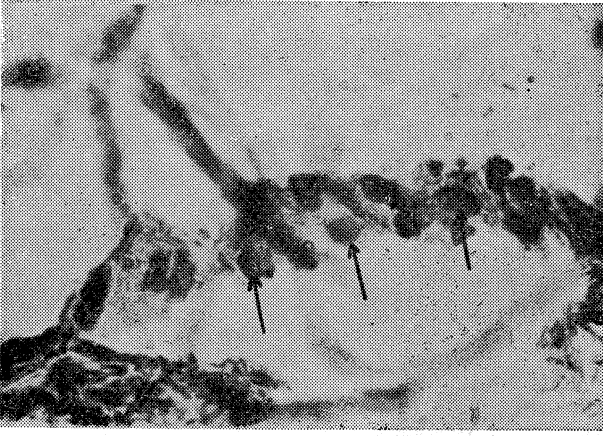
Dirsek eklemi; PAS Boyası: Sinovial membranın intima tabakası 1-3 sıra hücreden oluşmuştu. Bu hücreler A ve B hücreleri idi. Bu hücreler bu boya ile negatif reaksiyon verdi. Sitoplazmalarında her hangi br granüler yapı gözlenmedi.

30 GÜNLÜK FARE GURUBU : Dirsek Eklemi; Toluidin Blue Boyası: Sinovial membranın eklem boşluğuna bakan ve ekzeri 3 sıradan oluşan yüzeyel intima tabakasındaki hücreler bir tabaka oluşturuyordu. Makrofaj benzeri B hücrelerinin sayısı artarken, altındaki bağ dokusunda fibroblast lenfesit ve yağ hücreleri ile tipik bağ dokusu yapısında görülüyordu. Uygulanan metakromatik reaksiyon ile mastositler belirgin olarak seçiliyordu. (Resim: 3)



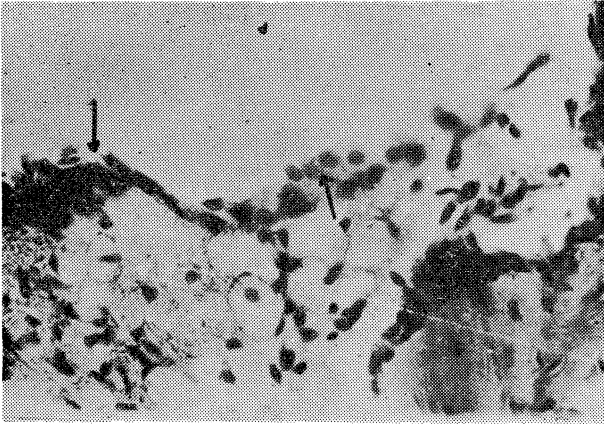
Resim: 3- 30 günlük farede dirsek eklemi şinovial membranı; 2-3 sıra hücre (üst ok) A hücrelei (alt ok) B hücreleri ve altındaki dokuda tipik bağ dokusu yapısında gözleniyordu. (Toluidin Blue Boyası 500x).

40 GÜNLÜK FARE GURUBU : Dirsek Eklemi; PAS Boyası: Sinovial membranın eklem boşluğuna bakan yüzeyel intima dōşeyici hücreler yer yer 1 veya 2 hücre sırasından oluşmuştu. A ve B hücreleri hücre çekirdeklerinin şekli ve B hücrelerinin sitoplazmalarının PAS ile zayıf reaksiyon vermeleri ile A ve B hücreleri birbirinden ayrılıyordu. A hücreleri kesintisiz yüzeyel örtü oluşturuyordu B hücreleri A hücrelerinin altında yuvarlak çekirdekli ve hücre hudutları belli olmayan bir durumdaydı. Subintima tam olarak ayırtedilmedi. Stroma histoyosit, fibrosit ve yağ hücrelerinden oluşuyordu. (Resim: 4)



Resim: 4- 40-Günlük farede Dirsek eklemi; sinovial membranı; B hücreleri PAS boyası ilefok zayıf reaksiyon veriyordu (alt oklar) (PAS boyası 1000x)

50 GÜNLÜK FARE GURUBU : Dirsek Eklemi: Hematoksilen-Eosin Boyası: Sinovial membranın eklem boşluğuna bakan yüzeyel intimal hücreleri 2-3 hücre sırasından oluşmuştu. İkinci sıradaki hücrelerin çekirdekleri ovaldı ve sayı bakımından yüzeyel hücrelerden daha azdı. Bunlar B hücreleri olarak tanımlandı. Yüzeyel örtü önceki guruplara oranla oldukça kalındı. Altındaki bağ dokusunda yağ hücreleri yoğun bir durumdaydı (R. 5).

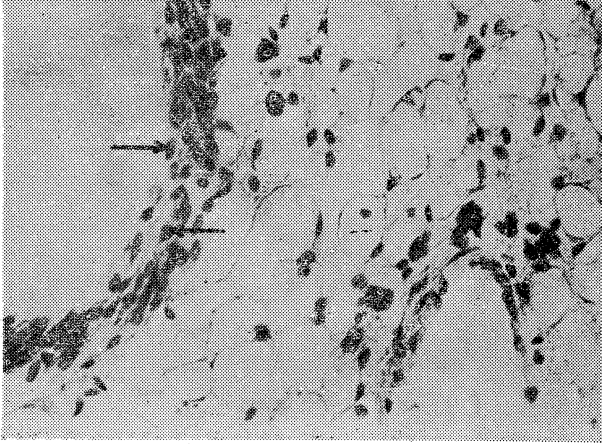


Resim: 5- 40 Günlük farede dirsek-eklemi sinovial membranı B hücresi çok-zayıf blr PAS pozitif reaksiyon veriyordu (PAS boyası)

Dirsek Eklemi; PAS Boyası: Sinovial membranın eklem boşluğuna bakan yüzeyel örtü tabakası 2-3 hücre sırasından oluşmuştu. Yüzeyel hücreler çekirdek şekilleri ve hücre şekilleri ile A hücreleri idi. Bunun altındaki hücre sırası ise hücre

çekirdekleri ve sitoplazmalarında zayıf PAS pozitif reaksiyon vermelerinden dolayı salgı yaptıkları düşünülen B hücreleri idi. Stromada bol miktarda bağ dokusu hücreleri yağ hücreleri ve doku içinde geniş lumenli, damar çevresinde yuvarlak çekirdekli hücrelerin kümeleştiği görülüyordu.

Dirsek Eklemi; Alcian Blue: Bu boya ile A ve B hücreleri negatif reaksiyon verdi. A hücreleri yüzeyel örtü tabakasını kesintisiz olarak devam ettiriyordu Stroma bağ dokusu hücrelerden kollagen liflerden ve bunların arasında bulunan kan damarlarından yağ hücrelerinden oluşmuştu. (Resim: 6)



Resim: 6- 50 günlük farede dirse-eklemi Sinovial maembranı; A hücreleri (üst ok) B hücrelei (alt ok) 3-4 sıra oluştuyordu Apidoz stromada geniş-lumenli damarlar ve bağ dokusu hücreleri vardır

TARTIŞMA :

Fare diz ve dirsek eklemlerinde sinovial membran ve bu membranda bulunan A ve B hücrelerinin özelliklerini yaş durumuna göre membranın morfolojisinde ayrıcalıklar olup olmadığını kullanılan boya yöntemlerine göre ele alarak tartışmaya gidilmiştir. Preparasyonlarımızda diz ve dirsek eklemlerinin gelişiminde sinovial membran aynı yapıda gözlemlendi.

16 günlük fötüs dirsek eklemünde eklem aralığı iki kondrojenik tabaka arasında primitivi bir arık şeklindeydi. Sinovial membran taslağı içinde bol miktarda kan kapilleri vardı. 18 günlük fötüslerin dirsek eklemleri daha ileri bir gelişim evresindeydi. Aynı fötüslerin diz eklemlerinde farklı bir yapı görülmedi. Linck ve arkadaşlarının benzer çalışmadaki bulguları nisbeten uyum sağlamaktadır. Bu araştırmacılar fötal evrenin 16. gününde matatarsafalengeal eklemlerdeki sinovial membranın iki kondrojenik tabaka arasında ve artiküler dar merkezi bölgede ışık mikroskobu ile güç gözlemlenebilen gevşek mezenşimal doku olarak sinovial membran taslağının ve eklem boşluğunun şekillenmesini daha ileri bir yapıda olarak görmüşlerdir. (11).

20 GÜNLÜK EVREDEKİ FARENİN; Sinovial membranın intima tabakası A ve B hücrelerinden oluşuyordu. Bu hücreleri literatürel bilgilere göre; hücre şekli, çekirdek durumu ve yerleşim düzeylerine göre ayrıldı. Mastositlerden ayırmak içinde Toluidin Blue, PAS ve Alcian Blue boya yöntemleri uygulandı. Hematoksilin-Eosin membranın genel yapısı hakkında fikir veriyordu. Sinovial membranın intima tabakası 1-3 sıra hücreden oluşmaktaydı. Bu hücreler A ve B hücreleri olarak tanımlandı. Boşluğa bakan yüzeyel hücreler yassı çekirdekli yüzeyel paralel A hücreleri idi. B hücreleri ise bunun altında yuvarlak çekirdekli ve hücre sınırları belirsiz olmaları ile A hücrelerinden ayrılıyordu. Bu hücreleri sinovial membranın diğer hücrelerinden ayırtedmek için Toluidin Blue, Alcian Blue ve PAS boya yöntemleri uygulandı. Bilhassa mast hücreleri, Toluidin Blue ile matakromatik boyanması ile ayrıldı. A ve B hücreleri Toluidin Blue ile hiç bir reaksiyon vermedi.

S. Roy ve F.N. Ghadially normal sıçan (rat) sinovial membranındaki çalışmalarında bizim çalışmamızdaki bulgulara paralel olarak sinovial membranın 1-3 sıra küçük oval yada poligonal ve kesitlerin çoğunda yüzeye paralel kesintisiz hücrelerden oluştuğunu kaydetmişlerdir. (14).

C. William insan diz eklemine intimayı 1-3 sıra elipsoid biçimli hücre olarak görmüş (3). Bu çalışmaya paralel olarak A ve B hücrelerini bağ dokusunun diğer hücrelerinden ayırtedebildik. C. Rosales Wynne ve arkadaşları 6-20 yaş arasında değişen ve diz ameliyatı geçiren hastalarda, yüzeyel intima tabakasının 1-3 sıra A ve B hücrelerinden oluştuğunu kaydetmişlerdir.(17)

G. Linck ve arkadaşları fare sinovial membranının intima tabakasında A ve B hücrelerini göstermişler, A hücrelerini sinovia ile temas eden hücreler, B hücrelerini ise bunun altında olduğunu rapor etmişler ve bizim çalışmamıza paralel olarak Alcian Blue ile pH 2.4 de negatif boyanmaları ile mastositlerden açıkça ayırtedmişlerdir.(9)

H.G. Fassbender's elektromikroskopik bulguları ile sinovial membranın A ve B hücrelerinden oluştuğunu düşünmüş ve bu çalışma ile B hücrelerinin PAS boyası ile zayıf da olsa reaksiyon vermeleri bu araştıracının B hücrelerin sekresyon yaptıkları düşüncesi ile hparalel olabilir (6,17)

FiN. Chadi ally ve S.Roy tavşan sinovium'unda Tip A hücrelerini Golgi apeyeri belirli, Tip B hücrelerini ise bol miktarda granüler endoplazma retikulumu içeren hücreler olarak saptamışlar.(7)

Linck ve arkadaşları sıçan, tavşan, fare ve insanda yapmış oldukları komparatif ultrastrüktürel çalışmada intima tabakasındaki B hücrelerini makrofaj benzeri hücrelerden açıkça ayırtedmişlerdir. Bu hücreleri sinovial membranın spesifik sekret yapıcı hücreleri grubuna dahil etmişlerdir. 20) İntimanın hemen altında gözlenen kapillerlerden zengin kısım, Cutlip ve arkadaşlarının koyunda yapmış

oldukları çalışmada intimanın bir çok arteriyel ve kapillerler taşıyan ince vasküler zonuna karşılık olarak yorumlamak mümkündür(5) Mast hücrelerini kapillerlerden zengin intimanın altındaki subintimada V. William Castor'un 16 insan diz ekleminde sinovial hücrelerin total hacminin % 3 ü kadar olması ile ilişkili olarak bizde çalışmamızda mast hücrelerini intimanın hemen altında görebildik. Buranın kan kapillerlerinden zengin görünümde olduğunu göz önünde tutarak buranın subintima olduğunu düşünebiliriz.(3) Wynne C.R. ve arkadaşları(14) Linck ve arkadaşlar(11) ile Cutlip'in (5) yapmış oldukları çalışmalardaki birbirine benzer bulguları ile bulgular arasında da benzerlikler vardır.

Fassbender çalışmasında üç tip sinovial membran belirlemiş(6) Cutlip ve arkadaşları (5) intimanın altındaki doku tipini esas olarak fibröz, adipoz ve areolar olarak kaydetmişlerdir. Luckenbill ve arkadaşları (12) civcivlerin ayak eklemi sinovial membranının adipoz tipte olduğunu ve memeli sinovial membranına benzediğini kaydetmişlerdir. Bizim çalışmamızda farelerin diz ve dirsek eklemlerindeki sinovial membran daha çok adipoz tipte idi.

Bu çalışmalar sonucunda farelerin prenatal fetal evrenin 16 ve 18. gününde diz ve dirsek eklemlerindeki sinovial membranın iki kondrojenik tabaka arasında ve artiküler dar merkezi bölgede ışık mikroskobu ile güç gözlenebilen gevşek mezenşimal doku olarak, sinovial membran taslağının ve eklem boşluğunun şekillenmesi izlenebildi.

20 günlük fare diz ve dirsek eklemi ile 30,40,50 günlük farelerin membranları arasında histolojik açıdan bir farklılık bulunmadığını söyleyebiliriz. Postnatal yaşamdan giderek sinovial membranın matür yapısı ile A ve B hücrelerinin gelişimi izlendi. B hücrelerinin salgılama fonksiyonunu belirliyen granüler yapılar gözlemlendi.

SUMMARY :

THE INVESTIGATION OF A AND B CELLS IN THE SYNOVIAL MEMBRANES OF THE RAT KNEE AND ELBOW JOINTS IN TERMS OF AGE BY HISTOCHEMICAL METHODS IN THE LEVEL OF LIGHT MICROSCOPE.

In this study 10 of the pregnant female mice were used. 16. and 18 days of pregnancy and the post developmants of pre and postnatal joints were studied.

In the level of the light microscopy by histochemical techniques.

In 16. day of fetal period the knee and the elbow joints have been covered by the mesenchym cells. The evaluation of the synovial area and the synovial membrane sketch were fairly improved in the joints of the 18 day-fetus.

Together the developments of A and B cells and the mature stnicter of the synovial membran were analyzed during the postnatal period. The granüler struc-
ter determining the relening function of A and B cells of the developed synovial
membran was observed and this function was discussed.

KAYNAKLAR :

- 1- AKER, O. Gridley, N.F.: Laboratuvar El kitabı Hususi Boya teknikleri,
1. Baskı, Örnek Matbaası Ankara 1954.
- 2- CABRIELLE Linck and Aime Porte: B-Cells of the synovial membrane
I-Aklomporative Ultrastrüktürel Study in Some Mammal. Cells, Tiss, Ros.,
187, 251-261, 1978.
- 3- CASTOR. R. W.,: The Microscopic Structure of Normal Human Synovial
Tissue. Arthritis Rheum. 3: 140-150 1960
- 4- CARLETON, H. M.: Carletons Histological Tehnixue. Fourth Edition
OXFORD UNİVERSTY PRESS New York Toronto 1967. P: 214
- 5- CUTLİP, R.C. et al: Strukture of synovial membrane of shepp. Am. j.,
Vet Res 34: 45-50 Jun 1973
- 6- FASSBEUDER-, H.G.: The role of connective tissue cells in the synovial
tissue. Rheumatiid Renabil Suppl 57 1979.
- 7- GHANDIALLY.' F.N.' Roy S.: Ultrastructure of Rabbit synovial membrane.
Ann. Rheum. Dis. 25: 318-2326 1966
- 8- GROTH, H.P.: Cellular contocts in the synovial membrane of the cat and
the Rabbit: An ultrastructural study. Cell Tiss. Res 164, 525-541 1975.
- 9- LİLLİE., R.D.: Histopatholoic Technic and practical Histochemistry. Third
Edition Me Graw-Hill Book COMPANY New York Toronto Sydney Lon-
don. P.: 198
- 10- LİNCK., G. et al.: Morphological evidence of a polypeptidelike secretory
function on the B cell in the Mouse synovial membrane.-Experientia 33 (8):
1098-9 15. Aug. 1977
- 11- LİNCK., G. e al.: B' Cell of the şynovial membrane. II. Differentietion dur-
ring develoment of the synovial lavity in the mouse. Cell Tissue Res 195 (2):
251-65 Dec 1978.
- 12- LUCKENBİLL. M., and Cohen. A.S.: Phogocytic Function of the Avian
synovial Membrane: A light and Electron microscopic study. Arthritis and
and Rhevmatism Vol. 10, No: 6 515-521, 1967.

- 13- KLEIN, H., et al.: Functional morphology of the synovial membrane Wien Mer Wochhensches 128 (6): 165-8 30 Anac 1978.
- 14- ROY, S., et al.: Ultrastructure of Normal rat synovial membrane Ann Rheum Dis, 26: 26-38 Jun 1967.
- 15- ROY S., et Ghadially F.N.: Synthesis of hyalvronic acid by synovial cells. J. Pat Bact., 1967, 93, 555
- 16- SOUTWICK Wo., etal.: Phogocytosis of colloidea gold by cells of synovial mebrane. J. Benejoint surg (AN) 53: 29-41 Jun 1971.
- 17- WYNNE-Roberts Cr, et al.: Light an Electromicroscopic stadies of Normal Juvenile Human synovium semin Arthritis Rheum 4(7): 279-86 1978 May.