

900 MHz ve 1800 MHz Elektromanyetik Alanın Kıkırdak Doku İyileşmesine Etkileri: Sıçanlarda Deneysel Çalışma

The Effects of 900-1800 MHz Electromagnetic Fields on the Healing of Cartilage Tissue: Experimental Rat Study

Fazıl Cüneyt AYDOĞAN,^a
Ahmet ASLAN,^b
Yakup Barbaros BAYKAL^c

^aOrtopedi ve Travmatoloji Kliniği,
Dr.İ.Şevki Atasagun
Nevşehir Devlet Hastanesi, Nevşehir

^bOrtopedi ve Travmatoloji Kliniği,
Afyonkarahisar Devlet Hastanesi,
Afyonkarahisar

^cOrtopedi ve Travmatoloji AD,
Süleyman Demirel Üniversitesi
Tıp Fakültesi, Isparta

Geliş Tarihi/Received: 26.01.2012
Kabul Tarihi/Accepted: 09.04.2012

*Bu çalışma, Süleyman Demirel Üniversitesi
Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından
1414-TU-06 no'lu proje numarası ile
desteklenen Tıpta Uzmanlık
Tezi'nden oluşturulmuştur.*

Yazışma Adresi/Correspondence:
Ahmet ASLAN
Afyonkarahisar Devlet Hastanesi,
Ortopedi ve Travmatoloji Kliniği,
Afyonkarahisar,
TÜRKİYE/TURKEY
draaslan@mynet.com

ÖZET Amaç: Cep telefonu ve baz istasyonlarından yayılan yüksek frekanslı elektromanyetik alan (EMA)'ın biyolojik dokulara bazı olumsuz etkileriyle ilgili kanıt sayısı giderek artmaktadır. Kıkırdak dokusu, osteoartrit gibi birçok hastalıkta ve travmada hasarlanan bir dokudur. Kıkırdak dokusunun oluşumu/iyileşmesi çevresel EMA kaynaklarından etkilenebilir. Bu deneysel çalışmada, yüksek frekanslı EMA'nın kıkırdak dokusunun iyileşmesi üzerindeki etkisi araştırılmıştır. **Gereç ve Yöntemler:** Otuz üç adet Winstar Albino türü erkek sıçanın sağ diz lateral femoral kondilinde 2X2 mm'lik tam kat kıkırdak defekti oluşturuldu ve subkondral kemik kazınarak abrazyon tedavisi uygulandı. Üç gruba ayrılan sıçanlardan 1. grup kontrol grubu olarak belirlendi ve herhangi bir EMA'ya maruz bırakılmadı; 2. grup 900 mHz, 3. grup ise 12 hafta boyunca haftada 6 gün, günde 30 dakika 1800 mHz EMA'ya maruz bırakıldı. Çalışmanın sonunda sıçanlar öldürüldü ve defekt bölgesinin iyileşme durumu, modifiye Wakitani skorlama sistemine göre değerlendirildi. **Bulgular:** İkinci grubun (900 mHz) skorları istatistiksel olarak kontrol grubunun skorlarından daha yüksek bulundu. Grup 1 ve 3 ile grup 2 ve 3 arasında istatistiksel olarak herhangi bir fark saptanmadı. Ancak 3. grubun (1800) değerleri kontrol grubunun değerlerinden daha iyi bulundu. **Sonuç:** Bu çalışmanın sonuçları yüksek frekanslı EMA'nın kıkırdak dokusunda olumsuz bir etkisi olmadığını, aksine bazı olumlu etkileri olabileceğini göstermektedir. Bununla birlikte, bu konuda yapılmış daha ayrıntılı çalışmalara gereksinim vardır ve çalışmamız bu konuda ışık tutabilir.

Anahtar Kelimeler: Elektromanyetik alanlar; kıkırdak, eklem

ABSTRACT Objective: There has been a growing body of evidence on the effects of electromagnetic fields (EMFs) on human body and its tissues. Widespread use of cellular phones has created concern in this regards due to the magnetic field created by base stations. We investigated the effect of high frequency EMFs on healing of cartilage tissue in this experimental study. **Material and Methods:** We created a full-thickness chondral defect on the lateral femoral articular surface of 33 Winstar Albino rats. Rats were divided into three groups; group 1 was the control group with no exposure to EMFs, group 2 was exposed to 900 mHz EMF and group 3 was exposed to 1800 mHz 30 minutes a day and 6 days a week for 12 week. Rats were sacrificed and the defected knees were subjected to histological examination with the modified Wakitani scoring system. **Results:** The the scores of group 1 were significantly better than the scores of group 2. Comparison of group 1 with 2 and group 2 with 3 revealed no significant differences. However, the scores of group 3 were better than the scores of group 1. **Conclusion:** Various studies report a favorable effect of low frequency EMF on chondral tissue healing. In this study we evaluated the effect of high frequency EMF on chondral tissue. We suggest that EMF released from cellular phones induced chondral defect healing.

Key Words: Electromagnetic fields; cartilage, articular

Türkiye Klinikleri J Med Sci 2013;33(1):81-90

Eklem kıkırdağının normal koşullarda mekanik streslere karşı dayanıklılığı sabit olmakla birlikte, yaşlanma ile yapısal zayıflıklar ortaya çıkar. Travmatik olaylar, osteoartrit (OA) ve romatoid artrit (RA) gibi

kronik ve ilerleyici hastalıklar, eklem kıkırdağının yük taşıma özelliğini kaybettiren patolojilerdir. Tedavi edilmemiş fokal kondral defektler OA'nın önemli nedenlerinden biridir. OA ile ilişkili yapısal değişiklikler, kıkırdak dışında, eklem kapsülü, sinoviyal membran, subkondral kemik ve eklem çevresindeki diğer dokularda da oluştuğundan, sadece kıkırdağı restore eden uygulamaların tedaviye katkısının sınırlı olduğu, kıkırdak defektlerinin erken tedavisinin daha başarılı olacağı ve kronikleştikçe başarının azalacağı bildirilmektedir.¹⁻³ Eklemi yıkama, kıkırdak debridmanı, abrazyon, drilleme, mikrokırık, osteokondral otogreftler, osteokondral allogreftler, osteotomiler, otolog kondrosit nakli, perikondral greftler ve yapay matriksler günümüzde kıkırdak onarımı için kullanılan tedavi seçenekleridir.^{1,4} Kıkırdak iyileşmesinde elektrik uyarıları, lazer uygulamaları gibi fiziksel ajanlar denenmiştir. Kıkırdağın yüzeysel hasarları termal veya lazer enerjisi uygulamasıyla stabilize edilebilmektedir; ancak bu uygulamanın uzun vadeli sonuçları bilinmemektedir.⁵ Düşük frekanslı elektromanyetik alan (EMA)'ın, kırık iyileşmesinde, konjenital psödoartrozda, proteoglikan salgılanmasını artırarak kıkırdak üzerinde ve yumuşak doku romatizmal hastalıklarında olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir. EMA'nın tedavi amaçlı kullanımı, düşük maliyetli, girişimsel olmayan, komplikasyon ve yan etki riski az olan bir yöntemdir.⁶ Çok düşük EMA (≤ 300 Hz), kısa dalga diyatermi (27,12 MHz) ve mikrodalga diyatermi (915-2,456 MHz), akut yangısal olaylarda, psödoartrozlu kemiklerde, diyabetik cilt ülserlerinde, migrende, dejeneratif nöronal hasarlanmalarda ve OA tedavisinde kullanılmaktadır.⁷

Diğer yandan, biyolojik sistemlerin EMA ile etkileşmesi sonucu bazı zararlı değişikliklerin oluştuğu bildirilmektedir.⁸ EMA'ların yararlı etkilerinin yanında zararlı etkileri de vardır. Düşük frekanslı EMA'ların tıbbi tedavide kullanımına ilişkin kanıtlar varken, yüksek frekanslı EMA'ların insan sağlığına olumsuz etkilerine dair endişeler vardır.⁹⁻¹² Elektromanyetik spektrumun yüksek frekans alanı radyofrekans (RF) aralığında yer alan cep telefonları, baz istasyonları vb çevresel kaynaklardan yayılan EMA'ların biyolojik sistemlerle etki-

leşmesi, endokrin ve sinir sistemi başta olmak üzere sağlığa bazı olumsuz etkileri olduğu bildirilmektedir.¹³⁻¹⁵ Yüksek frekanslı EMA'ların olumsuz etkileriyle ilgili çalışmaların ışığında, kıkırdak, çevresel zararlı materyallerin absorpsiyonu açısından potansiyel bir dokudur ve RF EMA'lar, kıkırdak dokusu üzerinde bazı muhtemel etkilere kaynaklık edebilir.

Bu deneysel çalışmada, sıçanlarda oluşturulan kıkırdak hasarının iyileşmesine 900 MHz ve 1800 MHz yüksek frekanslı EMA'nın etkilerini araştırdık.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

HAYVAN MODELİ

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi (SDÜTF) Etik Kurulu'ndan gerekli izin alındıktan sonra SDÜTF Hayvan Araştırma Laboratuvarı'nda yetiştirilen 33 adet erişkin, ortalama ağırlıkları 254,6 g ve ortalama 5 aylık (4-6 ay) erkek Winstar Albino sıçan kullanıldı. Sıçanlar rastgele 3 gruba ayrılarak her gruptaki sıçanlar numaralandırıldı. Grup1 kontrol (n=11, ortalama ağırlık=261 g) grubu, grup 2 900 Mhz EMA uygulanan (n=11, ortalama ağırlık=255 g) grup ve grup 3 1800 Mhz EMA uygulanan (n=11, ortalama ağırlık=248 g) grup olarak sınıflandırıldı. Deneyden önce, çalışmanın yapılacağı ortamda tutulan sıçanların ortama alışmaları sağlandı. Sıçanlar, standart kemirgen yemi (Hasyem Ltd. Isparta, Türkiye-Sıçan diet) ve musluk suyu ad libitum ile beslendiler. Hayvanlar, ısı ve ışığı kontrol edilen ortamda (Oda ısısı 22±2°C, 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık, %30-70 nem oranında) tutuldular. Deney süresince sıçanlara herhangi bir aktivite veya yük verme kısıtlaması yapılmadı. Çevresel elektromanyetik alanların etkilerini en aza indirebilmek için bütün kafesler, laboratuvarın manyetik alan şiddetinin en düşük olduğu bölümüne yerleştirildi. İkinci ve üçüncü gruptaki sıçanlar yalnız deney sırasında EMA'ya maruz kaldı, 1. grup sıçanlar aynı laboratuvar ortamında tutuldu, ancak EMA'ya maruz bırakılmadı.

Çalışmanın deneysel aşamaları, deney hayvanları kullanım kursu sertifikasına sahip yazarlar

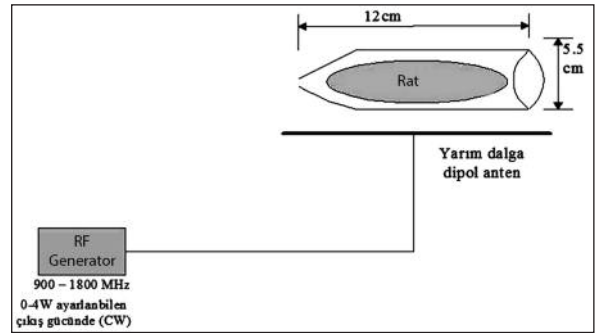
(1 ve 2 nolu yazar) tarafından, Laboratuvar Hayvanları Bakım ve Kullanım Kılavuzu (<http://www.nap.edu/catalog/5140.html>) prensipleri doğrultusunda yürütüldü ve hayvan haklarının korunmasında gerekli özen gösterildi.

EMA UYGULANMASI

Bu çalışmada, 900 ve 1800 MHz dalga frekanslı puls EMA jeneratörü [maksimum gücü 2 W, ortalama güç yoğunluğu 1,04 mW/cm², özgül soğurma hızı (SAR) değeri 0,008 W/kg] kullanıldı. Bu cihazın aynı anda cep telefonu benzeri puls 900 ve 1800 MHz radyofrekans (RF) sinyali verebilmesinden ötürü iki grubun üyelerine aynı anda işlem uygulanabildi. Sıçanlar, dönmelerini engelleyecek genişlikte (5,5 cm çapında) ve uzunluğu ortalama sıçan boyu ile orantılı plastik tüplere yerleştirildi ve günde 30 dakika, haftada 6 gün olmak üzere, 12 hafta boyunca 900 MHz ve 1800 MHz yarım dalga dipol antenler ile RF EMA'ya maruz bırakıldılar. Kontrol grubuna ait hayvanlar ise aynı gün ve sürede benzer plastik tüplere (PVC restrainer) ayrı ayrı yerleştirilerek aynı stres ortamında tutuldu, ancak EMA'ya maruz bırakılmadı (Resim 1). Teorik olarak analizler Gajsek ve ark. tarafından yapılan çalışmadan, EMA uygulama deney düzeneği ve yöntemi Chou ve ark. tarafından yapılan çalışmada kullanılan yöntemden ve SAR değerleri Gajsek ve



RESİM 1: Elektromanyetik alan uygulaması.
(Renkli hali için Bkz. <http://tipbilimleri.turkiyeklinikleri.com/>)



ŞEKİL 1: Deney düzeneği.

ark. tarafından yapılan çalışmadan alınmıştır.¹⁶⁻¹⁸ Deneysel uygulama düzeneği Şekil 1'de gösterilmiştir.

CERRAHİ YÖNTEM

Tüm sıçanlara profilaktik amaçla ameliyattan iki saat önce intramüsküler 15 mg/kg dozunda tek doz sefazolin sodyum (Sefazol®) uygulandı. Genel anestezi için tüm sıçanlara intraperitoneal (10 mgr/100 g vücut ağırlığına) ketamin HCL (Ketarlar®, Eczacıbaşı, İstanbul) ve (0,25 mg/100 mg vücut ağırlığına) ksilazin HCL (Alfazyne®, Ege Vet. Hayvan. Tic. Lit. Şti, İzmir) uygulandı (Resim 2). Takiben her sıçanın sağ dizi cerrahi uygulama için seçildi. Dizler antiseptik solüsyonla yıkanarak traş edildi. Diz fleksiyonda iken medial parapatellar insizyonla cilt ve cilt altı geçilerek medial parapatellar artrotomi uygulandı. Patella laterale ekarte edildi. İşlem sırasında patellar tendon ve medial kollateral ligaman korundu.^{19,20} Diz tam fleksiyona getirilerek medial femoral kondilin yük taşıyan yüzünde 11 numara bistüri ile 2x2 mm'lik tam kat defekt oluşturacak şekilde kırık tabaka kesildi (Resim 3). Subkondral kemik açığa çıkarıldı ve kemik yüzey yine bistüri ile kazınarak kanama olana kadar abrazyon tedavisi uygulandı. %09 NaCl solüsyonu ile yıkamayı takiben patella redukte edilerek, eklem kapsülü 4-0 emilebilen sütür materyali, cilt ise 5-0 emilemeyen sütür materyali kullanılarak aralıklı olarak dikildi.¹⁹

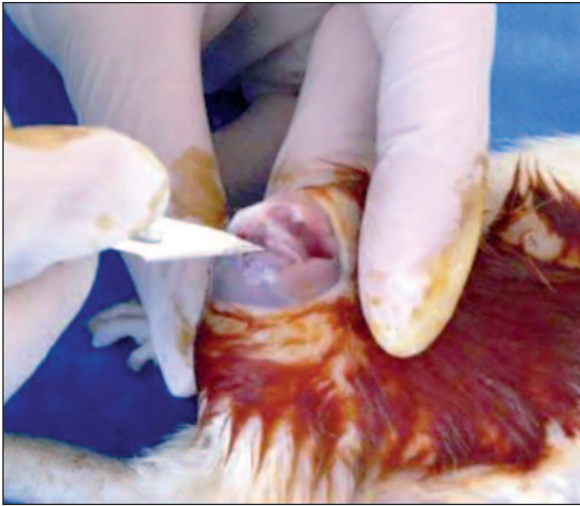
HİSTOLOJİK DEĞERLENDİRME

Çalışma sonunda tüm sıçanlar aşırı doz eter ile öldürüldü ve sağ distal femur eklem kırıkdağına



RESİM 2: İntraperitoneal anestezi.

(Renkli hali için Bkz. <http://tipbilimleri.turkiyeklinikleri.com/>)



RESİM 3: Bistüri ile defektin oluşturulması.

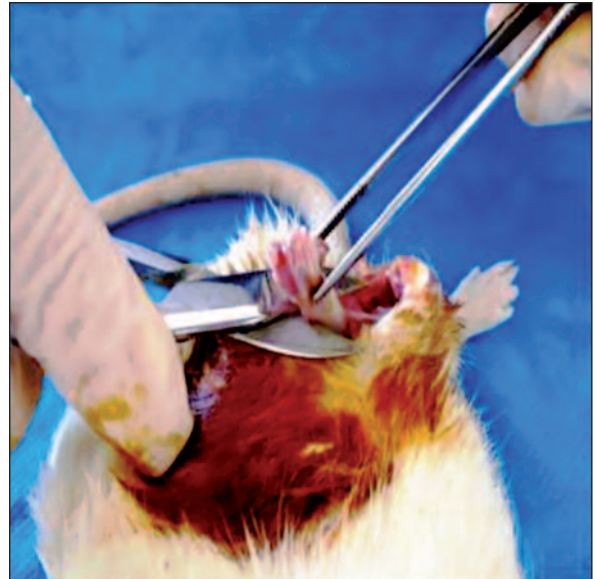
(Renkli hali için Bkz. <http://tipbilimleri.turkiyeklinikleri.com/>)

zarar verilmeden çıkarıldı (Resim 4). Kıkırdak makroskopik olarak değerlendirildi (Resim 5). Çıkarılan femurlar %10 formalin içinde üç gün fikse edildi. Takiben %10 formik asit içinde iki gün bekletilerek dekalsifikasyon işlemi tamamlanan dokular akan suda bir gün kadar tutularak asitten arındırıldı ve makroskopik olarak defekt merkezde olacak şekilde 2 mm'lik parçalara ayrıldı. Ardından

dereceli etanol ile dehidrate edildi. Ksilen ile durulandıktan sonra parafin içine gömüldü. Mikrotomla 4 mikron kalınlığında boylamsal kesitler alındı. Kesitler cam slaytlara yapıştırıldı ve Hema-toksilen Eosin boyası ve toluidin mavisi ile boyanıp, ışık mikroskopunda incelendi. Örnekler literatürde kabul gören modifiye Wakitani Skorlamasına göre (Tablo 1) bağımsız iki patolog tarafından değerlendirildi.²¹ Bu skorlama yapılırken her preperatta hücre morfolojisi, oluşmuş dokunun baskın tipi, kollajen miktarı, yüzey düzgünlüğü, komşu kıkırdak ile yapışma özelliği ve kalınlığı değerlendirildi. Kesitler lam üzerine yerleştirilerek 100X büyütme mikroskopta digital kamerayla fotoğraflandı (Resim 6).

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Verilerin bilgisayar ortamına girilmesinde Microsoft Office Excel 2007® (Microsoft Corporation, USA) programı, verilerin tanımlayıcı analizi ve yorumlanmasında Windows için Statistical Package for the Social Sciences® (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) 19.0 istatistik paket programı kullanıldı. İstatistiksel değerlendirmeler Mann-Witney U Testi ve Kruskal Wallis Testi nonparametrik anlamlılık testleri ile yapıldı. Alfa hata değeri 0,05 alınarak $p < 0,05$ anlamlı kabul edildi.



RESİM 4: Distal femurun çıkarılması.

(Renkli hali için Bkz. <http://tipbilimleri.turkiyeklinikleri.com/>)



RESİM 5: Lateral femoral kondilde defektin bölgesi.
(Renkli hali için Bkz. <http://tipbilimleri.turkiyeklinikleri.com/>)

BULGULAR

Femur kondilleri makroskopik olarak değerlendirildiğinde tüm gruplarda defekt oluşturulmuş bölgenin tamamen tamir dokusuyla dolmuş olduğu ve sağlam bölgelerden ayırt edilemediği gözlemlendi. Künt bir biz ucuyla yapılan muayenede ise tamir dokusunun sağlam kıkırdakla göre daha yumuşak olduğu hissedildi. Kontrol (grup 1) ve 1800 MHz (grup 3) grubundan 2 sıçanın anestezi sonrası telef olması nedeniyle bu sıçanlara ait dokular analize alınmadı. Histopatolojik değerlendirmeden önce preparatlar, grup-1 (1-10 nolu), grup-2 (11-21 nolu) ve grup-3 (22-31 nolu) şeklinde gruplara ve sıçanlara göre numaralandırıldı.

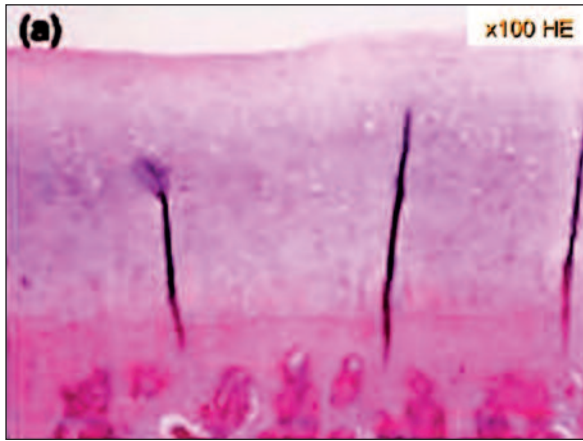
Modifiye Wakitani Skorlama sistemine göre (Tablo 1) histopatolojik kesitler incelendiğinde gruplara göre skorların dağılımı Tablo 2 ve Şekil 2’de, grupların A,B,C,D,E ve toplam skorlarına göre karşılaştırılması ise Tablo 3’de gösterilmiştir.

Bütün gruplardaki tüm sıçanlar için A, C ve D skor değerlerinde değişkenlik görülmedi (tüm deneklere ait değerler sıfır skorunu almıştır); bu nedenle gruplar arasında hiç bir farklılık gözlenmedi (Tablo 2). Gruplar, B, E ve toplam skorlarına göre karşılaştırıldığında gruplar arasında B skoru bakımından anlamlı farklılık gözlenmezken ($p=0,114$), E skorları ve toplam skorlar bakımından istatistiksel açıdan anlamlı fark vardı (sırasıyla $p=0,021$ ve $p=0,007$ Kruskal Wallis Testi) (Tablo 3). Bu anlamlı farklılığın hangi gruplar arasında olduğu Mann-Witney U testi ile araştırıldığında, Grup-1 ile grup-3 ve grup-2 ile grup-3 arasında anlamlı farklılık gözlenmezken, grup-1 ile grup-2 arasında E skorları ve toplam skorlar bakımından istatistiksel açıdan anlamlı fark olduğu (sırasıyla $p=0,006$ ve $p=0,002$) görüldü (Tablo 3).

Sonuç olarak, yüksek frekanslı 900 MHz EMA’ya maruz kalan grubun (Grup 2) histopatolojik değerlendirme skorları, kontrol grubunun (Grup 1) skorlarından daha yüksekti ve gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark vardı (Tablo 2 ve 3). Dolayısıyla, kıkırdak tamir dokusu oluşumu 900 MHz EMA grubunda daha iyiydi. Ancak 1800 MHz EMA’ya maruz kalan grupta (Grup 3) kıkır-

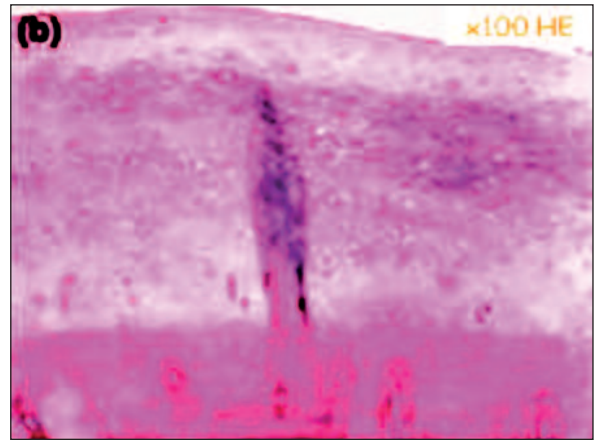
TABLO 1: Modifiye Wakitani skorlama sistemi.

A skoru-Hücre Morfolojisi	
Hiyalin kıkırdak	0
Çoğunluk hiyalin kıkırdak	1
Çoğunluk fibröz kıkırdak	2
Çoğunluk kıkırdak yok	3
Hiç kıkırdak yok	4
B skoru-Matriks boyanması (metakromazi) (Toluidin mavisi ile boyama)	
Normal	0
Hafif azalmış	1
Belirgin azalmış	2
Boyanma yok	3
C skoru-Yüzey düzenliliği (Düzgün yüzeyin tüm iyileşme dokusuna oranı)	
Düzgün ($\geq 3/4$)	0
Orta düzey ($1/2-3/4$)	1
Düzensiz ($1/4-1/2$)	2
Şiddetli düzensizlik ($\leq 1/4$)	3
D skoru-Kıkırdak kalınlığı (Kıkırdak iyileşme dokusunun ortalama kalınlığının çevre kıkırdakla karşılaştırılması)	
$>2/3$	0
$2/3-1/3$	1
$<1/3$	2
E skoru-Çevre kıkırdak dokusuna entegrasyonu	
İki kenarda var	0
Bir kenarda var	1
İki kenarda da yok	2



RESİM 6a: Resmin sol tarafında defekt oluşturulmuş bölgenin %100'e yakın oranda tamir dokusuyla dolduğu görülüyor (HE, x100).

(Renkli hali için Bkz. <http://tipbilimleri.turkiyeklinikleri.com/>)



RESİM 6b: Resmin sağ tarafındaki tamir dokusuyla normal kıkırdığın entegrasyonu (HE, x100).

(Renkli hali için Bkz. <http://tipbilimleri.turkiyeklinikleri.com/>)

damir dokusunun oluşumu, kontrol grubuna (Grup 1) göre anlamlı bir farklılık oluşturmadı. Gruplar arasındaki bu farkın, 1. grupta tamir dokusunun çevre kıkırdak dokuya entegrasyonundaki yetersizlik sonucu olduğu görüldü. Mikroskopik ve makroskopik olarak defekt çevresinde herhangi bir dejeneratif değişiklik izlenmedi.

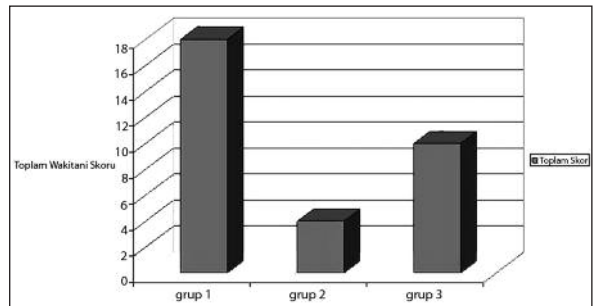
TARTIŞMA VE SONUÇ

Yapılan klinik çalışmalarda, hasarlı kıkırdakta düşük frekanslı darbeli elektromanyetik alan (DEMA)'ların olumlu terapötik etkileri bildirilmektedir.²²⁻²⁷ Buna karşılık cep telefonu ve baz istasyonlarından yayılan yüksek frekanslı EMA'ların biyolojik dokulara olumsuz etkisi olabileceği belirtilmektedir.⁸⁻¹⁵ Bu çalışmada amacımız, 900 MHz ve 1800 MHz frekansında EMA'ların kıkırdak defektinin iyileşmesi üzerine olumsuz ya da terapötik bir etkisi olup olmadığı sorusuna cevap bulmaktı.

Literatürde EMA'ların kıkırdak dokusu üzerindeki etkileriyle ilgili çeşitli deneysel çalışmalar bulunmaktadır. Detlavs ve ark., hayvanlardaki yumuşak doku yaralanmalarında RF EMA'nın etkisini araştırdıkları çalışmalarında, frekans modülasyonu ile EMA uygulanan farelerde, yangının yoğun olduğunu, aynı zamanda, kollajen proteinlerin belirgin bir şekilde biriktiğini, buna karşılık

TABLO 2: Histolojik skorların gruplara göre dağılımı.

	A skoru	B skoru	C skoru	D skoru	E skoru	Toplam
Grup 1	0	2	0	0	16	18
Grup 2	0	0	0	0	4	4
Grup 3	0	0	0	0	10	10



ŞEKİL 2: Gruplara göre toplam Modifiye Waktani Skorlamasının dağılımı.

EMA uygulanmayan farelerde total kollajen birikiminin düşük düzeyde olduğunu bildirmişler ve iyileşme süreçlerinde EMA'nın non-termal etkilerinin rol oynadığını bildirmişlerdir.²⁸ Detlavs ve ark. bir başka çalışmada, dermal yaraları olan sıçanlar üzerinde yara iyileşmesinin erken evrelerinde EMA'nın etkilerini araştırmışlar ve yangı reaksiyonu inhibe edilmiş hayvanlarda kollajen birikiminin yavaşlamış olduğunu, fakat aktivasyonla bu reaksiyonun kollajen konsantrasyonunda belir-

TABLO 3: Gruplara göre skorların dağılımı ve karşılaştırılması.

Grup		A skoru	B skoru	C skoru	D skoru	E skoru	Toplam skor
Grup-1 (Kontrol) N=10	Ortanca	0,00	0,00	0,00	0,00	2,00	2,00
	Minimum	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Maksimum	0,00	1,00	0,00	0,00	2,00	3,00
Grup-2 (900 MHz) N=11	Ortanca	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Minimum	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Maksimum	0,00	0,00	0,00	0,00	2,00	2,00
Grup-3 (1800 MHz) N=10	Ortanca	0,00	0,00	0,00	0,00	1,00	1,00
	Minimum	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Maksimum	0,00	0,00	0,00	0,00	2,00	2,00
p değeri*		-	0,114	-	-	0,021	0,007
p değeri**		Grup-1 ile Grup-2				0,006	0,002
		Grup-1 ile Grup-3				0,170	0,083
		Grup-2 ile Grup-3				0,132	0,132

* Kruskal Wallis testi (Grupların hepsinin karşılaştırılması),

** Mann-Witney U testi (Grupların ikili karşılaştırılması).

gin bir artışa neden olduğunu bildirmişler ve değişikliklerin, test edilen EMA'ların fiziksel parametrelerinin özelliklerine bağlı olduğunu belirtmişlerdir.²⁹ Mohamed-Ali ve ark., fare embriyolarından aldıkları hasarlı hücreler üzerinde yaptıkları çalışmada, EMA altında kırık matrisdeki hareketi incelemişler ve 4 saatte kültürlerdeki kollajen ve 24 saatte proteoglikan miktarında belirgin bir artış olduğunu göstermişlerdir.³⁰ Sonuç olarak, yüksek frekanslı EMA'nın embriyonal kırık dokusu üzerinde anabolik etkileri olduğunu bildirmişlerdir. Jahns ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, insan kırık hücrelerinden yapılmış hücre kültürünün 500 ve 100 Hz'lik EMA'ya maruz bırakılması sonucunda, kondrositlerin morfolojisinde hızlı bir şekilde hücrelerin temas yüzeyini arttırıcı yönde değişiklikler olduğu gözlenmiştir.³¹

Bizim çalışmamızda, sıçanlarda oluşturduğumuz tam kat kırık defektinde, cep telefonlarının yaydığı EMA ile aynı frekanslarda olan 900 MHz EMA'ya maruz bırakılan grupta, kontrol grubuna göre daha iyi tamir dokusunun oluştuğunu ve skorlarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu gözlemledik. Bunun yanında, 1800 MHz EMA'ya maruz kalan grubun da kontrol grubuna göre skorlarının daha iyi olduğu, ancak bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlenmiştir.

Çalışmamızda elde edilen skorların literatürdeki benzer bazı çalışmalarda elde edilenlerden daha iyi olduğu görülmüştür.^{20,21,32} Bu durumun, histolojik örnekleme diğer çalışmalarda 4., 8. ve 12. haftalarda alınmış olması ve iyileşme sürecinin basamak basamak gözlenebilmesi, bizim çalışmamızda ise kırık iyileşmesi için yeterli bir süre olan 12. haftada tek örnekleme yapılmış olması ile açıklanabileceği düşünüldü. Literatürde çalışmamızdakine benzer şekilde, hatta 4 veya 12 ay gibi daha uzun süreler sonunda da örnekleme yapıldığı çalışmalar da vardır.^{33,34} Ancak literatürde, 900-1800 MHz frekansa maruz kalmanın kırık defektinin iyileşmesi üzerindeki etkilerinin incelendiği bir çalışmaya rastlayamadık. Bu durum, sonuçlarımızı karşılaştırabilmemiz ve yeterince tartışabilmemiz açısından bir kısıtlılığa neden olmuştur.

Sakai ve ark., kültür yapılmış kırık hücrelerinde DEMA'nın etkilerini araştırmak için tavşanların gelişmiş kostal kırık hücreleri ve kültürdeki insan kırık hücreleri üzerinde birçok deney yapmışlardır.³⁵ Bu çalışmalarda, hem hücre proliferasyonunda hem de kırık hücredeki glukoz-amino-glikanların sentezinde, aralıklı uygulanan DEMA stimülasyonunun, sürekli uygulanan DEMA stimülasyonundan daha et-

kili olduğunu bildirmişlerdir. Ahmadian ve ark., DEMA'nın sıçan derilerindeki kollajen sentezine etkilerini 3 farklı frekansta (25, 50 ve 100 Hz) incelemişlerdir.³⁶ Bu çalışmanın bulguları, 25Hz'deki 2 mT şiddetindeki alanın kollajen sentezini artırdığını, diğer şiddet ve frekanslarda fark edilebilir bir etki olmadığını, ancak 25 Hz'de 4mT şiddetindeki frekansın da kollajen artışına neden olduğunu ortaya koymuştur. Leran ve ark., yaptıkları çalışmada, DEMA uyguladıkları ve uzun süre takip ettikleri venöz ülserli hastalarda iyileşmenin hızlanmasının yanı sıra, ülserlerin tekrarlama sıklığının da azaldığını belirtmişlerdir.³⁷ Stiller ve ark., yaptıkları çalışmada, venöz ülserli hastalara DEMA uygulayarak anjiyogenezin ve kollajen salınışının artmasına neden olarak yara yüzeyinin küçülmesini sağlamışlardır.³⁸ Diğer yandan Bobacz ve Ark., yaşla ilgili eklem kıkırdağı matriks biyosentezinde ve kıkırdak hasarlarında DEMA'nın etkilerini incelemişler ve EMA'nın, sağlam doku eksplantlarında matriks makromolekül biyosentezine yardım ettiği, fakat hasarlı eklem kıkırdağında hiçbir uyarıcı etkisi olmadığını sonucuna varmışlardır.³⁹ McCarthy ve Ark., DEMA'nın doku onarımı ve iyileşmesine katkılarını inceledikleri çalışmalarında, ağrıyı azaltıcı anlamlı bir etkisinin olmadığını belirtmişlerdir.⁴⁰

Bizim çalışmamızda kullandığımız RF jeneratör 900 MHz ve 1800 MHz frekansta puls (darbeli) EMA üretebiliyordu. Bununla birlikte, 900 MHz EMA'ya maruz kalan gruptaki histolojik skorların kontrol grubundakine göre daha iyi olması, bu bulguların, olumlu etki bildirilen çalışmaların (36-38) sonuçlarıyla, öte yandan 1800 MHz EMA'ya maruz kalan grupta elde edilen bulguların ise diğer çalışmaların (39,40) bulguları ile uyumlu olduğu söylenebilir.

Yapılan birçok çalışmada, EMA'ya maruz kalmanın kıkırdak iyileşmesini hızlandırdığına ya da yaşlanmayla birlikte süren kıkırdak dejenerasyonu sürecini yavaşlattığına dair bulgular elde edilmiştir. Bu etkinin gerek matriks proteinlerinin sentezini artırarak, gerekse transforme edici büyüme faktörü (TGF)- β ve interlökin (IL)-1 β gibi aracı maddeler vasıtasıyla ortaya çıktığı düşünülmekte ancak net olarak ortaya konulamamaktadır. Norton ve ark., DEMA'nın, alkalin fosfataz üretimini destekleye-

rek ve proteoglikanların yapılarını değiştirerek kondroblastların fenotipik tanımlamasını değiştireceğini iddia etmişlerdir.⁴¹ Bunun için civciv embriyolarının sternumundan ve tibial epifizlerin hipertrofik kısımlarından alınan kondroblastlara ve cilt fibroblastlarına kültür yapılmış ve çalışma bittiğinde DEMA'nın, *in vitro* sistemlerde sternal kondroblastların fenotipik tanımlamasını değiştirdiği sonucuna varmışlardır. De Mattei ve ark.⁴², koyunların eklem kıkırdağından aldıkları örnekleri 75 Hz frekansında 1,5 mT gücünde EMA'ya 24 saat boyunca maruz bıraktıklarında, proteoglikan ve hücre dışı matriks sentezinde artış saptamışlardır. Aynı yazarlar bir başka çalışmalarında, yine koyun eklem kıkırdağına uygulanan 75 Hz frekansında 2,3 mT gücünde EMA'nın kıkırdak üzerinde anabolik etkilerinin olduğunu ortaya koymuşlar ve bu etkilerin IL-1 β sentezi ile ilgili olabileceğini ileri sürmüşlerdir.⁴³ Wang ve ark., koyun eklem kıkırdağından elde ettikleri kıkırdak kültürlerine 5 saat boyunca 20 mV/cm gücünde ve 60 kHz frekansında EMA uygulamışlar ve daha sonra kültürün matriks proteinlerini gen sunumu yönünden incelemişler ve tip 2 kollajen gen sunumunda artış ve kollajen ve proteoglikan yapımında hızlanma olduğunu göstermişlerdir.⁴⁴ Ciombor, kendiliğinden OA oluşturan bir tür kobayda yaptığı çalışmada, deney hayvanlarını 12 aylıktan başlayarak 6 ay boyunca her gün günde 1 saat DEMA'ya maruz bırakmıştır.⁴⁵ OA oluşumunda anlamlı bir gerileme tespit edilmiş ve bunun TGF- β aracılığıyla oluştuğu bildirilmiştir. Fini ve ark., kobaylarda DEMA'ya (3 ay boyunca günde 6 saat) maruz kaldıktan sonra OA gelişimini değerlendirdikleri çalışmalarında, DEMA'nın OA'nın ilerleyişini yavaşlattığı sonucuna ulaşmışlardır.²³

Yukarda belirtilen bütün çalışmalar düşük frekans aralıklarında yapılmıştır. Etiyopatogenezde EMA'nın ısı olmayan (biyokimyasal) etkilerinin rol oynadığı ve etki mekanizmasının ise hücre membranından iyon alışverişi ve reseptörlerin aktivasyonu aracılığıyla olduğu belirtilmiştir. Diğer yandan deri, yüksek frekanslarda enerjinin soğurulmasında etkilidir; fizyoterapi cihazlarının dâhil olduğu düşük frekans bölgelerinde derinin soğurucu etkisi en aza inmektedir. Dolayısıyla, daha

derin ve vital dokularda elektromanyetik enerjinin termal veya nontermal etkileri ortaya çıkabilir.⁷ EMA'ların etkileri frekansa bağlı olarak değişir; genellikle hem ısı hem de ısı olmayan etkiler oluşur. Cep telefonu frekansına yakın olan mikrodalga (915-2495 MHz) cihazları hâlihazırda derin doku ısıtıcıları olarak kullanılmaktadır; bu cihazların etkilerinin sadece dokularda ısınma ile mi yoksa ısı olmayan manyetik alan etkileriyle mi ortaya çıktığı net olarak ortaya konamamıştır.⁴⁶ Hücre temelinde incelediğimizde, hücre membranında Ca ve Na-K pompaları aktive olur, reseptör ligand aktiviteleri artar, hücre faaliyetleri artar ve her basamakta hücrenin sentez ve salınım işlerinde artış olur.^{11,46,47} Bizim çalışmamızda olduğu gibi, yüksek frekans aralıklarında EMA'nın daha çok ısı etkisi ön plana çıkmaktadır. Çalışmamızda, 900 MHz EMA'ya maruz kalan grupta oluşan farkın ısıya da ısı olmayan etkilerden mi kaynaklandığı ayırımına varmak güçtür. Ayrıca bu etkinin mekanizmasının nasıl olduğunu belirtmek de güçtür; yukarıda açıklanan mekanizmalar ve ısı/ısı olmayan etkiler birlikte rol oynuyor olabilir. Bunun için hücresel boyutta moleküler çalışmalara ihti-

yaç vardır.

Sonuç olarak, 900 MHz ve 1800 MHz yüksek frekans EMA'nın deneysel sıçan kıkırdak hasarı modelinde, kıkırdak doku iyileşmesine etkilerini araştırdığımız bu çalışmada, 1800 MHz EMA'nın etkisiz olduğu, 900 MHz EMA'nın ise iyileşmeyi olumlu yönde etkilediği bulundu. Her ne kadar kullandığımız deney düzeneği ve deneysel model ile elde ettiğimiz bulgular klinik pratikte bir anlam ifade etmese de bu sonuçlar, özellikle 900 MHz frekansının tedavi amaçlı kullanılabileceğini düşündürdü. Bu konuda, etkilerin yanı sıra etki mekanizmalarının da ortaya konacağı daha ileri deneysel ve klinik çalışmalar yapılması gerektiğini ve çalışmamızın, kıkırdak dokusu hasarının iyileşmesine yüksek frekans EMA'nın etkileriyle ilgili araştırmalara ışık tutabileceğini düşünüyoruz.

Teşekkür

SDÜTF Histoloji, Patoloji, Fizyoloji, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalları'na, SDÜ Elektronik ve Haberleşme Mühendisliği Bölümü'ne ve SDÜ Araştırma Projeleri Yönetim Birimi'ne katkılarından dolayı teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- Buckwalter JA. Evaluating methods of restoring cartilaginous articular surfaces. Clin Orthop Relat Res 1999;(367 Suppl):S224-38.
- Buckwalter JA, Lohmander S. Operative treatment of osteoarthritis. Current practice and future development. J Bone Joint Surg Am 1994;76(9):1405-18.
- Reinholz GG, Lu L, Saris DB, Yaszemski MJ, O'Driscoll SW. Animal models for cartilage reconstruction. Biomaterials 2004;25(9):1511-21.
- Buckwalter JA. Articular cartilage injuries. Clin Orthop Relat Res 2002;(402):21-37.
- O'Driscoll SW. The healing and regeneration of articular cartilage. J Bone Joint Surg Am 1998;80(12):1795-812.
- Shupak NM. Therapeutic uses of pulsed magnetic-field exposure. A review. The Radio Science Bulletin 2003;307:9-32.
- Bassett CA. Fundamental and practical aspects of therapeutic uses of pulsed electromagnetic fields (PEMFs). Crit Rev Biomed Eng 1989;17(5):451-529.
- Ahlbom A, Green A, Kheifets L, Savitz D, Swerdlow A; ICNIRP (International Commission for Non-Ionizing Radiation Protection) Standing Committee on Epidemiology. Epidemiology of health effects of radiofrequency exposure. Environ Health Perspect 2004; 112(17):1741-54.
- Chalidis B, Sachinis N, Assiotis A, Maccauro G. Stimulation of bone formation and fracture healing with pulsed electromagnetic fields: biologic responses and clinical implications. Int J Immunopathol Pharmacol 2011;24(1 Suppl 2):17-20.
- Ocaktan ME, Akdur R. [Cellular phone technology and health: review]. Turkiye Klinikleri J Med Sci 2008;28(1):58-65.
- Kovacic P, Somanathan R. Electromagnetic fields: mechanism, cell signaling, other bioprocesses, toxicity, radicals, antioxidants and beneficial effects. J Recept Signal Transduct Res 2010;30(4):214-26.
- Bachl N, Ruoff G, Wessner B, Tschan H. Electromagnetic interventions in musculoskeletal disorders. Clin Sports Med 2008;27(1):87-105, viii.
- Ahlbom A, Bridges J, de Seze R, Hillert L, Juutilainen J, Mattsson MO, et al. Possible effects of electromagnetic fields (EMF) on human health—opinion of the scientific committee on emerging and newly identified health risks (SCENIHR). Toxicology 2008;246(2-3):248-50.
- Cox DR. Communication of risk: Health hazards from mobile phones. J Royal Statistical Society: Series A (Statistics in Society) 2003; 166(2):241-5.
- Ozguner F, Oktem F, Ayata A, Koyu A, Yilmaz HR. A novel antioxidant agent caffeic acid phenethyl ester prevents long-term mobile phone exposure-induced renal impairment in rat. Prognostic value of malondialdehyde, N-acetyl-beta-D-glucosaminidase and nitric oxide determination. Mol Cell Biochem 2005; 277(1-2):73-80.
- Gajsek P, Ziriak JM, Hurt WD, Walters TJ, Mason PA. Predicted SAR in Sprague-Dawley rat as a function of permittivity values. Bioelectromagnetics 2001;22(6):384-400.
- Chou CK, Chan KW, McDougall JA, Guy AW. Development of a rat head exposure system for simulating human exposure to RF fields from handheld wireless telephones. Bioelectromagnetics 1999;Suppl 4:75-92.

18. Gajsek P, Walters TJ, Hurt WD, Ziriak JM, Nelson DA, Mason PA. Empirical validation of SAR values predicted by FDTD modeling. *Bioelectromagnetics* 2002;23(1):37-48.
19. Tetik O, Doral MN, Atay AO, Leblebicioğlu G. Influence of irrigation solutions combined with colchicine and diclofenac sodium on articular cartilage in a rat model. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2004;12(5):503-9.
20. Furukawa T, Eyre DR, Koide S, Glimcher MJ. Biochemical studies on repair cartilage resurfacing experimental defects in the rabbit knee. *J Bone Joint Surg Am* 1980;62(1):79-89.
21. Bail H, Klein P, Kolbeck S, Krummrey G, Weiler A, Schmidmaier G, et al. Systemic application of growth hormone enhances the early healing phase of osteochondral defects—a preliminary study in micropigs. *Bone* 2003;32(5):457-67.
22. Pipitone N, Scott DL. Magnetic pulse treatment for knee osteoarthritis: a randomised, double-blind, placebo-controlled study. *Curr Med Res Opin* 2001;17(3):190-6.
23. Fini M, Giavaresi G, Torricelli P, Cavani F, Setti S, Canè V, et al. Pulsed electromagnetic fields reduce knee osteoarthritic lesion progression in the aged Dunkin Hartley guinea pig. *J Orthop Res* 2005;23(4):899-908.
24. Trock DH, Bollet AJ, Dyer RH Jr, Fielding LP, Miner WK, Markoll R. A double-blind trial of the clinical effects of pulsed electromagnetic fields in osteoarthritis. *J Rheumatol* 1993; 20(3):456-60.
25. Trock DH, Bollet AJ, Markoll R. The effect of pulsed electromagnetic fields in the treatment of osteoarthritis of the knee and cervical spine. Report of randomized, double blind, placebo controlled trials. *J Rheumatol* 1994;21(10): 1903-11.
26. Jacobson JI, Gorman R, Yamanashi WS, Saxena BB, Clayton L. Low-amplitude, extremely low frequency magnetic fields for the treatment of osteoarthritic knees: a double-blind clinical study. *Altern Ther Health Med* 2001;7(5):54-64, 66-9.
27. Nicolakis P, Kollmitzer J, Crevenna R, Bittner C, Erdogmus CB, Nicolakis J. Pulsed magnetic field therapy for osteoarthritis of the knee—a double-blind sham-controlled trial. *Wien Klin Wochenschr* 2002;114(15-16):678-84.
28. Detlavs I, Dombrovska L, Turauska A, Shkirmante B, Slutskii L. Experimental study of the effects of radiofrequency electromagnetic fields on animals with soft tissue wounds. *Sci Total Environ* 1996;180(1):35-42.
29. Detlavs I, Dombrovska L, Klavinsh I, Turauska A, Shkirmante B, Slutskii L. Experimental study of the effect of electromagnetic fields in the early stage of wound healing. *Bioelectrochem Bioenerg* 1994;35(1-2):13-7.
30. Mohammed Ali H, Scheller M, Hetscher M, Kohlsmann S, Kramer KD. Action of a high-frequency magnetic field on the cartilage matrix in vitro. *Bioelectrochem Bioenerg* 1995; 37(1):25-9.
31. Jahns ME, Lou E, Durdle NG, Bagnall K, Raso VJ, Cinats D, et al. The effect of pulsed electromagnetic fields on chondrocyte morphology. *Med Biol Eng Comput* 2007;45(10): 917-25.
32. Trzeciak T, Kruczyński J, Jaroszewski J, Lubiatowski P. Evaluation of cartilage reconstruction by means of autologous chondrocyte versus periosteal graft transplantation: an animal study. *Transplant Proc* 2006;38(1):305-11.
33. Dorotka R, Bindreiter U, Macfelda K, Windberger U, Nehrer S. Marrow stimulation and chondrocyte transplantation using a collagen matrix for cartilage repair. *Osteoarthritis Cartilage* 2005;13(8):655-64.
34. Vasara AI, Hyttinen MM, Pulliainen O, Lammi MJ, Jurvelin JS, Peterson L, et al. Immature porcine knee cartilage lesions show good healing with or without autologous chondrocyte transplantation. *Osteoarthritis Cartilage* 2006;14(10):1066-74.
35. Sakai A, Suzuki K, Nakamura T, Norimura T, Tsuchiya T. Effects of pulsing electromagnetic fields on cultured cartilage cells. *Int Orthop* 1991;15(4):341-6.
36. Ahmadian S, Zarchi SR, Bolouri B. Effects of extremely-low-frequency pulsed electromagnetic fields on collagen synthesis in rat skin. *Biotechnol Appl Biochem* 2006;43(Pt 2): 71-5.
37. Ieran M, Zaffuto S, Bagnacani M, Annovi M, Moratti A, Cadossi R. Effect of low frequency pulsing electromagnetic fields on skin ulcers of venous origin in humans: a double-blind study. *J Orthop Res* 1990;8(2):276-82.
38. Stiller MJ, Pak GH, Shupack JL, Thaler S, Kenny C, Jondreau L. A portable pulsed electromagnetic field (PEMF) device to enhance healing of recalcitrant venous ulcers: a double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Br J Dermatol* 1992;127(2):147-54.
39. Bobacz K, Graninger WB, Amoyo L, Smolen JS. Effect of pulsed electromagnetic fields on proteoglycan biosynthesis of articular cartilage is age dependent. *Ann Rheum Dis* 2006; 65(7):949-51.
40. McCarthy CJ, Callaghan MJ, Oldham JA. Pulsed electromagnetic energy treatment offers no clinical benefit in reducing the pain of knee osteoarthritis: a systematic review. *BMC Musculoskelet Disord* 2006;7:51.
41. Norton LA, Witt DW, Rovetti LA. Pulsed electromagnetic fields alter phenotypic expression in chondroblasts in tissue culture. *J Orthop Res* 1988;6(5):685-9.
42. De Mattei M, Pasello M, Pellati A, Stabellini G, Massari L, Gemmati D, et al. Effects of electromagnetic fields on proteoglycan metabolism of bovine articular cartilage explants. *Connect Tissue Res* 2003;44(3-4):154-9.
43. De Mattei M, Pellati A, Pasello M, Ongaro A, Setti S, Massari L, et al. Effects of physical stimulation with electromagnetic field and insulin growth factor-I treatment on proteoglycan synthesis of bovine articular cartilage. *Osteoarthritis Cartilage* 2004;12(10):793-800.
44. Wang W, Wang Z, Zhang G, Clark CC, Brighton CT. Up-regulation of chondrocyte matrix genes and products by electric fields. *Clin Orthop Relat Res* 2004;427 Suppl:S163-73.
45. Ciombor DM, Aaron RK, Wang S, Simon B. Modification of osteoarthritis by pulsed electromagnetic field—a morphological study. *Osteoarthritis Cartilage* 2003;11(6):455-62.
46. Aslan A, Aydoğan NH, Atay T, Çömlekçi S. The effects of electromagnetic field exposure at short and long term of 900 mhz frequency emitted from mobile phones on rat bone tissue. *Dicle Med J* 2011;38(4):452-7.
47. Bersani F, Marinelli F, Ognibene A, Matteucci A, Cecchi S, Santi S, et al. Intramembrane protein distribution in cell cultures is affected by 50 Hz pulsed magnetic fields. *Bioelectromagnetics* 1997;18(7):463-9.