



Düşük doz X ışınının hiyalin kırıkta benzeri fibrokırıkta yapısal ve mekanik özellikleri üstündeki etkisi

Tevfik ÖNCAN¹, Burak DEMİRAĞ², Cenk ERMUTLU³, Ulviye YALÇINKAYA⁴, Lütfü ÖZKAN⁵

¹Anadolu Hastanesi, Ortopedi ve Travmatoloji Kliniği, Bursa;

²Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Bursa;

³Polatlı Duatepe Devlet Hastanesi, Ortopedi ve Travmatoloji Servisi, Ankara;

⁴Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Bursa;

⁵Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı, Bursa

Amaç: Bu çalışmanın amacı düşük doz X ışınının fibröz kırıkta üzerindeki etkilerini araştırmak ve hiyalin kırıkta ile aynı mekanik ve yapısal özelliklere sahip hiyalin kırıkta benzeri fibrokırıkta (HKBF) geliştirmek idi.

Çalışma planı: Yirmi tavşanın 40 diz eklemine osteokondral defekt oluşturuldu. Ameliyat sonrası 7. günde başlanarak her tavşanın tek bir dizine, 5 gün boyunca, günlük 1.0 Gy'lik dozlarla toplam 5.0 Gy X ışını uygulanırken (radyoterapi grubu), diğer dizi uygulama dışı bırakıldı (kontrol grubu). Tavşanlar daha sonra her birinde 5 adet olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. İlk üç grup, sırasıyla, 4., 8. ve 12. haftada sakrifiye edildi ve kırıkta defektleri makroskopik ve mikroskopik olarak incelendi. Kalan 5 tavşanın oluşturduğu grup da 12. haftada sakrifiye edilerek kırıkta defektlerine biyomekanik sıkıştırma testleri uygulandı.

Bulgular: Radyoterapi ve kontrol grupları arasında biyomekanik açıdan anlamlı bir fark saptanmadı (p=0.686). Yine, gruplar arasında makroskopik ve mikroskopik açıdan da anlamlı bir fark yoktu (p=0.300). Işınlanan grupta kondrosit kümelenmesi gözlemlendi.

Çıkarımlar: Düşük doz X ışını HKBF dokusunun mekanik özelliklerini *in vivo* etkilememekle birlikte, kondrosit kümelenmesi gibi yapısal değişikliklere yol açmaktadır.

Anahtar sözcükler: Düşük doz X ışını; hiyalin kırıkta; hiyalin kırıkta benzeri fibrokırıkta; mekanik; yapısal.

Eklem kırıktağının hasarlanması kısmi kalınlıkta olabileceği gibi tam kat da olabilir ve subkondral kemiğe ilerleyebilir.^[1] Vücudun kırıkta hasarına cevabı ve iyileşme sürecinin aşamaları yaralanmanın türüne göre değişir. Yüzeysel kırıkta yaralanmalarının hemen sonrasında hızlı bir iyileşme süreci başlasa da, onarım

sürecinin etkinliği gittikçe azalır ve uzun süre devam ettirilemez.^[2] Bununla birlikte, yüzeysel kırıkta yaralanmaları klinik osteoartrit yol açan ilerleyici lezyonlara dönüşmezler. Subkondral uzanımı olan tam kat kırıkta yaralanmaları ise hiyalin kırıkta benzeri fibrokırıkta (HKBF) oluşumu ile iyileşirler.^[3]

Yazışma adresi: Dr. Cenk Ermutlu, Polatlı Duatepe Devlet Hastanesi, Ortopedi ve Travmatoloji Kliniği Şehitlik Mah. Anıttepe Cad. Ankara.

Tel: 0224 - 295 28 41 e-posta: cermutlu@hotmail.com

Başvuru tarihi: 22.06.2011 **Kabul tarihi:** 06.07.2012

©2013 Türk Ortopedi ve Travmatoloji Derneği

Bu yazının çevrimiçi İngilizce versiyonu
www.aott.org.tr adresinde
doi:10.3944/AOTT.2013.2709
Karekod (Quick Response Code):



Tam kat kırıkta defektlerinin tedavisine yönelik tekniklerin bir kısmı iyileşme sürecini stimüle etmeye dayanır. Mikro kırık, drilleme ve abrazyon yöntemlerinde subkondral kemiğe ulaşarak kemik iliğinin uyandırılması amaçlanır.^[4-6] Kemiğe yapılan bu tür girişimler kırıkta defektinin fibrovasküler bir doku ile dolmasına yol açar. Bu dokuda replikasyon kapasitesi yüksek, kemik iliği kökenli mezenkimal hücreler bulunur. Bu mezenkimal hücrelerin HKBF'yi oluşturan fibrokondrositlere dönüşme potansiyeli vardır. HKBF, tip-2 yerine tip-1 kolajen içerir. Bu yapısal farklılıktan dolayı, HKBF'nin mekanik özellikleri normal kırıkta dokusundan farklıdır. HKBF'nin mekanik kuvvetlere karşı direnci düşük, boşlukları doldurma ve yapısal bütünlüğü koruma özellikleri de hyalin kırıkta kıyasla zayıftır.^[7,8] Kemik iliğini uyaran bu tekniklerle ilgili bir diğer olası sorun da subkondral kemikten elde edilen mezenkimal hücrelerin yeterli sayıda olmamasıdır.^[9] Eğer oluşan fibröz doku miktarı azaltılabilirse, mezenkimal hücre ve onlardan köken alan kondrositlerin sayısının orantılı olarak artacağı öne sürülmüştür.

Radyoterapi iyi huylu hastalıkların tedavisinde uzun zamandır kullanılmaktadır. Bu hastalıkların tedavisinde radyoterapi kullanılmasının temel amacı, enflamatuar cevabı ve istenmeyen dokuların oluşumunu baskılamaktır.^[10] Fibroblastların travma sonrası artmış aktivite ve bölünme hızları onları radyasyona daha duyarlı yapar. Düşük doz radyoterapinin belirli büyüme faktörlerinin ekspresyonunu baskıladığı, ekstrasellüler matriks depolanmasını etkilediği, büyümeyi durdurduğu, proliferasyon ve neovaskülarizasyonu yavaşlattığı ya da durdurduğu gösterilmiştir. Mezenkimal hücrelere kıyasla fibroblastlar üzerinde daha kuvvetli baskılayıcı etkilere sahiptir.^[11,12] Düşük doz radyoterapinin bu özellikleri heterotopik ossifikasyon, keloid, gözün makular dejenerasyonu, arteriovenöz malformasyon ve Graves hastalığının tedavisinde kullanılmasını sağlamıştır.^[13] Bütün bu hastalıkların tedavisindeki mantık, istenmeyen anormal bağ dokusunun baskılanmasıdır. Fibroblastlar üzerindeki etkinliği ve invaziv olmayan uygulanabilirliği fibröz dokudan zengin fibrokırıkta oluşumunu engellemek için radyoterapiyi potansiyel bir aday yapmaktadır.

Bu çalışmada HKBF'nin ışınlanmasının fibröz doku-mezenkimal hücre oranını mezenkimal hücreler lehine değiştireceği ve bunun sonucunda HKBF'nin dayanıklılığını arttıracığı hipotezini test etmeyi amaçladık.

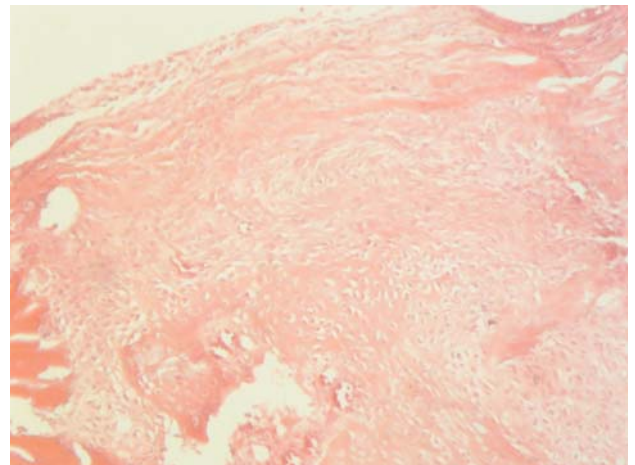
Gereç ve yöntem

Bu deney kurumumuzda gerekli etik kurul onayı alındıktan sonra Deney Hayvanları Bakım ve Kullanımı Yönergesi ve Tıp Okulu Politikaları'na uygun ola-

rak gerçekleştirildi. Hayvanların çektiği acıyı en aza indirmek için tüm önlemler alındı.

Çalışmaya başlamadan önce, ön çalışma olarak tek bir tavşanın sol dizinde osteokondral defekt oluşturuldu. Ameliyat sonrası 10. günde denek sakrifiye edildi ve sol femur medial kondildeki defekt makroskopik olarak incelendi. Makroskopik olarak defekt sınırları seçilebilse de, iyileşme dokusu ile dolmuş olduğu görüldü. Mikroskopik incelemede iyileşme dokusunun fibrovasküler yapıda olduğu görüldü (Şekil 1). Daha önceki çalışmalar fibroblastik ve kondrojenik potansiyele sahip değişime uğramamış mezenkimal hücrelerin 7. günde ortaya çıktığını, fibroblast ve kondrosit benzeri hücrelerin gözükmesinin ise 10. günü bulduğunu göstermiştir.^[14] Farklaşmamış hücre kollarının özelleşmiş hücre tiplerine dönüşmeye hazırlandığı bu kritik evrede radyoterapinin fibroblastlar üstündeki baskılayıcı etkisini kullanmayı amaçladık. Onuncu günde mezenkimal hücreler fibroblastik evrede olduğundan,^[14] iyileşme dokusunda hangi hücre tipine dönüşecekleri belli değildi. Bu nedenle, bu aşamada uygulanacak radyoterapinin fibröz doku baskınlığını azaltacağı varsayımı üzerinde duruldu.

Çalışmada ağırlıkları 2.200 ila 3.750 gram arasında değişen ve gruplar arasında anlamlı ağırlık farkı bulunmayan ($p=0.632$) 20 erişkin, dişi Yeni Zelanda beyaz tavşanı kullanıldı. Her bir tavşanın sol dizi çalışma grubuna, sağ dizleri ise kontrol grubuna dahil edilerek çalışma toplamda 40 diz üzerinde gerçekleştirildi. Deneklerin her iki dizinde osteokondral lezyonlar oluşturuldu. Takip eden hafta, çalışma grubundaki dizler (sol dizler) 5.0 Gy dozunda ışınlandı. Denekler 5 tavşandan oluşan 4 gruba ayrıldı. İlk 3 grup sırayla 4., 8. ve 12. haftada histolojik inceleme için, geri kalan 5 denek ise 12. haftada biyomekanik test için sakrifiye edildi.



Şekil 1. İyileşen kırıkta fibrovasküler dokunun baskınlığı (HE x100). [Bu şekil, derginin www.aott.org.tr adresindeki çevrimiçi versiyonunda renkli görülebilir]

Tavşanların anestezisi kas içi ketamin hidroklorür (30 mg/kg) ve ksilazin hidroklorür (4 mg/kg) enjeksiyonu ile sağlandı. Her tavşana intramusküler antibiyotik profilaksisi (15 mg/kg sefazolin sodyum) uygulandı. Medial parapatellar artrotomi kullanılarak femur medial kondili ortaya kondu. 2.5 mm'lik drill ucu ile 3 mm derinliğinde bir defekt yaratıldı. Kemik iliğini uyarmak için, 1 mm'lik Kirschner teli ile subkondral kemiğe ufak bir delik açıldı. Tüm cerrahi işlemler aynı cerrah tarafından yapıldı. Çalışma boyunca enfeksiyon ya da hareket kısıtlılığına rastlanmadı. Sakrifikasyon öncesi denek kaybı yaşanmadı.

Ameliyat sonrası 7. günden itibaren, 6 MV'luk standart doğrusal hızlandırıcı (Siemens Mevatron-KD2 Linear Accelerator; Siemens AG, Erlangen, Almanya) ile deneklerin dizlerine toplamda 5.0 Gy olacak şekilde 5 gün boyunca 1.0'er Gy'lik dozlar halinde radyoterapi uygulandı. Tavşanda bilinen anti-enflamatuar ve fibroblast baskılayıcı etkileri olduğu ve fibroblast ve kondrositler için öldürücü dozun altında olması sebebi ile bu doz tercih edildi.^[15-17] Denekler cerrahi teknikte olduğu gibi uyutularak 5'erli gruplar halinde sırası ile 4., 8. ve 12. haftalarda sakrifiye edildi. Femur kondildeki kırıkardak defektleri, defektin doldurulması ve çevre kondral dokudaki dejeneratif değişiklikler açısından makroskopik olarak incelendi. Makroskopik inceleme sonrası örnekler %10 formaldehit çözeltilisinde 3 gün boyunca fikse edildi. Formik asit ile dekalsifikasyonu takiben kesitler alındı ve hematoksiyen-eozin ve safranin-O ile boyandı. Doku morfolojisi ve iyileşme aşaması O'Driscoll skalasına göre değerlendirildi (Tablo 1).^[18,19]

On ikinci haftada sakrifiye edilen ikinci grup deneklerin dizleri biyomekanik testler için kullanıldı. Çıkarılan dizler -80°C'de bekletildi. Örnekler testten 1 gece önce +4°C'lik soğutucuda çözdürüldü ve sonraki gün oda ısısına alındı. Test boyunca 0.9% NaCl emdirilmiş gazlı bez ile nemli kalmaları sağlandı. Örneklerin diyafizer kısımları 1.5x1.5 cm'lik poliüretan kalıplara ekildi. Özel üretilmiş kışkaçlar yardımı ile femur diyafizleri test aletinin (Model 4301; Instron, Norwood, MA, ABD) alt menagesine sabitlendi. Sıkıştırma testi yük vericiye takılan 2 mm çapında, silindirik, düz uçlu Kirschner teli ile gerçekleştirildi. 60 saniye boyunca 1mm/dk hızında sıkıştırma işlemi giderek artan kuvvette uygulandı (Şekil 2). Elde edilen yük-deformasyon eğrisinin sıkıştırmanın ilk 1 mm'si içinde elde edilen doğrusal kısımlarının eğimleri (Δ Kuvvet / Δ Deformasyon) kırıkardak sertliğini vermek üzere hesaplandı.

Biyomekanik testlerin ve mikroskopik inceleme skorlarının istatistiksel analizi Wilcoxon testi kullanılarak yapıldı. P<0.05 değeri anlamlı kabul edildi.

Tablo 1. O'Driscoll ölçeği ile doku morfolojisi ve iyileşme sürecinin değerlendirilmesi.

	Skor
Baskın Dokunun Yapısı	
Hücre morfolojisi	
Hiyalin eklem kırıkardağı	4
Tam farklılaşmamış mezenkim	2
Fibröz doku veya kemik	0
Matriksin safranin-O ile boyanması	
Normal veya normale yakın	3
Orta	2
Hafif	1
Yok	0
Yapısal özellikler	
Yüzey düzgünlüğü	
Düzen ve bütünlüğü tam	3
Yüzeysel horizontal laminasyon	2
Fissürler: Kalınlığın %25-100'ü kadar	1
Şiddetli bozulma ve fibrilasyon	0
Yapısal bütünlük	
Normal	2
Hafif bozulma ve kistler	1
Şiddetli disintegrasyon	0
Kalınlık	
Normal komşu kırıkardağın %100'ü	2
Normal kırıkardağın %50-100'ü	1
Normal kırıkardağın %50'den azı	0
Komşu kırıkardak ile bağlılık	
Her iki tarafı da bağlı	2
Tek tarafı bağlı veya her iki tarafı kısmen bağlı	1
Bağlı değil	0
Hücresel değişiklikler ve dejenerasyonun değerlendirilmesi	
Hiposelüerite	
Normal selüerite	3
Hafif hiposelüerite	2
Orta hiposelüerite	1
Şiddetli hiposelüerite	0
Kondrosit kümelenmesi	
Yok	2
Hücrelerin %25'den azı	1
Hücrelerin %50-100'ü	0
Komşu kırıkardakta dejeneratif değişikliklerin olmaması	
Normal selüerite, kümelenme yok, normal boyanma	3
Normal selüerite, hafif kümelenme, orta boyanma	2
Hafif veya orta hiposelüerite, hafif boyanma	1
Şiddetli hiposelüerite, kümelenme yok, boyanma çok az veya yok	0
Toplam	24

Bulgular

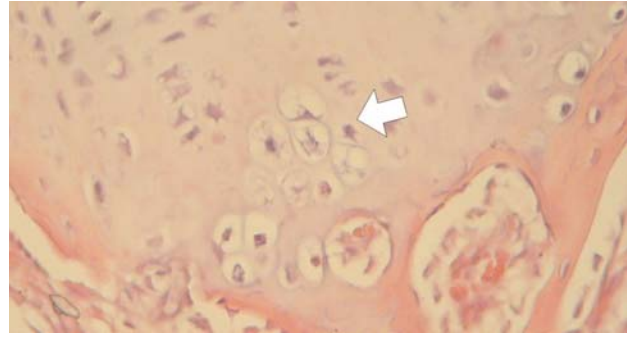
Bütün dizlerde kırıkardak defektlerinin daha beyaz ve iyi sınırlı iyileşme dokusu ile onarıldığı görüldü. Kontrol ve çalışma grupları arasında fark gözlenmedi. Os-



Şekil 2. Örneklerin sıkıştırma test cihazında bir araya getirilmesi. [Bu şekil, derginin www.aott.org.tr adresindeki çevrimiçi versiyonunda renkli görülebilir]

teofit, kıkırdak erozyonu ya da sinovyal hipertrofi gibi osteoartritin makroskobik bulgularına rastlanmadı.

Kıkırdak defektlerini dolduran HKBF dokusundan alınan örnekler safranin-O boyaması sonrası O'Driscoll skalasının hücre morfolojisi ve skorlarına göre incelendi (Tablo 2). Çalışma ve kontrol grupları arasında istatistiksel fark saptanmadı (sırasıyla, $p=0.577$ ve $p=0.773$). Bütün dizlerde HKBF gelişmiş olduğu gö-



Şekil 3. Radyoterapi grubunda 4. haftada gözlenen kondrosit kümelenmesi (ok) (HE x400). [Bu şekil, derginin www.aott.org.tr adresindeki çevrimiçi versiyonunda renkli görülebilir]

rüldü. Çalışma grubunda 4. haftada kondrosit kümelenmesi görüldü (Şekil 3).

Defekt oluşumundan 12 hafta sonra alınan örneklerin mekanik inceleme sonuçları Tablo 3'te özetlenmiştir. Yük-deformasyon eğrisinin doğrusal kısımlarının eğimleri ölçülerek kıkırdak sertliği belirlendi. Çalışma ve kontrol gruplarının sertlikleri sırası ile 161.87 ± 64.55 N/mm ve 153.20 ± 61.91 N/mm olarak bulundu. Gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmadı.

Tartışma

Eklem kıkırdağının travmatik lezyonlarının onarımı araştırmacılar için çözülmesi gereken bir sorun olmaya devam etmektedir. Bu travmatik defektler, sekonder osteoartrite sonuçlanacak dejeneratif değişikliklere yol açabilir.^[1,20-23] Bu çalışmada, radyoterapinin osteokondral defekt ve kemik iliğinin uyarılması sonrası oluşan HKBF üzerindeki etkisini inceledik. Model olarak ge-

Tablo 2. Kontrol ve radyoterapi gruplarının O'Driscoll skorları.

Baskın dokunun yapısı	Radyoterapi	Kontrol	p
4. hafta	3.60±1.81	5.20±3.03	0.216
8. hafta	2.40±1.67	2.80±2.77	0.705
12. hafta	4.20±2.48	3.20±2.16	0.500
Yapısal özellikler	Radyoterapi	Kontrol	p
4. hafta	4.60±2.88	7.20±3.49	0.104
8. hafta	2.20±1.78	2.80±2.48	0.276
12. hafta	4.20±2.16	4.00±2.00	0.785
Hüresel değişiklikler ve dejenerasyonun değerlendirilmesi	Radyoterapi	Kontrol	p
4. hafta	5.20±1.92	7.40±1.30	0.041
8. hafta	4.00±1.73	4.00±1.73	1.000
12. hafta	5.60±0.54	5.40±0.54	0.317
Toplam skor	Radyoterapi	Kontrol	p
4. hafta	13.40±5.77	19.80±7.80	0.068
8. hafta	8.60±4.39	9.60±6.06	0.892
12. hafta	14.00±4.52	12.60±3.97	0.478

Tablo 3. Kırıkarak sertliği cinsinden biyomekanik test sonuçları (Δ Kuvvet / Δ Deformasyon).

Örnek	Radyoterapi	Kontrol
1	92.3 N/mm	114.3 N/mm
2	99.6 N/mm	182.7 N/mm
3	180.9 N/mm	257.1 N/mm
4	242.6 N/mm	163.3 N/mm
5	150.7 N/mm	91.9 N/mm

nelde genç erişkinlerde görülen fokal osteokondral lezyonlar alındı.^[2]

Radyoterapi artrit, tendinit ve heterotopik ossifikasyon gibi habis olmayan hastalıklarda da kullanılmaktadır.^[24] Radyasyonun normal kırıkarak doku üstündeki etkisi daha önceki çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir^[12,25] ve düşük doz ışınlanmanın artrit olgularında anti-enflamatuar etkinliği de incelenmiştir.^[15,26,27] Bununla birlikte, radyasyonun HKBF üzerine etkisine dair yapılmış bir çalışma ise yoktur.

Radyosinovektomi, sinovyal enflamasyonu baskılayıcı etkisi ile cerrahi sinovektomiye alternatif olarak kullanılmaktadır. Kondrosit kültürlerinde kolajen üretiminin, nitrik oksit (NO) salınımının ve hücre ölümünün azaldığı *in vitro* olarak gösterilmiştir.^[28] *In vivo* hayvan çalışmalarında ise, farklı maddelerin kullanıldığı beta radyasyon ile radyosinovektominin kırıkarak hasarına yol açtığına dair bulguya rastlanmamıştır.^[29,30]

Osteokondral defektler eklem yüzünde HKBF ve kemik yüzde yeni kemik oluşumu ile iyileşirler.^[1] HKBF'yi biyomekanik olarak test etmenin çeşitli yöntemleri vardır. Wakitani ve ark., iğne penetrasyon tekniği ile kırıkarak kalınlığını ölçmüş ve sonuçları sıkıştırma testleri ile birleştirerek kırıkarak dokunun sertliğini ve esnekliğini hesaplamıştır.^[14] Messner^[31] ve Nam ve ark.^[32] ise, bizim çalışmamızda kullandığımız tekniği tarif etmişlerdir. Her iki çalışmada da farklı çapta gözenekli ve düz yüzeyler kullanılmıştır. Bununla birlikte, iyileşme dokusu konkav ve konveks yüzeylerden oluştuğundan farklı yüzey alanlarına sahip olabilmektedir. Çalışmamızda kontrol ve çalışma grupları arasında anlamlı fark bulunmamıştı (çalışma grubu: 153.20±61.91, kontrol grubu: 161.87±64.55). Bunun nedeni, örneklem beta hatayı dışlayacak kadar büyük olmaması olabilir. Çalışmamız, iyileşmenin farklı evrelerindeki hem biyomekanik hem de histolojik özellikleri incelemeyi amaçladığından hayvan kullanımını mümkün olduğunca az tutabilmek için gruplar nispeten az sayıda denekten oluşturulmuştu. Doku sertliğindeki potansiyel değişimleri daha iyi inceleyebilmek için sadece biyomekanik özellikleri ele alan ve daha fazla denek üstünde yapılacak çalışmalar gerekmektedir.

Çalışmamızda radyoterapinin multipotent hücrelerin kondrositlere dönüştüğü zaman aralığında uygulanması planlandı. Shapiro ve ark.^[6] osteokondral defekt sonrası HKBF oluşumunu inceledikleri çalışmalarında 10. günde kırıkarak ekstrasellüler matriks sentezi gözlemlenmişlerdir. Biz de çalışmamızda radyoterapiyi 10 gün içinde (7, 8, 9, 10 ve 11. günler) uyguladık. Bu yaklaşımın bir diğer alternatifi, fibroblastların öldürücü dozlarda ışına maruz kaldıktan sonra bile büyüme faktörleri sentezleyebildiklerini göz önüne alarak radyoterapiye daha erken başlanması olabilir.^[17] Bununla birlikte, erken uygulanan radyoterapinin enflamasyonu ve kan akımını azaltarak kök hücre hareketini, dolayısı ile kırıkarak yenilenmesini baskılama riski vardır.^[11] Fibröz dokunun ışınlamaya kondrositlerden daha duyarlı olduğu bilindiğinden,^[11,12] iyileşme dokusunda fibröz doku baskılanması ile eş zamanlı kondrosit proliferasyonu elde etmeyi amaçladık. 5 Gy dozunda radyoterapinin HKBF'nin biyomekanik özelliklerini etkilememiş olması, kırıkarak ve subkondral dokuya zarar vermeden fibroblastik aktiviteyi baskılayacak dozların belirlenmesi için farklı fraksiyonlarda veya tek dozda daha yüksek dozların denenmesi gerektiğini düşündürmektedir.

Işınlanmanın vaskülarizasyonu da önlediği bilinmektedir.^[10] Bu nedenle, osteoartritte meydana gelen yapısal hasarda rolü olan neovaskülarizasyonu önlemede faydalı olabileceği düşünülebilir. Çalışmamızda, kırıkarak hasarı sonrası geç dejeneratif evrede neovaskülarizasyona rastlanmamıştır.

Mezenkimal hücrelerin osteoblast, kondroblast ya da fibroblastlardan hangisine farklılaşacağını belirleyen lokal ve sistemik faktörler kesin olarak bilinmemektedir.^[6] Kondrogenesis için önemli faktörler arasında IGF-1, TGF- β , BMP, büyüme/farklılaşma faktörü-5, FGF, PDGF ve kırıkarak kaynaklı büyüme faktörü yer alır.^[33,34] Bu anabolik faktörlerin yanında, TNF- α , IL-1 ve IL-17'in de iyileşme sürecinde etkilerinin olduğu bilinmektedir.^[35] Poole, bu sitokinleri baskımlarken anabolik faktörlerin verilmesinin kırıkarak onarımına yardımcı olabileceğine vurgu yapmıştır.^[23] Enflamatuar hastalıklarda ampirik radyoterapinin sitokinler üzerindeki etkisini inceleyen detaylı bir çalışma olmasa da, sınırlı sayıda araştırmada sitokin salınımını azaltacağı ileri sürülmüştür.^[15,26,27,36]

Çalışma grubundaki kırıkarak defektlerinde 4. haftada daha fazla dejeneratif değişiklik olduğunu gözlemledik ($p < 0.05$). Eklem kırıkarakındaki dejeneratif değişiklikler, kondrositlerin hipertrofik farklılaşmasından ileri gelmektedir. Kemik matriks kalsifiye olarak, kırıkarak bir kırıkarak dokusuna ve dejenerasyona yol açar.^[23] Bizim çalışmamızda ise artmış dejenerasyonun ve düşük O'Driscoll skorunun sebebi 4. haftada rastlanan kondrosit kümeleşmesidir. Kırıkarak kümeleşmesinin art-

miş kondrosit üretimine mi yoksa dejeneratif değişikliklere mi işaret ettiğini inceleyen yeni ve detaylı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Shapiro ve ark., HKBF oluşumunun osteokondral defekt sonrası 4. haftada başlayarak 12 haftada tamamlandığını bildirmişlerdir.^[6] Bu nedenle, hayvan çalışmalarının çoğunda, sakrifikasyon öncesi takip süresi 12 haftadır.^[31,32,37-41] Çalışmamızda 12 hafta sonunda çalışma ve kontrol grupları arasında anlamlı fark saptanmamıştı. Bununla birlikte, kontrol grubunun skorları 4. haftadan 12. haftaya doğru azalma eğilimi göstermekteydi. Bu durum daha uzun takip süresi sonunda kontrol grubunda daha fazla dejeneratif değişikliklerin saptanabileceği ve iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark oluşabileceği şeklinde yorumlanabilir.

Bu çalışmanın kısıtlılıklarından bir tanesi, radyasyonun rejeneratif hücreler üstündeki etkisinin incelenmemiş olmasıdır. Onun yerine, düşük doz radyoterapinin mezenkimal hücrelere kıyasla fibröz doku üstünde daha güçlü baskılayıcı etkileri olduğu bilgisine dayanarak, rejeneratif dokunun mekanik özelliklerini geliştireceğini varsaydık. Çalışma sonucunda iki grup arasında fark bulunmaması, rejenerasyon aşamalarının literatürdeki çalışmalarda belirtilenden daha farklı olmasından kaynaklanabilir. Bu hücreler lokal medyatörler ve çevre koşullarının etkisi ile farklı yapısal özellikler ve duyarlılık gösterebileceğinden, değişik radyoterapi dozlarına maruz kalan rejeneratif hücrelerin hareket, proliferasyon ve farklılaşmasını inceleyen yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Sonuç olarak, *in vivo* HKBF dokusuna uygulanan radyoterapi mekanik özelliklerde değişikliğe yol açmaktadır. Son zamanlarda, kırık defektlerin onarımında ışınlamanın etkinliğini inceleyen çalışmaların sayısında artış vardır. Bu anlamda, kırık doku onarımında destekleyici bir tedavi olarak olası rolünün daha fazla incelenmesi gerekmektedir. Bu çalışma, radyoterapinin kırık iyileşmesine olan etkilerine dair öncü bir araştırma olarak görülebilir. Yine de, klinik uygulanabilirliğini, yan etkilerini ve uygun doz ve zamanlamanın belirlenebilmesi için daha uzun takip süreli ve denek sayısının daha fazla olduğu detaylı çalışmalar gerekmektedir.

Çıkar Örtüşmesi: Çıkar örtüşmesi bulunmadığı belirtilmiştir.

Kaynaklar

1. Mankin HJ, Mow VC, Buckwalter JA. Articular cartilage repair and osteoarthritis. In: Buckwalter JA, Einhorn TA, Simon SR, editors. Orthopaedic basic science. Biology and biomechanics of the musculoskeletal system. 2nd ed. Rosemont, Illinois: American Academy of Orthopaedic Surgeons; 2000. p. 471-88.
2. Buckwalter JA. Evaluating methods of restoring cartilaginous articular surfaces. Clin Orthop Relat Res 1999;(367 Suppl):S224-38.
3. Mankin HJ. The response of articular cartilage to mechanical injury. J Bone Joint Surg Am 1982;64:460-6.
4. Buckwalter JA, Coutts R, Hunziker E, Van Mow C. Breakout Session 3: Articular cartilage. Clin Orthop Relat Res 1999;(367 Suppl):239-43.
5. Gross AE. Repair of cartilage defects in the knee. J Knee Surg 2002;15:167-9.
6. Shapiro F, Koide S, Glimcher MJ. Cell origin and differentiation in the repair of full-thickness defects of articular cartilage. J Bone Joint Surg Am 1993;75:532-53.
7. Buckwalter JA, Lohmander S. Operative treatment of osteoarthritis. Current practice and future development. J Bone Joint Surg Am 1994;76:1405-18.
8. Johnstone B, Yoo JU. Autologous mesenchymal progenitor cells in articular cartilage repair. Clin Orthop Relat Res 1999;(367 Suppl):S156-62.
9. Ochi M. Challenging for cartilage repair. Sports Med Arthrosc Rehabil Ther Technol 2009;1:13.
10. Fajardo LF. Morphology of radiation effects on normal tissue. In: Perez CA, Brady LW, editors. Principles and practice of radiation oncology. 3rd ed. Philadelphia: Lipincott-Raven; 1997. P. 143-54.
11. Shi CM, Su YP, Cheng TM. Recent advances in the pathological basis and experimental management of impaired wound healing due to total-body irradiation. Med Sci Monit 2006;12:RA1-4.
12. Takahashi S, Sugimoto M, Kotoura Y, Oka M, Sasai K, Abe M, et al. Long-lasting tolerance of articular cartilage after experimental intraoperative radiation in rabbits. Clin Orthop Relat Res 1992;(275):300-5.
13. Eng TY, Boersma MK, Fuller CD, Luh JY, Siddiqi A, Wang S, et al. The role of radiation therapy in benign diseases. Hematol Oncol Clin North Am 2006;20:523-57.
14. Wakitani S, Goto T, Pineda SJ, Young RG, Mansour JM, Caplan AI, et al. Mesenchymal cell-based repair of large, full-thickness defects of articular cartilage. J Bone Joint Surg Am 1994;76:579-92.
15. Liebmann A, Hindemith M, Jahns J, Madaj-Sterba P, Weisheit S, Kamprad F, et al. Low-dose X-irradiation of adjuvant-induced arthritis in rats. Efficacy of different fractionation schedules. Strahlenther Onkol 2004;180:165-72.
16. Fischer U, Kamprad F, Koch F, Ludewig E, Melzer R, Hildebrandt G. The effects of low-dose Co-60 irradiation on the course of aseptic arthritis in a rabbit knee joint. [Article in German] Strahlenther Onkol 1998;174:633-9.
17. Song SU, Hong YJ, Oh IS, Yi Y, Choi KB, Lee JW, et al. Regeneration of hyaline articular cartilage with irradiated transforming growth factor beta1-producing fibroblasts. Tissue Eng 2004;10:665-72.
18. O'Driscoll SW, Keeley FW, Salter RB. The chondrogenic potential of free autogenous periosteal grafts for biological resurfacing of major full-thickness defects in joint surfaces under the influence of continuous passive motion. An experimental investigation in the rabbit. J Bone Joint Surg Am 1986;68:1017-35.
19. O'Driscoll SW, Keeley FW, Salter RB. Durability of regenerated articular cartilage produced by free autogenous periosteal grafts in major full-thickness defects in joint surfaces under the influence of continuous passive motion. A follow-up report at one year. J Bone Joint Surg Am 1998;70:595-606.

20. Mainil-Varlet P, Aigner T, Brittberg M, Bullough P, Hollander A, Hunziker E, et al. Histological assessment of cartilage repair: a report by the Histology Endpoint Committee of the International Cartilage Repair Society (ICRS). *J Bone Joint Surg Am* 2003;85-A Suppl 2:45-57.
21. Hangody L, Feczkó P, Bartha L, Bodó G, Kish G. Mosaicplasty for the treatment of articular defects of the knee and ankle. *Clin Orthop Relat Res* 2001;(391 Suppl):S328-36.
22. Horas U, Pelinkovic D, Herr G, Aigner T, Schnettler R. Autologous chondrocyte implantation and osteochondral cylinder transplantation in cartilage repair of the knee joint. A prospective, comparative trial. *J Bone Joint Surg Am* 2003;85:185-92.
23. Poole AR. What type of cartilage repair are we attempting to attain? *J Bone Joint Surg Am* 2003;85:40-4.
24. Schultze J, Eilf K. Perspectives of radiation therapy in benign diseases. [Article in German] *Strahlenther Onkol* 2006;182:259-62.
25. Takahashi T, Mizobuchi H, Toda M, Maeda A, Mizuno S, Ogawa Y, et al. Metabolic effects of X-ray irradiation on adult human articular chondrocytes. *Int J Mol Med* 2003;11:631-4.
26. Hildebrandt G, Jahns J, Hindemith M, Spranger S, Sack U, Kinne RW, et al. Effects of low dose radiation therapy on adjuvant induced arthritis in rats. *Int J Radiat Biol* 2000;76:1143-53.
27. Hildebrandt G, Radlingmayr A, Rosenthal S, Rothe R, Jahns J, Hindemith M, et al. Low-dose radiotherapy (LD-RT) and the modulation of iNOS expression in adjuvant-induced arthritis in rats. *Int J Radiat Biol* 2003;79:993-1001.
28. Ailland J, Kampen WU, Schünke M, Trentmann J, Kurz B. Beta irradiation decreases collagen type II synthesis and increases nitric oxide production and cell death in articular chondrocytes. *Ann Rheum Dis* 2003;62:1054-60.
29. Mäkelä OT, Lammi MJ, Uusitalo H, Hyttinen MM, Vuorio E, Helminen HJ, et al. Analysis of lapine cartilage matrix after radiosynovectomy with holmium-166 ferric hydroxide macroaggregate. *Ann Rheum Dis* 2003;62:43-9.
30. Wang SJ, Lin WY, Chen MN, Chen JT, Ho WL, Hsieh BT, et al. Histologic study of effects of radiation synovectomy with Rhenium-188 microsphere. *Nucl Med Biol* 2001;28:727-32.
31. Messner K. Hydroxylapatite supported Dacron plugs for repair of isolated full-thickness osteochondral defects of the rabbit femoral condyle: mechanical and histological evaluations from 6-48 weeks. *J Biomed Mater Res* 1993;27:1527-32.
32. Nam EK, Makhsous M, Koh J, Bowen M, Nuber G, Zhang LQ. Biomechanical and histological evaluation of osteochondral transplantation in a rabbit model. *Am J Sports Med* 2004;32:308-16.
33. Reinholz GG, Lu L, Saris DB, Yaszemski MJ, O'Driscoll SW. Animal models for cartilage reconstruction. *Biomaterials* 2004;25:1511-21.
34. Hunziker EB. Biologic repair of articular cartilage. Defect models in experimental animals and matrix requirements. *Clin Orthop Relat Res* 1999;(367 Suppl):S135-46.
35. Lotz M. Cytokines in cartilage injury and repair. *Clin Orthop Relat Res* 2001;(391 Suppl):S108-15.
36. Margulies BS, Horton JA, Wang Y, Damron TA, Allen MJ. Effects of radiation therapy on chondrocytes *in vitro*. *Calcif Tissue Int* 2006;78:302-13.
37. Perka C, Schultz O, Spitzer RS, Lindenhayn K. The influence of transforming growth factor beta1 on mesenchymal cell repair of full-thickness cartilage defects. *J Biomed Mater Res* 2000;52:543-52.
38. Kajiwarra R, Ishida O, Kawasaki K, Adachi N, Yasunaga Y, Ochi M. Effective repair of a fresh osteochondral defect in the rabbit knee joint by articulated joint distraction following subchondral drilling. *J Orthop Res* 2005;23:909-15.
39. Kumagai K, Saito T, Koshino T. Articular cartilage repair of rabbit chondral defect: promoted by creation of periarticular bony defect. *J Orthop Sci* 2003;8:700-6.
40. Harada Y, Tomita N, Nakajima M, Ikeuchi K, Wakitani S. Effect of low loading and joint immobilization for spontaneous repair of osteochondral defect in the knees of weightless (tail suspension) rats. *J Orthop Sci* 2005;10:508-14.
41. Wei X, Gao J, Messner K. Maturation-dependent repair of untreated osteochondral defects in the rabbit knee joint. *J Biomed Mater Res* 1997;34:63-72.