



# Sisplatin yüklü PMMA: Mekanik özellikleri, yüzey analizi ve Saos-2 hücre kültürü üzerine etkileri

Hakan ÖZBEN<sup>1</sup>, Levent ERALP<sup>2</sup>, Gökhan BAYSAL<sup>3</sup>, Ayşegül CORT<sup>4</sup>, Nazlı ŞARKALKAN<sup>3</sup>, Tomris ÖZBEN<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Modena ve Reggio Emilia Üniversitesi, El Cerrahisi ve Mikrocerrahi Bölümü, Modena, İtalya;

<sup>2</sup>İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, İstanbul;

<sup>3</sup>İstanbul Teknik Üniversitesi Makina Fakültesi, Makina Mühendisliği Bölümü, İstanbul;

<sup>4</sup>Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Antalya

**Amaç:** Geniş rezeksiyon ve sistemik kemoterapiye rağmen, kemik tümörlerinin seyrinde lokal nüks, metastaz ve patolojik kırıklar ortaya çıkabilir. Metastatik lezyonların rezeksiyonu sonrası oluşan eksikliği doldurmak ve implantları desteklemek için antineoplastik ilaç içeren kemik çimentosu uygulanmasının, lokal tümör büyümesi ve implant gevşemelerini önlemede faydalı olabileceği öne sürülmüştür. Bu çalışmanın amacı, osteosarkom için yaygın olarak kullanılan bir antineoplastik ilaç olan sisplatinin çimentooya eklenmesinin kemik çimentosunun mekanik özelliklerine etkisinin olup olmadığını göstermek ve salınan sisplatinin Saos-2 hücre kültürü üzerine sitotoksik etkilerini araştırmaktır.

**Çalışma planı:** Yüz mg ve 300 mg sisplatin tozu, 40 g çimento tozu ile karıştırılarak 2 grup kemik çimentosu numunesi hazırlandı. Kontrol grubundaki kemik çimentosu numuneleri sisplatin içermemekteydi. Mekanik analizler için 4 nokta bükme, sıkıştırma ve kayma testleri yapıldı. Sitotoksikite analizi için, numuneler 15 gün boyunca Dulbecco'nun modifiye Eagle sıvısında inkübe edildi. Toplanan sıvılar, Saos-2 hücre kültürüne uygulandı ve hücre canlılığı ölçüldü. Yüzey analizleri, *scanning* elektron mikroskobu (SEM) ile yapıldı.

**Bulgular:** Sisplatin eklenmesi, kemik çimentosunun mekanik özelliklerini değiştirmedir. Salınan sisplatinin Saos-2 hücreleri üzerine sitotoksik etkileri olduğu saptandı. SEM analizleri çimento örneklerinin yüzeyinde sisplatin granüllerinin varlığını ortaya koydu.

**Çıkarımlar:** Kemik çimentosundan salınan sisplatin, konulduğu kemik çimentosunun mekanik dayanıklılığını etkilemeksizin sitotoksik özelliğini korumaktadır. Sisplatin yüklü kemik çimentosu uygulaması, tümör büyümesinin lokal kontrolünde yardımcı olabilir. Çalışmamızın, kemik kanserlerinin tedavisindeki yeni uygulamalara ışık tutacağına ve gelecekteki çalışmalarını teşvik edeceğine inanıyoruz.

**Anahtar sözcükler:** Kemik çimentosu; osteosarkom; sisplatin.

Tedavi yöntemlerindeki gelişmelere paralel olarak, kanserli hastaların tahmini sağkalım süreleri de uzamıştır.<sup>[1]</sup> Bunun sonucunda da, metastaz ve patolojik kırık insidansı artmıştır. Patolojik kırıkların tedavisi, ağrının giderilmesi ve fonksiyon kaybı olmadan sağkalımın

sağlanmasını amaçlamaktadır.<sup>[2]</sup> Bunun için genel olarak tercih edilen yöntem, polimetil metakrilat (PMMA) çimentoyla desteklenmiş internal fiksasyondur.<sup>[2]</sup> Bununla birlikte altta yatan tümör, implant yetmezliğine yol açabilen kemik harabiyetiyle sonuçlana-

**Yazışma adresi:** Hakan Özben, MD. Azienda Ospedaliero-Universitaria di Modena La Struttura Complessa di Chirurgia della Mano e Microchirurgia, Modena, İtalya.

Tel: +39 349 5221918 e-posta: hakanozben@yahoo.com

**Başvuru tarihi:** 01.02.2012 **Kabul tarihi:** 17.08.2012

©2013 Türk Ortopedi ve Travmatoloji Derneği

Bu yazının çevrimiçi İngilizce versiyonu  
www.aott.org.tr adresinde  
doi:10.3944/AOTT.2013.2828  
Karekod (Quick Response Code):



çak şekilde büyümeye devam edebilmektedir.<sup>[2]</sup> Ayrıca geniş rezeksiyon ve sistemik kemoterapi uygulamasına karşın lokal nüksler gelişebilmektedir.<sup>[3]</sup>

Polimetil metakrilat, farklı birçok ilacın istenilen vücut bölgelerine uygulanması için kabul görmüş bir taşıyıcıdır.<sup>[4,5]</sup> Antineoplastik farmasötik eklenmiş PMMA kullanımı ile ilgili çalışmaların sayısı yakın geçmişte artış göstermektedir. Bu yeni yöntemin, tümör büyümesini daha iyi kontrol altında tutmak suretiyle nüks insidansını ve uzak metastazları azaltabileceği ileri sürülmüştür.<sup>[1]</sup> Ayrıca, bu uygulamayla tümör osteolizine bağlı implant gevşemesinin önlenilebileceğine ve komplikasyonsuz sağkalımın uzatılabileceğine inanılmaktadır.<sup>[2,6]</sup>

Bir antineoplastik ilacın PMMA'ya eklenebilmesi için, polimerizasyon sürecinde oluşan ısıya karşı kimyasal yapısını koruyabilmesi, PMMA'nın mekanik özelliklerini değiştirmemesi ve PMMA'dan etkin haliyle salınabilmesi gerekmektedir. Metotreksat eklenmiş PMMA'nın mekanik özellikleri, salınım kinetiği ve değişik tümör hücreleri üzerine etkileri detaylı olarak araştırılmışken, sisplatin eklenmiş PMMA üzerine yapılmış çalışmalar daha az sayıdadır.<sup>[2,3,6-15]</sup>

Bu çalışmanın amacı, sisplatin eklenmesinin PMMA'nın mekanik özelliklerini etkileyip etkilemediğinin gösterilmesi ve salınan sisplatinin osteosarkom hü-

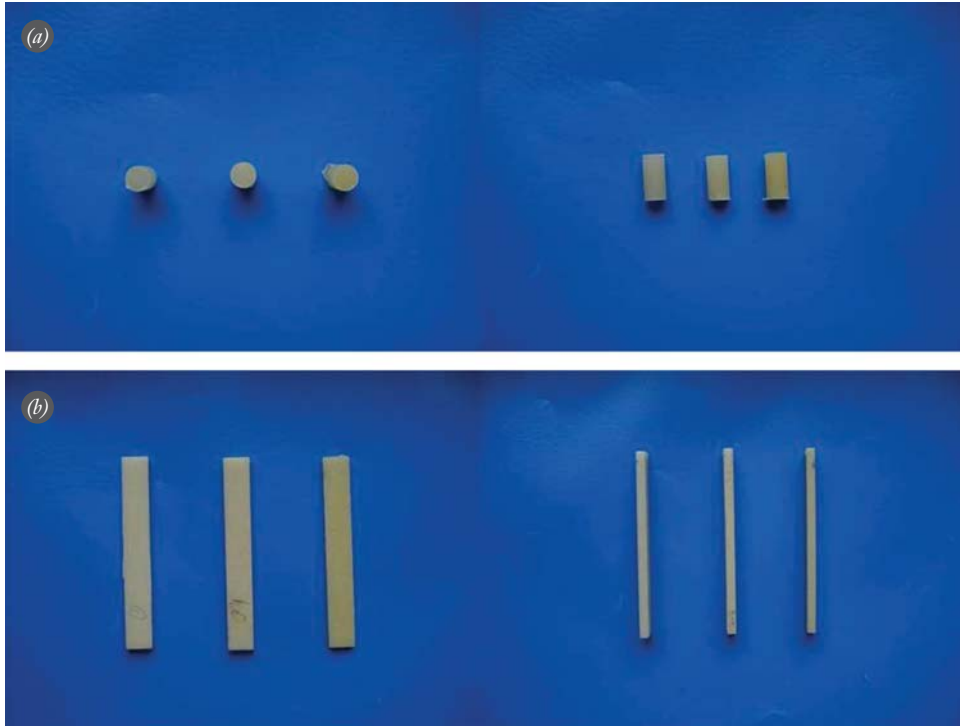
cre kültürü üzerine etkilerinin araştırılmasıdır. Hipotezimiz, PMMA'nın mekanik özelliklerinin sisplatin eklenmesiyle değişmemesi ve sisplatinin PMMA'dan salınarak osteosarkom hücreleri üzerine sitotoksik etki gösterebiliyor olmasıdır.

## Gereç ve yöntem

Çalışma Helsinki Bildirgesi'ndeki kriterlere uymaktadır ve lokal etik kurulu tarafından onaylanmıştır.

Çalışmada, 40 g toz ve 20 ml sıvı monomer içeren düşük viskoziteli PMMA (OrCem 3, Teknimed S.A.S., Vic En Bigorre, Fransa; lot no: 043/09344) kullanıldı. Sisplatin tozu Teva Pharmaceuticals Ltd. (Amsterdam, Hollanda) firmasından temin edildi. Mekanik ve hücre kültürü deneyleri için 3 grup PMMA örneği hazırlandı. PMMA tozu ve likit monomer, vakum altında 100 saniye boyunca çimento karıştırıcı (MixOR; Smith&Nephew, Memphis, TN, ABD) kullanılarak karıştırıldı. Bu karıştırma öncesinde, 100 mg (100 mg grubu) ve 300 mg (300 mg grubu) sisplatin tozu 40 g PMMA tozu ile steril bir kapta 100 saniye boyunca karıştırılarak sisplatin içeren gruplar için gereken sisplatin eklenmiş PMMA hazırlandı. Kontrol grubu sisplatin içermekteydi.

Sisplatin eklenmiş PMMA'nın mekanik özelliklerini değerlendirmek için; ASTM-F451 ve ISO-5833



**Şekil 1.** Basma (a) ve kırılma (b) testleri için hazırlanmış PMMA örnekleri. [Bu şekil, derginin [www.aott.org.tr](http://www.aott.org.tr) adresindeki çevrimiçi versiyonunda renkli görülebilir]



Şekil 2. (a-c) Dört-nokta eğme testinde örneğin kırılması.

standartları doğrultusunda üniversal test makinesi (MTS 858 Bionix II, Eden Prairie, MN, ABD) kullanılarak 4 nokta eğme, basma ve kırılma testleri uygulandı. Basma ve kırılma testi örnekleri 6 mm ( $\pm 0.1$  mm) çapında ve 12 mm ( $\pm 0.1$  mm) yüksekliğinde silindirlere (Şekil 1a). Dört-nokta eğme testi örnekleri 75 mm ( $\pm 0.1$  mm) uzunluğunda, 10 mm ( $\pm 0.1$  mm) genişliğinde ve 3 mm ( $\pm 0.1$  mm) derinliğinde dikdörtgenlerdi (Şekil 1b). Test verileri, veri toplama hızı 10 Hz olan bir kişisel bilgisayara ileri analiz için kaydedildi. Her test grubu 10 örnekten oluşmaktaydı. Örnekler deneylerden 24 saat önce hazırlandı.

Dört nokta eğme testinde örnekler, 5 mm/dk hızında eğilmeye sebep olan sürekli artan bir kuvvete maruz bırakıldı (Şekil 2). Eğilme değerleri örnek kırılana dek kaydedildi. Her örnek için eğilme modülü (E) ve eğilme kuvveti (B) megapaskal (Mpa) cinsinden hesaplandı.

Basma testinde örnekler, hızı 20 mm/dk olan kuvvete maruz bırakıldı (Şekil 3). Kuvvet, sapma ve zaman verileri kaydedildi. Test, örnek deforme olduğunda ve

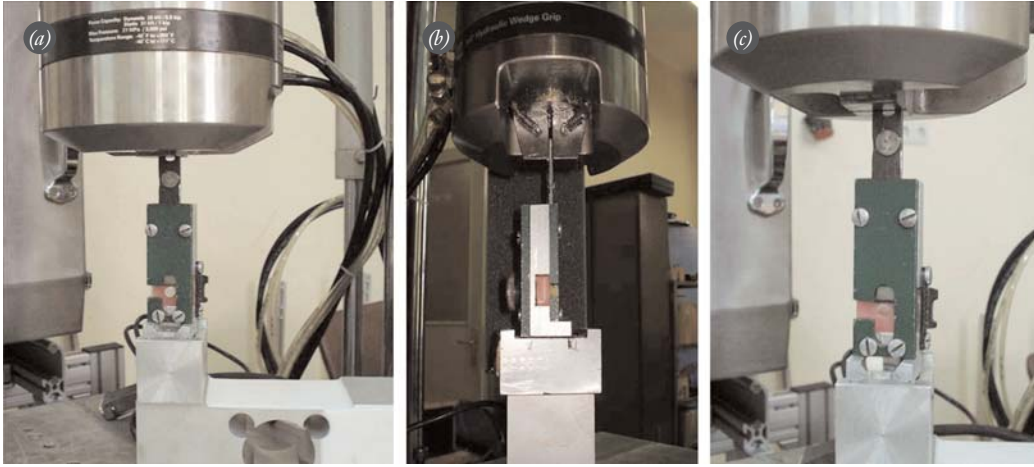
ya üst esneme noktası geçildiğinde durduruldu. Bu noktalarda uygulanan kuvvet değerleri de kaydedildi. Her örnek için basma kuvveti (C, MPa) ve katılık hesaplandı.

Kırılma testinde örnekler, hızı 5 mm/dk olan dikey makaslama kuvvetine maruz bırakılmıştır (Şekil 4). Kuvvet, sapma ve zaman değerleri kaydedildi. Örnek kırıldığında test durduruldu ve bu esnada uygulanan kuvvet de kaydedildi. Her örnek için makaslama kuvveti (MPa) ve katılık hesaplandı.

Hücre kültürü deneylerinde, Saos-2 hücreleri (Şap Enstitüsü, Ankara, Türkiye) %10 fetal bovin serumu, penisilin ve streptomisin içeren Dulbecco'nun modifiye Eagle ortamında (DMEM), 37°C'de, %5 CO<sub>2</sub> ve %95 nemli hava içeren bir inkübatörde çoğaltıldı. Konfluansta, hücreler flaklardan tripsin ile ayrıştırıldı. Sitotoksosite analizi için, hücreler 96 kuyulu hücre kültür plaklarına alındı. Her kuyu yaklaşık olarak 5000 hücre içermekteydi (Şekil 5). Polimetil metakrilat örnekleri 6 mm çapında 12 mm uzunluğunda silindirlere



Şekil 3. (a-c) Basma testinde örneğin deformasyonu. [Bu şekil, derginin [www.aott.org.tr](http://www.aott.org.tr) adresindeki çevrimiçi versiyonunda renkli görülebilir]

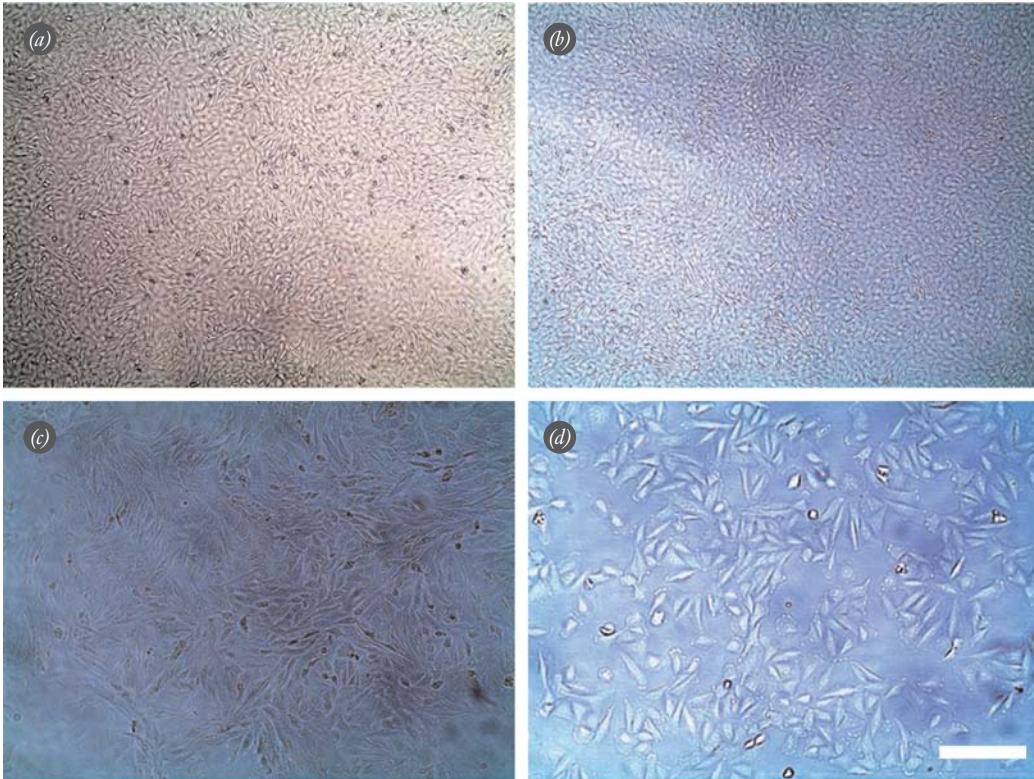


**Şekil 4. (a-c)** Kırılma testinde örneğin kırılması. [Bu şekil, derginin [www.aott.org.tr](http://www.aott.org.tr) adresindeki çevrimiçi versiyonunda renkli görülebilir]

di. Polimerizasyon esnasında oluşan ısının zararlı etkilerinden korunmak için, DMEM ile inkübasyondan 24 saat önce hazırlandı. Her grupta 4 örnek vardı. İlk deney setinde, PMMA örnekleri 4 ml DMEM sıvısı içinde 4°C'de 24 saat bekletildi. Sonrasında DMEM alındı ve "1. gün ortamı" olarak etiketlenip -80°C'de depo-

landı. Aynı örnek yeniden 4 ml DMEM ile 24 saat inkübe edildi ve toplanan sıvı "2. gün ortamı" olarak aynı şekilde depolandı. Bu işlem 15 gün boyunca tekrarlandı.

İkinci set deneylerde, zamanın sitotoksisiteye etkisini değerlendirmek için hazırlanan PMMA örnekleri 15



**Şekil 5. (a-d)** Işık mikroskopunda Saos-2 hücrelerinin görünümü (ölçek boyu= 100 µm) [tripan mavisi ×10 (a, b) ve ×40 (c, d)]. [Bu şekil, derginin [www.aott.org.tr](http://www.aott.org.tr) adresindeki çevrimiçi versiyonunda renkli görülebilir]

**Tablo 1.** Dört-nokta eğme testi sonuçları.

Grup	15N'da sapma (mm)	50N'da sapma (mm)	Yetmezlik yüklenimi (N)	Eğilme modülü (MPa)	Eğilme kuvveti (MPa)
Kontrol	0.49	1.74	114.62	3644.64	63.15
100 mg	0.21	1.49	113.42	3509.03	62.49
300 mg	0.07	1.32	109.81	3593.92	60.50

gün boyunca 4°C'de saklandı. Sonrasında, örnekler 4 ml DMEM içinde, 4°C'de 24 saat inkübe edildi. Toplanan DMEM "ertelenmiş ortam" olarak etiketlenip -80°C'de depolandı.

Saos-2 hücrelerine, depolanan ortamlardan 0.1 ml uygulandıktan sonra 48 saat beklenildi. Sonrasında DMEM hücre kuyularından uzaklaştırıldı ve kuyulara 0.01 ml 3-(4,5-dimetil tiazol-2-yl)-2,5-difenil tetrazolyum bromit (MTT) (Chemicon, Merck Millipore, Billerica, MA, ABD) eklendi ve 37°C'de 4 saat beklenildi. MTT yaşayan hücreler tarafından formazana çevrildi. Formazan, izopropanol eklenerek çözüldü ve homojen mor renk elde edildi. Absorbans ölçümü 570 nm dalga boylu plaka ölçer (Biotek µQuant Microplate Spectrophotometer, BioTek Instruments, Inc., Winooski, VT, ABD) ile yapıldı. Kontrol grubu için 15, diğer gruplar için 19 adet MTT testi yapıldı. Sitotoksisiye etkisi canlı hücre oranı şeklinde ifade edildi.

Polimetil metakrilat yüzey analizi SEM (TEMGA-L 5400) kullanılarak yapıldı. Her gruptan iki örneğin yüzey görüntüleri alındı ve "salınım öncesi" olarak etiketlendi. Sonrasında bu örnekler 4 ml DMEM sıvıları içerisinde konuldu ve DMEM her 24 saatte bir 15 gün boyunca değiştirildi. Bu sürenin sonunda, yüzey görüntüleri alındı ve "salınım sonrası" olarak etiketlendi. Görüntüler, granül sayısı/mm<sup>2</sup> hesaplanarak kıyaslandı.

İstatistiksel analiz SPSS kullanılarak yapıldı (SPSS 11.0.1 for Windows, Chicago, IL, ABD). Devamlı değişkenler ortalama ± standart sapma (SD) olarak ifade edildi. İstatistiksel farkın hesaplanması için Wilcoxon testi, Mann-Whitney U testi, Kruskal-Wallis testi ve Friedman testi kullanıldı. P değerinin 0.05'ten küçük olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## Bulgular

Dört-nokta eğme testlerinin sonuçlarına göre, 3 grup arasında eğilme modülü ve eğilme kuvveti açısından anlamlı fark bulunmadı (sırasıyla p=0.36 ve p=0.84). Dört-nokta eğme testlerinin ortalama değerleri Tablo 1'de verilmiştir.

Üç grubun basma testinde elde edilen basma kuvvetleri arasında anlamlı fark yoktu (p=0.26). Kontrol grubu-

na göre 100 mg ve 300 mg gruplarının katılık değerleri anlamlı olarak yüksek bulundu (her karşılaştırma için p<0.001). Yüz mg ve 300 mg gruplarının katılık değerleri arasında anlamlı fark bulunmadı (p=0.53). Basma testlerinin ortalama değerleri Tablo 2'de verilmiştir.

Kırılma testi sonuçlarına göre, kırılma kuvveti ve katılık değerleri açısından 3 grup arasında anlamlı fark bulunmadı (sırasıyla p=0.13 ve p=0.65). Kırılma testlerinin ortalama değerleri Tablo 3'te verilmiştir.

Sitotoksisiye sonuçlarına göre, 1. gün ortamıyla inkübe edilen Saos-2 hücre kültürlerinin hücre canlılık oranları gruplar arasında anlamlı olarak farklılık göstermekteydi (kontrol grubunda %91.65, 100 mg grubunda %64.88, 300 mg grubunda %37.99, p<0.001). Benzer şekilde, 7. gün ve 15. gün ortamlarıyla inkübe edilen hücre kültürlerinin de canlılık oranları gruplar

**Tablo 2.** Basma testi sonuçları.

Grup	Yetmezlik yüklenimi (N)	Katılık	Basma kuvveti (MPa)	Basma Modülü (MPa)
Control	2937.52	2956.79	102,86	1072,90
100-mg	3054.41	3772.91	106,43	1309,64
300-mg	3042.36	3846.43	105,30	1330,86

**Tablo 3.** Kırılma testi sonuçları.

Grup	Yetmezlik yüklenimi (N)	Kırılma kuvveti (MPa)	Katılık
Kontrol 1	525.97	18,57	441.24
100 mg 1	554.63	19.12	457.39
300 mg 1	528.26	18.34	442.32

**Tablo 4.** Hücre canlılık oranları.

Canlılık\Grup	Kontrol	100 mg	300 mg	p value
1. gün canlılık (%)	91.65	64.88	37.99	<0.001
7. gün canlılık (%)	94.20	70.81	45.93	<0.001
15. gün canlılık (%)	94.72	65.11	47.72	<0.05
Ertelenmiş ortam canlılık (%)	91.65	65.72	37.50	<0.05

arasında anlamlı fark saptandı (sırasıyla  $p < 0.001$ ,  $p < 0.05$ ). MTT analizi sonuçları Tablo 4'te ve Şekil 6'da sunulmuştur. "Gecikmiş ortam" ile inkübe edilen hücre kültürlerinin canlılık oranları 3 grup arasında farklılık gösterirken ( $p < 0.05$ ), "gecikmiş ortam" ve 1. gün ortamıyla inkübe edilen kültürlerin canlılık oranları açısından 3 grup arasında fark bulunmadı ( $p > 0.05$ ). Kontrol grubunun ve 100 mg grubunun günlük hücre canlılık oranları, grup içinde farklılık göstermezken ( $p > 0.05$ ), 300 mg grubunda, 4. gün canlılık oranı 1. güne kıyasla anlamlı olarak artmıştı ( $p < 0.05$ ).

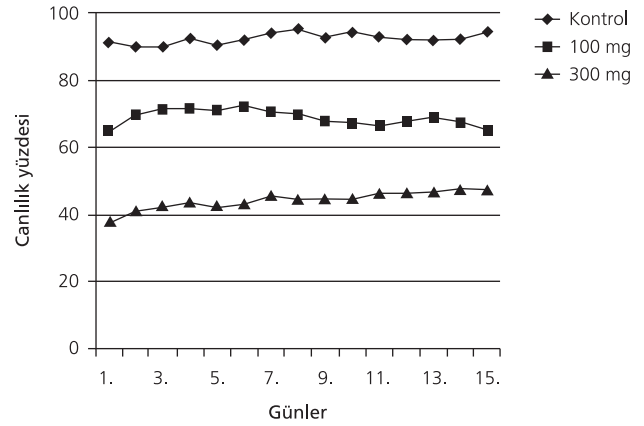
SEM analizinde sisplatin kümeleri PMMA'ya taneçikli bir görünüm vermekteydi. Sisplatin kümeleri 300 mg grubunda, 100 mg grubuna göre daha fazla yer kaplamaktaydı. Sisplatin taneçiklerinin miktarı, 15 günlük salınım sonrasında azalmaktaydı. Salınım öncesi, 100 mg ve 300 mg örneklerinin yüzeyinde yaklaşık olarak sırasıyla 12.500 taneçik/mm<sup>2</sup> ve 84.000 taneçik/mm<sup>2</sup> bulunmaktaydı. On beş günlük salınım sonrasında örneklerin yüzeylerinde 7900 taneçik/mm<sup>2</sup> ve 35.700 taneçik/mm<sup>2</sup> bulunmaktaydı. Taneçiklerin büyüklükleri farklı olduğu için, gerçek sisplatin miktarları açısından istatistiksel karşılaştırma yapılması mümkün olmadı. PMMA örneklerinin SEM görüntüleri Şekil 7 ve 8'de verilmiştir.

## Tartışma

Geniş rezeksiyon ve yüksek dozda sistemik kemoterapiye rağmen, iskelet tümörlerinde lokal nüksler ve uzak metastazlar görülebilmektedir.<sup>[1-3,7,9,12]</sup> Antineoplastik ilaç eklenmiş PMMA kullanımının, lokal nüksleri engelleyerek internal fiksasyonun ömrünü uzatabileceği düşünülmektedir.<sup>[2,3,9,11,13,14]</sup> Fakat antineoplastik ilacın polimerizasyon sürecindeki ısıya dayanabilmesi, PMMA'nın mekanik özelliklerini etkilememesi ve PMMA'dan aktif formuyla salınabilmesi gerekmektedir.<sup>[1,2,5,11]</sup> Çalışmamız, sisplatin eklenmesinin PMMA'nın mekanik özelliklerini değiştirmediğini ve Saos-2 hücreleri üzerine sitotoksik etki uygulayabildiğini göstermiştir.

Çalışmamızda bazı kısıtlamalar bulunmaktadır. Çalışma sırasında PMMA'dan sisplatin salınım kinetiği araştırılmamıştır. Ek olarak, PMMA yüzeyindeki sisplatin miktarının kantitatif analizi salınım kinetiğinin daha iyi anlaşılmasına yardımcı olabilirdi. Tekrarlayıcı basma yüklenmesinin PMMA'dan sisplatin salınımına etkisi olup olmadığının veya PMMA örneklerinin tekrarlayıcı yüklenmeye bağlı kırıklara daha duyarlı olup olmadığının araştırılmaması çalışmamızın başka bir kısıtlamasıydı. Çalışmamızda salınım sonrası mekanik değerlendirme yapılmamıştır.

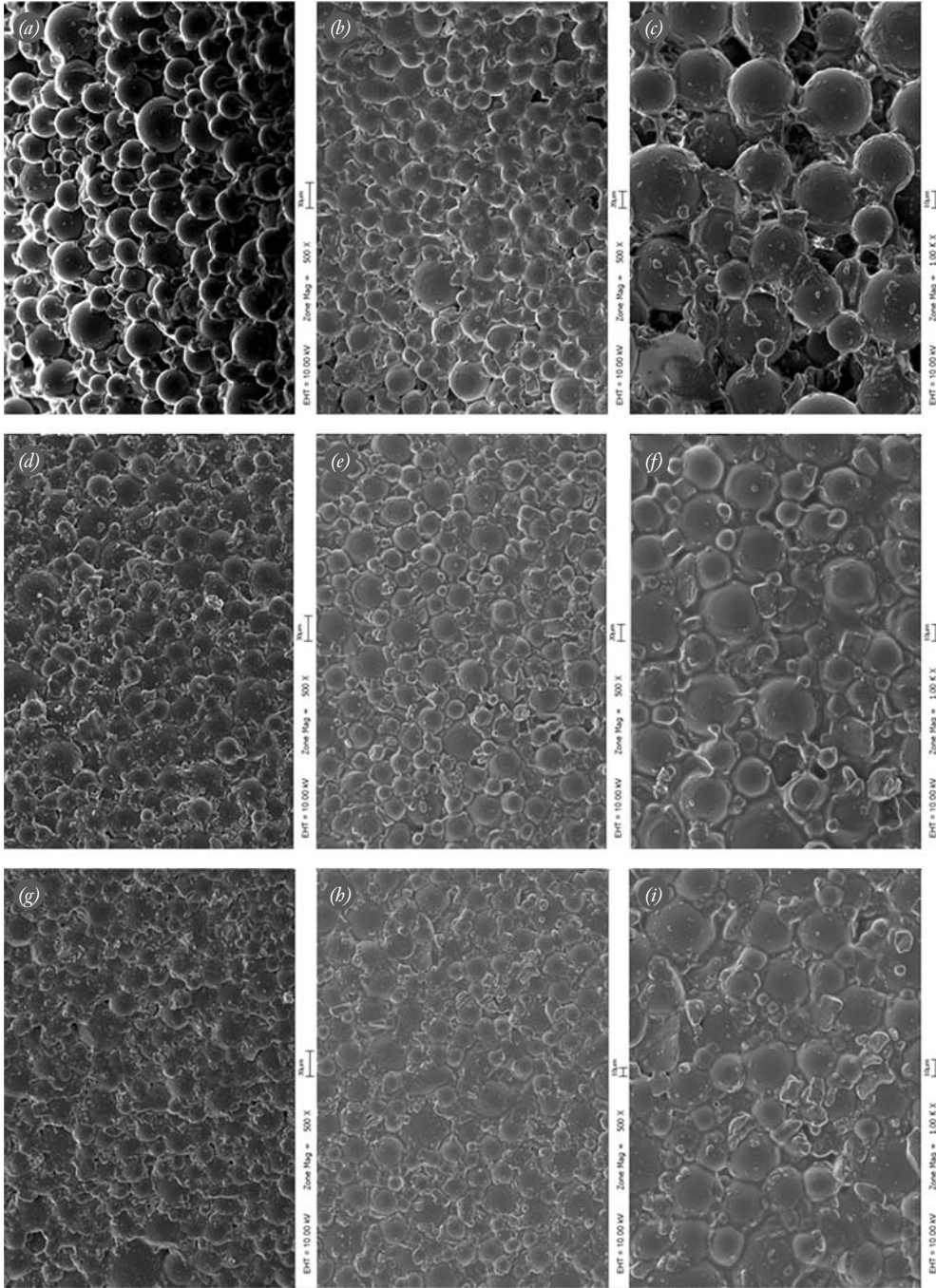
Polimetil metakrilata, basma ve eğilme kuvvetleri direncini etkilemeden 2 grama kadar metotreksat ekle-



Şekil 6. Farklı Saos-2 hücre gruplarının canlı hücre oranının günlük değişimi.

nebildiği gösterilmiştir.<sup>[1,2,13]</sup> Kırk g PMMA tozuna 50 mg doksorubisin veya 50 mg sisplatin eklenmesi PMMA'nın dayanıklılığını etkilememektedir.<sup>[1]</sup> İki gram doksorubisin ve 2 gram pamidronat eklendikten sonra, 6 ay sıvı ortamda bekletilmesine rağmen, PMMA, basma ve gerilme dayanıklılığının %87'sini koruyabilmektedir.<sup>[15]</sup> Bizim sonuçlarımız da literatürle uyumludur. Kırk g PMMA tozuna 100 mg ve 300 mg sisplatin eklenmesi eğilme ve kırılma dayanıklılığını etkilememiştir. Basma testleri ise ilaç gruplarında artmış bir katılık değeri ortaya koymuştur. Artmış katılıkla birlikte PMMA örneklerinin daha kırılğan olması beklenmekteydi. Fakat basma kuvvetlerinde bir fark bulunmamıştır. Sonuçlarımız, 40 g PMMA tozuna 300 mg'a kadar sisplatin eklenmesinin mekanik özellikleri etkilemediğini göstermiştir.

PMMA kullanımıyla, daha yüksek dozda lokal ilaç konsantrasyonlarına ulaşılabilir.<sup>[2]</sup> Salınan ilacın sistemik dolaşıma geçmesi kapiller sistem vasıtasıyla olduğu için yavaş olmaktadır. Böbrek ve karaciğer yoluyla atılımı da ilacın sistemik konsantrasyonunu ve yan etkilerini azaltmaktadır.<sup>[2]</sup> Mestri ve ark., PMMA'dan *in vitro* ve *in vivo* ortamda sisplatin salınımının yavaş ve başta eklenen doza bağımlı olduğunu göstermişlerdir.<sup>[14]</sup> Seksen günün sonunda, *in vitro* ortamda, %1 ve %20 oranında sisplatin içeren örneklerin (sisplatin ağırlığı/PMMA tozu ağırlığı) saldıkları ilaç miktarları baştaki sisplatin miktarının %3'ünün ve %12'sinin salındığını saptamışlardır.<sup>[14]</sup> Fakat *in vivo* testlerde, başta eklenen ilacın yaklaşık %52'sinin salındığını bulmuşlardır.<sup>[14]</sup> Sonuç olarak, çimento çevresindeki artmış damarlanmanın salınımı arttırdığını ileri sürmüşlerdir.<sup>[14]</sup> Çalışmamızda, her 24 saatte değiştirilen ortam sayesinde hücre dışı sıvı ile sisplatin klirensi taklit edilmeye ça-

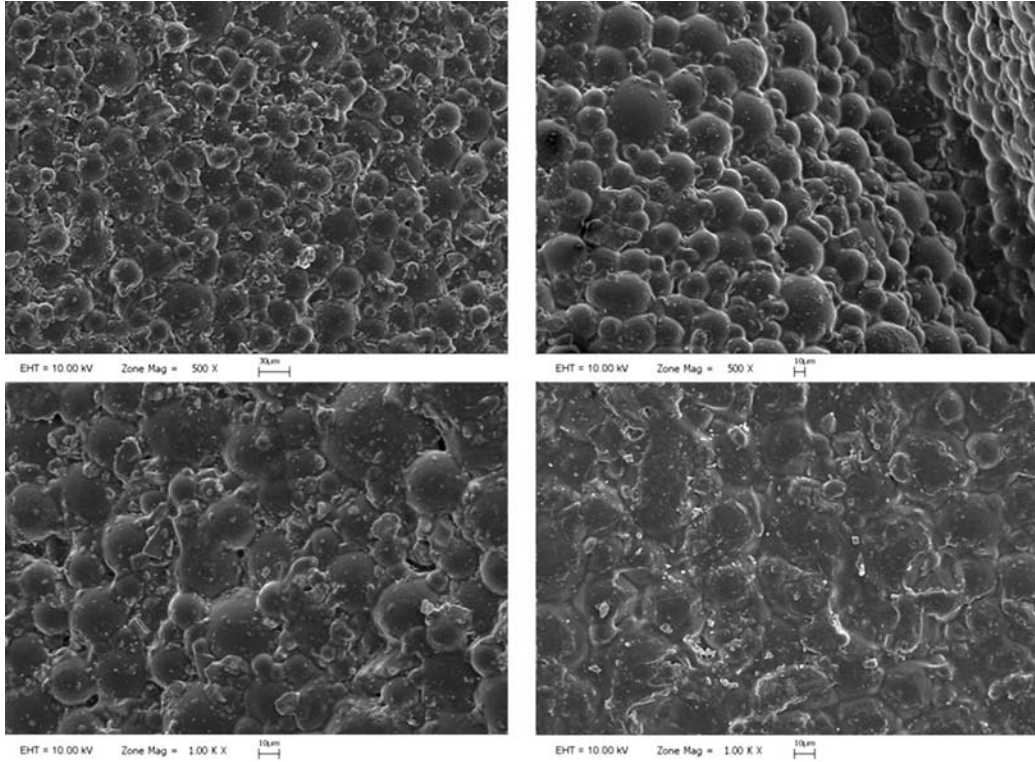


Şekil 7. Kontrol (a-c), 100 mg (d-f) ve 300 mg (g-i) gruplarının salınım öncesi SEM görüntüleri.

İşilmiştir. Sitotoksitenin salınan ilaç miktarıyla doğru orantılı olduğu farz edilirse, çalışmada, günlük hücre canlılık oranlarının hemen hemen sabit olduğu, 15 günlük süreç boyunca sabit bir sisplatin salınımının olduğu görülmektedir. Üç yüz mg sisplatin eklenmesi, 100 mg'a göre birinci günün sonunda 1.73 kat fazla sitotoksik etki yaratmıştır. Aynı oran ilk hafta sonunda 1.54 ve 15. günün sonunda 1.36 idi. Bu sonuçlar, sisp-

latin salınımının baştaki doza bağlı olduğunu fakat bu bağımlılığın zamanla azaldığını desteklemiştir.

Antineoplastik ilaç ekli PMMA'nın sitotoksik etkileri *in vivo* ve *in vitro* ortamda çalışılmıştır.<sup>[1,5,12]</sup> Dev hücreli tümör, kolon, akciğer ve meme kanseri hücrelerinin büyümesinin sisplatin,<sup>[1,16]</sup> doksorubisin,<sup>[1]</sup> daunorobisin<sup>[17]</sup> ve adriamisin<sup>[16]</sup> eklenmiş PMMA kullanımıyla *in vitro* ortamda engellenebildiği gösterilmiştir.



**Şekil 8.** 100 mg (a, b) ve 300 mg (c, d) gruplarının salınım sonrası SEM görüntüleri.

Bizim çalışmamızda da, PMMA'dan salınan sisplatin, 15 gün boyunca Saos-2 hücreleri üzerine sitotoksik etki yaratmıştır. Bu etki doza bağlıdır. Yüksek ilaç içeriğindeki grupta, oluşan etki daha fazladır. On beş günlük saklama sisplatinin etkisini değiştirmemiştir.

Sisplatin eklenmesi PMMA'nın mekanik özelliklerini değiştirmemektedir. Sisplatin içerikli PMMA kullanımı, yüksek ve sabit bir doku konsantrasyonu sağlayarak, daha az yan etkiyle kanser büyümesinde daha iyi bir lokal kontrol sunabilir. Ek olarak, sistemik dolaşıma geçen az miktardaki ilaç uzak metastazların oluşmasını engelleyebilir. Farklı yüzey alanlarına sahip PMMA örnekleriyle yapılacak salınım araştırmaları ve daha uzun takipli *in vivo* çalışmalar bu tür bir tedavi seçeneğinin geliştirilmesine yardımcı olacaktır.

**Çıkar Örtüşmesi:** Çıkar örtüşmesi bulunmadığı belirtilmiştir.

### Kaynaklar

- Rosa MA, Maccauro G, Sgambato A, Ardito R, Falcone G, De Santis V, et al. Acrylic cement added with antiblastics in the treatment of bone metastases. Ultrastructural and *in vitro* analysis. J Bone Joint Surg Br 2003;85:712-6.
- Wang HM, Galasko CS, Crank S, Oliver G, Ward CA. Methotrexate loaded acrylic cement in the management of skeletal metastases. Biomechanical, biological, and systemic effect. Clin Orthop Relat Res 1995;(312):173-86.
- Decker S, Winkelmann W, Nies B, van Valen F. Cytotoxic effect of methotrexate and its solvent on osteosarcoma cells *in vitro*. J Bone Joint Surg Br 1999;81:545-51.
- Bridgens J, Davies S, Tilley L, Norman P, Stockley I. Orthopaedic bone cement: do we know what we are using? J Bone Joint Surg Br 2008;90:643-7.
- Savadkoochi DG, Sadeghipour P, Attarian H, Sardari S, Eslamifar A, Shokrgozar MA. Cytotoxic effect of drugs eluted from polymethylmethacrylate on stromal giant-cell tumour cells: an *in vitro* study. J Bone Joint Surg Br 2008;90: 973-9.
- Wang HM, Crank S, Oliver G, Galasko CS. The effect of methotrexate-loaded bone cement on local destruction by the VX2 tumour. J Bone Joint Surg Br 1996;78:14-7.
- Draenert FG, Draenert K. Methotrexate-loaded polymethylmethacrylate bone cement for local bone metastasis therapy: pilot animal study in the rabbit patellar groove. Chemotherapy 2008;54:412-6.
- Hernigou P, Brun B, Astier A, Goutallier D, le Bourgeois JP. Diffusion of methotrexate from surgical acrylic cement. Cancer Treat Res 1993;62:231-3.
- Hernigou P, Thiery JP, Benoit J, Voisin MC, Leroux P, Hagege G, Delepine G, Goutallier D. Methotrexate diffusion from acrylic cement. Local chemotherapy for bone tumours. J Bone Joint Surg Br 1989;71:804-11.
- Kirchen ME, Menendez LR, Lee JH, Marshall GJ. Methotrexate eluted from bone cement: effect on giant cell tumor of bone *in vitro*. Clin Orthop Relat Res 1996;(328): 294-303.



11. Maccauro G, Cittadini A, Casarci M, Muratori F, De Angelis D, Piconi C, et al. Methotrexate-added acrylic cement: biological and physical properties. *J Mater Sci Mater Med* 2007; 18:839-44.
12. Kim HS, Park YB, Oh JH, Yoo KH, Lee SH. The cytotoxic effect of methotrexate loaded bone cement on osteosarcoma cell lines. *Int Orthop* 2001;25:343-8.
13. Handal JA, Frisch RF, Weaver WL, Williams EA, Dimatteo D. Method for the physical analysis of drug-bone cement composite. *Clin Orthop Relat Res* 2007;(459):105-9.
14. Mestiri M BJ, Hernigou P, Devissaguet JP, Puisieux F. Cisplatin-loaded poly (methyl methacrylate) implants: a sustained drug delivery system. *J Control Release* 1995;33:107-13.
15. Healey JH, Shannon F, Boland P, DiResta GR. PMMA to stabilize bone and deliver antineoplastic and antiresorptive agents. *Clin Orthop Relat Res* 2003(415 Suppl):S263-75.
16. Greco F, de Palma L, Specchia N, Jacobelli S, Gaggini C. Polymethylmethacrylate-antiblastic drug compounds: an *in vitro* study assessing the cytotoxic effect in cancer cell lines-- a new method for local chemotherapy of bone metastasis. *Orthopedics* 1992;15:189-94.
17. Froschle GW, Mahlitz J, Langendorff HU, Achilles E, Pollock J, Jungbluth KH. Release of daunorubicin from polymethylmethacrylate for the improvement of the local growth control of bone metastasis animal experiments. *Anticancer Res* 1997; 17:995-1002.