

## Radyoterapinin Normal Kortikal Kemik Biyomekaniği Üzerine Etkileri

### Effects of Radiotherapy on Cortical Bone Biomechanics

Ülkü ÇÖMELEKOĞLU<sup>1</sup>, Suat ARSLANTAŞ<sup>2</sup>, Necat YILMAZ<sup>3</sup>, Serap YALIN<sup>4</sup>, Ebru BALLI<sup>3</sup>,  
Fatma SÖĞÜT<sup>1</sup>, Selma KORKUTAN<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı, Mersin

<sup>2</sup>Adana Numune ve Araştırma Hastanesi, Radyasyon Onkolojisi Kliniği, Adana

<sup>3</sup>Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Mersin

<sup>4</sup>Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Mersin

#### Özet

**Amaç:** Bu çalışmada radyoterapinin normal kortikal kemik biyomekaniği üzerine geç dönem etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Deneyle 30 adet Wistar albino sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar her grupta 10 sıçan olacak şekilde kontrol, 3. ay ve 6. ay gruplarına bölünmüştür. 3. ay ve 6. ay gruplarındaki hayvanların bacaklarına Picker® C-9 <sup>60</sup>Co teleterapi ünitesi ile doz hızı 82 cGy/MU olacak şekilde 1 Gy/gün bölünmüş dozlarda toplam 10 gün radyoterapi uygulanmıştır (1 Gy/günx10). Son dozun uygulanmasından 3 (3. ay grubu) ve 6 ay sonra (6.ay grubu) sıçanların femurları çıkarılmış ve çekme testi kullanılarak kortikal femurların maksimum kuvvet, stres, strain ve dayanıklılık değerleri ölçülmüştür.

**Bulgular:** Maksimum kuvvet, stres, strain ve dayanıklılık değerleri 3. ay grubunda kontrole göre önemli miktarda azalmıştır. 6. ay grubunda ise strain ve dayanıklılık değeri kontrole göre önemli miktarda azalırken, kırılma kuvveti ve stres değerlerindeki azalma önemli bulunmamıştır. Ölçülen tüm değerler için 3. ve 6. ay grupları arasında da önemli bir fark gözlenmemiştir.

**Sonuç:** Bu çalışmada 10 Gy radyoterapinin uygulamadan üç ve altı ay sonra normal kortikal kemik kalitesinde önemli bozulmalara neden olduğu gözlenmiştir.

**Anahtar sözcükler:** radyoterapi; kortikal kemik; biyomekanik

#### Abstract

**Objective:** In this study, it was aimed to investigate the late effect of radiotherapy on the normal rat cortical bone biomechanics.

**Methods:** Thirty male Wistar albino rats were used in the experiments. They were divided into three groups [control (n=10), third-month (n=10) and sixth-month (n=10)]. Irradiation was delivered to the legs of rats at the daily fraction doses of 1 Gy/day with the rate of 82 cGy/MU by a Picker® C-9 <sup>60</sup>Co teletherapy unit for 10 days. 3 (control and third-month group) and 6 (sixth-month group) months after the administration of the last dose, femurs of the rats were removed. Then, maximum force, stress, strain and toughness of cortical femur were measured.

**Results:** In the third-month group, maximum force, stress, strain and toughness significantly decreased in comparison to control group. On the other hand, strain and toughness significantly decreased in sixth-month group whereas maximum force and stress were not significantly change in this group in comparison to control group. No significant difference was observed between the third-month and the sixth-month groups for measured biomechanics variables.

#### Conclusion:

In this study, it was determined that 10 Gy radiotherapy causes significant deteriorations in normal cortical bone biomechanic quality 3-6 months after irradiation.

**Key words:** radiotherapy; cortical bone; biomechanics

Mersin Univ Sağlık Bilim Derg, 2011;4(1):12-16

Geliş Tarihi : 29.09.2011

Kabul tarihi : 03. 04. 2012

**Yazışma Adresi:** Prof. Dr. Ülkü Çömelekoğlu, Mersin Üniversitesi Tıp

Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı, Mersin

Tel : 3243412409

Faks : 3243412408

E-posta : ucomelek@yahoo.com

## Giriş

İyonize radyasyon başta meme kanseri olmak üzere lenfoma, pelvik kanserler ve yumuşak doku kanserlerinin tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (1). Yapılan çalışmalarda kanser hastalarının yaklaşık %52'sinin radyasyon tedavisine maruz kaldığı bildirilmiştir (2). Radyoterapinin etkisi sadece kanser hücrelerini öldürmekle sınırlı değildir, kanserli hücrelerin çevresinde bulunan normal dokular üzerine de toksik etkisi vardır (3). Uygulamalarda bu toksik etkinin minimum düzeyde olması istenir (4). Radyoterapinin normal dokular üzerine etkileri erken dönem ve geç dönem etkiler olmak üzere iki gruba ayrılır (5). Erken dönem etkiler radyoterapi uygulanması sırasında ya da radyoterapi bitiminden hemen sonra ortaya çıkar. Bu etkilere özellikle hızlı bölünüp çoğalan hücrelerin (gastrointestinal sistem mukoza, kemik iliği, deri) bulunduğu doku ve organlarda rastlanır. Etkinin şiddeti hücrelerin radyasyona duyarlılığının yanı sıra uygulanan toplam radyasyon dozu ve dozun ne kadar bölünerek verildiğine bağlıdır (2). Geç dönem etkiler radyoterapi tedavisinin tamamlanmasından aylar sonra ortaya çıkan etkilerdir. Genellikle yavaş bölünen ve çoğalan hücrelerdeki (sinir, kas, kemik) hasarlar sonucu oluşur. Geç dönem etkilerin oluşumuna neden olan faktörler uygulanan bölünmüş doz ve toplam doz miktarına bağlıdır. Erken dönem etkilerinin aksine geç dönem etkiler genellikle kalıcı etkilerdir (2,6).

Olgun kemiğin radyasyon etkisine maruz kalmasının kemikte vasküler ve hücresel değişikliğe yol açtığı, kırıklara duyarlılığın arttığı saptanmıştır (6). Serviks, anüs veya rektum kanseri olan bireylerde radyoterapiden sonra kemiklerin kırılma riskinin radyoterapi almamış bireylere göre 3 kat daha fazla olduğu bildirilmiştir (1). Ancak

kemikte radyoterapinin etkisini belirlemeye yönelik yapılan çalışmalar, yapısal değişikliğin ve kemik mineral yoğunluğunun saptanmasıyla sınırlıdır. Kemiğin biyomekanik kalitesini belirlemeye yönelik çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada kanser tedavisinde ülkemizde de yaygın olarak kullanılan iyonize radyasyonun kemiğin biyomekanik kalitesi üzerine geç dönem etkisinin saptanması amaçlanmıştır.

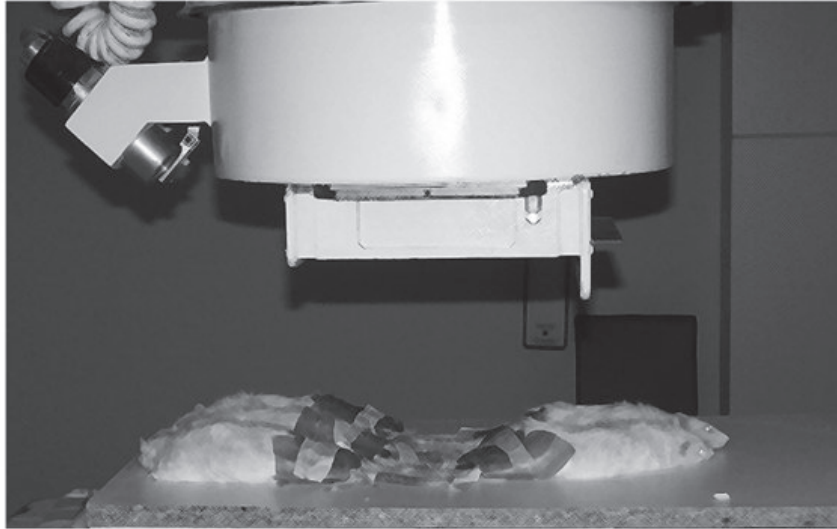
## Gereç ve Yöntemler

### Deney Hayvanları

Deneylerde ağırlıkları 180-200 gram arasında değişen 30 adet Wistar albino cinsi erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar deney süresince 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortamda, oda sıcaklığı 21°C ve ortalama nem yaklaşık %50 olacak şekilde galvaniz kafeslerde tutuldu, deney süresince standart sıçan yemi ile beslendi, su gereksinimleri *ad libitum* olarak karşılandı. Sıçanlar her grupta 10 adet olacak şekilde kontrol, 3. ay ve 6. ay gruplarına ayrıldı. Sıçanlara tüm işlemler Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurul onayı alındıktan sonra uygulandı.

### Radyoterapi Uygulanması

Kontrol grubu dışındaki sıçanlara ketamin (Ketalar, Eczacıbaşı İlaç Sanayi, Türkiye) ile anesteziden sonra Picker® C-9 <sup>60</sup>Co teleterapi cihazıyla 82 cGy/MU doz hızında ve 0.5 cm alan derinliğinde 1 Gy bölünmüş dozlarla 10 gün boyunca radyoterapi uygulandı (Şekil 1). Uygulama sırasında sıçanların bacaklar dışında kalan bölgelerinin radyasyon alması kurşun bloklarla engellendi.



Şekil 1. Teleterapi cihazı ile sıçanlara radyoterapi uygulanması

### Biyomekanik Deneyler

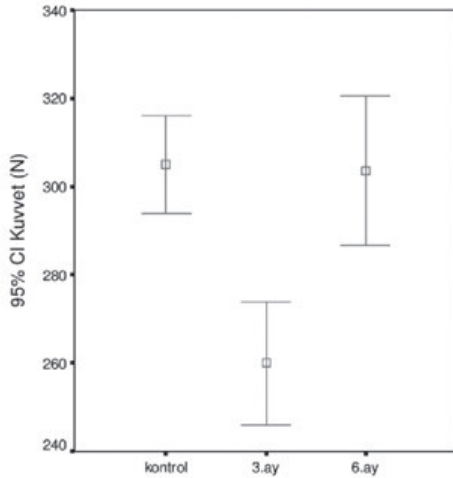
Radyoterapi uygulamasının sonlanmasından 3 ay sonra kontrol grubu ve 3. ay grubundaki, 6 ay sonra ise 6. ay grubundaki sıçanlara yüksek doz ketamin verilerek

yaşamları sonlandırıldı. Biyomekanik analiz için femurları çıkarıldı ve biyomekanik test yapıncaya kadar -20 °C'de bekletildi. Biyomekanik analiz kortikal femurda yapıldı. Dondurulmuş olarak saklanan

femurlar oda sıcaklığına getirildikten sonra biyomekanik cihaza yatay olarak yerleştirildi ve uçları akrilik ile tespit edildi. Daha sonra femurlara BIOPAC MP 100 data toplama istasyonu ile uyumlu biyomekanik cihazıyla çekme testi uygulandı. Uygulama sırasında kemikler, kurumalarını önlemek için %0.9'luk NaCl ile ıslatıldı. Kuvvet verileri 16 bitlik analog/dijital çevirici ile saniyede 1000 örnek alınarak bilgisayara aktarıldı ve daha sonra analiz edilmek üzere bilgisayara kaydedildi. Modülün çekme hızı 2 mm/dakika, uyguladığı kuvvet ise 5 g/s olarak ayarlandı. Bilgisayardaki veriler BIOPAC MP 100 Acquisition System Version 3.5.7 (Santa Barbara, ABD) kullanılarak analiz edildi. Bu verilerden kırılma kuvveti ölçüldü ( $F_{kir}$ ). Maksimum stres,  $F_{kir}/A$ , maksimum strain,  $\Delta L/L$ , dayanıklılık ise (maksimum stres\*maksimum strain)/2 bağıntularından hesaplandı (7). Bu bağıntılarda A kemiğin kesit alanı,  $\Delta L$  kemiğin maksimum uzama miktarı, L kemiğin başlangıçtaki boyu olarak tanımlandı. Kesit alanını hesaplamak için bilgisayarlı tomografi ile (ARSTAR 40, Erlangen, Almanya) kemiklerin enine kesitleri elde edildi. Bu kesitler daha sonra bilgisayara aktarıldı ve uygun program kullanılarak alanları hesaplandı.

#### İstatistiksel Analiz

Verilerin analizinde SPSS istatistiksel paket programı kullanıldı. Veriler ortalama  $\pm$ standart sapma olarak ifade edildi. Değişkenlere ait verilerin normal dağılıma uygunluk gösterip göstermediğini test etmek için Kolmogorov-



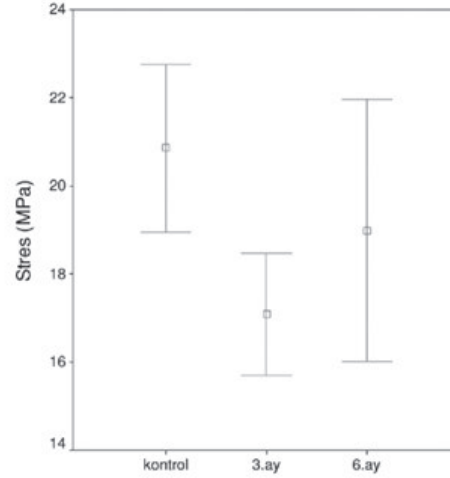
Şekil 2. Kontrol, 3. ay ve 6. ay gruplarında kuvvet değişimleri

Ancak 3. ay ve 6. ay grupları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmadı ( $p>0.05$ ) (Şekil 4). Kemiklerin ortalama dayanıklılığı kontrol grubunda  $1.28\pm 0.07$  MPa, 3. ay grubunda  $0.31\pm 0.017$  MPa ve 6. ay grubunda  $0.39\pm 0.068$  MPa olarak hesaplandı. Grupların

Smirnov testi kullanıldı. Gruplar arasındaki istatistiksel farklar ANOVA testi, alt grup karşılaştırmaları Tukey çoklu karşılaştırma testi ile saptandı. İstatistiksel anlamlılığın sınırı  $p<0.05$  olarak belirlendi.

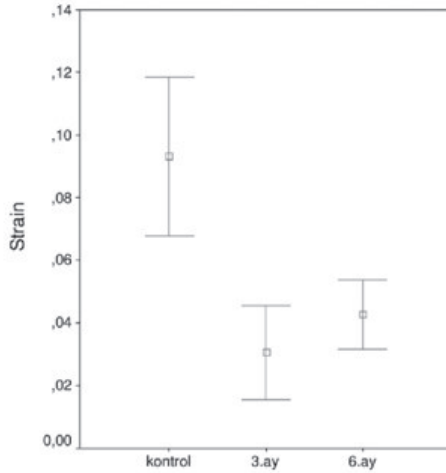
## Bulgular

Tüm gruplarda kemiğin biyomekanik özelliklerini tanımlayan değişkenlerden kırılma kuvveti, stres, strain ve dayanıklılık ölçüldü. Kontrol grubunda ortalama kırılma kuvveti  $304.93\pm 13.12$  N olarak bulunurken bu değer 3. ay grubunda  $259.9\pm 14.95$  N, 6. ay grubunda ise  $302.31\pm 18.46$  N olarak ölçüldü. 3. ay grubunda kırılma kuvveti kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli miktarda azaldı ( $p<0.05$ ). Kontrol ile 6. ay ve 3. ay ile 6. ay grupları arasındaki farklar ise önemli bulunmadı ( $p>0.05$ ) (Şekil 2). Ortalama stres değeri kontrol grubunda  $20.85\pm 2.28$ , 3. ay grubunda  $17.08\pm 1.50$ , 6. ay grubunda  $18.98\pm 2.83$  MPa olarak ölçüldü. Stres değeri 3. ay grubunda kontrole göre anlamlı olarak azalırken ( $p<0.05$ ) kontrol grubu ile 6. ay grubu ve 3. ay grubu ile 6. ay grubu arasındaki farkların istatistiksel olarak önemli olmadığı saptandı ( $p>0.05$ ) (Şekil 3). Kontrol grubunda ortalama strain değeri  $0.093\pm 0.07$ , 3. ay grubunda  $0.038\pm 0.023$ , 6. ay grubunda  $0.042\pm 0.01$  olarak hesaplandı. Bu değer 3. ay ve 6. ay gruplarında kontrole göre istatistiksel olarak önemli oranda azaldı ( $p<0.05$ ).

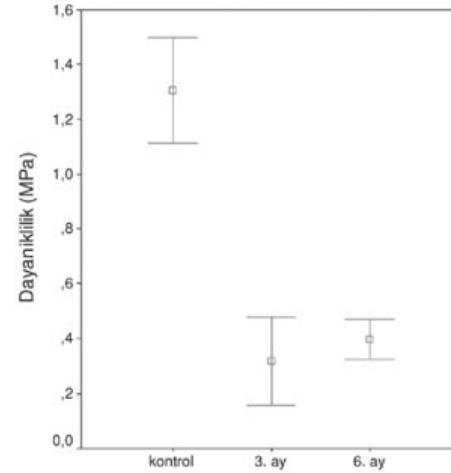


Şekil 3. Kontrol, 3. ay ve 6. ay gruplarında stres değişimleri

dayanıklılık değerleri karşılaştırıldığında kontrol grubu ile 3. ay ve 6. ay grupları arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli bulunurken ( $p<0.05$ ), 3. ay ve 6. ay grupları arasında önemli bir fark bulunmadı ( $p>0.05$ ) (Şekil 5).



Şekil 4. Kontrol, 3. ay ve 6. ay gruplarında strain değişimleri



Şekil 5. Kontrol, 3. ay ve 6. ay gruplarında dayanıklılık değişimleri

## Tartışma

Bu çalışmada 1 Gy bölünmüş dozlar halinde 10 gün boyunca uygulanan radyoterapinin normal kortikal kemiğin biyomekanik özellikleri üzerine geç dönem etkisi incelenmiştir. Son dozun uygulanmasından 3 ay sonra ve 6 ay sonra yapılan biyomekanik ölçümlerde uygulanan doz ve süredeki radyoterapinin kemiğin biyomekanik kalitesini azalttığı saptanmıştır.

Radyoterapinin kemikteki etkisi doza ve zamana bağlı olarak değişiklik göstermektedir (8). King ve ark. (9) tarafından tavşanlarda yapılan bir çalışmada 1.75 Gy bölünmüş doz halinde verilen toplam 4.65 Gy'lik radyasyonun kemik histolojisi ve fizyolojisi üzerine etkileri incelenmiş, bu dozdaki radyasyonun havers kanallarında daralmaya ve kemiğin vasküler yapısında bozukluğa yol açtığı bildirilmiştir. Howland ve ark. (10)'nın yaptığı çalışmada ise 200 kV dozunda radyoterapinin osteoblast fonksiyonunu bozduğu, vasküler değişikliğe neden olduğu, bunun da atrofiye yol açtığı öne sürülmüştür. Mitchell ve Logan (8) ise yaptıkları araştırmada radyoterapinin osteonekroz ve neoplaziye yol açtığını bildirmişlerdir. Jia ve ark. (11) ise farelerde yaptıkları çalışmada farelerin abdomenine tek doz (0.5, 10, 15 ve 20 Gy) ve bölünmüş doz olarak (3 Gy x 2 günde bir x 7.5 gün) radyoterapi uygulamışlar ve tek doz radyasyondan 7 gün sonra serum kemik rezorpsiyon markırlarında küçük azalma gözlemişlerdir. Buna ek olarak tek doz radyasyon kemik mineral yoğunluğunda da azalmaya yol açmıştır. Benzer şekilde bölünmüş dozlar olarak uygulanan radyasyon da son dozdan 10 gün sonra kemik mineral yoğunluğunda azalmaya yol açmıştır. Ayrıca tibianın kırılma kuvvetinde azalma gözlenmiştir. Bu çalışmada uygulanan toplam 10 Gy'lik doz, son bölünmüş dozun uygulanmasından 3 ay sonra kırılma kuvvetinde azalmaya yol açmıştır. Bu azalma kemik mineralizasyonundaki azalmayla ya da radyasyona bağlı olarak kemiğin vasküler yapısında meydana gelen

değişiklikle ilişkili olabilir. Mevcut diğer çalışmalardan farklı olarak bu çalışmada kemiğin biyomekanik kalitesiyle ilgili diğer değişkenler olan stres, strain ve dayanıklılık ölçülmüştür. Stres, strain ve dayanıklılığın kemiğin kollajen içeriğiyle ilgili olduğu ve bu değişkenlerdeki azalmanın kemiğin kollajen içeriğindeki azalmayla ya da kollajenin yapısında oluşan bozulmayla ilişkili olabileceği bildirilmiştir (12,13). Çalışmamızda 3. ayda ortalama stres, strain ve dayanıklılık, 6. ayda ise strain ve dayanıklılık değerleri kontrole göre istatistiksel olarak önemli düzeyde azalmıştır. Bu değerlerin azalmasının uygulanan doz ve süredeki radyoterapinin kemiğin kollajen yapısını etkilemesiyle ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Kollajen vücutta bol miktarda bulunan bir bağ dokusu proteindir. Kemiklerde tip I kollajen bulunur. Tip I kollajen üçlü heliks yapısına sahiptir (14). Çalışmamızda kollajenle ilgili parametreler olan strain ve dayanıklılığın azalması kollajenin bu üçlü heliks yapısının bozulmasıyla ilişkili olabilir (15). Radyoterapi uygulanması sonucu dokularda ortaya çıkan sıcaklık artışının doku proteinlerinin yapısını bozduğuna dair çalışmalar mevcuttur (8,14). Çalışmamızda kollajen yapısı ve içeriği ile ilgili mikroskopik değişikliklerin saptanmamış olması bir eksikliktir. Ancak daha sonraki çalışmalarda biyomekanik-yapı ilişkisinin ayrıntılı olarak incelenmesi planlanmaktadır. Çalışmamızda ölçülen tüm değişkenler için 3. ay grubu ile 6. ay grubu arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır. Bu sonuç radyoterapinin etkisinin uzun süreli olduğunu düşündürmüştür.

Sonuç olarak 1 Gy'lik bölünmüş dozlar halinde 10 gün boyunca uygulanan radyoterapinin uygulamadan 3-6 ay sonra normal kemiğin biyomekaniğini bozduğu, dayanıklılık ve esneklik özelliklerini azaltarak kemikte kırılma riskini arttırdığı düşünülmüştür.

## Kaynaklar

1. Cao X, Wu X, Frassica D, Yu B, Pang L, Xian L, Wan M, Lei W, Armour M, Tryggestad E, Wong J, Wen CY, Lu WW, Frassica FJ. Irradiation induces bone injury by damaging bone marrow microenvironment for stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011;108(4):1609-14.
2. Bloomer WD, Hellman S. Normal tissue responses to radiation therapy. *N Engl J Med* 1975;293(2):80-3.
3. Claro S, Oshiro ME, Freymuller E, Katchburian E, Kallas EG, Cerri PS, Ferreira AT. Gamma-radiation induces apoptosis via sarcoplasmic reticulum in guinea pig ileum smooth muscle cells. *Eur J Pharmacol* 2008;590(1-3):20-8.
4. Grdina DJ, Kataoka Y, Murley JS. Radioprotectants: Current status and new directions. *Oncology* 2002; 63(2):2-10.
5. Jurdana M. Radiation effects on skeletal muscle. *Radiol Oncol* 2008; 42(1):15-22.
6. Hendry JH, Jeremić B, Zubizarreta EH. Normal tissue complications after radiation therapy. *Rev Panam Salud Publica* 2006; 20(2-3):151-60.
7. Nigg BM, Herzog W. Biomechanics of the musculo-skeletal system. Nigg BM, Herzog W. Introduction, 2<sup>nd</sup> Ed. New York: Wiley & Sons, 1999:1-35.
8. Mitchell MJ, Logan MP. Radiation induced changes in bone. *Radio Graphics* 1998;18:1125-36.
9. King MA, Casarett GW, Weber DA. A Study of irradiated bone I. Histopathologic and physiologic changes. *J Nucl Med* 1979;20:1142-9.
10. Howland WJ, Loefflem RK, Starchman DE, Johnson RB. Post-irradiation atrophic changes of bone and related complications. *Radiology* 1975;117:103-11.
11. Jia D, Gaddy D, Suva LJ, Corry PM. Rapid loss of bone mass and strength in mice after abdominal irradiation. *Radiat Res* 2011;176(5):624-35.
12. Burr DB. The contribution of the organic matrix to bone's material properties. *Bone* 2002;31(1):8-11.
13. Turner CH. Biomechanics of Bone: Determinants of skeletal fragility and bone. *Osteoporos Int* 2002; 13:97-104.
14. Bailey AJ, Tromans WJ. Effects of ionizing radiation on the ultrastructure of collagen fibrils. *Radiat Res* 1964;23:145-55.
15. Wright NT, Humphrey J. Denaturation of collagen via heating: an irreversible rate. *Process Annu Rev Biomed Eng* 2002;4:109-28.