



**T.C.**  
**ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL OSTEOKONDRAL DEFEKT MODELİNDE**  
**DÜŞÜK DOZ X IŞINLAMANIN**  
**HYALİN KIKIRDAK BENZERİ FİBROKARTİLAJ**  
**ONARIM DOKUSUNUN**  
**YAPISAL VE MEKANİK ÖZELLİKLERİNE ETKİSİ**

**Dr. Tefrik ÖNCAN**

**UZMANLIK TEZİ**

**Danışman: Yard. Doç. Dr. Burak DEMİRAG**

**BURSA – 2006**

## GİRİŞ

Eklem kıkırdağı; eklemlerimizdeki kemik yüzeylerini kaplayan, pürüzsüz, kaygan, beyaz ve dayanıklı bir dokudur [1]. Oldukça kompleks olan bu dokuda hücrelerin hacimsel oranı % 1.7 olup; neredeyse aselüler kabul edilir [2]. Kan, lenf damarları ve sinirleri yoktur. Eklem yüzeyinden subkondral kemiğe ilerledikçe farklı tabakalardan oluşmaktadır. Yüzeysel, orta ve derin tabakalarındaki hücre ve ekstraselüler matriksi oluşturan yapıların yoğunluk ve dağılımları farklılıklar gösterir [1]. Ekstraselüler matriksin kollajen yapısı gerilme kuvvetini sağlarken, proteoglikan yapısı ise sıkışmaya karşı direncini yansıtır [3].

Eklem kıkırdağının iyileşme kapasitesinin kısıtlı olduğu yüzyıllardır bilinmektedir. 1743 yılında Hunter [4], "Bir kere bozulunca bir daha onarılamadığını" belirtmiştir. Hunter'dan günümüze; eklem kıkırdağına bakış oldukça değişmiş ve statik bir doku olarak değil, daha dinamik bir doku olarak ele alınmaya başlanmıştır [5]. Eklem kıkırdağının biyoloji, patofizyoloji ve biyomekaniği konusundaki bilgilerimiz özellikle son çeyrek asırda oldukça artmıştır [6].

Oldukça dayanıklı olan ve normal fizyolojik şartlarda seksen – doksan yıl bozulmadan kalabilen eklem kıkırdağı; travma veya enflamatuvar hastalıklar nedeniyle zarar görebilir ve/veya ilerleyici bir dejenerasyon sürecine girerek daha erken yaşlarda osteoartrit ile sonuçlanabilir [7]. Hemen hemen herkeste yaşa bağlı olarak kıkırdağlarda fibrilleşme şeklinde yapısal bozukluklar görülebilirken, bunların subkondral kist ve osteofitlerle karakterize osteoartrite yol açıp açmadığı kesin değildir [8]. Ancak, eklem kıkırdağındaki mekanik yaralanma, hücre apoptozisine neden olarak dejeneratif değişiklikleri başlatabilir [9].

Eklem kıkırdağında oluşan akut travmatik yaralanmalar daha çok genç hastalarda özellikle de spor yaralanmaları sonrasında görülmektedir [8]. Bu

yaralanmalar; kıkırdakta sınırlı kalan yüzeysel yaralanmalar ve subkondral kemiğe penetre olan yani osteokondral yaralanmalar olarak iki gruba ayrılabilir. Kıkırdakta sınırlı kalan yaralanmalarda; kondrositler çoğalıp toplansalar ve yeni matriks oluşturmaya başlasalar bile defekti onarmada yetersiz kalırlar [7]. Subkondral kemiğe penetre olan yaralanmalar ise; hyalin kıkırdak benzeri fibrokartilaj (HKBF) onarım dokusunun oluşması ile iyileşir. Bu onarım dokusu histolojik olarak hyalin kıkırdağa benzese bile, bir süre sonra bu dokuda genellikle dejeneratif değişiklikler oluşmaktadır [10]. Fokal osteokondral defektlerin en sık nedeni Osteokondritis Dissecans'tır [8], ve Osteokondritis Dissecans tanısı alan hastaların uzun dönem takibinde, ilerleyici ve geri dönüşsüz bir hastalık olan osteoartrit oranının arttığı gösterilmiştir [11].

Osteoartrit günümüzde kalp hastalığından sonra en çok iş gücü kaybına neden olan hastalıktır. Bireysel sağlık giderleri artarken, üretim azalır ve yaşam kalitesi kötüleşir [12]. Plastik, metal ve seramikten imal edilen yapay eklemler milyonlarca hastanın ağrısını gidermiş ve hareketini sağlamış olsa da; bu protezlerin bazı olumsuzlukları vardır. Yapay eklemleri olan bu hastalar implantlarını korumak için aktivitelerini kısıtlamak durumunda kalırlar. Bu da genç aktif hastalar için hiç de uygun değildir [8]. Total eklem replasmanının yetmezlik oranları genç ve orta yaştaki hastalarda yaşlı hastalara göre daha yüksektir [13]. Eklem kıkırdağının özelliklerine sahip sentetik bir materyal mevcut değildir ve replase edildiğinde kıkırdak ile kemik arasındaki stabiliteye hiçbir zaman ulaşılamaz [14]. Bu nedenle yüksek seviyede aktivitelere devam etmek isteyen genç hastalarda dejenere eklem kıkırdağını replase etmektense restore ederek ağrıyı gideren ve fonksiyonu düzelten ve de osteoartrit oluşumunu geciktiren cerrahi tedaviler önerilmektedir [14]. Osteoartritle ilişkili yapısal değişiklikler kıkırdak dışındaki sinovya, subkondral kemik, gibi diğer dokularda da oluştuğundan sadece kıkırdağı restore eden tedavilerin, osteoartritin tedavisine katkısının oldukça sınırlı olacağı da belirtilmektedir [8]. Kıkırdak defektlerinin erken tedavi edilmesinin daha başarılı olacağı, defekt eskidikçe yani kronikleştikçe tedavi

girişiminin başarı oranının azalacağı ileri sürülmüştür [15,16]. Kıkırdak rekonstrüksiyonunun iki hedefi vardır; birincisi, klinik olarak ağrının giderilip eklem fonksiyonunun restorasyonu, ikincisi ise artrit oluşumunu önlemek veya geciktirmektir [15]. Böylelikle; total eklem replasmanı özellikle aktif genç hastalarda geciktirilebilecektir.

Eklem kıkırdağını restore etmek için birçok yöntem geliştirilmiştir. Eklemi yıkama ve debridman, abrazyon, drilling, mikrokirik, osteokondral otogreftler, osteokondral allogreftler, osteotomiler, otolog kondrosit nakli, periosteal greftler perikondral greftler ve yapay matrisler günümüzde kullanılan tedavi seçenekleridir [17, 18, 19]. Bu yöntemler genel olarak iki ana gruba ayrılabilir; (1) kıkırdak onarım dokusunu uyaranlar yani intrinsik kapasiteyi artıranlar ve (2) bir eklem yüzeyi transplante edenler yani yeni kondrosit veya kondrojenik hücre nakledenler [8; 20].

Sadece kıkırdakla sınırlı defektlerde kıkırdak iyileşmesini uyarmak için subkondral kemiği geçmenin birçok yöntemi geliştirilmiştir; Sklerotik subkondral kemiğin *rezeksiyonu*, subkondral kemiğin delinmesi yani *drilling*, eklem yüzeyinin *abrazyonu*, keskin aletlerle küçük çaplı çatlaklar oluşturulması yani *mikrokirik* gibi [14, 21]. Subkondral kemiğin penetrasyonu ile vücudun kendi iyileşme kapasitesi kullanılmakta ve kemik iliğinden gelen mezenkimal kök hücreleri ile kıkırdak onarım dokusu oluşmaktadır. Eklem yüzeyinde oluşturulan bu yeni doku, normal eklem kıkırdağının yapısı, bileşimi, mekanik özelliklerini ve dayanıklılığını gösteremeyen HKBF' dir [14, 22].

Osteokondral otogreft kullanılan *mozaikplastide* ise sınırlı miktarda donör doku vardır. Donör bölge morbiditesinden bahsedilir [23]. Ve de greft etrafında yine HKBF doku oluşmaktadır [24]. Çapı 3 cm.nin üzerindeki defektlerin onarımında *osteokondral allogreftlerin* kullanılması gerekir [18]. *Otolog kondrosit nakli* fokal kondral defektlerin ve Osteokondritis Dissecans'ın tedavisinde başarılı olarak kullanılmaktadır [25, 26, 27].

Osteokondral otogreftler ile karşılaştırıldığında; Otolog kondrosit nakli ile elde edilen onarım dokusunun daha çok HKBF' dan oluştuğu gösterilmiştir [28]. Kıkırdak onarımı için yapılan diğer işlemlere ek olarak o bölgedeki artmış yükleri azaltarak onarım dokusunu korumak üzere proksimal tibial veya distal femoral *osteotomiler* de uygulanabilir [18]. Yük dağılımını değiştirmek amacıyla yapılan bu osteotomilerin, - tek başlarına uygulandıklarında bile - kemiğin açığa çıktığı bölgelerde HKBF doku oluşmasını sağladığı gösterilmiştir [14].

Kıkırdak iyileşmesinden sorumlu ve tüm uygulamalarda oluşabilen HKBF onarım dokusu; subkondral kemiğe yapılan penetrasyon ile oluşan defekt bölgesindeki kanama, fibrin pıhtı [14] ve enflamatuar yara iyileşme yanıtı [20] sonucu oluşur. Deneysel çalışmalar HKBF onarım dokusunu oluşturmaktan sorumlu hücrelerin fibrin pıhtıya kemik iliğinden giren osteokondral progenitor hücreler (mezenkimal kök hücreler) olduğunu göstermişlerdir [14, 19, 22]. Ancak onarım dokusunu oluşturmak üzere toplanan hücreler sadece bunlar olmayıp, nötrofilleri de içeren enflamatuar hücreler de buradaki yara iyileşmesine katkıda bulunur [2]. Neovaskülarizasyon ile vasküler bir fibroblastik onarım dokusu oluşur [10]. Bu granülasyon dokusunun kemik tarafındaki kısımda yeni kemik oluşumu görülürken, eklem boşluğuna bakan tarafında kıkırdağa benzer bir doku oluşur. Oluşan bu HKBF onarım dokusu, kıkırdak onarımının temelini oluşturur, ve bu dokuyu kuvvetlendirmeye yönelik araştırmalar [20, 29, 30, 31, 32, 33, 34] yapılmıştır.

Kıkırdak iyileşmesinin fiziksel etkenlerden ne kadar etkilendiğinin bir göstergesi olan devamlı pasif hareket (continious passive motion = CPM); kıkırdak onarımına yönelik işlemlere yardımcı olarak kullanılmaktadır [20, 31, 32]. Hatta sıkıştırıcı yüklenmenin kondrosit farklılaşmasına etkisi olduğu gösterilmiştir [35]. Statik yüklenme glikozaminoglikan sentezini azaltırken, dinamik yüklenme glikozaminoglikan sentezini artırmaktadır [36].

Kırık iyileşmesinde olduğu gibi kırık onarımında da elektrik uyarıları, lazerler gibi fiziksel ajanlar denenmiş ancak iyileşmeye etkileri gösterilememiştir [20]. Ampirik olarak fibrille olmuş kırık termal veya lazer ile "stabilize" edilmektedir ancak bu yüksek enerji uygulamalarının uzun dönemli sonuçları bilinmemektedir [6]. Fiziksel bir ajan olan radyoterapinin HKBF onarım dokusuna etkilerini araştıran bir çalışmaya ise literatürde rastlanmamıştır.

Radyoterapide kullanılan ışınların, 4 Gy ve üzerindeki dozlarda normal yara iyileşmesini bozdukları bilinmektedir. İyonize edici radyasyon, nötrofillerin; fibroblastlar ve endotelial hücrelerin proliferasyonunu sağlayan etkilerini önler. Fibrogenesis ve anjiogenezisi ayrıca doza bağımlı olarak direkt olarak da engeller. Bununla birlikte, fibroblastların proliferasyon, bağlanma ve adezyon yetileri de azalır [37].

Radyasyona bağlı olarak tüm doku ve organlarda en sık görülen geç etki fibrozistir. Süre ve doza bağlıdır ve bölgeden bölgeye değişiklikler gösterir. Radyasyona bağlı olarak ortaya çıkan fibrozis tipik olarak homojen değildir. Kemik fibrozisin görülmediği nadir organlardandır. Kemikte fibrozisten ziyade nekroz görülür [38]. Subkondral kemikte osteonekroz bulguları gösteren 50 Gy gibi yüksek dozlarda bile X ışınlama, eklem kırıkta dejeneratif değişiklikler oluşturmamaktadır. Normal eklem kırıkta bu ışınlamayı tolere edebilmektedir [39]. Eklem kırıkta dejeneratif değişiklikler olduğunda X ışınlarından metabolik olarak etkilenmesi daha olasıdır [40].

Radyoterapi enflamatuvar eklem hastalıklarında ampirik olarak kullanılmıştır. Düşük doz radyoterapi günümüzde hala dejeneratif ve romatizmal eklem hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır. Ancak deneysel modellerde kullanılarak etkilerinin araştırılması ve doz rejimlerinin belirlenmesi ancak son zamanlarda mümkün olmuştur [41, 42, 43]. Bu

Çalıřmalarda [41, 42, 43], genellikle dūřuk doz radyoterapi olarak 5 x 1.0 veya 5 x 0.5 Gy dozlar kullanılmaktadır.

Osteokondral yaralanmalarda onarım sūreci tahmin edilebilir bir seyir izlese de benzer defektlerde oluşan kıkırdak onarım dokusunun akıbeti oldukça farklılık gōsterebilir. Bazı osteokondral yaralanmalar en azından klinik olarak yıllarca yeterli gelen bir eklem fonksiyonu sağlayan HKBF oluşumu ile iyileşirken niçin bazılarının bunu sağlayamadığı çok iyi bir şekilde belirlenememiştir. Osteokondral defekt modelinde oluşan HKBF onarım dokusunun yapısını ve mekanik özelliklerini, fiziksel bir ajan olarak X işinleri kullanarak değiştirip, daha dayanıklı bir doku elde edebileceğimiz hipotezi ile bu çalışmayı planladık.

## GEREÇ VE YÖNTEM

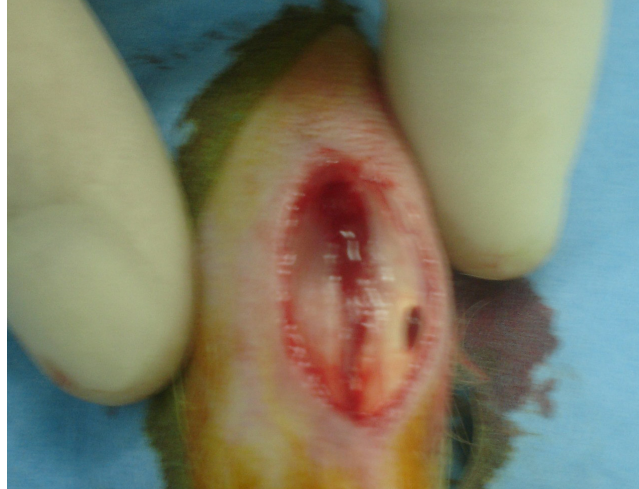
Bu deneysel çalışma, Uludağ Üniversitesi Hayvan Bakım ve Kullanım Komitesi'nin onayı ile, Uludağ Üniversitesi Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen, ve ağırlıkları 2200 – 3750 gram arası değişen 20 adet sağlıklı dişi Yeni Zelanda beyaz tavşanı kullanılarak gerçekleştirildi. Her bir tavşanın iki dizi kullanılarak; toplam 40 dizin eklem yüzeylerinde, her dizde birer adet olmak üzere osteokondral defektler oluşturuldu. Tavşanların birer dizleri çalışma grubu olarak kabul edilip radyoterapi ile tedavi edilirken, diğer dizleri kontrol grubunu oluşturdu. Çalışma grubu dizlere osteokondral defektler oluşturulduktan bir hafta sonra dışarıdan ışınlama şeklinde düşük doz radyoterapi uygulandı. Bu tavşanlar 4, 8 ve 12 hafta takip edilecek üç gruba rasgele bölündü. 4 ve 8 hafta takip edilecek gruplarda 5'er tavşan bulunmaktaydı. 12 hafta takip edilecek grupta ise 10 tavşan bulunuyordu. Histolojik değerlendirme; 4, 8 ve 12 hafta gruplarında; her gruptan 5 tavşanın 10 dizinde yapıldı. Biyomekanik çalışmalar ise 12. haftadaki 5 tavşanın 10 dizine yapıldı.

Tavşanlarda kusma ve aspirasyon riski olmadığı bilindiğinden [44], sadece ilaç doz hesaplamasında doğru vücut ağırlığını ölçebilmek için cerrahi girişimden 4 saat önce tavşanlar aç bırakıldı. Anestetik olarak 30 – 40 mg / kg dozunda ketamin HCl (Ketalar – PFİZER) , ve 3 – 5 mg / kg dozunda ksilazin HCl (Rompun – BAYER) kas içine uygulandı [44]. Her iki alt ekstremiteleri diz bölgesi tıraş edildi. Ön ve arka ayaklarından bağlanarak, ameliyat sahası %10 polivinil pirolidon iyot solüsyonu (Batticon - ADEKA) ile boyandı ve örtüm yapıldı. Enfeksiyon profilaksisi için 15 mg / kg dozunda Sefazolin-Na (Cefozin – BİLİM) kas içine uygulandı ve cerrahi işlemler sırasında asepsiye dikkat edildi.

Anterior longitudinal insizyon ile yaklaşılarak, medial parapatellar artrotomi ile eklem kapsülü açıldı (Şekil 1). Patella laterale disloke edildi ve diz tam fleksiyona getirilerek medial kondilin ağırlık taşıyan yüzeyine önce



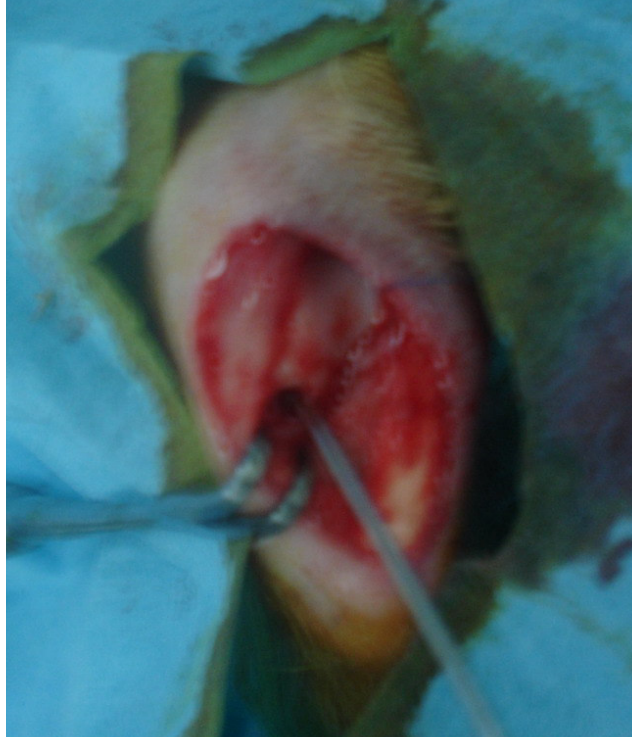
bisturi ucu ile matkap ucunun kaymaması için yer işaretlendi. Daha sonra 2,5 mm matkap ucu ile özellikle biyomekanik testi için sabit bir defekt oluşturabilmek için; 3 mm derinliğinde osteokondral defekt oluşturuldu (Şekil 2). Oluşturulan defektin ortasından 1.0 mm Kirshner teli ile bir kez delinerek yeterince kanamanın oluşması sağlandı (Şekil 3). % 9 NaCl solüsyonu ile yıkamayı takiben patella redükte edilerek, eklem kapsülü 4-0 emilebilen iplik (Vicryl – JOHNSON & JOHNSON); cilt ise 5-0 emilemeyen iplik (Ethilon – JOHNSON & JOHNSON) kullanılarak aralıklı olarak dikildi (Şekil 4). Diğer taraf dize de aynı işlemler uygulandıktan sonra; yaraların üzerlerine sprej olarak uygulanan pansuman (OpSite – SMİTH + NEPHEW) sıkıldıktan sonra ek bir kapatma uygulanmadı. Tavşanların arka bacakları tespit edilmeyip serbest bırakıldı. Tavşanlar postoperatif dönemde kafeslerinde tutuldu ve standart yem ile beslendiler. Sadece postoperatif ilk gün, içme sularına 1 – 2 mg / ml dozunda asetaminofen (Gripin Bebe – GRİPİN) konuldu [44].



**Şekil 1:** Anterior insizyon ve medial parapatellar artrotomi ile açılım.



**Şekil 2:** Patella laterale disloke edildikten sonra medial kondil eklem yüzeyine 2,5 mm matkap ucu ile osteokondral defektin oluşturulması.



**Şekil 3:** Oluşturulan osteokondral defektin ortasından 1,0 mm Kirshner teli ile delinerek yeterince kanamanın oluşması sağlandı.



**Şekil 4:** Eklem kapsülü ve cilt aralıklı dikişlerle kapatıldıktan sonra pansuman olarak sprey (OpSite – SMİTH + NEPHEW) uygulanıp yara açık bırakıldı.

Her bir tavşanın çalışma grubu dizine (sol dizi); Osteokondral defekt oluşturulduktan 7 gün sonra başlanmak üzere 5 gün eksternal radyoterapi uygulandı. Radyoterapi uygulanması sırasında agresifleşmemeleri için; cerrahi uygulamadaki dozlarda anestetik maddeler kas içine uygulanıp uyutulan tavşanlar, daha sonra sırtüstü tahtadan bir plaka üzerine yatırılarak ön ve arka ayaklarından bağlanarak hareketsiz bırakıldılar. Standart doğrusal bir hızlandırıcı (Siemens, Mevatron-KD2) kullanılarak elde edilen 6 MV enerjili X ışınlarının hesaplanan maksimum doz derinliği 1,5 cm olduğundan, tavşan diz eklemi üzerine 1,5 cm kalınlığında (insan dokusuna eşdeğer yoğunluğa sahip) bolus materyali koyuldu. Her bir tavşana ışınlama uygulanırken hızlandırıcıya olan uzaklığı tekrar ayarlandı ve sadece sol dizlerini içine alan 4 x 4 cm'lik bir alan 1.0 Gy doz alacak şekilde ışınlandı. Tüm tavşanlara ardışık beş gün boyunca aynı işlemler uygulandı ve her birinin sol dizinin toplam 5 Gy (5 x 1.0 Gy) doz alması sağlandı

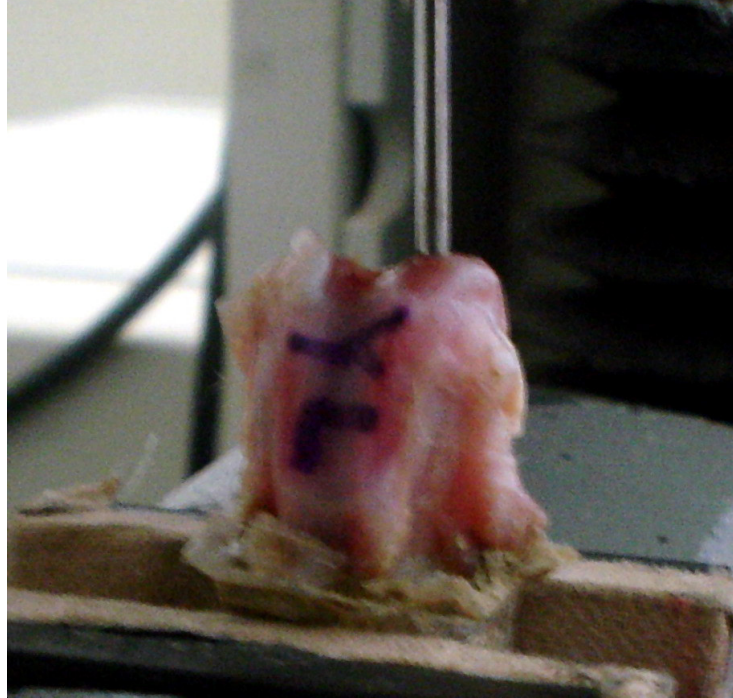
Tümüne aynı uygulamaların yapıldığı her birinde 5 tavşan bulunan histolojik olarak değerlendirilecek üç grup daha önce de planlandığı şekilde; I. grup, 4. haftada; II. grup, 8. haftada; III. grup ise 12. haftada sakrifiye

edildiler. I, II ve III. gruplardan alınan örnekler yani her iki distal femurları, makroskopik olarak değerlendirilip, fotoğrafları çekilerek, % 10 formaldehit solüsyonu içine kondu. 3 gün formaldehit solüsyonu içinde bekletilerek fikse edilen örnekler formik asit ile dekalsifiye edilip parafine gömüldükten sonra dört mikronluk sagittal kesitler alındı. Safranin-O ve Hemotoksilen-Eozin ile boyanan preparatlar, ışık mikroskobu ile değerlendirildi. O'Driscoll ve ark. [31, 32] tarafınca önerilen ve literatürde kabul gören [15, 45]; semikantitatif histolojik bir skalaya göre (Tablo 1), hangi dize radyoterapi uygulandığını ve hangi grubun kaç hafta takip edildiğini bilmeyen bir çalışmacı tarafından skorlandı. Bu skorlama yapılırken her preparatta değerlendirilen özellikler şunlar idi: (1) iyileşme dokusunu oluşturan, *Baskın Dokunun Yapısı*; hücre morfolojisi ve Safranin-O ile boyanmasına bakılarak; (2) iyileşme dokusunun *Yapısal Özellikleri*; yüzeyinin düzgünlüğü, yapısal bütünlüğü, kalınlığı ve komşu kıkırdak ile bağlılığına bakılarak ve (3) *Dejenerasyon Nedeniyle Oluşan Hücresel Değişikliklerin Olmaması* ise iyileşme dokusundaki hiposelülerite, kondrosit kümelenmesi ve komşu kıkırdakta dejeneratif değişikliklerin olup olmaması ile değerlendirildi (Tablo 1).

**Tablo 1: O'Driscoll [31, 32] Histolojik Skorum Sistemi.**

<b>ÖZELLİK</b>	<b>Skor</b>
<b>Baskın Dokunun Yapısı</b>	
<u>Hücre morfolojisi</u>	
Hyalin eklem kırırdağı	4
Tam farklılaşmamış mezenkim	2
Fibröz doku veya kemik	0
<u>Matriksin Safranin-O ile boyanması</u>	
Normal veya normale yakın	3
Orta	2
Hafif	1
Yok	0
<b>Yapısal Özellikler</b>	
<u>Yüzey düzgünlüğü</u>	
Düzgün ve bütünlüğü tam	3
Yüzeyel horizontal laminasyon	2
Fissürler: Kalınlığın % 25 – 100'ü kadar	1
Şiddetli bozulma ve fibrillasyon	0
<u>Yapısal bütünlük</u>	
Normal	2
Hafif bozulma ve kistler	1
Şiddetli disintegrasyon	0
<u>Kalınlık</u>	
Normal komşu kırırdağın % 100'ü	2
Normal kırırdağın % 50 – 100'ü	1
Normal kırırdağın % 50 >	0
<u>Komşu kırırdağ ile bağıllık</u>	
Heriki tarafı da bağıllık	2
Tek tarafı bağıllık veya her iki tarafı kısmen bağıllık	1
Bağıllık değil	0
<b>Dejenerasyon Nedeniyle Oluşan Hüresel Değişikliklerin Olmaması</b>	
<u>Hiposelüerite</u>	
Normal selüerite	3
Hafif hiposelüerite	2
Orta hiposelüerite	1
Şiddetli hiposelüerite	0
<u>Kondrosit kümelenmesi</u>	
Yok	2
Hücrelerin % 25 >	1
Hücrelerin % 25 – 100'ü	0
<u>Komşu kırırdağta dejeneratif değişikliklerin olmaması</u>	
Normal selüerite, hücre kümelenmesi yok, normal boyanma	3
Normal selüerite, hafif hücre kümelenmesi, orta boyanma	2
Hafif veya orta hiposelüerite, hafif boyanma	1
Şiddetli hiposelüerite, boyanma çok az veya yok	0
<b>Toplam</b>	<b>0 - 24</b>

Cerrahi işlemden 12 hafta sonra sakrifiye edilen ve biyomekanik olarak test edilecek gruptaki beş tavşandan alınan on örnek % 9 NaCl ile ıslatılmış gazlı bezlere sarılarak – 80 °C'de dondurularak bekletildiler. Testin yapılacağı günden bir gece önce örnekler + 4 °C'lik buzdolabına alınarak çözüldüler ve sıkıştırma testi günü ise buz kalıpları ile serin tutulan bir kaba alınarak oda ısısında bırakıldılar. Kurumamaları için sıkıştırma testinin uygulandığı ana kadar izotonik NaCl ile ıslatılmış gazlı bez ile örtülü bir şekilde tutuldular. Örneklerin femur diafizleri 1.5 x 1.5 cm'lik kalıplarda polyester içine gömüldü. Sonra buradan test cihazının (INSTRON, Model no:4301) alt mengenesine tutturuldu. Üst mengeneye ise 2 mm Kirshner teli (sivri olmayan) düz ucu aşağı bakacak şekilde bağlandı. Kirshner telinin tam defekt hizasına gelmesine dikkat edilerek test 1 mm / dk hızında uygulandı (Şekil 5). Sıkıştırma testi sonucu elde edilen yük – deformasyon eğrisinin genellikle ilk 1 mm'si içinde ve 0,025 N üzerindeki yüklerde görülen korelasyon sabiti 0,97' den yüksek olan lineer kısımlarının eğimleri kıkırdak sertliğini vermek üzere hesaplandı [23, 46].

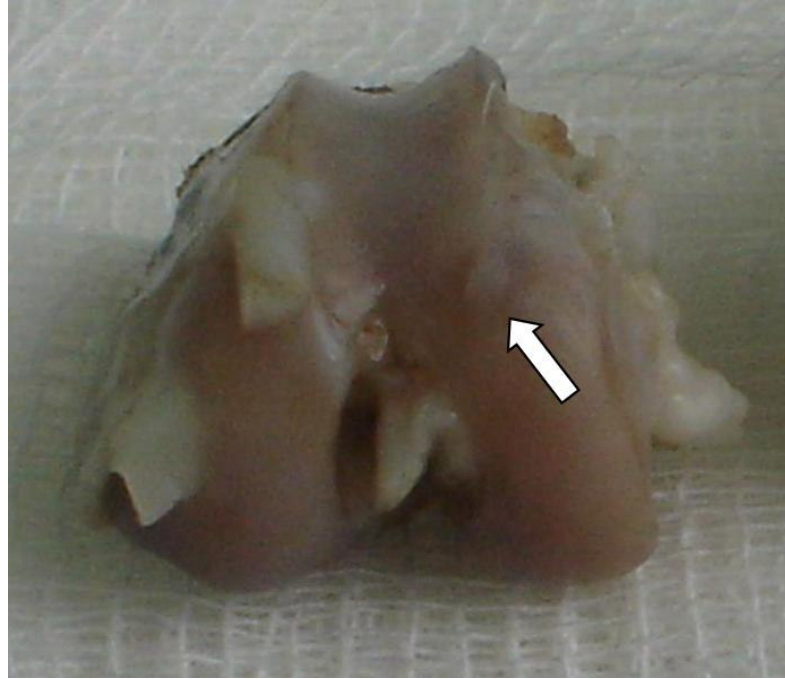


**Şekil 5:** Bir örneğe biyomekanik sıkıştırma testi uygulanırken.

Radyoterapi uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) dizlerdeki defektlerin histolojik skorları ve biyomekanik sıkıştırma testi sonuçları istatistiksel olarak Wilcoxon testi kullanılarak karşılaştırıldı. Ayrıca, farklı sürelerdeki skorların ve farklarının değişimi Kruskal-Wallis testi ile değerlendirildi. Kruskal-Wallis testinde anlamlı bir farklılık bulunduğu ise Mann-Whitney testi ile bu farkın hangi iki grup arasında olduğu belirlendi. Tüm bu istatistiksel testlerde anlamlılık sınırı  $p < 0,05$  olarak belirlendi.

## BULGULAR

Makroskopik olarak değerlendirildiğinde; 4, 8, ve 12 haftalık örneklerin hepsinde de her iki dizdeki osteokondral defekt belirlenebiliyordu. Defektler genellikle çevre normal kıkırdağa göre daha beyazımsı ve sınırları belirlenebilen bir iyileşme dokusu ile onarılmış idi (Şekil 6) . Çıplak gözle bakıldığında; radyoterapi grubu ve kontrol grubu dizler arasında belirgin bir farklılık tespit edilmedi, ayrıca hangi zaman grubuna ait olduklarını anlamak olanaksızdı. Örneklerin hiç birinde; osteofit, kıkırdak erozyonu, sinoviyal hipertrofi gibi makroskopik osteoartrit bulgularına rastlanmadı.



**Şekil 6:** 12. haftada sakrifiye edilen bir tavşanın sağ diz medial kondilindeki defekt bölgesi kolaylıkla belirlenebilmekte (ok).

Defekt oluşturulduktan 12 hafta sonra alınan ve biyomekanik olarak sıkıştırma testi ile değerlendirilen örneklerden elde edilen sonuçlar Tablo 2'de verilmektedir. Yük – deformasyon eğrisinin düz kısımlarının eğimleri olarak



hesaplanan kırık sertlikleri; radyoterapi uygulanan tarafta  $153,20 \pm 61,91$  N/mm iken; kontrol defektlerinde  $161,87 \pm 64,55$  N/mm idi, ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ( $p = 0,686$ ).

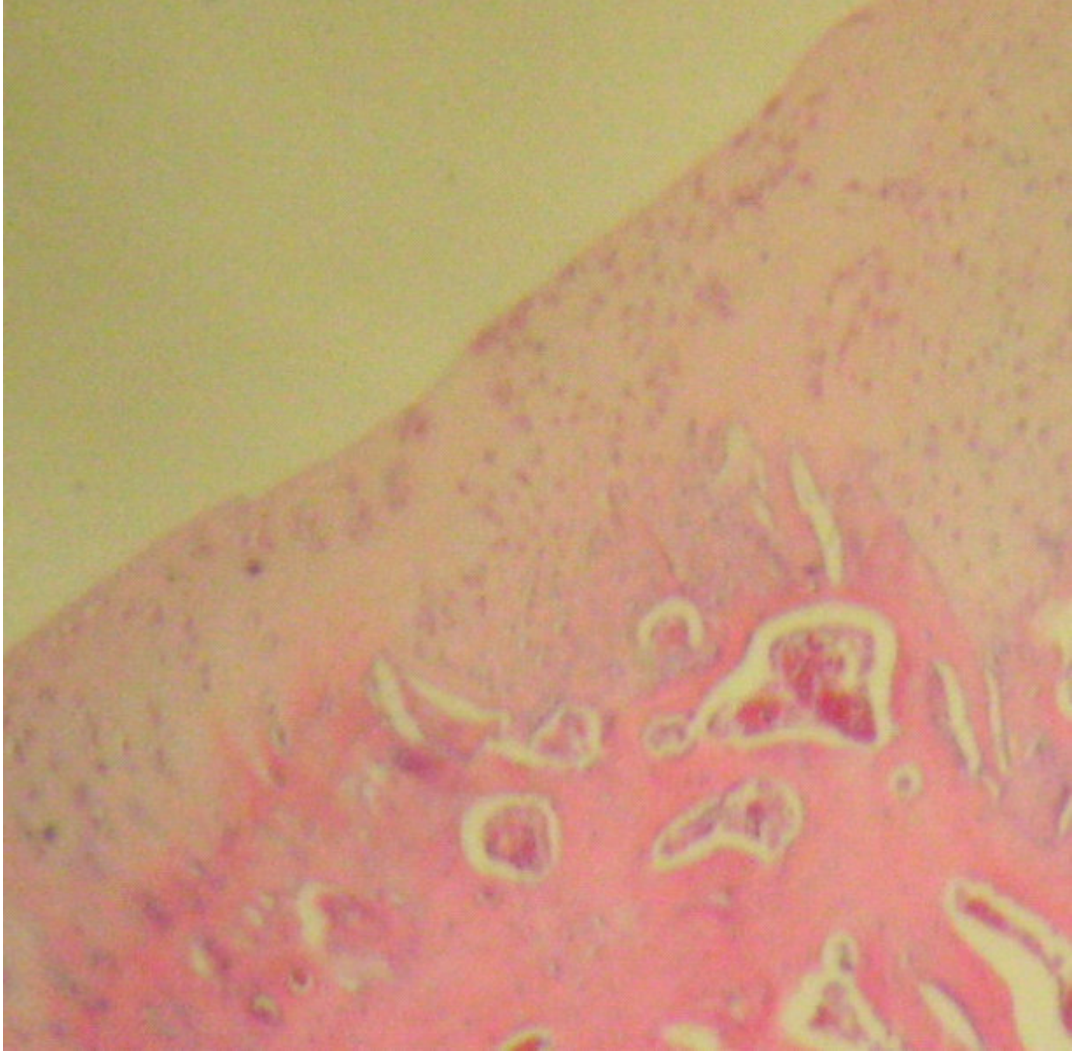
**Tablo 2:** Biyomekanik test sonuçları (N / mm)

Denek No	Rayoterapi	Kontrol
1	92,3	114,3
2	99,6	182,7
3	180,9	257,1
4	242,6	163,3
5	150,7	91,9

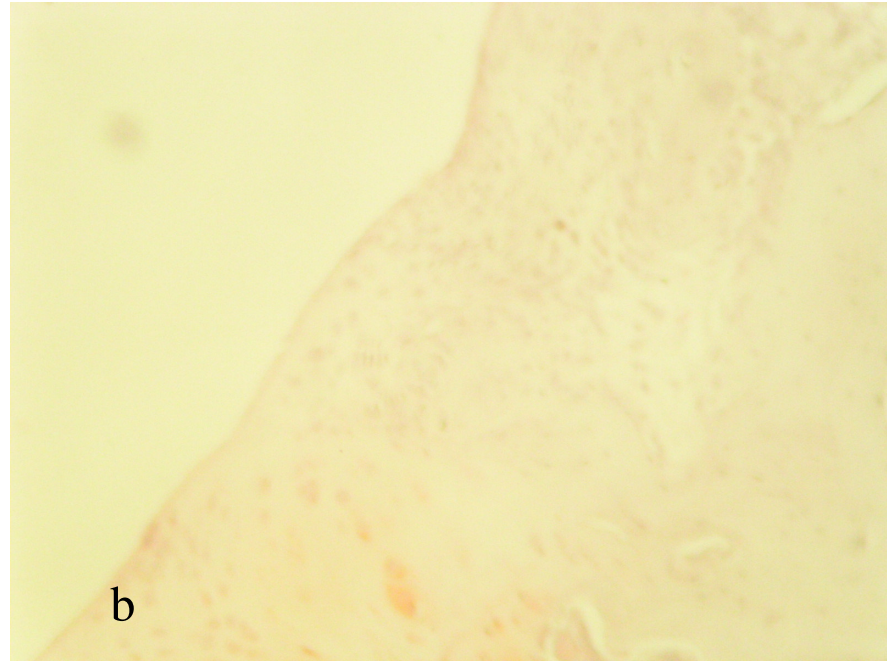
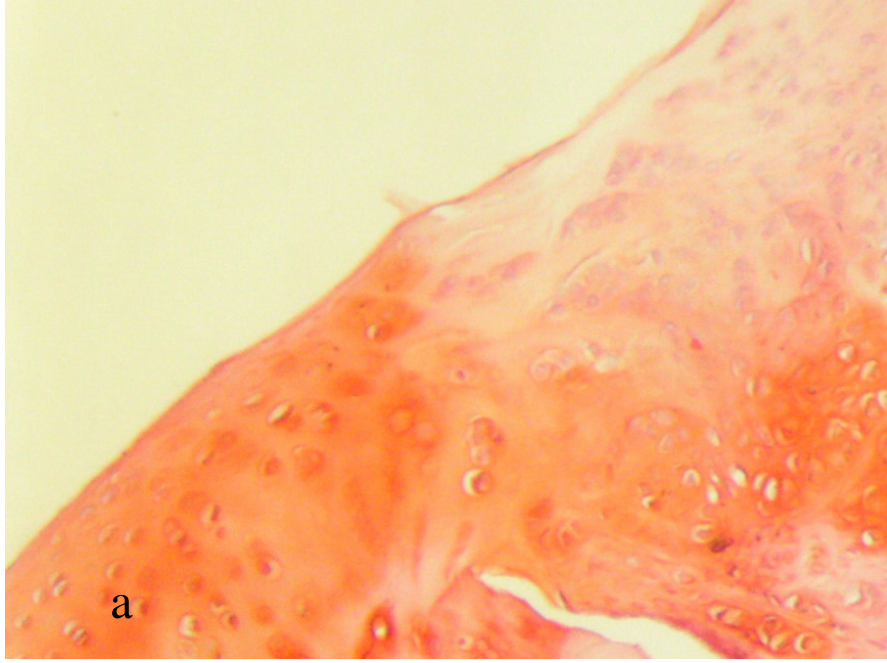
Her ne kadar her bir tavşanın kendisinde kontrol defekti oluşturulduysa da, mikroskopik olarak değerlendirildiğinde grupların karşılaştırılabilmesi ve zamana bağlı olarak ortaya çıkabilecek bir değişimi gözlemleyebilmek için tavşanların vücut ağırlıkları da karşılaştırıldı. 4. hafta, 8. hafta ve 12. haftalarda sakrifiye edilen gruplarda, vücut ağırlıkları benzerdi (sırasıyla; I. Grupta;  $2728 \pm 329$  gram; II. Grupta;  $2674 \pm 134$  gram; III. Grupta;  $2740 \pm 595$  gram idi) (Kruskal-Wallis,  $p = 0,632$ ).

O'Driscoll değerlendirme skalasının hücre morfolojisinden ve Safranin-O boyanmasından aldıkları skorlar özellikle değerlendirildi ancak radyoterapi uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) dizler arasında fark bulunamadı (sırasıyla  $p = 0,773$  ve  $p = 0,577$ ). Hyalin kırık benzeri doku her grupta görülebilmekte idi. Şekil 7'de hyalin kırıkdağa oldukça benzer bir dokunun 4 haftada oluştuğu görülmekte. Normale yakın miktarlarda proteoglikan sentezlendiğinin bir göstergesi olan, Safranin-O ile normale yakın boyanma; sadece 4. haftalık I. Grupta kontrol dizlerde görülürken, yine aynı grupta hiç

boyanma olmayan örnekler de mevcuttur. Safranin-O ile iyi boyanan ve boyanmayan iki örnek Şekil 8 a ve b'de görülmektedir.

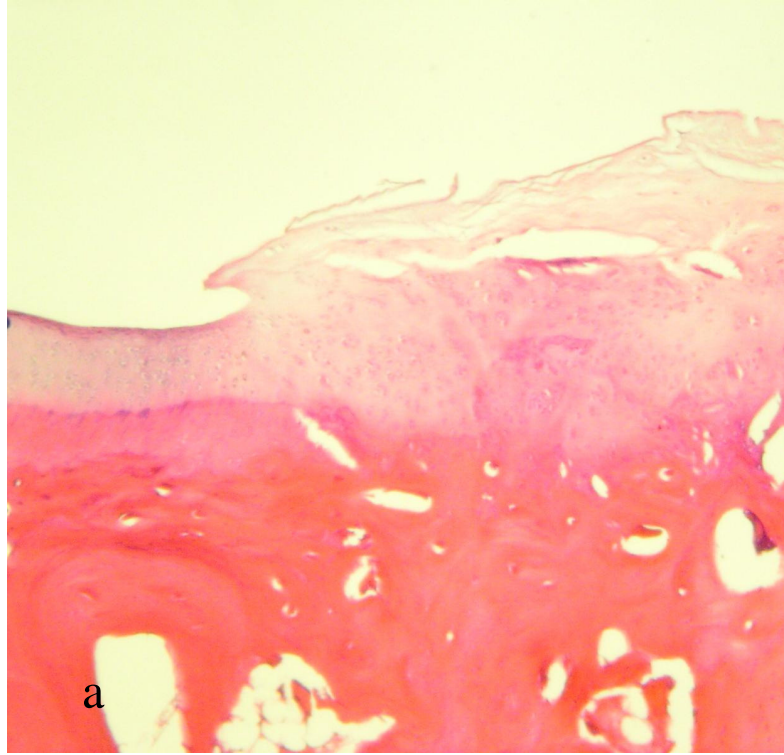


**Şekil 7:** Osteokondral defekt oluşturulduktan 4 hafta sonra alınan yukarıdaki örnekte hyalin kıkırdağa oldukça benzer bir iyileşme dokusunun oluşmuş olduğu görülmekte. Bu örnek radyoterapi uygulanmamış kontrol dizlerden birinden alınmıştır. Sınır tam belli olmamakla birlikte resmin sol alt tarafında normal eklem kıkırdağı görülmekte (Hemotoksilen-Eozin; x 100).

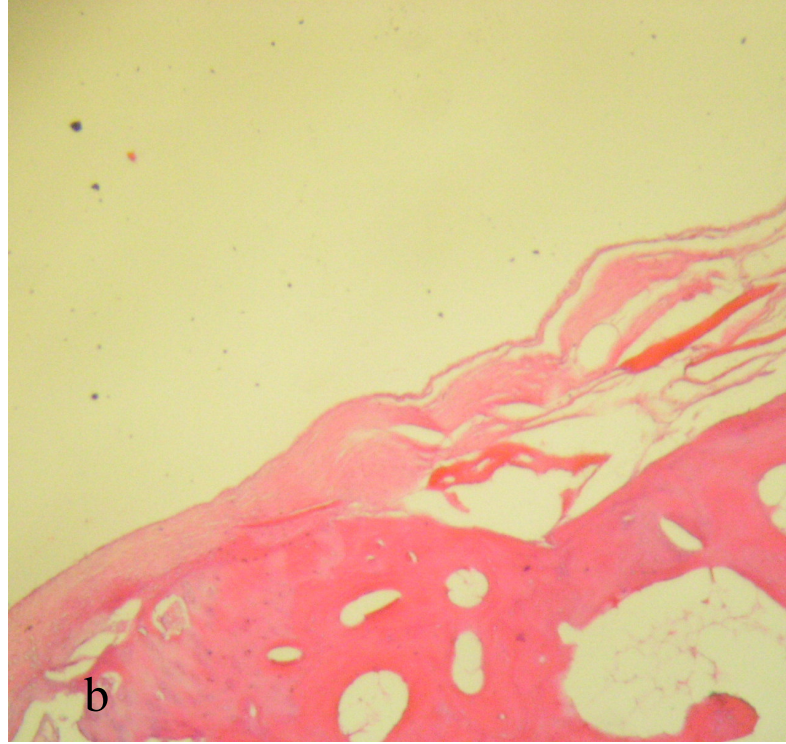


**Şekil 8 a, b:** Safranin-O boyanması; İyİ boyanan (a; x 200) ve kötü boyanan (b; x 100) İki örnek görölmekte.

En uzun takip süremiz olan 12 haftalık örnekler incelendiğinde; radyoterapi uygulanan dizler arasında, hyalen benzeri iyileşme dokusunu oluşturabilen ve bu dokuyu koruyabilenler bulunurken, radyoterapi uygulanmayan (kontrol) bir dizde ise 12 haftada iyileşme dokusunun dejenere olduğu görüldü (Şekil 9 a ve b ye bakınız). Bu örneklerin varlığı en azından radyoterapi uygulanan osteokondral defektlerde dayanıklı ve hyalin kırıkdağa oldukça benzer dokuların oluşabileceğini göstermekteydi. Ancak Radyoterapi uygulanıp dejenere olmuş bir örnek de mevcuttu.



**Şekil 9 a:** 12 hafta takip edilen Radyoterapi uygulanmış bir örnek (iyileşme dokusu alanın sağ tarafında; Hemotoksilen-Eozin; x 100).



**Şekil 9 b:** 12 hafta takip edilen Radyoterapi uygulanmamış bir örnek (iyileşme dokusu alanın sağ tarafında; Hemotoksilen-Eozin; x 100).

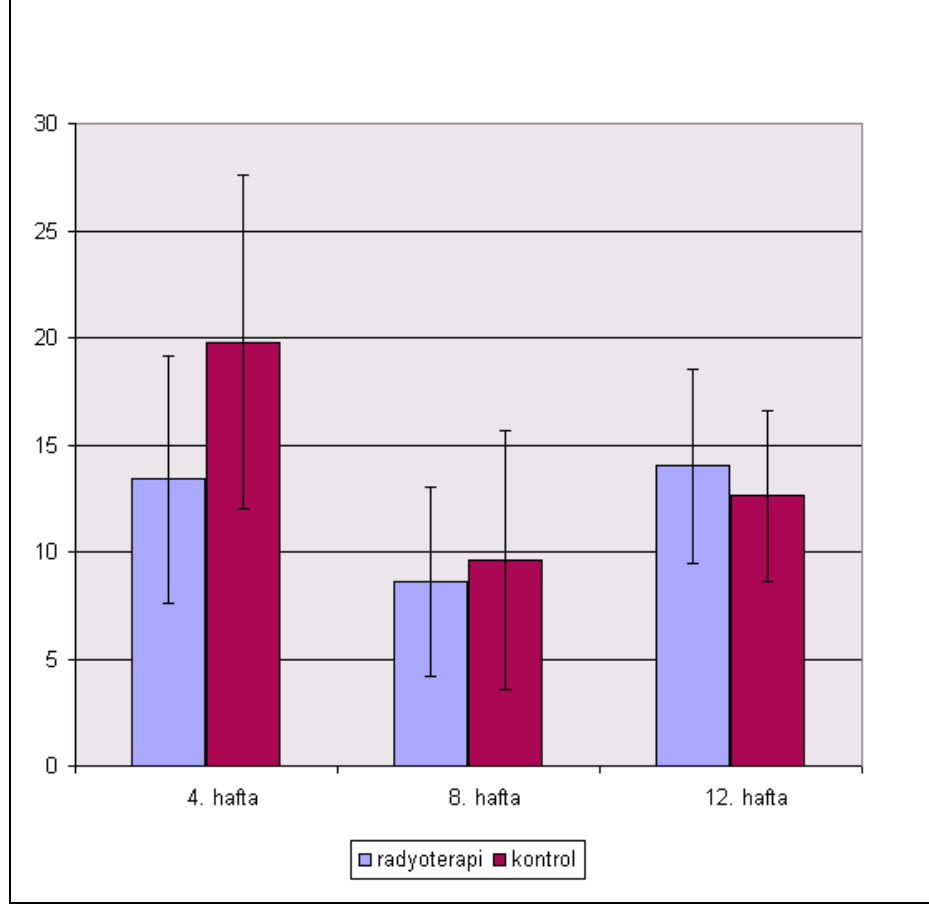
Histolojik olarak değerlendirildiğinde ise O'Driscoll [31, 32] skalasına göre örneklerdeki HKBF onarım dokularının aldığı skorlar Tablo 3'te özetlenmiştir. Baskın dokunun yapısı ve yapısal özellikler açısından alınan skorlar bakımından, radyoterapi alan (çalışma) ve almayan (kontrol) örnekler arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır ( sırasıyla  $p = 0,728$  ve  $p = 0,152$  ). Dejenerasyon nedeniyle oluşan hücresel değişikliklerin olmaması bakımından, 4. haftada kontrol grubu lehine anlamlı bir fark oluşurken ( $p <$

0,05); 8. ve 12. haftalarda bu fark ortadan kalkmaktadır (sırasıyla  $p = 1,000$  ve  $p = 0,317$ ).

**Tablo 3:** Histolojik skorların özeti.

<b><i>Baskın Dokunun Yapısı</i></b>	<b><i>Radyoterapi</i></b>	<b><i>Kontrol</i></b>	<b><i>p=</i></b>
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
<b><i>Yapısal Özellikler</i></b>	<b><i>Radyoterapi</i></b>	<b><i>Kontrol</i></b>	<b><i>p=</i></b>
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
<b><i>Dejenerasyonun Olmaması</i></b>	<b><i>Radyoterapi</i></b>	<b><i>Kontrol</i></b>	<b><i>p=</i></b>
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
<b><i>Toplam Skor</i></b>	<b><i>Radyoterapi</i></b>	<b><i>Kontrol</i></b>	<b><i>p=</i></b>
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

O'Driscoll skorum sisteminin her üç bölümünde ve de toplam skorlarda radyoterapi uygulanan dizlerde istatistiksel olarak anlamlı olmasa da 4. haftada daha düşük olan ortalama değerlerin, 12. haftada yine istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte kontrol grubundan hafifçe yüksek olduğu Tablo 3'te görülmektedir.

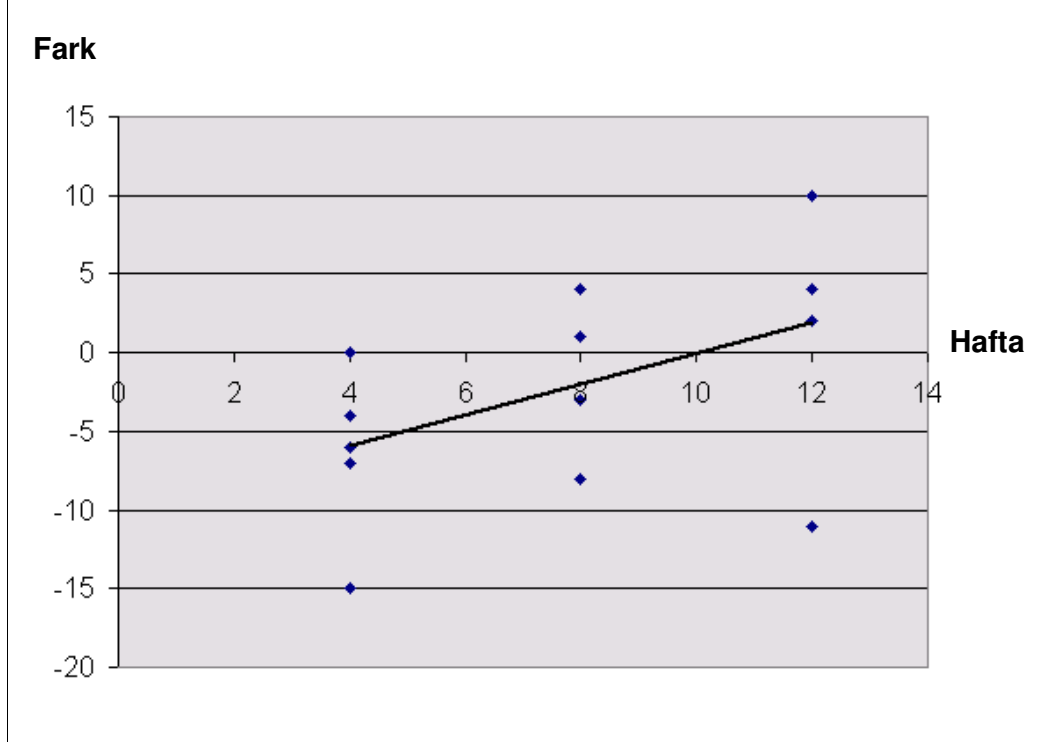


**Şekil 10:** Toplam histolojik skorların farklı gruplardaki dağılımı.

Şekil 10'da O'Driscoll skora göre 4., 8. ve 12. haftalarda sakrifiye edilen tavşanların radyoterapi uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) dizlerinde HKBF iyileşme dokusunun toplam skorlarının ortalamaları ve standart sapmaları gösterilmektedir. Bu şekilde daha iyi görülebilen ve zamanla ortalama skorların kontrol dizlerinden ziyade radyoterapi uygulanan dizler lehine olan değişimi bu dizlerin skorlarının farkları alınarak tekrar değerlendirildi.

Radyoterapi uygulanan dizlerin toplam skorlarından kontrol dizlerin toplam skorların çıkarılması ile elde edilen farkların dağılımında her ne kadar,

Kruskal-Wallis testi ile değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmasa da ( $p = 0,107$ ), farkların zamana göre dağılımı Şekil 11'deki gibiydi ve zamanla radyoterapi uygulanan dizler yönünde değişme eğiliminde olduğu izlenimini vermekteydi.

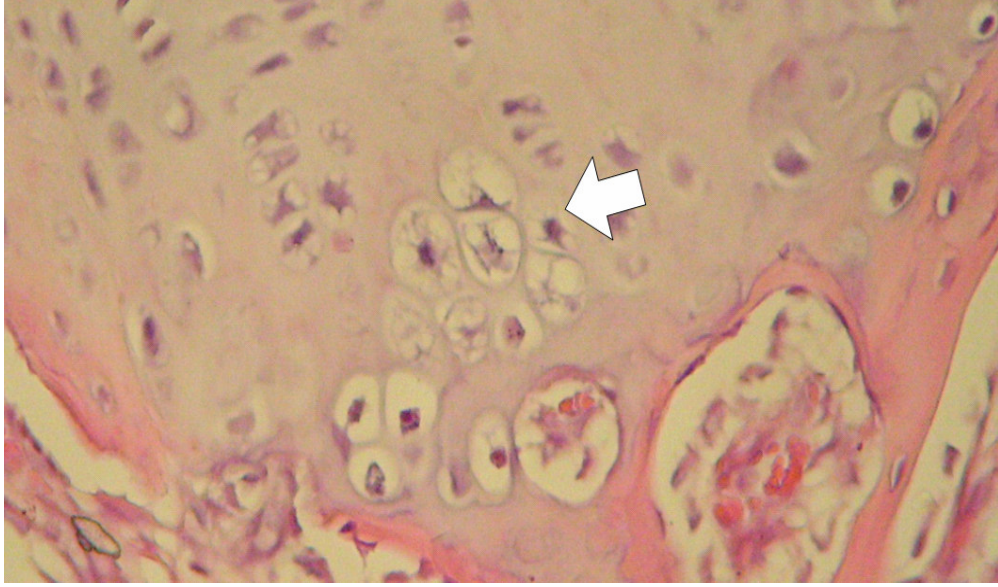


**Şekil 11:** Her bir radyoterapi uygulanan dizin toplam skorundan, kontrol dizin toplam skorunun çıkarılması ile elde edilen farkların zamana göre dağılımı. (Pozitif değerler farkın radyoterapi uygulanan dizler yönünde; negatif değerler ise kontrol grubu yönünde oluştuğunu göstermektedir.)

Dejenerasyonun olmaması bakımından ilk grupta (4. hafta) anlamlı bir fark ortaya çıktığından ve hüresel değişiklikleri daha ayrıntılı olarak değerlendirebilmek için hiposelülerite ve hücre kümelenmesi de istatistiksel olarak ayrıca değerlendirildi. Hiposelülerite açısından radyoterapi ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark tespit edilemedi ( $p = 0,480$ ). Körlenmiş bir çalışmacı tarafından Şekil 12'de gösterilen kondrosit kümelenmelerinin tüm

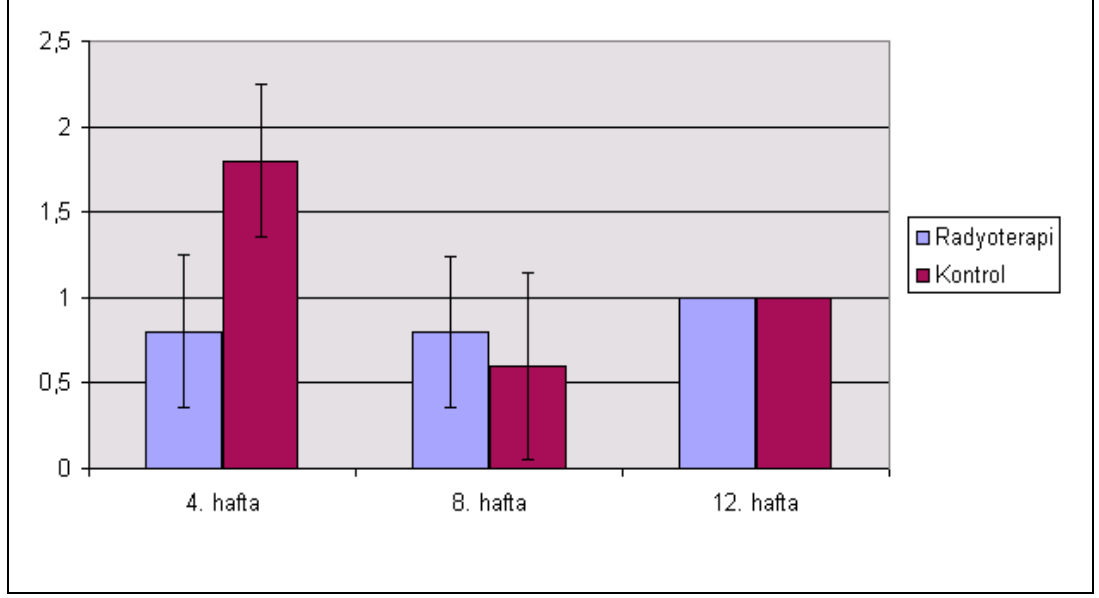


kondrositlere oranının belirlenmesi ile skorlandırıldığında ise; Şekil 13'deki grafikte de görüldüğü üzere; 4. haftada radyoterapi uygulanan dizlerde kontrol grubuna göre daha çok kondrosit kümelenmesi tespit edilirken ( $p < 0,05$ ), 12. haftada bu açıdan hiçbir fark bulunamamıştır ( $p = 1,000$ ).



**Şekil 12:** Kondrosit kümelenmesi görülmekte (ok) (Hemotoksilen-Eosin, x 400. Bu kümelenen hücrelerin tüm kondrositlere oranına göre skorlanması körlenmiş bir çalışmacı tarafından yapıldı.

Kontrol grubundaki kondrosit kümelenmesindeki zamanla oluşan bu değişim Kruskal-Wallis testi ile anlamlı bulunurken ( $p < 0,05$ ), Radyoterapi grubunda anlamlı bir değişim yoktu ( $p = 0,584$ ). Kontrol grubundaki değişim özellikle 4. ve 8. haftalar arasında idi (Mann-Whitney testi;  $p < 0,05$ ). Kondrosit kümelenmeleri kontrol grubunda ilk 8 haftada görülmeye başlanırken, radyoterapi uygulandığında ise ilk 4 hafta içinde oluşmaktadır.



**Şekil 13:** Hücre kümelenmesi açısından O'Driscoll skora göre alınan skorların dağılımı (kümelenme hiç yoksa 2 puan alınmaktaydı)

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Eklem kıkırdağında oluşan travmatik defektlerin onarımı yüzyıllardır hekimleri uğraştıran bir konu olmuştur. Bu travmatik defektlerin de tetikleyebileceği dejeneratif değişikliklerin bir sonucu olarak ortaya çıkabilen osteoartrit, yakın geçmişe kadar sadece mekanik bir aşınma durumu olarak görülürken, günümüzde bu hastalığın çok daha kompleks bir süreç sonucu ortaya çıktığı anlaşılmıştır [7, 47, 48]. Osteokondral defektlerde oluşan HKBF onarım dokusunun yapısal ve mekanik özelliklerinin fiziksel bir ajan olan radyoterapiden nasıl etkilendiğini araştırdığımız çalışmamızda; defekt modelimiz daha çok genç hastalarda görülen ve fokal osteokondral defektlerin en sık nedeni olan Osteokondritis Dissecans'ın modelidir [8]. Osteoartritte oluşan kıkırdak defektleri, akut osteokondral defektlere göre birçok farklılık gösterdiğinden ayrı olarak ele alınmalıdır. Ancak yine de osteoartritteki kıkırdak defektlerini tedavi etmek için kullanılan birçok yöntemde [14, 22, 24, 28], HKBF onarım dokusu oluştuğundan, bu dokuyu etkileyebilecek tedaviler osteoartritin tedavisine yardımcı bir yöntem olarak kullanılabilir. Bu çalışmamız, kıkırdak iyileşme dokusuna fiziksel bir ajan olan X ışınlarının etkilerini araştıran öncül bir çalışma niteliğindedir. Dozaj, süre ve olası etkiler düşünülerek yapılan çalışma planında aşırı bir hayvan tüketimine neden olmamak için grupların sayıları sınırlı tutulmuştur. Çalışmamızın istatistiksel değeri sınırlı olup, daha çok sayıda hayvan kullanılarak dozaj ve süre hesaplamaya yönelik ek çalışmalara gerek duyulabilir.

Radyoterapi son yıllarda gittikçe azalmakla birlikte, artroz/tendinopati ve heterotopik ossifikasyon profilaksisi endikasyonları gibi malignite dışı nedenlerle de kas-iskelet sistemine uygulanabilmektedir [49]. HKBF iyileşme dokusuna X ışınlarının etkilerini araştıran bir çalışma literatürde bulunmamıştır. X ışınları kullanılan çalışmalarda [39, 40] ise, genellikle normal kıkırdağa etkileri araştırılmıştır. *Düşük doz radyoterapi* özellikle artritlik durumlarda anti-enflamatuar amaçla kullanıldığından; yapılan çalışmalarda [41, 42, 43], ısıyla inaktive edilmiş *M. tuberculosis* uygulanarak oluşturulan

artrit modelleri kullanılmış ve kıkırdakta oluşabilecek dejenerasyon önlenmeye çalışılmıştır. Bu çalışmalarda düşük doz radyoterapinin özellikle anti-enflamatuar etkinliği araştırılmıştır.

X ışınlarından farklı da olsa, yine radyasyon yayarak etki eden *radyo-sinovektomi*, romatoid artrit tedavisinde cerrahi sinovektominin bir alternatifi olarak sinoviyal enflamasyonu kontrol altına almak için kullanılan bir nükleer tıp yöntemidir. Eklem içine  $\beta$  ışınları yapan bir madde verilerek uygulanır. İn vitro bir çalışmada [50], bu ışınların kondrosit kültüründe; kollajen üretiminin azalması, nitrik oksit üretimi, hücre ölümü gibi olumsuz etkileri olduğu gösterilmiştir. Ancak, yine beta ışınları yapan farklı maddeler kullanılarak tavşanlarda yapılan in vivo çalışmalarda [51, 52] ise, radyo-sinovektominin eklem kıkırdağına hasar verdiğinin bir kanıtı bulunamamıştır. Pirich ve ark. [53], romatoid aritri olan 13 hastaya radyasyon sinovektomi uygulayıp 13 ay takip ettikleri çalışmalarında; magnetik rezonans görüntüleme ile eklem kıkırdağında herhangi bir hasar tespit edemediklerini bildirmişlerdir.

Diğer fiziksel ajanlardan olan lazer konusundaki ve normal eklem kıkırdağının sadece biyomekanik olarak değerlendirildiği bir çalışmada [54] ise, immobilizasyon uygulandığında normal eklem kıkırdağında oluşan yumuşamanın dışarıdan düşük enerjili lazer uygulanarak önlenbildiği bildirilmiştir. Deneysel osteoartrit modelinde lazer uygulamasının stres proteinleri azaltarak, eklem kıkırdağının patofizyolojisinde iyileşme sağladığı gösterilmiştir [34]. Elektromanyetik alan uygulamalarının da TGF- $\beta$  ve diğer büyüme faktörlerini artırdığı, glikozaminoglikan üretimini artırdığı ve anti-enflamatuar etkileri olduğundan osteoartrit tedavisinde etkili olabileceği bildirilmiştir [33, 55]. Cook ve ark. [56] ise, tavşanda oluşturulan osteokondral defektlere ultrasound uygulamışlar ve iyileşme dokusunun kontrol grubuna göre morfolojik ve histolojik olarak daha iyi olduğunu

bulmuşlardır. Tüm bu çalışmalar bize; HKBF iyileşme dokusunun değişik fiziksel ajanlardan etkilenebildiğini göstermektedir.

Eklemlerdeki defektlerine yönelik denenecek bir tedavinin öncelikle; çeşitliliği az olduğundan, kolay üretilip bakılabildiğinden ve diz eklemi de morfolojik olarak insan dizine benzediğinden; küçük bir hayvan modeli olan tavşanda denenmesi önerilmektedir [15, 45]. Yeni Zelanda beyaz tavşanlarında iskelet olgunluğu genelde 4 - 6 ayda oluştuğu ve iskelet olgunluğunu tamamlamamış tavşanlarda defektlerin kendiliğinden iyileşebileceği bilirse de [15] genç hayvanlarda da yeterli kıkırdak iyileşmesi sağlanamadığından, ön çalışmalarda kullanılabileceği belirtilmiştir [45]. Çalışmamızda (sol taraf dizine) deneyin yapılacağı her bir tavşan için, kontrol defekti aynı tavşanın diğer (sağ taraf) dizinde oluşturulduğundan; yetişkin tavşanlar kullanıldığından ve farklı süreler takip edilen grupların vücut ağırlıklarının dağılımında anlamlı bir fark olmadığından ( $p = 0,632$ ); çalışmamızı gerçekleştirdiğimiz tavşanların vücut ağırlıklarının etkisinin en az olacağını düşünmekteyiz.

Deneyel osteokondral defekt onarımının defektin yerleşiminin farklı olmasından anlamlı olarak etkilenmediği bildirilmiştir [45]. Karşılaştırılabilir ve standart bir defekt genellikle yuvarlak şekilde oluşturulmaktadır. Pineda ve ark.'nın çalışmasında [57]; iki farklı defekt çapındaki (2.7 ve 1.5 mm) iyileşme dokularında histolojik olarak anlamlı farklılık oluşmadığı gösterilmiştir. Çapı 3mm den daha büyük defektler oluşturmanın da yararı olmadığı belirtilmektedir [45]. Bu bilgiler ışığında çalışmamızda 2,5 mm'lik matkap ucunu defekt oluşturmakta kullandık.

Osteokondral defektlerde oluşan iyileşme dokusunun eklem yüzeyi tarafında HKBF onarım dokusu oluşurken, kemik tarafında ise yeni kemik oluşumu ile iyileştiği bilinmektedir [7]. Biyomekanik test ile sadece HKBF onarım dokusunun sertliğini ölçmek amaçlandığından, oluşturulan osteokondral defektin kemik iyileşmesi oluşan derinliğinin anlamı sınırlı olsa

da, biz yine de tüm tavşanlarda standart olarak 3 mm defekt oluşturmaya gayret ettik. Oluşan HKBF iyileşme dokusunun biyomekanik olarak testi konusunda bir standart yoktur ve çalışmalarda farklı teknikler kullanılmıştır. Wakitani ve ark. [58] çalışmalarında önce iğne penetrasyonu ile kıkırdak kalınlığını belirlemişler ve daha sonra sabit bir yük uygulayarak deformasyon miktarını belirleyerek sertliği ölçmüşlerdir. Messner [46] ise, bizim de kullandığımız yöntemi tarif ettiği çalışmasında; sabit hızda deformasyon oluşturmuş ve bunun için gereken yükün oluşturduğu, yük deformasyon eğrisinin eğimini hesaplayarak dokunun sertliği ölçmüştür. Bu yöntem Nam ve arkadaşları [23] tarafınca da osteokondral transplantasyonu değerlendirmede kullanılmıştır. Her iki yöntemde de değişik çaplarda poröz veya düz yüzeyler kullanılmıştır, ancak iyileşme dokusu konkav veya konveks yüzeyler oluşturabileceğinden temas yüzey alanları farklı olabilecektir. Bu nedenle tam kalitatif bir değerlendirme tartışmalıdır. Çalışmamızda çok farklı sonuçlar çıkmayıp, standart sapmanın küçük olması (Radyoterapi uygulanan tarafta  $153,20 \pm 61,91$  N/mm iken; kontrol defektlerinde  $161,87 \pm 64,55$  N/mm) yöntemimize olan güvenimizi artırırken; yine de biyomekanik test için gerçek düzeni oluşturabildiğimiz konusunda endişeler taşımaktayız. İstatistiksel anlamlılığa ulaşamamız denek sayısının az olmasından kaynaklanabileceği gibi yukarıdaki nedenlerle de oluşabilir.

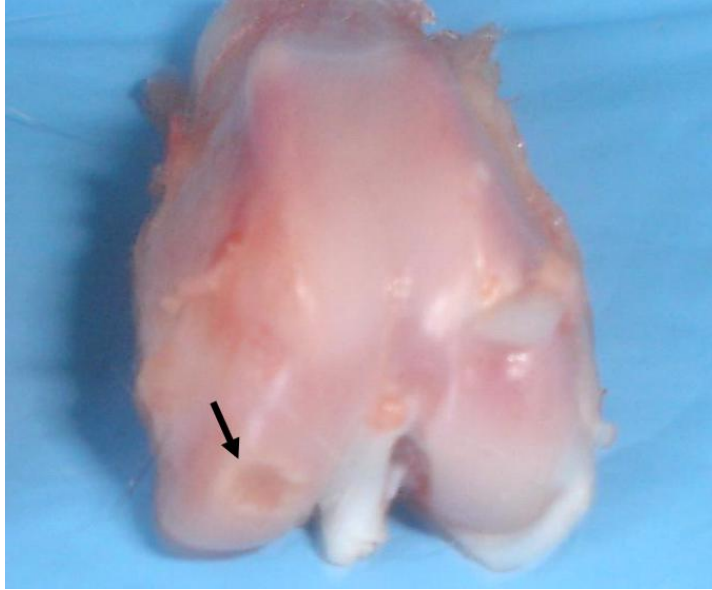
HKBF onarım dokusunun yapısal ve mekanik özelliklerini değiştirebilmek amacı ile verdiğimiz radyoterapinin zamanlamasını planlarken, özellikle multipotent kök hücrelerden kondrositlerin oluşmaya başladıkları zaman dilimini kapsamasını amaçladık. Shapiro ve ark.nın 1993'teki çalışmasında [19], osteokondral defektlerde HKBF onarım dokusunun oluşumunu incelemişler ve ilk kıkırdak ekstraselüler matriksin sentezlendiğinin belirtisi olan Safranin-O ile boyanmayı 10. günde gördüklerini bildirmişlerdir. Biz de radyoterapiyi 10. günde içine alacak bir dönemde verdik (7, 8, 9, 10 ve 11. günlerde 1.0 Gy ışınlama). Daha erken dönemde uygulanacak radyoterapi; kanlanmayı azaltarak, kök hücrelerin

naklini ve iyileşmenin enflamasyon fazını baskılayacaktır [37]. Radyoterapiye fibröz dokunun kondrositlerden daha hassas olduğu bilindiğinden [37, 39]; fibrovasküler bir iyileşme dokusu oluştuktan sonra fibröz dokunun hakimiyetini azaltıp, kondrojenik hücrelerin ön plana çıkması amaçlandı. X ışınlarının vaskülarizasyonu önlediği bilinmektedir [38]. Geç dönemde; dejenerasyon sürecinde oluşan neovaskülarizasyonu önleyerek faydalı olabilir. Bizim çalışmamızda dejenerasyon olan preperatlarda neovaskülarizasyona rastlanmadı. Yine de dejenerasyon sürecine etkisini araştıran çalışmalara ihtiyaç vardır.

Bu çalışmaya başlamadan önce; bir adet tavşanın sol dizinde daha önce tarif edildiği şekilde bir osteokondral defekt (ön deneme olarak) oluşturulmuştu. Postoperatif onuncu günde sakrifiye edilen bu tavşanın sol diz medial kondilindeki defekt çıplak gözle bakıldığında belirlenebilmesine rağmen, bir iyileşme dokusu tarafından doldurulmuştu (Şekil 14). Histolojik olarak değerlendirildiğinde ise bu dokunun; fibro-vasküler bir iyileşme dokusu olduğu görülmekteydi (Şekil 15). Mezenkimal kök hücreler 10. günde fibroblastik görünümde olduğundan [58], bu hücrelerden kondrosit ve fibrositlere dönüşecek olanların bu iyileşme dokusunda ayırt edilebilmesi mümkün değildi. İleride kemik, kıkırdak ve fibröz dokuya farklılaşacak hücreleri içinde barındıran bir iyileşme dokusu oluşmuştu. Bu nedenle, ışınlamanın zamanlamasının; fibröz dokunun hakimiyetini azaltıp, kondrojenik hücrelerin ön plana çıkması amacına uygun olduğunu düşündük.

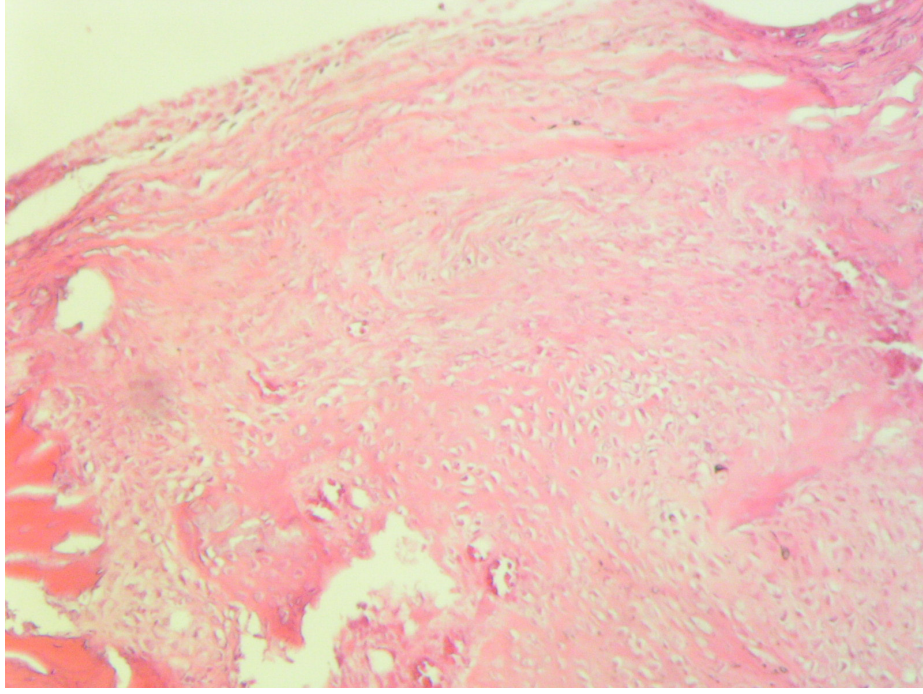
Mezenkimal hücrelerin, osteoblast, kondroblast, veya fibroblasta farklılaşmasını etkileyen lokal ve sistemik faktörlerin neler olduğu tam olarak belirlenememiştir [19]. Günümüzde kondrogenezisi düzenleyen bazı faktörler iyi bilinmektedir. Bunlar; insülin benzeri büyüme faktörü - 1 (IGF-1), dönüştürücü büyüme faktörü -  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), kemik morfojenik proteinleri (BMP), büyüme/farklılaşma faktörü - 5 (GDF-5), fibroblast büyüme faktörü (FGF), platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) ve kıkırdak kaynaklı morfojenik proteindir (CDMP) [2, 15]. Bu faktörlerden TGF- $\beta$  'nın en etkili olduğu

düşünülmektedir ve en çok çalışılanıdır [59, 60]. Bu anabolik faktörlerin yanı sıra tümör nekroz faktörü -  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) ve interlökin - 1 ve 17 (IL-1 ve IL-17) gibi katabolik sitokinler de sürece etki etmektedir [61]. Poole [48], kırıldak onarımı hedeflerine yönelik yazısında anabolik faktörler verilirken bu sitokinlerin bloke edilmesinin yararlı olabileceğini vurgulamıştır. Enflamatuar hastalıklarda ampirik olarak kullanılan radyoterapinin sitokinleri nasıl etkidiğini gösteren ayrıntılı çalışmalar olmasa da bazı enflamatuar sitokinleri azalttığı bildirilmiştir [41, 42, 43, 62]. Radyoterapinin hangi sitokinleri nasıl etkilediği kesin olarak belirlenmediğinden, X ışınları üzerinden olumlu veya olumsuz etkilerinin ortaya çıkabilmesi muhtemeldir.



**Şekil 14:** Bir tavşanın sol dizinde oluşturulan osteokondral defektin on gün sonraki hali görülmekte (ok). Defekt, fibröz bir iyileşme dokusu ile dolmuştu.





**Şekil 15:** Şekil 14'teki defektin mikroskopik olarak görünümü  
(Hemotoksilen – Eosin, x100).

Bizim çalışmamız sırasında, yakın zamanda yayınlanan in vitro bir çalışmada Margulies ve ark. [62]; Radyoterapi uygulanan çocuklarda oluşan deformitelerin nedenini araştırmaya yönelik olarak; farklı dozlarda X ışınlarının epifiz kırıkdağından alınarak kültürde üretilen kondrositlere etkisi araştırmışlar; ve X ışınlarının -uygulanan doza bağlı olarak- kondrositleri prematür olarak olgunlaştırıp farklılaştırdığının kanıtları bulmuşlardır (yani uygulanan radyoterapinin kondrositleri daha olgun ve farklılaşmış olmaya zorladığı ifade ediliyor). Bu bulgu radyoterapinin olumlu bir etkisi olarak yorumlanabilir. Yalnız bu kondrositlerin mekanik kuvvetlere maruz kalmadığını unutmamak gerekir. İn vitro çalışmalarda elde edilen sonuçların in vivo çalışmalarda her zaman elde edilmesi kesin değildir. Bizim çalışmamızda 4. haftada radyoterapi uygulanan defekt bölgelerinde kontrol defektlere göre daha fazla dejenerasyona ait bulguların olmasında ( $p < 0,05$ ); oluşan HKBF dokunun serbestçe hareket eden tavşanların dizinde maruz kaldığı mekanik kuvvetlerin etkisi olduğunu düşünmekteyiz. Margulies ve ark.

[62] yine aynı çalışmada; normal eklem kıkırdağının kollajeni olan kollajen-II miktarında da artış tesbit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise kollajen tipine yönelik bir inceleme yapılmadı. Yine aynı çalışmada [62] hipertrofik kondrositlerce üretildiği düşünülen alkalen fosfataz üretiminin de doza bağlı olarak arttığı bulunmuştur. Eklem kıkırdağında oluşan dejeneratif değişiklikler, kondrositlerin (büyüme plağının kalsifiye olan bölgelerinde ve kırık kallusunda görülen) hipertrofik fenotipte farklılaşması ile ilişkilidir. Matriks kalsifiye olup kıkırdağı daha kırılabilir hale getirir ve doğal özelliklerini kaybetmesine neden olur [48]. Bunun sonucu olarak da dejeneratif değişiklikler oluşur. Biz çalışmamızı planlarken böyle bir yayın olmadığından bu perspektiften yararlanamadık. Çalışmamızı kuvvetlendirmek için kollajen tipi tespiti ve alkalen fosfataz ölçümü yapılabilir.

Matriks mineralizasyonu; dejenerasyon oluşumundaki etkisi nedeniyle yakın zamanlarda daha önem kazanmıştır ve Uluslararası Kıkırdak Onarım Birliği (ICRS)'nin önerdiği histolojik değerlendirme skalasının bir bölümünü oluşturmaktadır [47]. Ancak biz benzer çalışmalarda daha çok tercih edilen ve karşılaştırma yapılabilmesi açısından kullanılması tavsiye edilen [15, 45], O'Driscoll ve ark. [31, 32] tarafınca önerilen değerlendirme skalasını kullanmayı tercih ettik. Literatürde sıkça kullanılan diğer bir histolojik değerlendirme skalası Pineda ve ark.'nın [57] sistemini; Wakitani'nin [58], modifiye ederek oluşturduğu yarı-nicel sistemdir ancak bu sistemin O'Driscoll sistemine bir üstünlüğü yoktur [15, 45].

Kıkırdak iyileşmesi konusundaki deneysel çalışmaların metodolojisini derleyen Rudert'e göre [15]; kıkırdak defektlerine yönelik tedavi girişimlerinde; normal eklem kıkırdağı dokusunu aynen oluşturmak gerekmez ve muhtemelen de mümkün değildir. Önemli olan oluşan dokunun; yüzeyinin düzgün olması, subkondral kemikle entegrasyonu ve normal fizyolojik mekanik yükleri tolere edebilmesidir. Yani klinik olarak etkili bir tedavi olarak kabul etmeden önce mutlaka semptomatik ve fonksiyonel iyileşmenin devamlılığı gösterilmelidir. Oluşan dokunun dayanıklılığı en

önemli ölçütlerinden biridir. Her ne kadar yapısal özellikleri benzemese de en az iki yıl fonksiyon gösteren ve yapısını koruyan bir doku oluşturabilmenin klinik önemi oldukça fazladır [8]. Shapiro ve ark.nın çalışmasında [19]; osteokondral defektlerdeki iyileşme dokusunun en erken 4 haftada HKBF onarım dokusunun olduğu ve 12. haftaya kadar tamamen olgunlaştığı gösterildiğinden, deneysel çalışmalarda [23, 30, 59, 63, 64, 65, 66] genellikle 12 haftalık takip süreleri kullanılmaktadır. Ancak 48 haftadan sonra dejeneratif değişikliklerde artış olduğundan ve bu dejenerasyon 12 aya kadar sürdüğünden bu açıdan da değerlendirebilmek için en az 6 aylık bir takip süresi önerilmektedir [45]. Biz çalışmamızda literatürde genellikle tercih edilen 12 hafta takip süresini kullandık. Ancak sonuçlarımızın istatistiksel olarak anlamlı çıkmaması ve anlamlı olmasa da; 4. haftadakine göre 12. haftada skorlar kontrol grubu dizlerde oldukça azalırken, radyoterapi uygulanan dizlerde azalmaması (Şekil 10'a bakınız), daha uzun süreli bir takipte; kontrol grubunda dejenerasyonun artıp skorun daha da düşebileceği ve istatistiksel anlam oluşturabileceği izlenimi vermektedir.

Çalışmamızda 4. haftada radyoterapi uygulanan dizlerde kontrol grubuna göre daha çok kondrosit kümelenmesi tespit edilmiştir ( $p < 0,05$ ). ODriscoll skorum sisteminde [31, 32] dejeneratif bir değişiklik olarak ele alınan kondrosit kümelenmesinin; yeni kondrosit sayısı artışından veya dejenerasyondan kaynaklandığının ayrımının yapılabilmesi için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Sonuç olarak; düşük doz x ışınlama -in vivo koşullarda- HKBF onarım dokusunun mekanik özelliklerini etkilediği gösterilemese de yapısal özelliklerini değiştirebileceği kanısındayız. Son zamanlarda etkileri daha ayrıntılı olarak incelenmeye başlanan X ışınları; kırıldak onarım çalışmalarında yardımcı bir araç olarak denenebilir. İstenen ve istenmeyen etkilerinin daha ayrıntılı olarak belirlenebilmesi ve akla uygun olarak kullanılabilmesi için daha kapsamlı ve uzun süreli çalışmalara ihtiyaç vardır.

## KAYNAKLAR

1. Mankin HJ, Mow VC, Buckwalter JA, Iannotti JP, Ratcliffe A. Articular cartilage structure, composition and function. In: Buckwalter JA, Einhorn TA, Simon SR (eds). Orthopaedic Basic Science. Biology and Biomechanics of the Musculoskeletal System 2nd Edition. American Academy of Orthopaedic Surgeons; 2000. 443–470.
2. Hunziker EB, Biologic repair of articular cartilage. Defect models in experimental animals and matrix requirements. Clin Orthop 1999;367S:S135-S146.
3. Poole AR, Kojima T, Yasuda T, Mwale F, Kobayashi M, Lavery S. Composition and structure of articular cartilage. A template for tissue repair. Clin Orthop 2001;391S:S26-S33.
4. Hunter W. Of the structure and disease of articulating cartilages. 1743. Clin Orthop 1995;317:3-6.
5. Mainil-Varlet P. Transforming vision: What's new since 1743? J Bone Joint Surg 2003;85A:1.
6. Buckwalter JA. Integration of science into orthopaedic practice: Implications for solving the problem of articular cartilage repair. J Bone and Joint Surg 2003;85A:1-7
7. Mankin HJ, Mow VC, Buckwalter JA. Articular cartilage repair and osteoarthritis. In: Buckwalter JA, Einhorn TA, Simon SR (eds). Orthopaedic Basic Science. Biology and Biomechanics of the Musculoskeletal System 2nd Edition. American Academy of Orthopaedic Surgeons; 2000. 471–488.
8. Buckwalter JA. Evaluating methods of restoring cartilaginous articular surfaces. Clin Orthop 1999;367S:S224-S238.
9. D'Lima DD, Hashimoto S, Chen PC, Colwel CW, Lotz MK. Impact of mechanical trauma on matrix and cells. Clin Orthop 2001;391S:S90-S99.
10. Mankin HJ. The response of articular cartilage to mechanical injury. J Bone and Joint Surg 1982;64A:460-466.

11. Twyman RS, Desai K, Aichroth PM; Osteochondritis dissecans of the knee. A long term study. *J Bone and Joint Surg* 1991;73B:461-464.
12. Jackson DW, Simon TM, Aberman HM. Symptomatic articular cartilage degeneration. The impact in the new millennium. *Clin Orthop* 2001;391S:S14-S25.
13. Rand JA, Ilstrup DM. Survivorship analysis of total knee arthroplasty. Cumulative rates of survival of 9200 total knee arthroplasties. *J Bone and Joint Surg* 1991;73A:397-409.
14. Buckwalter JA, Lohmander S. Operative treatment of osteoarthritis. Current practice and future development. *J Bone and Joint Surg* 1994;76A:1405-1418.
15. Reinholz GG, Lu L, Saris DBF, Yaszemski MJ, O'Driscoll SW. Animal models for cartilage reconstruction. *Biomaterials* 2004;25:1511-1521.
16. Saris DBF, Dhert WJA, Verbout AJ. Joint homeostasis: The discrepancy between old and fresh defects in cartilage repair. *J Bone Joint Surg* 2003;85B:1067-1076.
17. Buckwalter J, Coutts R, Hunziker E, Mow VC. Breakout Session 3: Articular cartilage. *Clin Orthop* 1999;367S:S239-S243.
18. Gross AE. Repair of cartilage defects in the knee. *J Knee Surg* 2002;15:167-169.
19. Shapiro F, Koide S, Glimcher MJ. Cell origin and differentiation in the repair of full-thickness defects of articular cartilage. *J Bone and Joint Surg* 1993;75A:532-553.
20. O'Driscoll SW. The healing and regeneration of articular cartilage. *J Bone and Joint Surg* 1998;80:1795-1812.
21. Steadman JR, Rodkey WG, Rodrigo JJ. Microfracture: Surgical technique and rehabilitation to treat chondral defects. *Clin Orthop* 2001;391S:S362-S369.
22. Johnstone B, Yoo JU. Autologous mesenchymal progenitor cells in articular cartilage repair.; *Clin Orthop* 1999;367S:S156-S162.

- 23.**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;32:308-316.
- 24.**Hangody L, Feczkó P, Bartha L, Bodó G, Kish G. Mosaicplasty for the treatment of articular defects of the knee and ankle. *Clin Orthop* 2001;391S:S328-S336.
- 25.**Brittberg M, Tallheden T, Sjögren-Jansson E, Lindahl A, Peterson L. Autologous chondrocytes used for articular cartilage repair. An update. *Clin Orthop* 2001;391S:S337-S348.
- 26.**Peterson L, Minas T, Brittberg M, Lindahl A. Treatment of osteochondritis dissecans of the knee with autologous chondrocyte transplantation. Results at two to ten years. *J Bone and Joint Surg* 2003;85A:17-24.
- 27.**Minas T. Autologous chondrocyte implantation for focal chondral defects of the knee. *Clin Orthop* 2001;391S:S349-S361.
- 28.**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* 2003;85A:185-192.
- 29.**Barbucci R, Lamponi S, Borzacchiello A, Ambrosio L, Fini M, Torricelli P, Giardino R. Hyaluronic acid hydrogel in the treatment of osteoarthritis. *Biomaterials* 2002;23:4503-4513.
- 30.**Kajiwara 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;23:909-915.
- 31.**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 and Joint Surg* 1988;70A:595-606.
- 32.**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 and Joint Surg* 1986;68A:1017-1035.

33. Fini M, Giavaresi G, Carpi A, Nicolini A, Setti S, Giardino R. Effects of pulsed electromagnetic fields on articular hyaline cartilage: review of experimental and clinical studies. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2005;59:388-394.
34. Lin YS, Huang MH, Chai CY, Yang RC. Effects of Helium-Neon Laser on Levels of Stress Protein and Arthritic Histopathology in Experimental Osteoarthritis. *Am J Phys Med Rehabil* 2004;83:758-765.
35. Elder SH, Kimura JH, Soslowsky LJ, Lavagnino M, Goldstein SA. Effect of compressive loading on chondrocyte differentiation in agarose cultures of chick limb-bud cells. *J Orthop Res* 2000;18:78-86.
36. Li KW, Williamson AK, Wang AS, Sah RL. Growth responses of cartilage to static and dynamic compression. *Clin Orthop* 2001;391S:S34-S48.
37. 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.
38. Farajdo LF. Morphology of radiation effects on normal tissue. In: Perez CA, Brady LW (eds). *Principles and practice of radiation oncology*. 3rd edition. Philadelphia: Lipincott-Raven; 1997. 143–154.
39. Takahashi S, Sugimoto M, Kotoura Y, Oka M, Sasai K, Abe M, Yamamuro T. Long-lasting tolerance of articular cartilage after experimental intraoperative radiation in rabbits. *Clin Orthop* 1992;275:300-305.
40. Takahashi T, Mizobuchi H, Toda M, Maeda A, Mizuno S, Ogawa Y, Yoshida S, Yamamoto H. Metabolic effects of X-ray irradiation on adult human articular chondrocytes. *Int J Mol Med* 2003;11:631-634.
41. Liebmann A, Hindemith M, Jahns J, Madaj-Sterba P, Weisheit S, Kamprad F, Hildebrandt G. Low-dose x-irradiation of adjuvant-induced arthritis in rats. Efficacy of different fractionation schedules. *Strahlenther Onkol* 2004;180:165-72.

- 42.**Hildebrandt G, Radlingmayr A, Rosenthal S, Rothe R, Jahns J, Hindemith M, Rödel F, Kamprad F. 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.
- 43.**Hildebrandt G, Jahns J, Hindemith M, Spranger S, Sack U, Kinne RW, Madaj-Sterba P, Wolf U, Kamprad F. Effects of low dose radiation therapy on adjuvant induced arthritis in rats. *Int J Radiat Biol* 2000;76:1143-1153.
- 44.**Hrapkiewicz K, Medina L, Holmes DD (eds) *Clinical Medicine of Small Mammals and Primates, An Introduction*. 2nd edition. Manson Publishing; 1998. 135–172
- 45.**Rudert M. Histological Evaluation of Osteochondral Defects: Consideration of Animal Models with Emphasis on the Rabbit, Experimental Setup, Follow-up and Applied Methods. *Cells Tissues Organs* 2002;171:229-240.
- 46.**Messner K. Hydroxyapatite 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;27:1527-1532.
- 47.**Mainil-Varlet P, Aigner T, Brittberg M, Bullough P, Hollander A, Hunziker E, Kandel R, Nehrer S, Pritzker K, Roberts S, Stauffer E. Histological assessment of cartilage repair: A report by the histology endpoint committee of the International Cartilage Repair Society (ICRS). *J Bone Joint Surg* 2003;85A:45-57.
- 48.**Poole AR. What type of cartilage repair are we attempting to attain? *J Bone Joint Surg* 2003;85A:40-44.
- 49.**Schultze J, Eilf K. Perspectives of radiation therapy in benign diseases. *Strahlenther Onkol* 2006;182:259-62.
- 50.**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;62:1054-1060.



51. Mäkelä OT, Lammi MJ, Uusitalo H, Hyttinen MM, Vuorio E, Helminen HJ, Tulamo RM. Analysis of lapine cartilage matrix after radiosynovectomy with holmium-166 ferric hydroxide macroaggregate.; *Ann Rheum Dis* 2003;62:43-49.
52. Wang SJ, Lin WY, Chen MN, Chen JT, Ho WL, Hsieh BT, Huang H, Shen LH, Ting G, Knapp FF. Histologic study of effects of radiation synovectomy with Rhenium-188 microsphere. *Nucl Med Biol* 2001;28:727-732.
53. Pirich C, Schwameis E, Bernecker P, Radauer M, Friedl M, Lang S, Kritz H, Wanivenhaus A, Trattng S, Sinzinger H. Influence of radiation synovectomy on articular cartilage, synovial thickness and enhancement as evidenced by MRI in patients with chronic synovitis. *J Nucl Med* 1999;40:1277-1284.
54. Akai M, Usuba M, Maeshima T, Shirasaki Y, Yasuoka S. Laser's effect on bone and cartilage change induced by joint immobilization: An experiment with animal model. *Lasers in Surgery and Medicine* 1997;21:480-484.
55. Aaron RK, Boyan BD, Ciombor DM, Schwartz Z, Simon BJ. Stimulation of growth factor synthesis by electric and electromagnetic fields. *Clin Orthop* 2004;419:30-37.
56. Cook SD, Salkeld SL, Popich-Patron LS, Ryaby JP, Jones DG, Barrack RL. Improved cartilage repair after treatment with low-intensity pulsed ultrasound. *Clin Orthop* 2001;391S:S231-S243.
57. Pineda S, Pollack A, Stevenson S, Goldberg V, Caplan A. A Semiquantitative scale for histologic grading of articular cartilage repair. *Acta Anat* 1992;143:335-340.
58. Wakitani S, Goto T, Pineda SJ, Young RG, Mansour JM, Caplan AI, Goldberg VM. Mesenchymal cell-based repair of large, full-thickness defects of articular cartilage. *J Bone and Joint Surg* 1994;76A:579-592.
59. Perka C, Schultz O, Spitzer RS, Lindenhayn K. The influence of transforming growth factor  $\beta$ 1 on mesenchymal cell repair of full-thickness cartilage defects. *J Biomed Mat Res* 2000;52:543-552.

60. Lee DK, Choi KB, Oh IS, Song SU, Hwang S, Lim CL, Hyun JP, Lee HY, Chi GF, Yi Y, Yip V, Kim J, Lee EB, Noh MJ, Lee KH. Continuous transforming growth factor  $\beta$ 1 secretion by cell-mediated gene therapy maintains chondrocyte redifferentiation. *Tissue Eng* 2005;11:310-318.
61. Lotz M. Cytokines in cartilage injury and repair. *Clin Orthop* 2001;391S:S108-S115.
62. Margulies BS, Horton JA, Wang Y, Damron TA, Allen MJ. Effects of radiation therapy on chondrocytes in vitro. *Calcif Tissue Int* 2006;78:302-313.
63. Gill TJ, McCulloch PC, Glasson SS, Blanchet T, Morris EA. Chondral defect repair after the microfracture procedure. A nonhuman primate model. *Am J of Sports Med* 2005;33:680-685.
64. 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;10:508-514.
65. Kumagai K, Saito T, Koshino T. Articular cartilage repair of rabbit chondral defect: promoted by creation of periarticular bony defect. *J Orthop Sci* 2003;8:700-706.
66. Wei X, Messner K. Maturation-dependent repair of untreated osteochondral defects in the rabbit knee joint. *J Biomed Mat Res* 1997;34:63-72.

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca yetişmeme katkılarından dolayı başta Prof. Dr. Gayur Kurap olmak üzere Prof. Dr. Tufan Kaleli, Prof. Dr. Ufuk Aydınli, Prof. Dr. Ömer Faruk Bilgen, Prof. Dr. Kemal Durak, Prof. Dr. Bartu Sarısözen, Yrd. Doç. Dr. Burak Demirağ ve Uzm. Dr. Sadık Bilgen'e; görevlerimiz dışında da birçok paylaşımımız olan ve uzmanlık eğitimi süremde farklı açılardan da gelişmemi sağlayan uzmanlık öğrencisi arkadaşlarıma; klinik, poliklinik ve ameliyathanede görevli tüm personele; bu çalışma sırasında hiçbir şekilde yardımını esirgemeyen ve yol gösteren tez danışmanım Yrd. Doç. Dr. Burak Demirağ'a, katkı ve desteklerinden dolayı başta Doç. Dr. Lütfi Özkan ve Uzm. Dr. Ulviye Yalçinkaya olmak üzere; Radyasyon Onkolojisi anabilim dalında görevli tüm uzmanlar ve Patoloji anabilim dalı çalışanlarına; Makine Mühendisliği'nden Doç. Dr Reşat Özcan'a; Deney Hayvanları Merkezi'nin başta Vet. Faruk bey olmak üzere tüm çalışanlarına; tüm yetilerimi borçlu olduğum anne ve babama; her konudaki eşsiz desteği ve fedakarlıkları nedeniyle hayat arkadaşım Fzt. Sema Öncan'a ve belki de babasından yaptığı fedakarlıklarla en çok teşekkürü hak eden biricik oğlum Mehmet Tuna Öncan'a teşekkür ederim.

## ÖZGEÇMİŞ

1 Ağustos 1970 tarihinde Denizli'nin Sarayköy İlçesinde doğdum. İlkokulu sırasıyla; Sarayköy, Almanya ve İzmir'de üç farklı okulda okuduktan sonra, ortaokul eğitimimi Denizli Pamukkale Orta Okulu'nda tamamladım. Lise eğitimime ise Denizli Lisesi'nde başlayıp, İzmir Atatürk Lisesi'nde devam ettim ve tamamladım. 1987 – 1998 yılları arasında Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi İngilizce bölümünde tıp eğitimimi aldım. Daha sonra, 1998 – 2001 yılları arasında Kırşehir İl Sağlık Müdürlüğü'ne bağlı olarak çeşitli sağlık ocaklarında, Kırşehir Jandarma Alay Komutanlığı'nda ve E tipi Kapalı Cezaevi'nde pratisyen hekim olarak görev yaptım. Askerlik yükümlülüğümü 2000 yılında bedelli olarak yerine getirdim. 3 Temmuz 2001 tarihinde Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı'nda tıpta uzmanlık eğitimime başladım. Evliyim ve bir çocuk babasıyım.

## İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	ii
TÜRKÇE ÖZET	iii - iv
İNGİLİZCE ÖZET	v - vi
GİRİŞ	1 - 6
GEREÇ VE YÖNTEM	7 - 14
BULGULAR	15 - 25
TARTIŞMA VE SONUÇ	26 - 34
KAYNAKLAR	35 - 41
TEŞEKKÜR	42
ÖZGEÇMİŞ	43

## ÖZET

Eklem kırırdağının iyileşme kapasitesinin kısıtlı olduğu iyi bilinmektedir. Oluşan bir travmatik defekt subkondral kemiği geçerse kemik iliğinden gelen multipotent kök hücreleri ile hyalin kırırdağ benzeri fibrokartilaj (HKBF) doku oluşarak iyileşirler. Oluşan bu iyileşme dokusu genellikle bir süre sonra dejenere olarak osteoartrite neden olur. Çalışmamızda düşük doz X ışınları kullanarak, osteokondral defektlerde oluşan bu HKBF dokunun yapısı ve mekanik özelliklerini geliştirmeyi ve böylelikle daha fazla hyalin kırırdağa benzeyen ve daha dayanıklı bir doku oluşturmayı amaçladık.

20 adet tavşanın 40 dizinin medial kondilinde osteokondral defekt oluşturuldu. Her tavşanın sadece bir dizine postoperatif 7. günden itibaren 5 gün boyunca her gün 1 Gy (5 x 1.0 Gy) radyoterapi uygulandı. 4. ve 8. haftalarda beşer tane tavşan 12. haftada ise kalan 10 tavşan sakrifiye edildi. 12 hafta takip edilen tavşanlardan 5 tanesinin her iki dizindeki defekt bölgesi biyomekanik olarak sıkıştırma testi ile değerlendirildi. Geri kalan 15 tavşanın (4, 8 ve 12 hafta takip edilen beşer tavşan) dizlerindeki defekt bölgesi ise; önce makroskopik olarak değerlendirildi, daha sonra da mikroskopik olarak incelendi. Çalışma ve kontrol grupları O'Driscoll skorumasına göre karşılaştırıldı.

Biyomekanik olarak test edilen 12 haftalık defektlerde radyoterapi uygulanan ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı (sırasıyla  $153,20 \pm 61,91$  ve  $161,87 \pm 64,55$  N/mm;  $p=0,686$ ). Makroskopik olarak değerlendirildiğinde çalışma ve kontrol dizleri arasında ve farklı süreler takip edilen gruplar arasında bir fark tespit edilemedi. Histolojik olarak değerlendirildiğinde ise O'Driscoll skorumasına göre aldıkları toplam puanlar açısından çalışma ve kontrol dizlerindeki defektler arasında anlamlı bir fark yoktu ( $p = 0.300$ ). Sadece 4. haftada kontrol dizlerine göre çalışma grubunda daha fazla dejenereasyon kaydedildi ( $p<0.05$ ). 8. ve 12. haftalarda ise bu fark kayboluyordu.

Sonuç olarak; -in vivo koşullarda- düşük doz x işınlama uygulanan HKBF onarım dokusu ile normal HKBF onarım dokusunun mekanik ve histolojik özellikleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Ancak 4. haftada çalışma grubunda daha fazla kondrosit kümelenmesi gibi yapısal değişiklikler görülmüştür. X işınlarının istenen ve istenmeyen etkilerinin daha ayrıntılı olarak belirlenebilmesi ve akla uygun olarak kullanılabilmesi için daha kapsamlı ve uzun süreli çalışmalara ihtiyaç vardır.

**Anahtar kelimeler:** Düşük Doz X Işınlama, Hyalin Kıkırdak Benzeri Fibrokartilaj, Deneysel Osteokondral Defekt.

## SUMMARY

### **The Effects of Low Dose X Irradiation on Structural and Mechanical Properties of Hyaline Cartilage like Fibrocartilage repair tissue in Experimental Osteochondral Defect Model**

It is well known that, healing capacity of articular cartilage is limited. If the traumatic defect penetrates to the subchondral bone, hyaline cartilage like fibrocartilage (HCLF) tissue will be formed by the multipotent stem cells derived from bone marrow. This repair tissue eventually will degenerate and progress to osteoarthritis. In this study, our purpose was to modify the structure and mechanical properties of this HCLF tissue by using low-dose X irradiation, thus, obtaining a more durable tissue that is more resembling to hyaline cartilage.

The osteochondral defects were created on the medial condyles of 40 knees of 20 rabbits. Beginning from 7<sup>th</sup> day postoperatively, only one knee of each rabbit was exposed to 1 Gy of radiotherapy for 5 days (5 x 1.0 Gy). Five of the rabbits sacrificed on 4<sup>th</sup> and five of them on 8<sup>th</sup> week and the rest 10 rabbits on 12<sup>th</sup> week. Defects of both knees of five of the rabbits those followed for 12 weeks were examined biomechanically by compression test. All of the defects on the knees of 15 rabbits (5 rabbits on each 4<sup>th</sup>, 8<sup>th</sup> and 12<sup>th</sup> weeks) first evaluated macroscopically and then examined microscopically. The study and the control groups were compared according to the scoring system of O'Driscoll.

The defects that were biomechanically tested on 12<sup>th</sup> week; there was no statistically significant difference between radiotherapy and control groups (153,20 ± 61,91 and 161,87 ± 64,55 N/mm respectively; p=0,686). When examined macroscopically; neither difference was found between the study and the control groups nor between groups that were followed for different time intervals. When examined microscopically, there was no significant



difference between the study and the control groups in respect to the total scores got from O'Driscoll system ( $p=0.300$ ).The only difference was the more degeneration recorded in study group at 4<sup>th</sup> week ( $p < 0.05$ ). This difference disappeared at 8<sup>th</sup> and 12<sup>th</sup> weeks.

In conclusion; there is no statistically significant difference detected between mechanical and histological properties of normal HCLF repair tissues and those of ones exposed to low dose X irradiation. However, some structural alterations such as chondrocyte clustering at 4<sup>th</sup> week were observed. More extended and longer studies should be done for more detailed definition of wanted and unwanted effects of X rays and for rational use of them.

**Key words:** Low Dose X Irradiation, Hyaline Cartilage Like Fibrocartilage, Experimental Osteochondral Defect