

ZEYNETTİN KASIRGA	DİCLE ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.	DOKTORA TEZİ	DIYARBAKIR-2023
--------------------------	---	---------------------	------------------------



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIÇANLARDA OLUŞTURULAN TİBİAL DEFEKT HASARI
ÜZERİNE KUDRET NARI'NIN (MOMORDİCA CHARANTİA)
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Zeynettin KASIRGA
DOKTORA TEZİ

ANATOMİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof.Dr. Mehmet Cudi TUNCER

DİYARBAKIR - 2023



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIÇANLARDA OLUŞTURULAN TİBİAL DEFEKT HASARI
ÜZERİNE KUDRET NARI'NIN (MOMORDICA CHARANTIA)
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Zeynettin KASIRGA
DOKTORA TEZİ

ANATOMİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof.Dr. Mehmet Cudi TUNCER

DİYARBAKIR - 2023



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ONAY

Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Anatomi Anabilim Dalı Doktora öğrencisi Zeynettin KASIRGA'nın hazırladığı “**Sıçanlarda Oluşturulan Tibial Defekt Hasarı Üzerine Kudret Narı'nın (Momordica Charantia) Etkilerinin Araştırılması**” başlıklı tez Dicle Üniversitesi Lisansüstü Eğitim - Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tarih: 19/06/2023

Danışman: Prof.Dr. Mehmet Cudi TUNCER

Jüri Üyeleri

İmza

Jüri Başkanı	Prof.Dr. Mehmet Cudi TUNCER	Dicle Üniversitesi
Üye	Prof.Dr. Engin DEVECİ	Dicle Üniversitesi
Üye	Prof.Dr. Özlen KARABULUT	Dicle Üniversitesi
Üye	Prof.Dr. Murat ÖGETÜRK	Fırat Üniversitesi
Üye	Prof.Dr. Ahmet KAVAKLI	Fırat Üniversitesi

Bu tez Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/.../2023 tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

...../...../2023

Prof. Dr. Mahmut BALKAN
Dicle Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını ve tezimi Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzu standartlarına uygun bir şekilde hazırladığımı beyan ederim.

19/06/2023

Zeynettin KASIRGA

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca sabır ve samimiyetle yol gösteren, nitelikli tecrübe ve bilgilerinden istifade ettiğim saygıdeğer danışmanım Prof.Dr. Mehmet Cudi TUNCER hocama sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum. Doktora eğitimim boyunca derslerini ipe çektiğim güzel önerileri ve tecrübeleriyle rehber olan Prof.Dr. Özlen KARABULUT hocama teşekkür ederim. Bilimsel yaklaşım yeteneği ile derslerinden istifade ettiğim bilim camiasına ciddi değer katan iyi kalpli Prof.Dr. E. Savaş HATİPOĞLU, Prof.Dr. Orhan TACAR ve Prof.Dr. Sultan Ayda DEMİRANT hocama şükranlarımı sunarım. Tez çalışmamda yer alan laboratuvar çalışmaları, dokuların histopatolojik analizi ve bulgularında önemli desteği olan Histoloji-Embriyoloji Ana Bilim Dalı hocalarından Prof.Dr. Engin DEVECİ ve Dr. Öğr.Üyesi Fırat AŞIR hocama teşekkürü bir borç bilirim. Doktora sürecinde yakından tanıma fırsatı bulduğum çok kıymetli Rabia GEZER ve Dr. Öğr.Üyesi Bilal Turan hocama teşekkür ederim. Bu süreçte her konuda desteklerini esirgemeyen sevgili eşim Büşra KASIRGA, biricik çocuklarım ve güzel aileme teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez, Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (DÜBAP) Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir (Proje No: SBE.21.020)

İÇİNDEKİLER TABLOSU

BEYAN.....	I
TEŞEKKÜR.....	II
İÇİNDEKİLER TABLOSU.....	III
KISALTMALAR ve SİMGELER.....	V
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	VII
RESİMLER LİSTESİ.....	VIII
TABLolar LİSTESİ.....	IX
1. ÖZETLER.....	1
1.1. Türkçe Özet.....	1
1.2. Abstract.....	3
2. GİRİŞ ve AMAÇ.....	5
3. GENEL BİLGİLER.....	7
3.1. Kemik Doku.....	7
3.1.1. Kemik türleri.....	9
3.1.2. Kemik hücreleri.....	11
3.1.3. Kemiklerin damar ve sinirleri.....	16
3.1.3. Kemikleşme (Ossifikasyon).....	17
3.1.4. Kemik büyümesi ve yeniden şekillendirilmesi.....	19
3.1.5. Kemik dokusunun metabolik rolü.....	20
3.2. Kırık İyileşmesi.....	21
3.3. Momordica Charantia.....	22
3.4. Biyokimyasal Değerler.....	25
3.4.1. Malondialdehit (MDA).....	25
3.4.2. Miyeloperoksidaz (MPO).....	27
3.4.3. Katalaz (CAT).....	28
4. GEREÇ VE YÖNTEM.....	29
4.1. Deney Hayvanlarının Seçimi ve Kullanımı.....	29
4.2. Deney Hayvanlarına Uygulanan İnvaziv Girişim (Tibial Kemik Defekti Modeli).....	29
4.3. Deney Hayvanları Üzerinde Yapılacak İşlemler.....	30
4.4. Histopatolojik Uygulamalar.....	31
4.5. İmmunohistokimyasal Uygulamalar.....	31
4.6. Biyokimyasal Ölçümler.....	32
4.7. İstatiksel Değerlendirme.....	33
4.8. Araştırmamızda 3R İlkesinin Uygulanma Şekli.....	33
5. BULGULAR.....	34
6. TARTIŞMA.....	48
7. SONUÇ.....	59
8. KAYNAKLAR.....	60
9. ÖZGEÇMİŞ.....	75

10. EKLER.....	76
10.1. Ek-1. Etik Kurul Raporu.....	76
10.2. Ek- 2. Makale.....	77
11. ORJİNALLİK RAPORU.....	78



KISALTMALAR ve SİMGELER

MC = Momordica Charantia (Kudret Nari)

MDA = Malondialdehit

MPO = Miyeloperoksidaz

CAT = Katalaz

BMSC = Bone Marrow Stromal Cell

PDGF = Platelet-derived growth factor (Trombosit kökenli büyüme faktörü)

TGF- β = Transforming growth factor-beta

IL-1 = İnterlökin- I

IL-6 = İnterlökin-6

PGE2 = Prostaglandin E2

FGF 8 = Fibroblast Growth Factor 8

OPN = Osteopontin

ONC = Osteonectin

BMP = Bone Matrix Protein

ALP = Alkalın Fosfataz

EDTA = (Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid)

DAB = Diaminobenzidin

KCl = Potasyum klorür

H₂O₂ = Hidrojen peroksiti

ABS = Ankaferd Blood Stopper

HAM = Human Amniotic Membrane

ABS = Ankaferd Blood Stopper

TCP = Trikalsiyum fosfat

PRF = Platelet rich fibrin

PRP = Platelet rich plasma

CoCl₂ = Kobalt klorür

BMA = Kemik iliği aspiratı

LLLT= Low Level Laser Therapy

KSD = Kalsiyum sülfat dihidratın

CAPE = Kafeik asit fenetil ester

NSAIİ = Non-steroid antiinflamatuvar



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Grupların Malondialdehit (MDA) Verilerinin Grafiği.....	34
Şekil 2. Grupların Miyeloperoksidaz (MPO) Verilerinin Grafiği	35
Şekil 3. Grupların Katalaz (CAT) Verilerinin Grafiği.....	36
Şekil 4. Grupların Osteoblastik Aktivite Verilerinin Grafiği.....	38
Şekil 5. Grupların Osteoklastik Aktivite Verilerinin Grafiği.....	39
Şekil 6. Grupların Osteosit Gelişimi Verilerinin Grafiği.....	40
Şekil 7. Grupların Osteopontin (Opn) Verilerinin Grafiği.....	42
Şekil 8. Grupların Osteonektin (Onc) Verilerinin Grafiği	43

RESİMLER LİSTESİ

Resim 1. Kemik Hücreleri ve İntramembranöz Ossifikasyonda Görülen Olaylar	12
Resim 2. Kemik Hücreleri ve Kemikleşme.....	13
Resim 3. Momordica Charantia Çeşitleri.....	23
Resim 4. Momordica Charantia.....	24
Resim 5. Grupların Histopatolojik Değerlendirmesi	45
Resim 6. Grupların İmmünohistokimyasal Değerlendirmesi (Osteopontin)	46
Resim 7. Grupların İmmünohistokimyasal Olarak Değerlendirmesi (Osteonektin) ..	47



TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. Deney Grupları ve Sayıları.....	30
Tablo 2. MDA Verilerine Göre Gruplar Arasındaki Korelasyon.....	35
Tablo 3. MPO Verilerine Göre Gruplar Arasındaki Korelasyon	36
Tablo 4. CAT Verilerine Göre Gruplar Arasındaki Korelasyon	37
Tablo 5. Osteoblastik Aktivite Verilerine Göre Gruplar Arasındaki Korelasyon	38
Tablo 6. Osteoklastik Aktivite Verilerine Göre Gruplar Arasındaki Korelasyon	40
Tablo 7. Osteosit Gelişimi Verilerine Göre Gruplar Arasındaki Korelasyon	41
Tablo 8. Osteopontin (Opn) Verilerine Göre Gruplar Arasındaki Korelasyon.....	42
Tablo 9. Osteonektin (Onc) Verine Göre Gruplar Arasındaki Korelasyon	44

1. ÖZETLER

1.1. Türkçe Özet

Sıçanlarda Oluşturulan Tibial Defekt Hasarı Üzerine Kudret Narı'nın (Momordica Charantia) Etkilerinin Araştırılması

Öğrencinin Adı ve Soyadı: Zeynettin KASIRGA

Danışmanı: Prof.Dr. Mehmet Cudi TUNCER

Anabilim Dalı: Anatomi AD

Amaç: Tibial kemik defekti oluşturulan sıçanlarda kan şekeri, kan basıncı, antilipidemik, antikanserojen, antibakteriyel, antioksidan, antiinflamatuvar, yara iyileşmesi ve doku rejenerasyonu gibi pozitif regülasyonlar sağlayan Momordica Charantia'nın kemik onarımı üzerindeki histolojik ve immünohistokimyasal olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada Sprague Dawley ırkı 12 haftalık ve 250-300gr ağırlığında 32 adet erkek sıçan kullanıldı. Her grupta rastgele 8 sıçan olacak şekilde 1.Grup kontrol, 2.Grup defekt (Sham), 3.Grup defekt + Momordica Charantia (MC) grubu (14 günlük), 4.Grup defekt + MC grubu (28 günlük) olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. Sağ tibia kemiğinin gövdesinde 1 adet 6 mm çapında silindirik defektler oluşturuldu. Grup 1'de herhangi bir işlem uygulanmadı. Grup 2'de sadece tibial defekt yapıldı. Grup 3'te 14 gün ve grup 4'te 28 gün boyunca 600 mg/kg/gün MC ekstresi içme suyuna karıştırılıp oral gavaj yoluyla verildi.

Bulgular: Defekt grubunda yükselen Malondialdehit (MDA) ve Miyeloperoksidaz (MPO) düzeyleri ile düşen Katalaz (CAT) düzeyleri M. Charantia uygulanan gruplarda anlamlı bir şekilde normal düzeye regüle olduğu saptanmıştır. Grup 3 ve 4'te sham grubuna göre osteoblastik aktivite, osteosit gelişimi artarken osteoklastik aktivitenin azaldığı osteopontin, osteonektin ekspresyonunun da pozitif olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç: MC'nin uygulandığı gruplarda sham grubuna göre MDA ve CAT düzeylerini kontrol grubu düzeyine regüle ettiği için iyi bir antioksidandır. MPO düzeylerini

kontrol grubu düzeyine regüle ettiği için anti-inflamatuar özelliğine sahiptir. Ayrıca kemik onarımı üzerinde olumlu etki oluşturduğu görölmüştür.

Anahtar Sözcükler: Momordica Charantia, Tibial Defekt, Kırık İyileşmesi, Kemik Onarımı, Antioksidan



1.2. Abstract

Investigation of the Effects of Momordica charantia on Tibial Defect Injury in Rats

Student's Surname and Name: KASIRGA Zeynettin

Adviser of Thesis: TUNCER Mehmet Cudi

Department: Department of Anatomy

Aim: It was aimed to examine the histological and immunohistochemical effects of Momordica Charantia on bone repair, which provides positive regulation such as blood sugar, blood pressure, antilipidemic, anticarcinogenic, antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory, wound healing and tissue regeneration in rats with tibial bone defect.

Material and Method: In the study, 32 male Sprague Dawley rats, 12 weeks old and weighing 250-300gr, were used. 8 rats in each group randomly, 1st group control, 2nd group defect (Sham), 3rd group defect + Momordica Charantia (MC) group (14 days), 4th group defect + MC group (28 days) separated into the group. One 6 mm diameter cylindrical defects were created in the body of the right tibia bone. No action was taken in Group 1. In Group 2, only tibial defect was made. For 14 days in group 3 and 28 days in group 4, 600 mg/kg/day MC extract was mixed with drinking water and given by oral gavage.

Results: It was determined that Malondialdehyde (MDA) and Myeloperoxidase (MPO) levels that increased in the defect group and Catalase (CAT) levels that decreased in the M. Charantia applied groups were significantly regulated to normal levels. In groups 3 and 4, osteoblastic activity and osteocyte development increased, while osteopontin and osteonectin expression were found to be positive, while osteoclastic activity decreased compared to the sham group.

Conclusion: It is a good antioxidant as it regulates MDA and CAT levels to the level of the control group compared to the sham group in the MC applied groups. It has anti-inflammatory properties as it regulates MPO levels to the level of the control group. In addition, it has been observed that it has a positive effect on bone repair.

Key Words: Momordica charantia; Tibial defect; Fracture healing; Bone repair; Antioxidant



2. GİRİŞ ve AMAÇ

Kemikler vücudumuzun iskelet sistemini oluşturmaktadır. Hareket sistemimizin pasif unsurlarından olan kemikler kaslara ve organlara destek olmaktadır. Kemikler vücudumuzun önemli bir gereksinimi olan kalsiyum açısından bir depo görevi görmektedir. İçerden veya dışardan uygulanan stres sonucu kemik bütünlüğünün bozulmasına kırık adı verilir (1). Dünyada işgücü kaybının temel nedenlerinden biri olan kırığın en sık nedeni travmadır. İnsan vücudunda meydana gelen kırık iyileşmesi günümüzde insanın önemli bir sağlık problemi haline gelmiştir. Kırık iyileşmesinde ilk olarak kırık bölgesinde hematoma meydana gelir. İnflamasyon evresinin başlangıcı olan makrofajlar bu bölgeye gelir (2). Makrofajlarla birlikte trombositlerde bu bölgeye transfer olur. Kırığın iyileşmesinde kritik etkiye sahip sitokinler (PDGF, TGF- β , IL-1, IL-6 ve PGE2) salgılır. FGF 8 yeni damarların meydana gelmesi ve mezenkimal hücrelerin artışı sağlar. Kırık bölgesindeki hematoma yerine fibroblast ve mezenkimal hücreler geçer. Bu hücreler ve çevre periosttan ve bu hücrelerden hücre büyümesi/farklılaşmasını sağlayan BMP salgılanır. Mezenkimal hücreler kondrositlere daha sonra kallus kemik dokusuna dönüşerek kırıkta kallus oluşturur. Kallus dokusundan sonra onarım süreci devam ederken remodeling süreci başlar (3). Ayrıca kırık iyileşmesinin önemli bir göstergesi olan ve osteoblastik hücreler tarafından sentezlenen osteonektin (ONC) ile osteopontin (OPN), aktif yeniden şekillenme gösteren kemik dokudan fazla miktarda eksprese edilen bir glikoprotein olarak bilinmektedir. Kırık kemik tamamen eski haline gelebilir. İyileşme süreci inflamasyon, tamir ve remodelin fazlarından oluşur. Süre olarak kırık iyileşme fazları; inflamatuvar fazı (1-4. gün), onarılma/tamir fazı (2-40. gün) ve remodeling fazı (25-100. gün) sürelerini içerir (4).

Geçmişten günümüze kemik rejenerasyonu ile ilgili birçok bilimsel çalışma yapılmaktadır. Kemiğin normal onarılma süresinin azaltılması ve geliştirilmesi ile ilgili farklı stratejiler geliştirilmektedir. Yapılan çalışmalarda birden çok faktörün kemik rejenerasyonunu üzerinde etkili olduğu tespit edilmiştir. İnsan sağlığı ile ilgili problemlerin tedavisinde bitkiler ve meyveleri geçmişten günümüze kadar kullanılmış ve kullanılmaktadır. Bitkisel ürünlere talebin son zamanlarda artması hem

farmakolojik hem de analitik yöntemlerdeki ilerlemeler bu ürünlerdeki sayı artışına neden olmuştur. Bu ürünlerin kullanımına yönelik etkinliğinin belirlenmesi ve güvenli kullanılabilirliğinin sağlanması amacıyla prelinik ve klinik çalışma sayılarında artış görülmüştür (5). Latince *Momordica charantia* L. olarak adlandırılan Cucurbitaceae familyasından olan bu bitki dilimizde kudret narı, papara olarak da bilinmektedir. Türkiye’de sıklıkla Yalova, Bursa ve Ege Bölgesi’nde yetiştirildiği söylenmektedir. Yapısında glikozitler, saponinler, alkaloidler ve sabit yağlar, triterpenler, proteinler ve steroidler gibi biyolojik açıdan etkili kimyasallar vardır (6). Diabetes mellitus, inflamasyon, kabızlık, ülserler, sıtma ve kanserler gibi birçok hastalığın tedavisinde kullanılan popüler bir bitkidir (7).

Bu bilgiler ışığında bizde çalışmamızda *Momordica charantia* deneysel modelimizde kullanarak kemikte meydana getirilen defekt üzerinde koruyucu ve iyileştirici katkı sağlayacağını düşünmekteyiz. Yaygın, ucuz ve erişimi kolay olan MC kullanarak kemik onarımı üzerindeki etkilerini tespit edeceğiz. Bu çalışmada sıçanlarda oluşturulan tibial kemik defekti modelinde bitkisel kökenli MC’nin tibial defektler üzerindeki iyileştirici veya koruyucu etkilerinin histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

3. GENEL BİLGİLER

3.1. Kemik Doku

Kemik, diğer bağ dokularında olduğu gibi hücrelerden ve ekstraselüler matriksten meydana gelmektedir. Dişlerden sonra insan vücudunun en sert yapısını oluşturan kemik dokusu bağ dokusunun özel bir formudur. Diğer bağ dokularından farkı matriksindeki mineralizasyon sonucu sert bir doku oluşturmaktadır (8). Kemikler vücudun iskeletini oluşturmaktadır. Kemikler eklemler ile birlikte hareket sisteminin pasif unsurlarını meydana getirir. İnsan vücudunda bulunan kemik sayısı yeni doğanlarda 270 adet olduğu yaşın ilerlemesi ve bazı kemiklerin birleşmesiyle erişkin bir bireyde toplam 206 adet olduğu bildirilmiştir (9). Kemikler kaslara destek, origo ve insersiyon sağlar. Organları korur ve kemik iliği vasıtasıyla kan hücrelerini meydana getirir. Kemik kalsiyum, fosfat ve diğer bazı iyonların depolanmasını sağlamaktadır. Vücut için önemli bazı iyonların belirli yoğunlukta kalmasına destek olmaktadır (8,10). Kemikler yaklaşık olarak vücut ağırlığının %15'ini oluşturmaktadır. Kemikler genellikle beyaz, sarımsı renktedir. Kemikler organik ve inorganik maddelerden meydana gelmiştir. Kemiklerin %30-40'ı organik maddelerden oluşurken %60-70'i inorganik maddelerden oluşmuştur (9). Kalsiyum fosfat inorganik maddeler arasında diğerler inorganik maddelere (kalsiyum karbonat, magnezyum fosfat ve klorlu bileşikler gibi) göre fazla oranda (yaklaşık %85) bulunur (9,11). Kemiğe esnekliği organik maddeler sağlarken sertliğini ise inorganik maddeler sağlamaktadır (10,12). Kemik dokusu olgunlaşmamış (primer, lamelsiz) ve olgunlaşmış (sekonder, lamelli) kemik dokusu şeklinde incelenmektedir. Embriyolojik gelişim evresinde ve kırıkların onarımı sırasında primer kemik görülmektedir. Kemik dokusunu oluşturan osteositler osteoblastlardan gelişirler. Osteoblastlar mezenşimal kaynaklı hücrelerdir (8,9). Kemik dokusu kemik cevheri (substantia ossea) ile kemik iliğinden (medulla ossea) meydana gelir. Kemiklerin eklem katılan kısımları kırık dokusu ile örtülü iken diğer bölümleri periosteum ile örtülüdür (8,12). Periosteum, kemiğin beslenmesi ve onarılmasında görev alır (8,9). Periosteum iki tabakadan meydana gelir. Dış tabaka stratum fibrosum, iç tabaka stratum osteogenicum olarak isimlendirilir (9). Dış tabaka eklem kapsülündeki fibröz tabaka ile devamlılık gösterir. Nörovasküler açıdan zengin

olan iç tabaka kemikte enine büyümeyi meydana getirmektedir. Periost tabakasının hasarı kemik dokusunda nekroza neden olabilmektedir. Vücudumuzdaki bağlar, kaslar ve tendonları periosta bağlanarak kemikle bağlantı sağlamaktadır (9). Kemik dokusundan bir kesit alınınca dışta bulunan sağlam ve nispeten daha sert olan bölüm *substantia compacta*, iç kısımda ise *substantia spongiosa* süngerimsi bir yapı yer almaktadır. Kemik lameller kuvvet aktarımına uygun olarak iç kısımda yer almaktadır (8,9). Kompakt kemik ağırlığının %30 kadarı matriksten oluşurken %70 kadarı ise tuzlardan oluşmaktadır (11). Uzun kemiklerde *cavum medullare*, diğer kemiklerde ise *spongios* dokunun bulunduğu bölgede kan yapımında görevli kemik iliği yer almaktadır (9). Bu bölgelerdeki doku kırmızı renkte olduğundan *medulla ossium rubra* (kırmızı kemik iliği) ismi verilmektedir (8). Yaşamın ilerleyen dönemlerinde bu alanlar yağ doku ile dolar ve sarımtırak bir renge dönüşür. Bu yapı ise *medulla ossium flava* (sarı kemik iliği) olarak isimlendirilir. Ancak bazı kemiklerde (*sternum*, *os ilium* ve *vertebra* gibi) sürekli kırmızı kemik iliği yer almaktadır. Kemik iliği incelemelerinde genelde bu kemikler tercih edilmektedir (8,9,12). Uzun kemiklerin uç kısımlarına *epiphysis* (epifiz) gövde veya cisim olarak ifade edilen orta kısmına ise *diaphysis* (diafiz) adı verilmektedir. Epifiz daha yumuşak ve canlı dokudan, diafiz kısmı ise sert olan kompakt dokudan meydana gelmiştir (8,12). Kompakt kısım mikroskopik düzeyde incelendiği zaman içinde Havers kanalı olarak adlandırılan birçok ince kanalcık yer alır. Bu kanallarda damarlar kapiller şeklinde görülürken çok az miktarda yağ ve ilik yer alabilmektedir. Havers kanalları sadece kompakt kemikte yer almaktadır (9). Çoğu kemiğin dış kısımda bulunan birbirinden farklı büyüklükte foramenler (delikler) bulunmaktadır. Bu delikler kemiğin iç kısımlarına (kemik iliği ya da *substantia spongiosa*) doğru uzanırlar. *Foramina nutricia* denilen bu delikler (tekil şekli) kemik dokusu içine doğru girer. Bu kanallar *foramen nutricium* olarak isimlendirilmektedir. Kemiklerin beslenmesini sağlayan nörovasküler yapılar bu kanal içerisinde bulunmaktadır. Bu kanallar epifiz bölümünde dik olarak seyrederken diafiz bölümünde büyüme farklılığından eğik bir açıyla kemik dokusu içerisinde seyredebilmektedir (8,9). Kemikler üzerindeki kas ve tendonların tutunma yerleri ile basınç etkisinin görüldüğü eklem yüzlerinde kuvvet çizgileri (trajektörler) görülür (12). Periost'un altında yer alan osteoblastlar yeni kemik dokusu meydana getirirken yanında yer alan osteoklastlar eski olan kemik dokusunu yıkar. Osteoklastlar yeni

oluşacak hücreler için yeni alanlar açıp kemiklerin kuvvetlenmesine ve kalınlaşmasına destek olmaktadır. Diafiz ve epifiz arasında yer alan kıkırdak yapı (synchondrosis epiphyseos) kemik metabolizmasının en yüksek olduğu ve canlı olan bölgeyi oluşturmaktadır. Diafizin epifize komşu olan ve kemiklerin uzunlamasına büyümesini sağlayan kısma metaphysis (metafiz) adı verilir. Cinsiyet hormonları bu bölgedeki aktiviteyi azaltmaktadır (9,12). Kemikler, kemik matriksi, osteositler, osteoblastlar ve osteoklastlardan oluşan özel bir bağ dokusudur. Osteositler matriks içindeki lakunalarda yer alan kemik hücreleridir. Osteoblastlar matriksin organik kısımlarının sentezini yapan kemik büyümesinden sorumlu hücrelerini oluşturmaktadır. Osteoklastlar çok çekirdekli dev hücreler şeklinde olan bu hücreler kemik yıkımı ve yeniden şekillenmede görevli hücrelerdir. Bütün kemiklerin iç yüzeylerde endosteum dış yüzeylerinde ise periost tabakası bulunmaktadır. Bu tabakalar kemik yapım ve onarımını sağlamaktadır (8,10,11). Kemik dokusunda eksternal olarak etki eden kuvvetler, basınç, çekme ve itme etkileri kemik dokusunun şekillenmesinde etkilidir (9).

3.1.1. Kemik türleri

Kemik kesitlerine izlendiğinde kemik dokusunun dış kısmı sert ve boşluk bulunmayan yoğun alanlar kompakt kemik olarak adlandırılır. Çok sayıda birbiri ile bağlantılı boşlukların olduğu iç kısma süngerimsi kemik adı verilmektedir (12). Uzun kemikler epifiz denilen uç kısımlardan ve diafiz denilen gövde kısmından oluşmaktadır. Epifiz kısmı şişkin ince kompakt kemik tabakası kaplı süngerimsi kemikten meydana gelmektedir. Diafiz silindirik kısmı kemik iliği boşluğuna bakan iç yüzeylerinde az miktarda süngerimsi kemik bulunan kompakt kemikten meydana gelmiştir (9,10). Kısa kemikler genelde çevresi kompakt kemik ile sarılmış içi süngerimsi kemikten oluşmaktadır. iki kompakt kemik tabakası arasında bulunan süngerimsi kemik tabakasının oluşturduğu diploë adı verilen kafatası kemikleri bulunmaktadır (12). Kemik mikroskopik olarak incelendiğinde birincil (olgunlaşmamış veya örgü) ve ikincil (yetişkin veya lamelli) olarak 2 tür kemik izlenmektedir. Birincil kemik, gelişen embriyoda, kırık iyileşmesi ve diğer onarım safhalarında ilk önce meydana gelen kemik dokudur. İkincil kemikte düzgün lameller

şeklinde düzenlenmiş kolajenin aksine birincil kemikte dağınık yerleşime sahip ince kolajen lifler bulunmaktadır (10).

3.1.1.1. Birincil kemik dokusu

Geçici bir kemik dokusudur. Yerini ikincil kemik dokusuna bırakır. Yetişkinlerde vücutta sadece birkaç yerde (dış yuvaları ve bazı tendonların kemikteki yerleşim yerleri gibi) görülür. Kolajen lifler bu dokuda düzensiz sıralanmıştır. İkincil kemiğe göre daha az mineral içerir. Bundan dolayı röntgen ışınların daha çok geçirir. Osteosit sayısı ikincil kemiğe göre daha fazla oranda bulunmaktadır (10).

3.1.1.2. İkincil kemik dokusu

Genellikle yetişkinlerde yer alan kemik dokusudur. Lamellerdeki kolajen lifler birbirlerine paralel ya da bir damar kanalı çevresinde dairesel şekilde düzenli dizilim gösterir. Kan damarlarını gevşek bağ dokusunu ve sinirleri içeren bir kanalın etrafını saran dairesel kemik lamellerinin oluşturduğu bu komplekse havers sistemi ya da osteon ismi verilir. Osteosit içeren lakunalar, lamellerin arasında ve nadiren içlerinde bulunur. Her lamelde kolajen lifler birbirlerine paraleldir. Kompakt kemik lamelleri, havers sistemi, dış dairesel lameller, iç dairesel lameller ve interstisyel (ara) lameller şeklinde bir düzen sergilemektedir. İç dairesel lameller kemik iliği boşluğunun etrafında yerleşim gösterirken dış dairesel lameller ise periostun hemen altında yerleşim gösterirler. Dış lamel sayısı iç lamel sayısından fazladır (10). İki dairesel lamel arasında, pek çok Havers sistemi, üçgenimsi veya düzensiz şekillenmiş paralel lamellerden meydana gelen ara lameller bulunmaktadır. Kemik büyüme ve yeniden modellenme sürecinde, yıkılan Havers sistem lamellerinden arta kalan lamellere ara lameller (interstisyel) adı verilmektedir (8). Her havers sistemi diyaforin uzun eksenine paralel, uzun, sık dallanan bir silindirdir. Havers sistemi 4-20 dairesel lamel ile sarılı merkezi bir kanaldan meydana gelmektedir. Endosteum ile örtülü her kanalda, kan damarları, sinirler ve gevşek bağ dokusu bulunmaktadır (10). Havers kanalları kemik iliği boşluğu, periost ve kendi aralarındaki enine veya çapraz Volkman kanalları

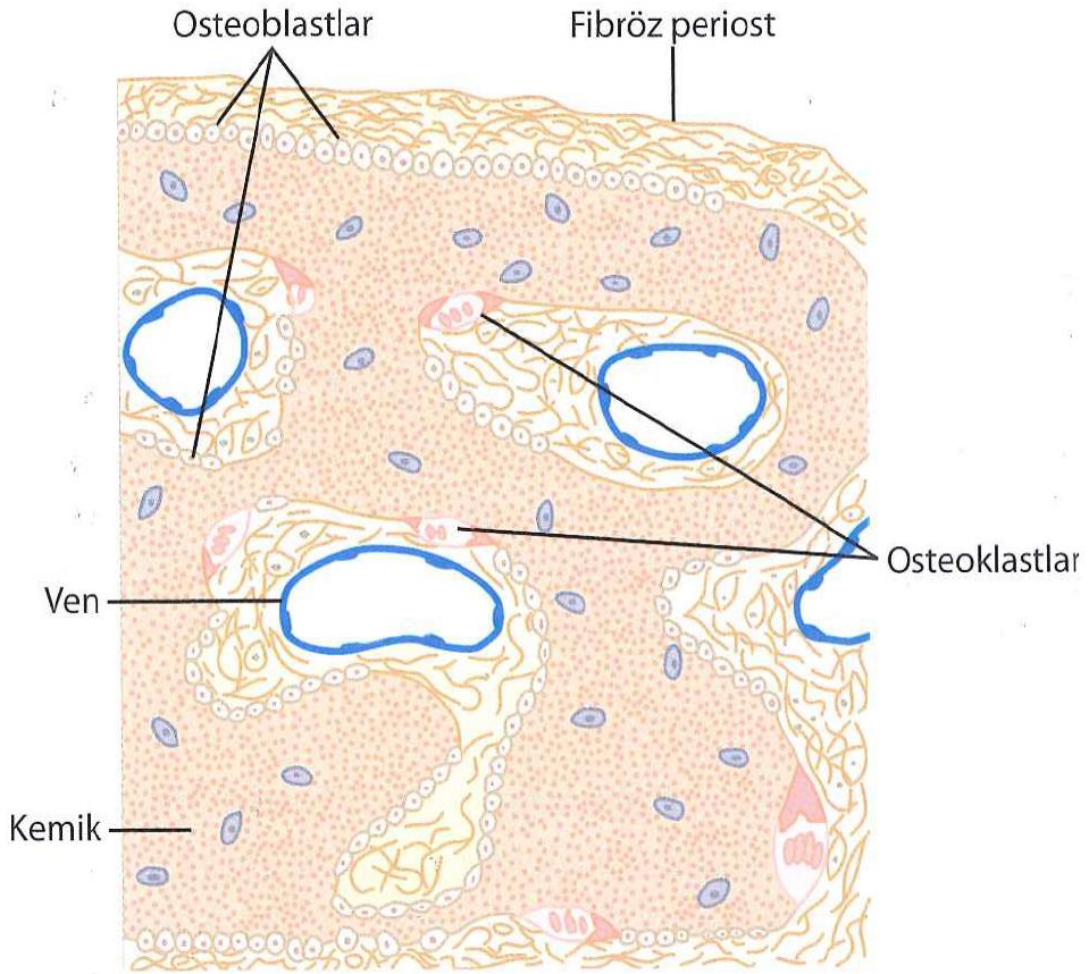
vasıtasıyla bağlantılı durumdadır. Volkman kanalları lamelleri deler. Kan damarları etrafında oluşan matriks damar kanallarını meydana getirir (8,9). Yeniden şekillenen kemik dokudaki havers kanal çapları farklılık gösterebilmektedir. Her sistem, çeperden içeriye doğru lamellerin ardı ardına tortulanmasıyla oluşur, bu durumda yeni oluşmaya başlamış sistemlerin kanalları diğerlerinden geniştir. Yetişkindeki havers sisteminde yeni meydana gelen lamel eski lamele göre merkezdeki kanla daha yakın konumdadır (8,10).

3.1.2. Kemik hücreleri

3.1.2.1. Osteoblastlar

Osteoblastlar kemiklerin dış yüzeyinde ve kemik boşluklarında bulunur. Tüm yaşayan kemiklerde az da olsa sürekli bir osteoblastik etkinlik görülür (11). Kemik matriksinin organik parçasının yapımından sorumlu hücrelerdir (10,11). Bu organik yapılar tip I kolajen, proteoglikanlar ve glikoproteinlerdir. Bu hücreler kemiğin inorganik kısımlarının çökebilmesi için gereklidir (10). Kemikte yer alan proteinin %90'ını meydana getiren Tip I kollajen ve mineralize olmamış kemiği veya osteoid meydana getiren kemik matriks proteinlerinin (bone matrix protein (BMP)) oluşmasını sağlamaktadır. Kemik matriks proteinleri arasında; kalsiyum bağlayan proteinler (osteokalsin ve osteonektin), kemik siyaloproteinleri I ve II, çoklu yapışkan glikoproteinler (osteopontin ve trombospondin), proteoglikanlar ve bunların kümeleri, alkalın fosfataz (ALP) bulunmaktadır. Klinik açıdan osteoblastik aktivitesinin belirlenmesinde ALP ve osteokalsinin dolaşımdaki miktarları kullanılmaktadır (8). Osteoblastlar kemik yüzeylerinde tek katlı epitele benzer şekilde sıralanırlar. Aktif osteoblastların şekilleri kübikten, prizmatığe kadar değişkenlik gösterebilir. Ayrıca bu dönemde sitoplazmaları bazofilik özellikte görülür. İşlevleri azalan osteoblastların şekli yassılaşır ve sitoplazmalarındaki bazofilik özellikte azalır. Yeni oluşan matriks ile sarılan bazı osteoblastlar osteosit haline gelirler. Bu sırada kovuk (lakuna) denilen boşluklar meydana gelir. Lakunalarda osteosit, osteosit uzantıları ve az miktarda kireçlenmemiş hücre dışı matriks yer alır. Kemik matriksi ile osteoblastlar arasında osteoid olarak adlandırılan yeni (ancak henüz kireçlenmemiş) matriks tabakasını

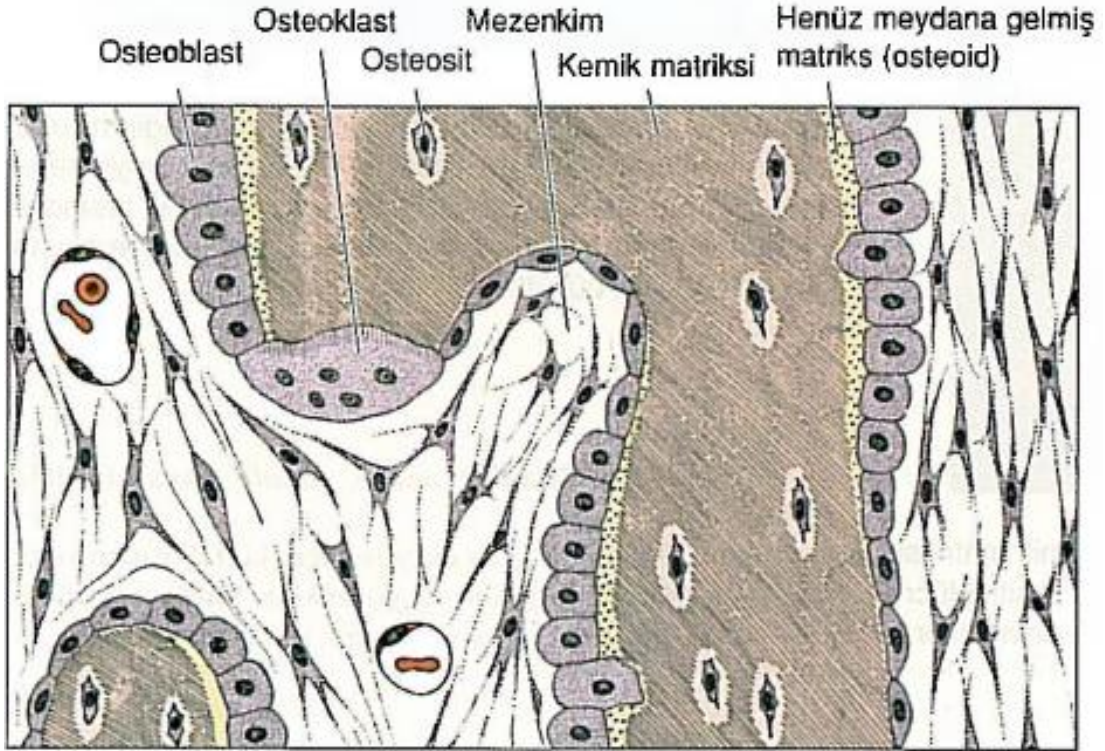
meydana getirirler. Bu tabaka üzerine kalsiyum tuzlarının tortulanmasıyla kemik appozisyonu tamamlanmış olur. Aktif çalışmayan sessiz osteoblastların (kemik matriksi sentezlemeyen osteoblastlar) şekli yassılaşır. Aktif olanlar ise kübik veya prizmatik şekle dönüşebilir (10). Osteoblastlar hücreleri hapseden kıyı şeridine benzer bir matriks oluşturarak kolajen sentezler. Bu oluşurken osteoblastlar giderek farklılaşıp osteosit haline gelir (8,10).



Resim 1. Kemik hücreleri ve intramembranöz ossifikasyonda görülen olaylar (10).

3.1.2.2. Osteositler

Osteoblastlardan meydana gelen osteositler matriks lamelleri arasındaki lakunalarda yer alırlar. Uzun ömürlü hücreler olarak bilinirler. Her lakunada bir osteosit bulunmaktadır. İnce ve silindirik olan matriks kanalcıklarında osteosit uzantıları yer alır. Komşu hücrelerin bu uzantıları arasındaki bağlantılar (gap junction), osteositler arasındaki teması sayesinde moleküllerin bir hücreden diğer hücreye geçişini sağlar. Yassı ve badem şeklinde olan osteositlerin granüllü endoplazma retinakulumu ve golgi aygıtı osteoblastlara göre azalmış ve nucleus kromatini daha koyu renkte görülmektedir. Kemik matriksinin bakımını yapan bu hücreler ömrünü tamamladıktan sonra matrikste erimeler görülür (10).



Resim 2. Kemik hücreleri ve kemikleşme (10).

3.1.2.3. Osteoklastlar

Osteoklastlar kemik hücresinde yıkımı sağlayan büyük hücrelerdir (8,10,11,13,14). Osteoklastlar, monosit/makrofaj hematopoetik soyundan türetilen, kemik matriksine yapışmaktadır (13,15). Daha sonra asit ve litik enzimler salgılayarak kemik matriksini hücre dışı özel bir bölmede parçalayan kemik rejenerasyonunda önemli görevleri olan hücrelerdir (15). Bu hücreler dallanma özelliğine ve hareket kabiliyetine sahiptir. Hücre gövdesinde birden fazla çekirdeğe sahip bu hücreler Howship kovuğu (kemiğin eritilerek emildiği bölgeler) denilen çukurcuklarda yerleşim göstermektedir (8,10,11). Kemik iliğinden meydana gelen mononükleer hücrelerin birleşmesiyle meydana gelirler (10). Kemik yıkımı osteoklastlara yakın kemik kısımda meydana gelir (8,11). Aktif osteoklastlarda kemik matriksine bakan yüzey düzgün değildir. Aktif osteoklastlar bir uzantının yeni alt uzantılar meydana getirerek düzensiz katlantılar şeklinde kıvrımlandığı kırmalı bir kenarı oluştururlar. Kırmalı kenar hücre organeli içermeyen aktin filamanlarından zengin bir sitoplazma kuşağı (saydam kuşak) tarafından çevrelenir. Kemik matriksi ve ona tutunan osteoklastların arasındaki mikro çevreyi oluşturur. Burası kemik erimesinin gerçekleştiği bölgedir. Osteoklastlar mikro çevreye kolajenaz ve diğer enzimleri salgılayıp, protonları pompalayarak bölgedeki kolajen sindirimini ve kalsiyum tuz kristallerinin eritilerek emilmesini başlatır. İşlevleri sitokinler ve hormonların kontrolündedir (10). Tiroitten salgılanan kalsitonin hormonunun osteoklastlar için reseptörleri vardır. Kalsitonin osteoklast aktivitesini azaltır (11). Osteoklastlarda paratiroid hormonu reseptörleri bulunmazken osteoblastlarda bu reseptörler yer alır. Paratiroid hormonu salgısı osteoblastların sitokin üretimini sağlar ve böylece sitokinler osteoklast aktivitesini uyarır. Kırmalı kenarlar osteoklast aktivitesi ile ilişkilidir. Golgide paketlenen lizozomal enzimler ve oluşturulan hidrojen iyonları, kemik matriksi ile saydam kuşak arasındaki yer alan mikro ortam içerisine bırakılır. Böylece kalsiyum fosfatın kemikten ayrılması ve lizozomal ve hidrolazların aktivitesi için uygun PH ortamı sağlanmış olur. Eritilen emilen kemik ürünleri osteoklastların sitoplazmasına aktarılıp daha fazla sindirilerek kan kapillerine aktarılır (10).

Özetle osteoklastların kemik yıkımı şöyle ifade edilebilir. Osteoklastlar villus benzeri çıkıntılarını kemiğe uzatırlar. Daha sonra bu villuslarda osteoklast hücrelerine

ait lizozomlardan salgılanan proteolitik enzimler salgılanır. Ayrıca bu villuslardan laktik asit ile sitrik asidin de yer aldığı salgı veziküllerinden birtakım asitler salınmaktadır. Enzimler, kemiğin organik matriksini sindirilip eritilmesinde görevlidir. Asitler ise kemik tuzlarını eritilmesinde görev almaktadır. kemik matriksi ve kristallerinin küçük parçalarını fagosite edip eriterek meydana gelen ürünleri kana verirler (11). Kemikte fazla salgılanması kemiği daha çok rezorbe etmesiyle osteoporoz ve osteopetroz gibi kemik hastalıklarına neden olur (13,16). Kemik kaybını iyileştirmek için sıklıkla terapötik müdahalelerin hedefidirler (17). Patolojik koşullar altında kemik rezorpsiyonunun yanı sıra kemik homeostazında merkezi bir rol oynadığı bildirilmektedir (16). Kemik mikro çevresindeki tümör hücreleri, kemik rezorpsiyonunda görevli çok çekirdekli hücreler olarak adlandırılan osteoklastları harekete geçirerek kısır bir kemik yıkımı döngüsüne neden olabilir (18).

3.1.2.4. Kemik Matriksi

Kemik dokusunun ara maddesi olan kemik matriksi ağırlığının %50'sini inorganik maddeler meydana getirir (10). Kemik matriksinde daha çok kalsiyum ve fosfor bulunurken az oranda bikarbonat, sitrat, magnezyum, potasyum ve sodyum gibi inorganik maddeler de yer almaktadır (9). Matriksin organik maddesi tip I kolajen ve proteoglikan kümeleri ve birkaç özel yapısal glikoproteini içermektedir. Matriksteki kemik kalsifikasyonunun uyarılmasından kemik glikoproteinlerinin sorumlu olduğu düşünülmektedir. Tip I kolajen içeren diğer dokular normalde kireçlenmezler. Ayrıca Tip I kolajen içeren dokular bu glikoproteinleri de içermezler. Kemikteki kolajen içeriği çok yüksektir. Kalsiyumu uzaklaştırılmış kemik matriksi, kolajen boyalarını yoğun bir şekilde tutmaktadır (10). Osteopontin (OPN), normal kemik iyileşmesi için iki hayati süreç olan hem anjiyogenez hem de osteoklastik kemiğin yeniden şekillenmesinde düzenleyici rol oynadığı bildirilen bir hücre dışı matris proteindir. OPN'nin iyileşmenin erken evrelerinde anjiyogenez, kallus oluşumu ve mekanik gücün düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığını ve geç evre kemik yeniden şekillenmesini ve hücre dışı matris organizasyonunu kolaylaştırdığı bildirilmiştir (19). Magnezyum osteogenezin önemli biyobelirteci olan OPN ekspresyonunu arttırdığı bildirilmektedir (20). Osteonektin mineralizasyonda önemli düzenleyici role sahip

kalsiyum dağılımını düzenlemede rol oynadığı düşünülen bir matris proteindir. Matris ile ilişkili mineralizasyon bölgesinde büyük miktarda osteonektin bulunur. Osteonektinin, büyüme kıkırdığının her bölgesindeki kondrositlerin bir ürünü olduğu, ancak yalnızca mineralizasyon bölgesinde biriktiği bildirilmiştir. Osteonektinin kalsiyum için yüksek afinitesi, kalsifiye edici matriste tutulmasını desteklediği bildirilmektedir (21).

3.1.2.5. Periost ve Endosteum

Kemik dokusunun dışını örten periost ve iç kısmını döşeyen endosteum kemiğin beslenmesi ve sürekli yeni osteoblast üretilerek, kemik büyüme ve onarımının sağlanmasında görevlidirler (9,10). Periost kolajen lifler ve fibroblastlardan oluşan kemiğin dış yüzeyinde yer alan kemiğin onarılmasını sağlayan dış tabakadır. Bu tabakanın kolajen lif demetlerinin meydana getirdiği Sharpey lifleri Matriks içine girerek kemik matriksi ile periost arasında sıkı bağlantı sağlar. Periostun iç tabakası fibroblastlara benzeyen, bölünüp farklılaşarak osteoblastları oluşturan osteoprogenitor hücrelerden oluşmaktadır. Osteoprogenitor hücreler kemik büyümesinde ve onarımında görev alırlar. Endosteum kemiğin iç kısmındaki bütün boşlukları örterler. Tek tabakalı yassılaşmış osteoprogenitor ve çok az miktardaki bağ dokusundan meydana gelmiştir (10).

3.1.3. Kemiklerin damar ve sinirleri

Periostal arterler kemiğin birçok yerinden kemiğin kompakt kısmını beslemektedir. A. nutricia spongiöz kısım ve kemik iliğini besler. Metafizial ve epifizial arterler ise kemiğin uç kısımlarının beslenmesinde görevlidir. Arterlere birlikte seyreden venler eklem yüzleri civarında kemikten çıkar. Kırmızı kemik iliği bulunan kemiklerde fazla sayıda büyük ven yer almaktadır. Periostta çok sayıda lenf damarı yer almaktadır. Periostta ağrı duyusu ile ilgili birçok reseptör bulunmaktadır (9). Sinirler damarları takip eder. Periosteum ağrı duyusunu alan çok sayıda reseptöre sahiptir. Ancak diğer dokularda az sayıda yer almaktadır. Periost reseptörleri yırtılma

ve gerilmeye bağlı olarak ağrı duyusunun meydana gelmesinde etkili bir yapıdır. Damarların etrafında bulunan vasomotor sinirler kemikle ilgi kan akımı regölasyonunu sağlar (12).

3.1.3. Kemikleşme (Ossifikasyon)

İntramembranöz ve intrakartilaginöz olarak iki kısımda incelenmektedir (8).

3.1.3.1. İntramembranöz kemikleşme (bağ dokusu kaynaklı kemikleşme)

Zar içinde kemikleşme olarak ifade edilir. Osteoblastların ürettikleri matrikse direkt minerallerin çökmesiyle oluşmaktadır. Mezenkim dokusunun yoğun olduğu bölgelerde görölmektedir (10). Embriyoda yer alan mezenşimal bağ dokusunun direkt kemik dokusu formuna dönüşmesidir. Burada bağ doku kıkırdak dokusuna dönüşmeden, direkt kemikleşmektedir. Burada mezenkimal hücreler osteoblastlara farklılaşarak kemik doku oluşumu sağlanır (8,10). Bu kemikleşme işlemi bazı hücrelerin osteoblasta farklılaşması ile başlar. Osteoblastik aktivite ile kemik matriksi yapılıır ve bunu kireçlenme takip eder. Kolajen lifçiklerinin üzerine kalsiyum tuzlarının çökmesi sonucu kireçlenme meydana gelir. Kemikleşme bölgelerinde yer alan osteoblastların ürettiği alkali fosfataz kireçlenmeye yardım etmektedir. Burada yer alan bazı osteoblastların kireçlenmiş matriks ile kuşatılmasıyla osteosit meydana gelir (10). Clavicula ve yassı kafa kemikleri İntramembranöz kemikleşmeye örnek olarak gösterilebilir (8,12). Ayrıca intramembranöz histogenez periost (membran) dokusunun aktivitesi ile meydana gelmektedir (8). Birincil kemikleşme merkezi mezenkim dokusunun yoğun olduğu ve kemikleşmenin meydana geldiği kısımdır. Meydana gelen bu kemik adacıkları kılcal kan damarları, kemik iliği hücreleri ve farklılaşmamış hücreleri bulunduran uzun boşlukların duvarlarını oluşturur. Kemikleşme merkezinde bu tür birkaç grup neredeyse aynı zamanda oluşur. Oluşan bu grupların duvarları birleştiiğinde kemikte süngerimsi bir yapı meydana gelir. Büyüyen kan damarları ile farklılaşma göstermeyen mezenkim hücreleri, kemik duvarları arasında kalan bağ dokusu içine girerek kemik iliği hücrelerini oluşturur. Işınsal olarak büyüyen kemikleşme merkezleri birleşerek orijinal bağ dokusunun yerini alır. Yeni doğan

bebeklerin bingıldakları (fontanelleri) daha kemikleşmemiş bağ dokusunun olduğu bölgeler için örnek gösterilebilir. Kafatasının üst kısmını meydana getiren düz kemiklerin iç ve dış yüzeylerinde kemik yapımı kemik yıkımına göre daha baskındır bundan dolayı iç ve dış yüzeyleri orta kısımlarına göre daha kompakt iken orta kısmı süngerimsi özellikte olur. Bu tür kemikler diploë kemikler olarak adlandırılır. Bağ dokusu tabakasının kemikleşmeyen bölümleri içte ve dışta endosteum'u ve periostu oluşturur (10).

3.1.3.2. İntrakartilaginöz kemikleşme (kıkırdak dokusu kaynaklı kemikleşme)

Kısa ve uzun kemiklerde görülen bu kemikleşme türü küçük bir hiyalin kıkırdak model içinde oluşur (10). Bağ dokusu kıkırdak doku yapısına dönüştükten sonra kıkırdak dokusunun yıkılarak yerine kemik dokusunun meydana geldiği kemikleşme formudur. Chondrocranium kemikleri bu yolla oluşmaktadır. Enkondral ve perikondral olarak iki şekilde incelenmektedir (8,10).

a) Enkondral kemikleşme: Kısa kemiklerde meydana gelen bu kemikleşme kemiğin iç kısımlarından başlayıp diğer kısımlarına yayılım gösterir (9).

b) Perikondral kemikleşme: Uzun kemiklerde meydana gelen bu kemikleşme kemiğin dış kısmından başlayıp diğer kısımlarına yayılım gösterir (12).

İntrakartilaginöz kemikleşme sırasıyla aşağıdaki şekilde meydana gelmektedir.

- Kıkırdak modelin orta kısmını saran içi boş bir kemik silindiri ilk kemik dokusu şeklinde ortaya çıkar. Buna kemik yakası adı verilir.
- Bu kısımdaki perikondriumdaki zar içinde kemikleşme oluşur.
- Kıkırdakta hücre büyümesi (hipertrofi) ve matriks kireçlenmesi ile seyreden programlanmış hücre ölümleri ile yıkım süreci başlar.
- Kireçlenmiş kıkırdak matriksinden meydana gelen 3 boyutlu bir yapı oluşur.
- Osteoprogenitör hücreler osteoklastların kemik yakasında meydana getirdiği açıklıktan bölgeye getirilir.
- Osteoblastlar kireçlenmiş kemik matriksine tutunur ve kıkırdak matriksinden kalan kısımların çevresinde kesintisiz birincil kemik tabakalarını oluştururlar.
- Kireçlenmiş kıkırdak bazofilik görünürken birincil kemik ise eozinofiliktir. Böylece birincil kemikleşme merkezi ortaya çıkar.

- İkincil kemikleşme merkezleri kıkırdak modelin epifiz kısımlarında ortaya çıkar.
- İkincil kemikleşme merkezlerinin genişlemesi ve yeniden biçimlenmesi sırasında, birincil ve ikincil kemikleşme merkezleri zamanla boşluklar meydana getirir. Bu boşluklar kemik iliği ile dolar.
- İkincil kemikleşme merkezlerinde iki bölgede kıkırdak doku varlığını devam ettirir. Yaşam boyu mevcut bulunan ve boy uzamasında etkili olmayan kemiklerin birbiri üzerinde aşınmasını önleyecek olan eklem kıkırdağı ve epifizlerin diyafizle birleşim yerinde yer alan epifiz plağı olarak da adlandırılan ve boy uzamasına katkısı olan epifiz kıkırdağı şeklinde bulunmaktadır (8,10).

Bu iki tip ossifikasyonun varlığı mevcut kemiğin membran kemik ya da endokondral kemik olacağı anlamına gelmemektedir. Burada kemiğin ilk oluşum mekanizmasının tanımlanması ifade edilmektedir. Mevcut kemikte sonradan oluşabilecek yeniden şekillenme sonucu endokondral ya da intramembranöz oluşumla mevcut kemik dokusu yerine yeni kemik doku geçişi sağlanmaktadır. Her iki durumda da özdeş olarak yeni meydana gelen kemik doku mevcut kemik dokusunun üzerine appozisyonel büyüme sonucu oluşmaktadır. Endokondral kemikleşme ile meydana gelen uzun kemikler büyürken hem endokondral hem de intramembranöz kemikleşme şeklinde gelişim göstermektedir (8). Bu 2 yoldan da meydana gelen kemik geçici bir doku olan birincil veya örgü kemiktir. Bu geçici kemik kısa bir süre zarfında lameller veya ikincil kemikle yer değiştirmektedir. Kemiğin büyümesi sırasında birincil kemik, rezorpsiyon bölgeleri ile ikincil kemik alanları birlikte izlenir (10).

3.1.4. Kemik büyümesi ve yeniden şekillendirilmesi

Kemik, vücudun hareketi, organların korunması, hematopoez ve mineral homeostazisi için önemli bir organdır. Bu işlevleri yaşam boyunca sürdürülebilmesi için kemik dokusu tekrar eden osteoklastik kemik rezorpsiyonu ve osteoblastik kemik oluşumu döngüsü gerekmektedir (13). Daha önce meydana getirilmiş dokunun yıkılırken aynı zamanda yeni kemik dokusu ile doldurulması kemik büyümesi ve gelişimini gösterir. Kemik büyümesi esnasında şeklinin korunması bu şekilde sağlanır.

Çocuklarda yetişkinlere nazaran yeniden şekillenme yaklaşık olarak 200 kat kadar daha hızlı meydana gelmektedir. Kemğin birçok yerinde yeniden şekillenme eş zamanlı olarak gerçekleşmektedir. Kafatası kemiklerindeki büyüme kemikler arasındaki eklemlerde ve dış yüzlerindeki periost ile meydana gelmektedir. Ayrıca iç yüzlerinde kemik erimesi meydana gelir. Kemik üretiminin yapıldığı ve yıkıldığı yeniden şekillendirme insan yaşamında sürekli devam eder ama bu remodeling hızı yaş ilerledikçe azalır (10). Gelişimsel osteogenez, fizyolojik kemik yeniden şekillenmesi ve kırık iyileşmesi, matris ve hücresel artıkların uzaklaştırılmasını gerektirir. Dolaşımdaki monositlerin füzyonu tarafından üretilen osteoklastlar hücre artıklarının uzaklaştırılmasında görevlidir. Fazla salgılanması kemik mimarisini bozar ve kemğin zayıflanmasına neden olur (22). Yapısal ve fonksiyonel açıdan sağlıklı ve güçlü bir kemik için osteoklastik kemik rezorpsiyonu ve osteoblastik kemik oluşumu arasındaki denge kemik sağlığı açısından önem arz etmektedir. Kemğin mikro mimarisini etkileyen bu dengenin sağlanamaması durumunda kemikler zayıflayabilir. Zayıflayan kemikler daha kırılgan hale gelir. Bazen kemikler çok sağlıklı olmalarına rağmen travma sonucu da kırılabilir. Ayrıca osteoblast aktivitesine göre artan osteoklast aktivitesi kırılgan ve zayıf olan osteoporotik kemik oluşumuna neden olabilmektedir (23).

3.1.5. Kemik dokusunun metabolik rolü

Vücudumuzda yer alan kalsiyumun %99'u iskeletimizde bulunmaktadır. Kan dokusu ve kemik dokusu arasında bazı hormonların etkisiyle kalsiyum transferi yapılmaktadır. Kan ve kemik kalsiyum yoğunluğu belli bir denge içerisinde gerçekleşmektedir (8,10). Kemik üzerinde etkili iki hormon (paratiroid ve kalsitonin) bulunmaktadır. Paratiroid hormonu kemik yıkımını kalsitonin hormonu ise kemik yapımını artırmaktadır. Paratiroid hormonu kemiklerden kana kalsiyum geçişini artırır. Öncelikli olarak osteoblast reseptörlerini etkileyerek osteoblastik aktiviteyi durdurur. Böylece osteoklast uyarıcı faktör salgılanarak osteoklastik aktivite başlar. Kalsitonin hormonu ise paratiroid hormonunun antagonisti olarak görev görmektedir. Dokulardaki ve kandaki kalsiyum yoğunluğunun belli bir düzeyde tutulması

gerekmektedir. Beslenmeye bağı kalsiyumun yeterli miktarda temin edilmemesi sonucu kemiklerden kana kalsiyum geçişi meydana gelir. Bu da kemiklerin daha kırılgan hale gelmesine neden olur. Ayrıca bu kemikler röntgen ışınlarını daha fazla geçirirler. Paratiroid hormonunun aşırı miktarda üretilmesine hiperparatiroidizm adı verilmektedir. Hiperparatiroidizm sonucu kemikte osteoklastik aktivite sonucu kalsiyum kemik dokusundan kana geçer. Kandaki aşırı kalsiyum bazı organ ve damarlarında (böbreklerde ve arter duvarları vb.) kalsiyum çökmesine neden olur (10,11). Paratiroid hormonunun az salgılanmasına hipoparatiroidizm adı verilmektedir. Hipoparatiroidizm sonucu kemikte osteoklastik aktivite düşer kandan kemik dokusuna kalsiyum geçişi artar (11). Böylece kemiklerin aşırı büyümesi, kalınlaşması ve sertleşmesi sonucu osteopetrosis meydana gelir. Zamanla kemik içerisinde bulunan boşluklar yok olur. Kemik iliği boşluklarının yok olması sonucu kan hücreleri yapımını sağlayan hücrelerin aktivitesi baskılanacaktır. Böylece kan yapımının yetersiz olması kişide kansızlık ve hatta ölüme sebebiyet verecek inflamasyonlara neden olabilmektedir (8,10,11). Hipofizin ön lobundan salgılanan büyüme hormonu epifiz plağı üzerinden büyümeyi etkiler. Eksikliği cüceliğe, fazlalığı aşırı büyümeye (devliğe) sebep olur (11). Yetişkinlerde epifiz kıkırdağının kapanması sonucu kemiklerde boyuna uzama yerine enine kalınlaşma görülmektedir. Yetişkinlerde bu hormonun fazla salgılanması sonucu akromegali hastalığı meydana gelir. Cinsiyet hormonları, erkeklerde (androjenler) dişilerde (östrojenler) genel olarak kemik yapımını uyarıcı yönde etkiler ve epifizlerin kapanmalarını hızlandırır. Çocuklardaki tiroid hormonun yeterli miktarda salgılanmaması sonucu kretinizm görülür. Bu problem cüceliğe neden olur (10,11).

3.2. Kırık İyileşmesi

Kırık kemikte kemiğin matriksi yıkılır ve kırığa yakın olan kemik dokusunu oluşturan hücreler ölür. Ayrıca bu bölgede kan damarları hasarı meydana gelir. Bu hasar sonucu bölgesel kanamalar olur ve bu kanamalar sonucu kan pıhtısı meydana gelmektedir. Kemiğin iyileşmesi esnasında bu yapılar hasarlı matriks, kan pıhtısı ve hasar gören hücreler makrofajlar tarafından ortamdan uzaklaştırılır. Kırığın çevresinde yer alan endosteum ve periost bu bölgede hızlı ve yoğun hücre çoğalmasını sağlar.

Böylece kırığı saran bir doku oluşturup kırığın uçları arasına doğru yer değiştirirler. Endokondral ve zar içinde kemikleşme sonucu birincil kemik oluşur. Oluşan birincil kemik dokusu geçici olarak kırık uçları birleştirerek kallus dokusunu meydana getirirler. Hareket sonucu bu dokuyu etkileyen kuvvetler kallus dokusunun yeniden şekillendirilmesinde etkilidir. Kemiğe kırık öncesi etkiye benzer kuvvetlere maruz kalırsa kallus dokusu kademeli bir şekilde yıkılır. Bu süreçte yıkılan birincil kemik dokusu ortamdan uzaklaştırılırken yerine ikincil kemik dokusu oluşturulup kemik yeniden şekillendirildikten sonra ilk yapısına kavuşmuş olur (8,10). Kırık iyileşmesi yaş ve kemik kalitesi gibi biyolojik faktörlerden etkilenebilmektedir. Yaşlanma sırasında, inflamasyon süreçlerinin aktivasyonuna ve dolaşımdaki inflamatuvar sitokin seviyelerindeki değişikliklere bağlı olarak bir hasar birikimi vardır. Bu da onarım sürecindeki fizyolojik yavaşlamaya neden olabilmektedir. Kemik kalitesi, kırılabilirlik, kırık riski ve kırık iyileşme sürecinin tümü beslenme ile ilişkilidir (24). Yeterli vaskülarizasyon, kemik gelişimi, büyümesi, homeostaz ve onarım için gereklidir. Fetal iskelet oluşumu sırasında endokondral ossifikasyon, kendisi özünde avasküler olan gelecekteki kemiğin önceden şekillendirilmiş bir kırıkta şablonunun ilk oluşumu ile karakterize edilir. Kondrositler, terminal hipertrofik farklılaşmaya ulaştığında, kan damarları tarafından istila edilirler. Bu neovaskülarizasyon süreci, her biri vasküler sistemle fonksiyonel etkileşim içinde duran kondrositlerin, osteoblastların ve osteoklastların koordineli aktivitesini içeren karmaşık çok aşamalı bir süreçte, büyüyen kırıkta kemiğin kemik tarafından ilerleyici yer değiştirmesini tetikler. Kemik yeniden şekillenmesi, kemik yıkımını sağlayan osteoklastların ve yeni kemik meydana getiren osteoblastların dengeli aktiviteleriyle kemiğin sürekli yenilenmesi, vasküler sistemle yakın ilişki içerisinde meydana gelmektedir. Ayrıca bu şekillenme sinyalleri, oksijene ve kan dolaşımı yoluyla hücresel dağıtıma bağlıdır (25).

3.3. Momordica Charantia

Sebze olarak birçok ülkede yetiştirilen ve halk sağlığı için geleneksel yöntemler arasında tercih edilen daha çok tropikal bölgelere özgü çiçekli bir asmadır (26–28).



Resim 3. Momordica Charantia Çeşitleri

(Erişim: <https://ru.lakpura.com/pages/momordica-charantia-1> /Erişim tarihi: 06.06.2023)

Momordica charantia Cucurbitaceae (kabakgiller) familyasına ait olup tadı acı olduğu için acı kabak şeklinde isimlendirilmektedir (26,29). Otsu, dallı asma 5 m'ye kadar büyüebilmektedir (28). Bitkinin kök kısmı dört katmanlı damar demetlerine sahiptir. Gövde kesiti incelendiğinde beş köşeli sırt ve oluklara sahip olduğu görülür. Gövdeden alınan enine bir kesit incelendiğinde merkezde üç büyük demet ile altı tane sırtların altında olacak şekilde dokuz açık bikollateral fibrovasküler demet olduğu görülür. Yaprak orta damarı, epidermisin alt kısmında yaprak sapı olmayan birkaç çift ve dar aralıklı küresel sistoliktiler ile karakterize edilir. Yaprak sapı konfigürasyonu, üzerinde yedi fibrovasküler demetin bir halka halinde düzenlendiği sekizgen şeklindedir. Gövde ve yaprak, çok hücreli, tek damarlı trikomlara sahiptir. Yaprak sapının hem küt hem de sivri uçlu benzer trikomlara sahip olduğu, koni şeklinde bir küt ucu vardır (30). Ortalama 4-12 cm çapında basit, alternatif yapraklar taşır. Uzun saplı yaprakları ve yaprak koltuklarında taşınan sarı renkli erkek ve dişi çiçekler taşırlar. Meyve genel olarak oval, elipsoid veya iğ şeklinde, genellikle çıkıntılı veya siğilli, etli kapsül şeklinde düzensiz bir görünüme sahiptir. Meyveler çeşitli şekil ve farklı boyutlarda olabilmektedir. Olgunlukta meyve, geriye doğru kıvrılan ve kırmızı arillerle (aromatik halka) kaplı çok sayıda kahverengi veya beyaz tohumu serbest bırakan üç düzensiz valfe bölünür. Meyveler bazen açılmaz. Meyvenin iç boşluğu büyük yassı tohumlar ve öz ile doldurulmuş ve bu boşluğu çevreleyen nispeten ince bir et tabakası ile enine kesiti oyuktur. Genç meyve zümrüt yeşili olup olgunlaştığında turuncu-sarıya döner. Olgunlaşmamış meyvelerde tohumlar ve özler beyaz görünür, kırmızı renge dönüşünce olgunlaşır. Tohumlar dışındaki etli iç kısım salatalık, kabağa benzer şekilde gevrek ve sulu bir dokuya sahiptir (28).



Resim 4. Momordica Charantia

(Erişim: <https://www.elele.com.tr/saglik/kudret-nari-nedir-faydalari-nelerdir-nasil-yenilir> / Erişim tarihi: 06.06.2023)

Gıda maddesi ve tedavi amacıyla kullanılmaktadır (31). Matür meyvelerinde morodicine isimli alkaloid içerdiğinden acı tat meydana gelmektedir. Bu yüzden mutfakta daha çok immatür çiğ meyveler pişirilerek veya kızartılarak tüketilmektedir. Çin yemeklerinde momordica charantia acı tadı için genel olarak patates kızartmasında, çorbalarda ve ayrıca çay olarak tüketilmektedir (26). Gıda maddesi olarak farklı bitki ve meyvelerle farklı formlarda kullanılabilir. Bazen yemeklere acı bir tat ve aroma vermesi için kullanılabilir (31). Tek yıllık ve yazlık bir bitki olan Momordica charantia kudret narı olarak ifade edilir (27). Momordica charantia karbonhidrat, yağ ve protein kaynağı açısından önemli bir gıda deposudur. Ayrıca kalsiyum, magnezyum, potasyum, fosfor, demir gibi mineraller ve vitaminler açısından zengin bir kaynak olarak bilinmektedir (29,32). Bitkinin her bölümünden faydalanılmaktadır. İmmatür meyveler ve yaprakları sebze olarak kullanılmaktadır. Matür meyveleri, tohumları ve tohumların çevresindeki yapılardan elde edilen preparatlar tıbbi tedaviye yardımcı olmak için kullanılabilir (27). Bu bitkinin meyveleri ve yapraklarında alkaloidler, saponinler, glikozitler, triterpenler, proteinler, sabit yağlar ve steroidler gibi biyolojik olarak aktif fitokimyasallar içerir (26,29,32). Bitkide yer alan önemli tıbbi etken maddeleri birçok araştırmada

kullanılmıştır. Bunlardan bazıları hipoglisemik, anti-hiperglisemik, trigliserit düşürücü, antiülser, antioksidan, antibiyotik, hipokolestrolemik, antiinflamatuvar, antidiyabetik, antikanserojen, antivirüs, antibakteriyel, böcek öldürücü, antimutagenik, immünostimülan, antitümör, antimikrobiyal, antifertility, antihelmintik analjezik, antipiretik, antimalaryal şekilde sıralanabilir (26,27,29,31). Bu bitkinin meyve ve tohumlarından konsantre ekstraktları elde edilip kullanıldığı gibi bitkinin tüm bölümlerinden elde edilebilen kapsül, tablet ve toz formu bulunmaktadır. Bu bitkinin halk sağlığında tıbbi olarak uzun bir kullanım geçmişi vardır. Günümüzde birçok ülkede profilaktik veya terapötik ajanlar olarak daha yaygın kullanım alanlarını arttırmaktadır (26). Ülkemizde yara iyileşmesi ve gastrointestinal problemler gibi kullanılmakta ve kullanım alanları yaygınlaşmaktadır (27).

3.4. Biyokimyasal Değerler

3.4.1. Malondialdehit (MDA)

Malondialdehit (MDA) üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunun son ürünlerinden biridir. MDA üç karbonlu bir dialdehittir (33,34). MDA lipid peroksidasyonunun başlıca toksik ürünü olduğu bildirilmiştir (35). Oksidatif stres lipid peroksidasyonu (LP) ile sonuçlanır (34). Lipid peroksidasyonu, biyolojik membranlarda serbest radikallerin neden olduğu ve fonksiyon kaybı ile hücre ölümlerine yol açan zincirleme bir reaksiyon sürecidir (36). Lipidler reaktif oksijen ürünlerinin zararlı etkilerine oldukça duyarlıdır. Hücre zarında yer alan üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin serbest oksijen radikalleri ile yüksek oranda tepkimeye girmektedir. Bunun sonucunda lipid peroksidasyonu meydana gelmektedir. Lipid peroksidasyonu esnasında biyolojik yapılarda tespiti kolay olan ve peroksidatif hasarın belirteci olan MDA oluşur (37). Lipid peroksidasyonu membran lipidlerinin yıkımına neden olmakla beraber lipid peroksitleri ve aldehitler gibi yan ürünleri de oluşturmaktadır (34). Aynı zamanda hidrojen peroksit zardaki doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonunu başlatarak MDA artışına neden olabilmektedir. MDA artışı serbest oksijen radikallerin etkisiyle lipid peroksidasyonu artışını göstermektedir (34,36). Çoklu doymamış yağ asitlerinin

parçalanması sonucu açığa çıkan MDA düzeyi lipid peroksitlerin durumu ve düzeyi hakkında bir ipucu olarak kullanılabilir. Hücre membranından kolay bir şekilde geçebilen MDA hücredeki protein sentezini, enzimatik reaksiyonları ve DNA yapısını da olumsuz etkilediği söylenmektedir (34). MDA fosfolipitleri çapraz bağlayarak membran polimerizasyonu, iyon transportu ve enzim aktivitesi ile ilgili problemler oluşturur. Hücre membran dayanıklılığı, geçirgenlik, membran potansiyeli ile ilgili olumsuzluklar meydana gelir (34,36). Hücre içinde aşırı kalsiyum birikmesi sonucu hücre hasarı ve ölümleri görülebilmektedir (36). Meydana gelen LP'nin hücre bütünlüğünde meydana getirdiği olumsuzluklar sonucu hücre hasarı ve ölümleri oluşmaktadır. Serbest radikallerin hücreye vereceği zararları önlemek için endojen enzimler başlangıçta artış göstermektedir. Ancak daha sonra enzimlerin azalması ve yetersiz kalması sonucu oksidatif hücre hasarı oluşmaktadır (34). Oksidatif stres lipid peroksidasyonu sonucu hücre onarımına zarar verdiğini bildirilmektedir. Bu zararın ancak oksidan-antioksidan sistemdeki bazı bozuklukların giderilmesiyle çözülebileceği düşünülmektedir (38). Oksidatif stres ile mücadelede bir çok fitokimyasal ürünün koruyucu etkilerinin olduğunu bildiren çalışmalar vardır (39,40). Özşahin ve arkadaşlarının 2011 yılında yaptığı bir çalışmada kayısı ve üzüm ekstraktlarındaki polifenolik bileşiklerin eritrositlerde meydana gelen lipid peroksidazı engellediğini tespit etmişlerdir (40). Başka bir çalışmada ratların bağırsağında oluşturulan oksidatif hasar sonrası ve β -karotenin koruyucu etki gösterdiği tespit edilmiştir. Bunu da MDA seviyelerinde azalma ile antioksidan enzim düzeylerindeki artışla bildirmişlerdir (39). Normalde tüm dokularda az miktarda da olsa lipid peroksidasyonu görülmektedir. Meydana gelen bu lipid peroksidasyonu antioksidan sistemler tarafından kontrol edilmektedir. Şayet bu kontrol sağlanmazsa membran lipidlerinin bozulmasına yol açarak oksidatif hasar meydana gelir (40). İskemi modeli oluşturulan bir deneysel modelde oksidatif stres meydana geldiği için MDA düzeyinde önemli artışların olduğu ancak bazı antioksidan kullanımı sonrasında bu değerlerin kontrol grubu seviyelerine geldiği bildirilmektedir (41).

3.4.2. Miyeloperoksidaz (MPO)

Miyeloperoksidaz (MPO) ise oksidatif strese yanıt olarak lökositler (nötrofiller vb.) tarafından depolanıp üretilen lizozomal bir enzimdir (42,43). Birçok akut ve kronik inflamatuvar hastalıkla ilgili hemoproteindir (43). MPO, ateroskleroz, astım, artrit ve kanser gibi birçok hastalığın patogeneğinde etkili olduğu bildirilmektedir. MPO nötrofillerin granüllerinde bulunan ve kofaktör olarak glikolizlenmiş hem grubu içeren bir enzimdir (44). Hem içeren protein olan MPO, iltihaplanma bölgelerinde uyarılmış polimorfonükleer lökositlerden salınır (45). Hem enzimi MPO, hidrojen peroksit ve klorürün hipokloröz aside dönüşümünü katalize eder. Hipokloröz asit mikroorganizmalar üzerine parçalayıcı etkiden sorumludur (44,45). MPO güçlü oksidanların oluşumunda katalizör görevi görerek çeşitli oksidanların üretimini sağlamaktadır (43,44). Hipokloröz asit, nötrofiller tarafından üretilen başlıca güçlü oksidandır. Hipokloröz asit gibi oksidanlar çeşitli hücre fonksiyonlarına müdahale eder ve doku hasarına neden olduğu söylenmektedir (43,45). Ayrıca MPO, çeşitli inflamatuvar hastalıklarda doku hasarında lokal bir inflamasyon aracı olabileceği bildirilmiştir (46). Son yıllarda kritik bir inflamasyon modülatörü olarak karşımıza çıkmaktadır. İnflamasyon durumunda MPO düzeyinde belirli artışların olduğu söylenmektedir (43). Artan MPO aktivitesi nitrik oksit inaktivasyonu artışına, bunun sonucunda nitrik oksitin vazodilatör ve antiinflamatuvar etkilerinin azalması ile öncelikle vasküler patolojiler ve birçok patolojik olayda etkisinin olabildiği bildirilmiştir (42). Bazı antiinflamatuvar ilaçların MPO aktivitesini inhibe edebildiği ve bu inhibisyonun onların antiinflamatuvar etkisini açıklayabildiği bildirilmiştir (45). Bir çalışmada melatoninin güçlü bir MPO inhibitörü olarak hizmet ettiği bildirilmektedir (44). Koroner arter tutulumu ile ilgili yapılan bir çalışmada MPO enzim yüksekliği, troponin T ve KK-MB belirteçler gibi komplikasyon riski hakkında bilgi verebileceği bildirilmiştir. Ayrıca plazma MPO enzim yüksekliği aterosklerotik plakın instabilitesi ile ilgili bir belirteç olabileceğini bildirilmektedir (47). Başka bir çalışmada üç *Hypericum* türünün insandaki antiinflamatuvar aktivitesinin, MPO inhibisyonu ile ilişkili olabileceği belirtilmektedir (45). Tıbbi bir bitki olarak kullanılan çakşır otu ve tarla atkuyruğu bitkilerinden elde edilen preparatlar in vitro olarak MPO düzeylerini düşürdüğü bildirilmektedir (48).

3.4.3. Katalaz (CAT)

İnsan vücudu karmaşık bir oksidan ve antioksidan sistem etkisi altında canlılığını sürdürür. Oksidan sistem dokulara zarar veren serbest radikaller meydana getirirken antioksidan sistem ise bunların zararlı etkilerine karşı savunma meydana getirirler. Katalaz vücudumuzdaki önemli antioksidanlarından biridir. Oksidan sistemden meydana gelen serbest radikallerin hücrede birikmesi oksidatif stres oluşturarak dokuların zarar görmesine ve lipid peroksidasyonuna neden olabilmektedir (49,50). Katalaz demir içeren ve birçok dokuda peroksizomlarda yer alan bir enzimdir (50,51). Katalaz hidrojen peroksiti (H_2O_2) oksijen ve suya dönüştürerek dokunun zarar görmesini önlemektedir (52). Serbest radikaller ve lipid peroksidasyonu hastalıkların meydana gelmesinde etkili olabildiği söylenmektedir. Buna karşın antioksidanlar lipid peroksidasyonunu azaltarak dokunun korunmasını sağlamaktadır (36,51). Katalaz, serbest radikallerin birleşmesini ve lipid peroksidasyonunun önlenmesini sağlamaktadır. Katalazın aktif çalışması hidroksil radikalının meydana gelmesini önlemektedir (36). Antioksidan enzimlerin hücredeki artış ve azalışını serbest radikaller ve oksidatif stres etkilemektedir. Hücrede serbest radikaller arttığı zaman savunma olarak homeostaziyi sağlamak için antioksidan enzim düzeyleri de yükselmektedir (50,51). Katalaz hidrojen peroksit yoğunluğuna göre artış ve azalış göstermektedir. Hidrojen peroksit yüksek konsantrasyonlarda hücre için çok zararlı olduğu söylenmektedir. Katalaz saniyede milyonlarca hidrojen peroksiti parçalayabildiği bildirilmektedir (50).

4. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız için gerekli literatür taraması yapılmıştır. Araştırmanın yapılabilmesi için gerekli izinler ve etik kurul alınmıştır. Araştırmamız için Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğünden maddi destek alınmıştır.

4.1. Deney Hayvanlarının Seçimi ve Kullanımı

Araştırmada kullanılacak deney hayvanları DÜSAM tarafından temin edildi. Sprague Dawley ırkı 32 adet erkek sıçan çalışmada kullanıldı. Sıçanların yaş aralığı 12 Hafta ve 250-300gr ağırlığında olacak şekilde belirlendi. Prosedürlerin tümü DÜSAM deney hayvanları ünitesinde gerçekleştirildi.

4.2. Deney Hayvanlarına Uygulanan İnvaziv Girişim (Tibial Kemik Defekti Modeli)

Deneyde yapılacak invaziv girişim anestezi altında yapıldı. Anestezi derinliğinin takibi her 2-3 dakikada bir cilt veya parmak kıstırma yanıtları ile takip edildi. Deney prosedürü başlamadan önce işlem uygulanacak tüm deney hayvanlarına 90 mg/kg intramusküler ketamin hidroklorür (*Ketalar; Pfizer, İstanbul, Türkiye*) ve 8 mg/kg xylazin (*Rompun; Bayer, İstanbul, Turkey*) genel anestezi yapıldı. Operasyon bölgesi olarak belirlenen sağ proksimal tibial kemiğin gövde bölümündeki tüyler tıraş edildi. Cerrahi saha merkezden periferik doğru povidonyodin (*Biokadin® , Biokan, İstanbul, Türkiye*) antiseptik bir solüsyonla temizlendi. Yapılan horizontal insizyon sonrası mukoperiosteal tam kalınlıktaki flep nazikçe eleve edildi. Tibial kemiğinin gövde bölgesinde, lateralden yaklaşılarak, her hayvanın sağ tibiasında 1 adet 5 mm derinliğinde ve 6 mm çapında silindirik defektler oluşturuldu. Tüm eş boyutlu defektler bu amaç için tasarlanmış tek bir boyuttaki trefan frez ile açıldı.

4.3. Deney Hayvanları Üzerinde Yapılacak İşlemler

Deney prosedürü başlamadan önce işlem uygulanacak tüm deney hayvanlarına 90 mg/kg intramusküler ketamin hidroklorür (*Ketalar; Pfizer, İstanbul, Türkiye*) ve 8 mg/kg xylazin (*Rompun; Bayer, İstanbul, Turkey*) genel anestezi yapıldı. Ratlar her grupta 8 rat olmak üzere rastgele seçilerek 4 gruba ayrıldı. Gruplara aşağıdaki prosedürler uygulandı. Tüm işlemler sağ proksimal tibial kemiğe uygulandı. Hayvanların beslenmeleri ad libitum (yem ve suya sınırsız erişim) olarak verildi.

Tablo 1. Deney Grupları ve Sayıları

Deney ve Kontrol Grupları		Hayvan Sayısı
1. Grup	Kontrol grubu	8
2. Grup	Defekt (Sham) grubu	8
3. Grup	Defekt + MC grubu (14 günlük)	8
4. Grup	Defekt + MC grubu (28 günlük)	8

1.Grup: Tibial kemiğe herhangi bir işlem uygulanmadı. Bu grup kontrol grubu olarak değerlendirildi. Hayvanların su ve yeme erişimi sınırsız olarak verildi.

2.Grup: Bu grup defekt (Sham) grubu olarak değerlendirildi. Bu gruptaki hayvanların tibial kemiklerine 6 mm çapında silindirik defekt oluşturulup başka işlem yapılmadı. Hayvanların su ve yeme erişimi sınırsız olarak verildi.

3.Grup: Defekt + MC grubu (14 günlük) olarak değerlendirildi. Bu gruptaki hayvanlara 6 mm çapında silindirik defekt oluşturulup daha sonra 14 gün boyunca sıçanlara 600 mg/kg/gün MC ekstresi içme suyuna karıştırılıp oral gavaj yoluyla verildi.

4.Grup: Defekt + MC grubu (28 günlük) olarak değerlendirildi. Bu gruptaki hayvanlara 6 mm çapında silindirik defekt oluşturulup daha sonra 28 gün boyunca 600 mg/kg/gün MC ekstresi içme suyuna karıştırılıp oral gavaj yoluyla verildi.

Deneyde kullanılan ratlar 28. günün sonunda sakrifiye edilip sağ tibialar alındı.

4.4. Histopatolojik Uygulamalar

Tibial doku örnekleri %10'luk nötral buffered formalin solüsyonuna alınarak rutin parafin doku takibi uygulandı. Fiksasyon (24 saat) işleminden sonra dokular dekalsifikasyon işlemi için %10 formik asit solüsyonunda kemik dokular yumuşayana kadar bekletildi. Daha sonra yıkama (1 gece), artan alkol serileri (%50, %70, %80, %90, %96 ve absolü etil alkol) ve şeffaflaştırma (ksilende 3x30 dakika) işlemlerinin ardından 58°C' de parafin infiltrasyonuna alındı. Daha sonra dokular parafin bloklara gömülerek ve mikrotom (*katalog no: Leica RM2265, Wetzlar, Germany*) yardımıyla bloklardan Hematoksilen- Eozin ve immünohistokimyasal boyamalar için 4-6 µm kalınlığında kesitler alındı. Hematoksilen-Eozin Boyama için parafin bloklardan alınan tibial doku kesitleri 37°C'ye ayarlanmış benmariye alındı. Lam üzerinde fazla parafini eritmek için kesitler 58-62°C etüvde 6 saat boyunca bekletildi. Kesitler 3x15 dakika ksilende deparafinize edildi. Kesitler azalan alkol serilerinden (%100, %96, %90, %70, %50 etil alkol) 10'ar dakika geçirilerek ve distile suya getirilerek 5 dakika bekletildi. Harris Hematoksilen boyasında 8 dakika bekletildikten sonra kesitler akar su altında 5 dakika yıkandı. Kesitler durulandıktan sonra alkolik eozin boyasında 6 dakika bekletildi. Kesitler artan alkol serilerine (%80, %90, %96 etil alkol serilerinden geçirilerek) hızlıca daldırılarak ve absolü alkolde 2 dakika bekletildi. Son olarak kesitler 3x15 dakika ksilende bekletilerek ve doku üzerine Entellan damlatılarak lamelle kapatıldı.

4.5. İmmünohistokimyasal Uygulamalar

İmmünohistokimyasal boyama için parafin bloklardan alınan kesitler 37°C' ye ayarlanmış benmaride açılması bekletildi ve sonra polilizinli lamlara alındı. Lam üzerinde fazla parafini eritmek için kesitler 58-62°C etüvde 6 saat boyunca bekletildi. Kesitler 3x15 dakika ksilende deparafinize edildi. Kesitler azalan alkol serilerinden (%100, %96, %90, %70, %50 etil alkol) 10'ar dakika geçirilerek ve distile suya getirilerek 5 dakika bekletildi. Kesitler fosfat tampon solüsyonunda (PBS) 3x5 dakika yıkama işlemi yapıldı. Kesitler EDTA buffer solüsyonuna (*pH:8.0, katalog no: ab93680, Abcam, Cambridge, USA*) alındı ve ısı-indüklü epitope retrieval işlemi gerçekleştirildi. 20

dakika oda sıcaklığına bırakılan kesitler tekrar PBS'e alındı. Kesitler immunohistokimya barına dizilerek, barın nemliliğini ve sıcaklığı kontrol edildi. Kesitlere %3 hidrojen peroksit solüsyonu (*katalog no: TA-015-HP, ThermoFischer, Fremont, CA, USA*) damlatılıp 20 dakika inkübe edildi. Ardından PBS ile 3X5 dakika yıkama yapıp, Ultra V Block solüsyonunda (*Block (katalog no: TA-015-UB, ThermoFischer, Fremont, CA, USA)*) 7 dakika bekletildi. Kesitler, osteopontin (*katalog no: 14-9096-82, ThermoFischer, Fremont, CA, USA*) ve osteonektin (SPARC) (*katalog no: PA5-78178, ThermoFischer, Fremont, CA, USA*) antikorları ile bir gece +4°C'de overnight edildi. Ertesi gün kesitler oda sıcaklığına bırakılarak 30-60 dakika bekletildi. PBS ile yıkanan kesitlerin üzerine biotinli sekonder antikor (*katalog no: TP-015-BN, ThermoFischer, Fremont, CA, USA*) damlatılıp 14 dakika kadar inkübe edildi. Daha sonra streptavidin-peroxidase (*katalog no: TS-015-HR, ThermoFischer, Fremont, CA, USA*) damlatılıp 15 dakika beklendikten sonra PBS ile yıkama yapıldı. Yıkanan kesitlerin üzerine Diaminobenzidin (DAB) (*katalog no: TA-001-HCX, ThermoFischer, Fremont, CA, USA*) damlatılıp reaksiyon mikroskop altında izlenip PBS ile durduruldu. Harris hematoksilin ile zıt boyama yapıldıktan sonra kesitler entellan (*katalog no: 107961, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, United States*) ile kapatılıp, Zeiss Imager A2 fotomikroskopunda değerlendirilip görüntülendi. Osteoblast, osteosit, osteoklast, osteopontin (OPN) ve osteonectin (ONC) gibi sayısal değişiklikler ayrıntılı olarak kaydedildi. Elde edilen histopatolojik ve immünohistokimyasal değişikliklerin yoğunluğu 0'dan 4'e kadar 0= değişiklik yok, 1= çok az, 2= az, 3= orta ve 4= fazla olacak şekilde literatüre uygun olarak derecelendirildi (53,54).

4.6. Biyokimyasal Ölçümler

Oksidatif stresin bir göstergesi olan malondialdehit (MDA) üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunun son ürünlerinden biridir. Üç karbonlu bir dialdehittir (33,34). *Momordica charantia*'nın antioksidan aktivitesinin belirlenmesi için MDA düzeyleri yol gösterici bir parametre olarak kullanıldı. MDA düzeylerinin belirlenmesi için doku örnekleri çok soğuk 150 mM potasyum klorür (KCl) ile homojenize edildi. Lipid peroksidasyon belirteci olan MDA düzeyleri nmol/g olarak

ifade edilirken dokulardaki inflamatuvar hastalıkla ilgili bir hemoprotein olan miyeloperoksidaz (MPO) ise U/g olarak ifade edildi. Ölçümler literatürle benzer bir prosedür ile yapıldı (55,56). Katalaz (CAT) vücudumuzdaki önemli antioksidanlarından biridir. Katalaz hidrojen peroksiti (H_2O_2) oksijen ve suya dönüştürerek dokunun zarar görmesini önlemektedir (52). Katalaz Aebi metodu referans alınarak çalışıldı. Katalaz düzeyleri $\mu\text{mol/g}$ olarak ifade edildi (57).

4.7. İstatiksel Değerlendirme

İstatiksel analizler için IBM SPSS Statistics 23.0 (IBM Inc, Chicago, IL, USA) bilgisayar programı ile yapıldı. İki ya da ikiden daha fazla bağımsız grubun ortalamalarını karşılaştırmak için tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA) testi kullanıldı. Grupların homojenliği Levene testiyle incelendi. Grupların normal dağılması ve homojen olması durumunda gruplar arasındaki farklılıkların analizi için Post-hoc testlerden Tukey HSD kullanıldı. Verilerin tanımlayıcı istatistiklerinde ortalama, standart sapma, medyan en düşük, en yüksek değerler kullanılmıştır. Tüm testlerde $P < 0.05$ hata istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4.8. Araştırmamızda 3R İlkesinin Uygulanma Şekli

Replacement: Deney hayvanı yerine daha basit bir canlı veya alternatif bir yöntem kullanımı mümkün gözükmemektedir. Çünkü çalışmamızda hedeflediğimiz tibial defekt modelini gözlemlemek için canlı bir dokuda çalışılması elzemdir.

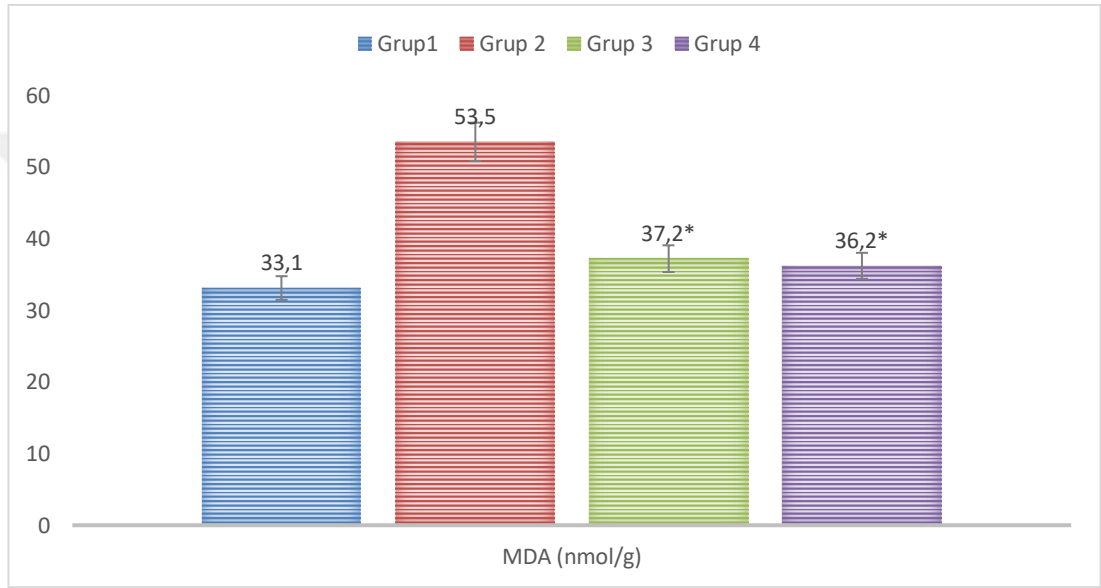
Reduction: Grupların her birinden en az 7 veri almak istatistiksel olarak yeterlidir. Ancak beklenmeyen hayvan kayıpları ve deneye uyumsuzluk hesaba katıldığında asgari veri ihtiyacının altına düşmemek için her gruptan 8 hayvan ile deneylere başlanması planlanmıştır.

Refinement: Çalışmadaki prosedürler tecrübeli, sertifika sahibi kişiler tarafından yapıldı. Hayvanların refahı ve kaybının önlenmesi için, hayvanlar yem ve su kısıtlaması olmadan barındırılacak, günlük gözleme dayalı takipleri yapılmıştır.

5. BULGULAR

Çalışmamızdaki deneklerden alınan verilerin analizi sonucunda elde edilen bulgular grafik, tablo ve resimlerden yararlanılarak aşağıdaki gibi hazırlanmıştır.

Defekt grubunda artan MDA düzeyleri MC uygulanan gruplarda anlamlı bir şekilde düştüğü ve kontrol grubu düzeyine yaklaştığı görülmektedir (Şekil 1.)



Şekil 2. Grupların Malondialdehit (MDA) Verilerinin Grafiği

Gruplardan elde edilen MDA verilerine göre grup 2'nin diğer gruplar ile arasında pozitif yönlü bir korelasyon olduğu gözlenmektedir. Böylece grup 2 MDA ortalama değerlerinin grup 1, grup 3 ve grup 4'te elde edilen verilere göre anlamlı bir şekilde fazla olduğu tespit edilmiştir ($r=20,396$; $r=16,322$; $r=17,268$; $F=33,644$ $p<0,01$). MC'nin kullanıldığı gruplar ve kontrol grubunda MDA değerinin ise daha düşük olduğu saptanmıştır. Kontrol grubu ile MC'nin kullanıldığı gruplar arasındaki MDA ortalama değerleri farkının anlamlı olmadığı bulunmuştur (Tablo 2).

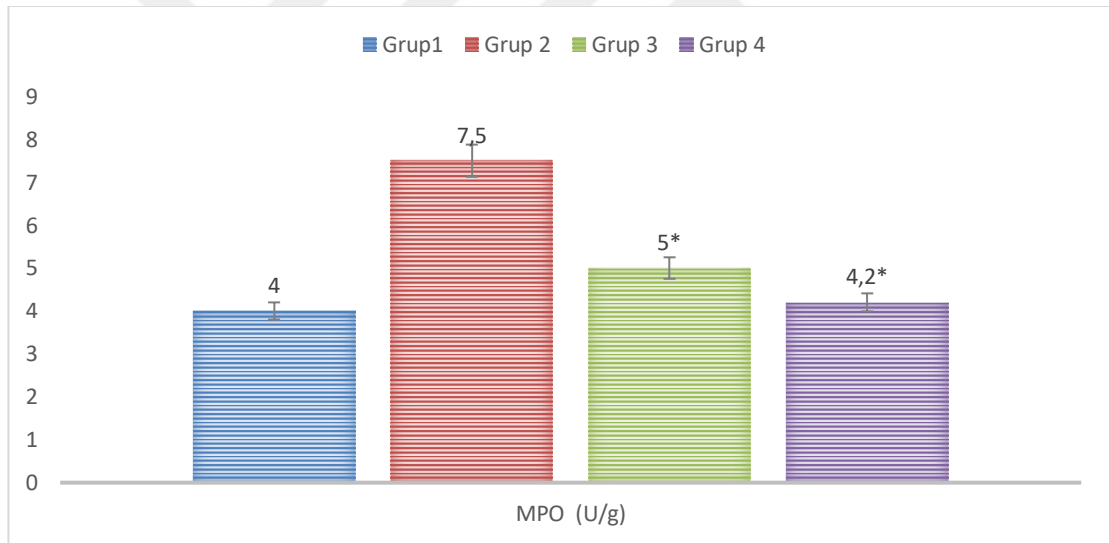
Tablo 2. MDA Verilerine Göre Gruplar Arasındaki Korelasyon

MDA					
	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	F
Grup 1	1	-20,39600*	-4,07400	-3,12800	33,644
Grup 2	20,39600*	1	16,32200*	17,26800*	
Grup 3	4,07400	-16,32200*	1	0,94600	
Grup 4	3,12800	-17,26800*	-0,94600	1	

p<0,01

Grup 1 (Kontrol), Grup 2 (Defekt (sham)), Grup 3 (Defekt +14 günlük MC grubu), Grup 4 (Defekt +28 günlük MC grubu)

Defekt grubunda artan MPO düzeyleri MC uygulanan gruplarda anlamlı bir şekilde düştüğü ve kontrol grubu düzeyine yaklaştığı görülmektedir (Şekil 3).



ŞEKİL 4. Grupların Miyeloperoksidaz (MPO) Verilerinin Grafiği

Gruplardan elde edilen MPO verilerine göre grup 2'nin diğer gruplar ile arasında pozitif yönlü bir korelasyonu olduğu saptanmıştır. Grup 2 MPO ortalama değerlerinin grup 1, grup 3 ve grup 4'te elde edilen verilere göre anlamlı bir şekilde fazla olduğu tespit edilmiştir ($r=3,416$; $r=2,449$; $r=3,260$; $F=31,066$; $p<0,01$). MC'nin kullanıldığı gruplar ve kontrol grubunda MPO değerinin defekt grubuna göre daha düşük olduğu

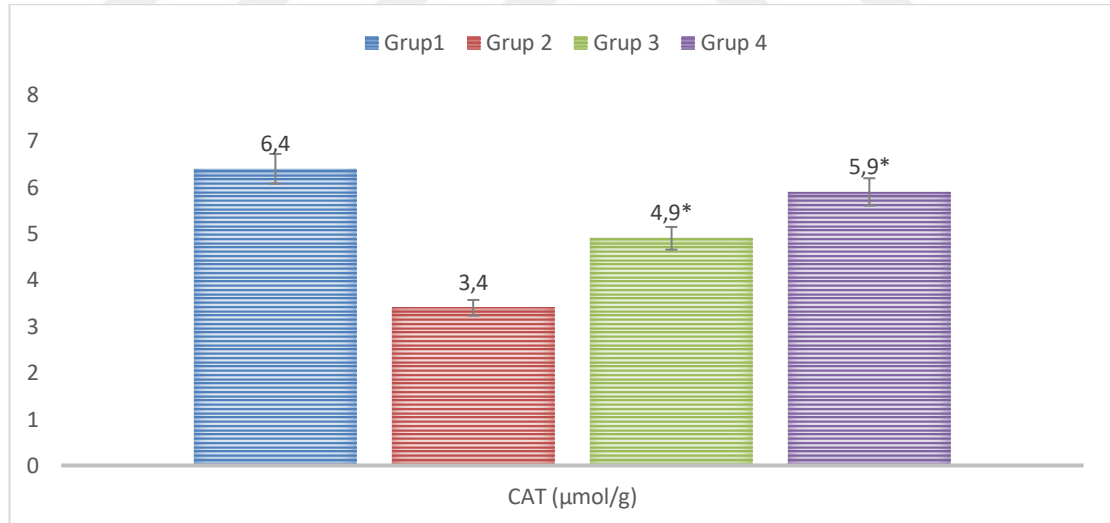
bulunmuştur. Ayrıca kontrol grubu ile MC'nin kullanıldığı gruplar arasındaki MPO ortalama değerleri farkının anlamlı olmadığı saptanmıştır (Tablo 3).

Tablo 3. MPO Verilerine Göre Gruplar Arasındaki Korelasyon

MPO					
	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	
Grup 1	1	-3,41600*	-0,967	-0,15600	
Grup 2	3,41600*	1	2,44900*	3,26000*	
Grup 3	0,96700	-2,44900*	1	0,81100	31,066
Grup 4	0,15600	-3,26000*	-0,81100	1	p<0,01

Grup 1 (Kontrol), Grup 2 (Defekt (sham)), Grup 3 (Defekt +14 günlük MC grubu), Grup 4 (Defekt +28 günlük MC grubu)

Defekt grubunda azalan CAT düzeyi MC uygulanan gruplarda anlamlı bir şekilde yükseldiği ve kontrol grubu düzeyine yaklaştığı görülmektedir (Şekil 3).



Şekil 5. Grupların Katalaz (CAT) Verilerinin Grafiği

Katalaz (CAT) verilerine göre grup 2'nin diğer gruplar ile arasında negatif yönlü bir korelasyonu olduğu gözlenmektedir. Grup 2 CAT ortalama değerlerinin grup 1, grup 3 ve grup 4'te elde edilen verilere göre anlamlı bir şekilde daha düşük olduğu tespit edilmiştir ($r=-3,031$; $r=-1,536$; $r=-2,561$; $F=33,644$; $p<0,01$). Bu da MC'nin

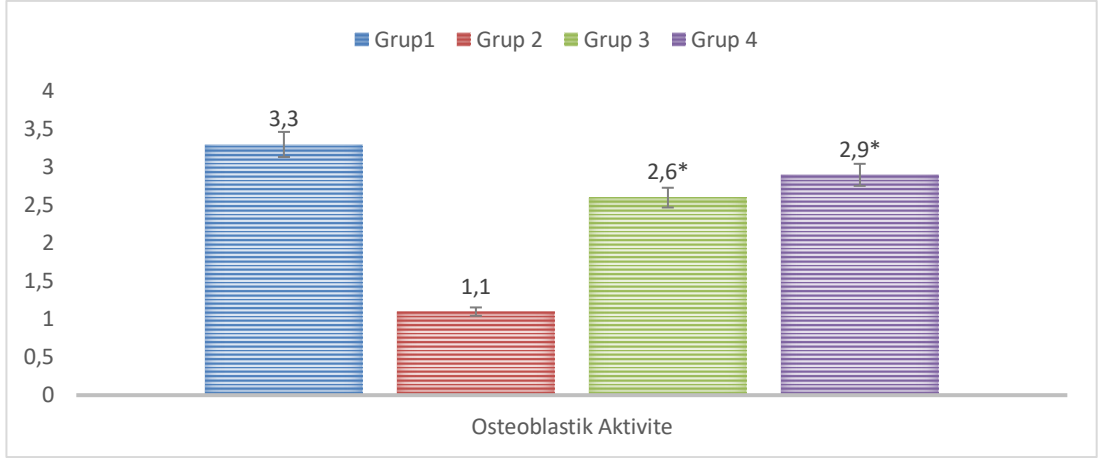
kullanıldığı gruplar ve kontrol grubunda CAT ortalama değerinin daha yüksek olduğu anlamına gelmektedir. Ayrıca CAT verilerine göre grup 1 ve 3 arasında pozitif ($r=1,495$; $p<0,01$) bir korelasyon varken grup 3 ve grup 4 arasında ise negatif ($r=-1,025$; $p<0,01$) bir korelasyon olduğu görülmektedir. Bu verilere göre grup 1 ortalama CAT değeri grup 3'ten anlamlı bir şekilde fazla iken grup 3 ortalama CAT değeri grup 4'ten anlamlı bir şekilde daha az olduğu tespit edilmiştir. Defekt grubuna uygulanan 14 ve 28 günlük MC'nin kontrol grubuna göre defekt grubu üzerindeki etkileri göz önüne alındığı zaman 28 gün uygulanan MC'nin CAT ortalama değerini normal düzeye getirmede daha etkin olduğu görülmektedir (Tablo 4).

Tablo 4. CAT Verilerine Göre Gruplar Arasındaki Korelasyon

CAT					F	p
	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4		
Grup 1	1	3,03100*	1,49500*	0,47000	33,744	p<0,01
Grup 2	-3,03100*	1	-1,53600*	-2,56100*		
Grup 3	-1,49500*	1,53600*	1	-1,02500*		
Grup 4	-0,47000	2,56100*	1,02500*	1		

Grup 1 (Kontrol), Grup 2 (Defekt (sham)), Grup 3 (Defekt +14 günlük MC grubu), Grup 4 (Defekt +28 günlük MC grubu)

Defekt grubunda azalan osteoblastik aktivite MC uygulanan gruplarda anlamlı bir şekilde yükseldiği ve kontrol grubu düzeyine yaklaştığı görülmektedir (Şekil 4).



Şekil 6. Grupların Osteoblastik Aktivite Verilerinin Grafiği

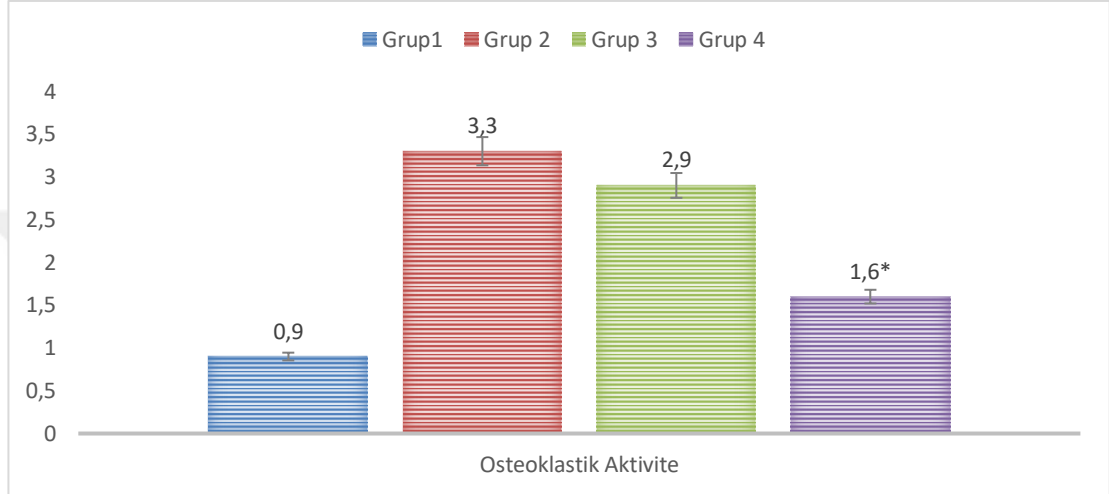
Osteoblastik aktivite ortalama değerlerine göre grup 2'nin diğer gruplar ile arasında negatif yönlü bir korelasyonu olduğu gözlenmektedir. Böylece grup 2 osteoblast ortalama değerlerinin grup 1, grup 3 ve grup 4'te elde edilen verilere göre anlamlı bir şekilde daha düşük olduğu tespit edilmiştir ($r=-2,200$; $r=-1,500$; $r=-1,800$; $F=18,148$; $p<0,01$). MC'nin kullanıldığı gruplar ve kontrol grubunda osteoblastik aktivite düzeyinin anlamlı bir şekilde daha yüksek olduğu saptanmıştır. Ayrıca grup 2'nin grup 4'teki korelasyonu grup 3'teki korelasyonuna göre daha anlamlı olduğu görülmektedir ($r=-1,500$; $r=-1,800$). Ayrıca MC'nin 14 gün yerine 28 gün verilmesi osteoblastik aktiviteyi daha fazla arttıracığı ama bu ilişkinin anlamlı olmadığı görülmektedir (Tablo 5).

Tablo 5. Osteoblastik Aktivite Verilerine Göre Gruplar Arasındaki Korelasyon

Osteoblastik Aktivite					
	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	F
Grup 1	1	2,20000*	0,70000	0,40000	18,148
Grup 2	-2,20000*	1	-1,50000*	-1,80000*	
Grup 3	-0,70000	1,50000*	1	-0,30000	
Grup 4	-0,40000	1,80000*	0,30000	1	

Grup 1 (Kontrol), Grup 2 (Defekt (sham)), Grup 3 (Defekt +14 günlük MC grubu), Grup 4 (Defekt +28 günlük MC grubu)

Defekt grubunda artan osteoklastik aktivite 28 gün MC uygulanan grupta anlamlı bir şekilde düştüğü ve kontrol grubu düzeyine yaklaştığı görülmektedir. MC 28 gün ve daha fazla uygulanması ile istenilen osteoklastik aktivite düzeyine gelebileceği görülmektedir. (Şekil 5).



Şekil 7. Grupların Osteoklastik Aktivite Verilerinin Grafiği

Osteoklastik ortalama değerlerine göre yapılan korelasyonda grup 1'nin grup 2 ve grup 3'e göre grup 2'de daha güçlü negatif bir korelasyona sahip olduğu görülmektedir ($r=-2,400$; $r=-2,000$; $F=24,574$; $p<0,01$). Grup 2 ve grup 3'te özellikle MC verilmeyen grupta daha etkin olmakla beraber osteoklastik aktivitenin kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde daha fazla olduğu gözlenmektedir. Grup 1 ve grup 4 arasında ise osteoklastik aktivite açısından anlamlı bir fark gözlenmemektedir ($r=-0,700$; $p>0,01$). Osteoklast ortalama değerlerine göre grup 2 ile grup 4 arasında pozitif bir korelasyon olduğu görülmektedir ($r=1,700$; $p<0,01$). MC'nin 28 gün boyunca uygulanması sham grubuna göre osteoklastik aktivitenin anlamlı bir şekilde düştüğünü ve normal kontrol grubu seviyesine regüle ettiği tespit edilmiştir. Ayrıca grup 3 ve grup 4 arasında osteoklast ortalama değerleri açısından pozitif yönlü bir korelasyon olduğu tespit edilmiştir ($r=-1,300$; $p<0,01$). Bu da grup 4'ün osteoklastik aktivitenin düşürülmesi açısından grup 3'e göre anlamlı bir fark gösterdiği anlamına gelmektedir. Osteoklast ortalama değerlerinin kontrol grubu seviyelerine anlamlı bir şekilde

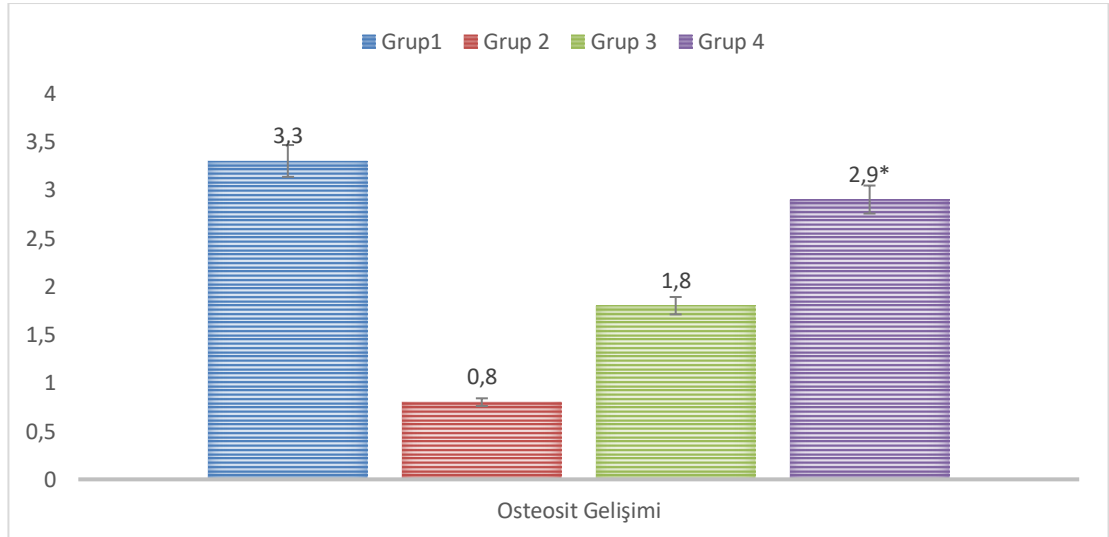
düşürülmesi ve regüle edilebilmesi için MC'nin defekt grubuna 14 gün yerine 28 gün boyunca uygulanması gerektiği saptanmıştır (Tablo 6).

Tablo 6. Osteoklastik Aktivite Verilerine Göre Gruplar Arasındaki Korelasyon

Osteoklastik Aktivite					
	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	F
Grup 1	1	-2,40000*	-2,00000*	-0,70000	24,574 p<0,01
Grup 2	2,40000*	1	0,40000	1,70000*	
Grup 3	2,00000*	-,40000	1	1,30000*	
Grup 4	0,70000	-1,70000*	-1,30000*	1	

Grup 1 (Kontrol), Grup 2 (Defekt (sham)), Grup 3 (Defekt +14 günlük MC grubu), Grup 4 (Defekt +28 günlük MC grubu)

Defekt grubunda azalan osteosit gelişimi 28 gün MC uygulanan grupta anlamlı bir şekilde yükseldiği ve kontrol grubu düzeyine yaklaştığı görülmektedir. MC 28 gün ve daha fazla uygulanması ile istenen osteosit gelişimi düzeyine gelebileceği görülmektedir (Şekil 6).



Şekil 8. Grupların Osteosit Gelişimi Verilerinin Grafiği

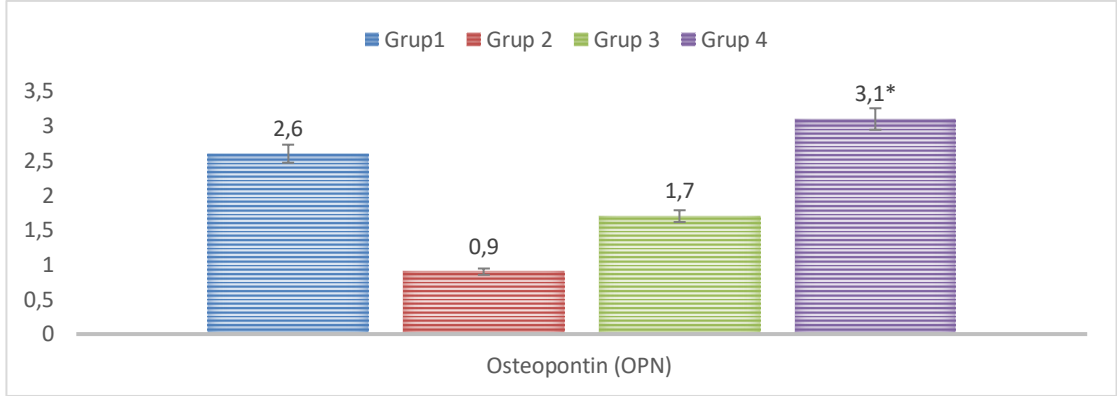
Osteosit gelişimi verilerine göre grup 1'nin grup 2 ve grup 3 'ile arasında güçlü pozitif korelasyonu olduğu görülmektedir ($r=2,500$; $r=1,500$; $F=16,255$; $p<0,01$). Bu da kontrol grubuna göre grup 2 ve grup 3'ün osteosit gelişimi açısından daha az ortalamaya sahip olduğu anlamına gelmektedir. Grup 2 ve grup 4 arasında ise osteosit gelişimi açısından negatif yönlü bir korelasyon olduğu görülmektedir ($r=-2,100$; $p<0,01$). Fakat grup 2 ile grup 3 arasında negatif ama anlamlı olmayan bir korelasyon saptanmıştır ($r=-1,000$; $p>0,01$). Grup 3 ve grup 4 arasında ise osteosit gelişimi açısından negatif yönlü bir korelasyon olduğu tespit edilmiştir ($r=-1,100$; $p<0,01$). MC'nin 14 gün uygulanması sonucu osteosit gelişimi artmakta ancak bu artış sham grubuna göre anlamlı değildir. Ancak MC'nin 28 gün uygulandığı defekt grubunda ise osteosit gelişimi artmakta ve sham grubuna göre bu artışın anlamlı olduğu tespit edilmiştir. Bu da sham grubuna göre artan osteosit sayısının kontrol grubu seviyesine anlamlı bir şekilde artış göstermesi için en az 28 gün ve üzerinde uygulama yapılması gerektiği anlamına gelmektedir (Tablo 7).

Tablo 7. Osteosit Gelişimi Verilerine Göre Gruplar Arasındaki Korelasyon

Osteosit Gelişimi					
	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	F
Grup 1	1	2,50000*	1,50000*	0,40000	16,255 p<0,01
Grup 2	-2,50000*	1	-1,00000	-2,10000*	
Grup 3	-1,50000*	1,00000	1	-1,10000*	
Grup 4	-0,40000	2,10000*	1,10000*	1	

Grup 1 (Kontrol), Grup 2 (Defekt (sham)), Grup 3 (Defekt +14 günlük MC grubu), Grup 4 (Defekt +28 günlük MC grubu)

Defekt grubunda azalan OPN düzeyi 28 gün MC uygulanan grupta anlamlı bir şekilde düştüğü ve kontrol grubu düzeyine yaklaştığı görülmektedir. MC'nin 28 gün ve daha fazla uygulanması ile istenen OPN düzeyine gelebileceği görülmektedir (Şekil 7).



Şekil 9. Grupların Osteopontin (OPN) Verilerinin Grafiği

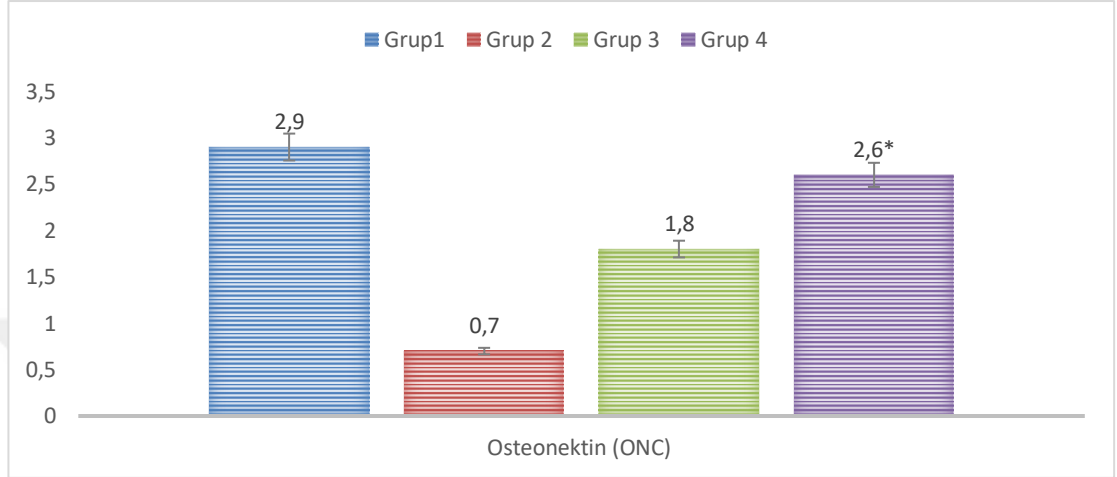
Osteopontin (OPN) verilerine göre grup 1 ve grup 2 arasında pozitif bir korelasyon olduğu görülmektedir ($r=1,700$; $F=12,992$; $p<0,01$). Grup 1'in OPN düzeyinin grup 2'den anlamlı bir şekilde yüksek olduğu anlamına gelmektedir. Ayrıca grup 2 ve grup 4 arasında ise güçlü negatif bir korelasyonun olduğu görülmektedir ($r=-2,200$; $p<0,01$). Ancak grup 2 ve grup 3 arasında negatif bir korelasyon olmasına rağmen anlamlı bir farklılık görülmemektedir ($r=-0,800$; $p>0,01$). Grup 3 ve grup 4 arasında ise OPN düzeyi açısından negatif yönlü anlamlı bir korelasyon olduğu görülmektedir ($r=-1,400$; $p<0,01$). Böylece OPN düzeyinin anlamlı bir şekilde artmasını ve kontrol grubu düzeyine regülasyonunu sağlayabilmek için defekt grubuna MC'nin 14 gün yerine 28 gün uygulanması gerektiği tespit edilmiştir (Tablo 8).

Tablo 8. Osteopontin (OPN) Verilerine Göre Gruplar Arasındaki Korelasyon

Osteopontin (OPN)					F	p
	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4		
Grup 1	1	1,70000*	0,90000	-0,50000	12,992	p<0,01
Grup 2	-1,70000*	1	-0,80000	-2,20000*		
Grup 3	-0,90000	0,80000	1	-1,40000*		
Grup 4	0,50000	2,20000*	1,40000*	1		

Grup 1 (Kontrol), Grup 2 (Defekt (sham)), Grup 3 (Defekt +14 günlük MC grubu), Grup 4 (Defekt +28 günlük MC grubu)

Defekt grubunda azalan ONC düzeyi 28 gün MC uygulanan grupta anlamlı bir şekilde yükseldiği ve kontrol grubu düzeyine yaklaştığı görülmektedir. MC 28 gün ve daha fazla uygulanması ile istenen ONC düzeyine gelebileceği görülmektedir (Şekil 8).



Şekil 10. Grupların Osteonektin (ONC) Verilerinin Grafiği

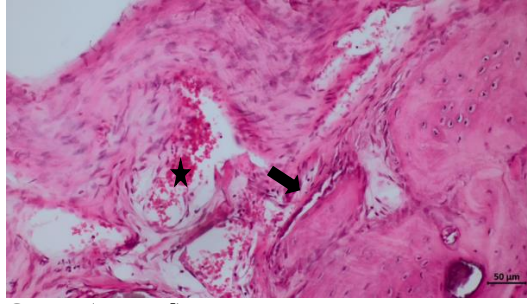
Osteonektin (ONC) verilerine göre grup 1 ve grup 2 arasında pozitif bir korelasyon olduğu görülmektedir ($r=2,200$; $F=9,943$; $p<0,01$). Grup 1'in ONC düzeyinin grup 2'den anlamlı bir şekilde yüksek olduğu saptanmıştır. Ayrıca grup 2 ve grup 4 arasında ise güçlü negatif bir korelasyonun olduğu görülmektedir ($r=-1,900$; $p<0,01$). Ancak grup 2 ve grup 3 arasında negatif bir korelasyon olmasına rağmen anlamlı bir farklılık görülmemektedir ($r=-1,100$; $p>0,01$). Böylece ONC düzeyinin anlamlı bir şekilde artmasını ve kontrol grubu düzeyine regülasyonunu sağlayabilmek için defekt grubuna MC'nin 14 gün yerine 28 gün uygulanması gerektiği tespit edilmiştir (Tablo 9).

Tablo 9. Osteonektin (ONC) Verine Göre Gruplar Arasındaki Korelasyon

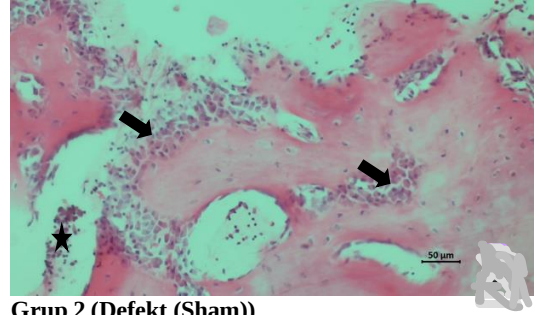
Osteonektin (ONC)					F	p
	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4		
Grup 1	1	2,20000*	1,10000	0,30000	9,943	p<0,01
Grup 2	-2,20000*	1	-1,10000	-1,90000*		
Grup 3	-1,10000	1,10000	1	-0,80000		
Grup 4	-0,30000	1,90000*	0,80000	1		

Grup 1 (Kontrol), Grup 2 (Defekt (sham)), Grup 3 (Defekt +14 günlük MC grubu), Grup 4 (Defekt +28 günlük MC grubu)

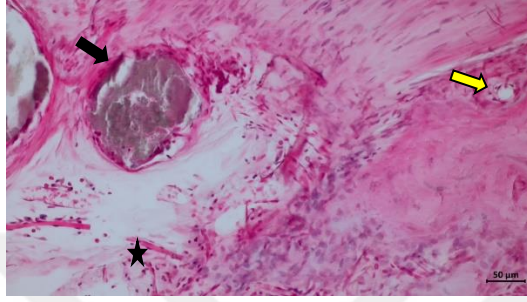
Gruplardaki tibial doku kesitlerinin osteoblast, osteoklast, osteosit ve trabeküler kemik açısından histopatolojik incelenmesinde; Grup 1'e ait kesitin histopatolojik incelemesinde özellikle periferde kemik trabeküllerinin bulunduğu alanda osteoblastik aktivitenin belirgin olduğu (ok) arada kemik iliğine ait eritrosit ve lökositlerin dağıldığı osteosit hücrelerin lakuna içinde yerleştiği (yıldız) osteoklastların az sayıda olduğu görüldü (Resim 5). Grup 2'de trabeküler yapılarda düzensizlik ve bütünlük bozulmuş özellikle plazma hücreleri ve osteoklast hücrelerinde (ok) önemli derecede artış izlenmiştir. Osteoklastik aktivite de dejenerasyon ve yer yer bozulmalar inflamatuvar hücrelerde agregat ve soliter tarzda (yıldız) dağılmış yapısal özellikteki oluşumlar belirgin olarak görüldü (Resim 5). Grup 3'e ait kesitte kemik trabeküllerinin bulunduğu alanlarda osteoklastlarda artış (yıldız) gözlenirken soliter tarzda dağılmış lökosit infiltrasyonu (yıldız) ve osteosit hücrelerde hafif derecede hiperplazi tespit edildi. Kan damarlarında dilatasyon (sarı ok) izlendi (Resim 5). Grup 4'te defekt bölgesinde özellikle yeni oluşmaya başlamış kemik trabeküllerinin olgunlaşmaya (yıldız) başladığı gözlemlendi. Bununla birlikte hem osteoblastik aktivitede (siyah ok) hem de lakuna içinde yerleşmiş osteositlerde (sarı ok) belirginleşme görüldü. Osteoklastlarda azalma gözlenirken inflamasyonda azalma dikkat çekiciydi (Resim 5). Daha ileriki dönemlerde 6-8 haftalarda MC kullanımının yeni kemik oluşumuna daha olumlu etkisi olabileceğini söyleyebiliriz.



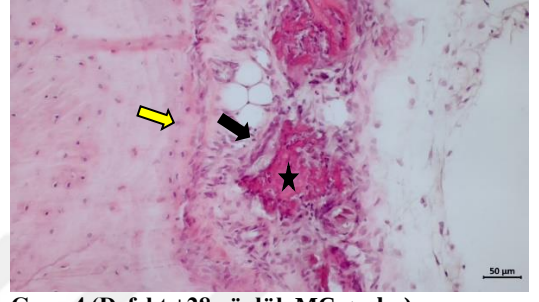
Grup 1 (Kontrol)



Grup 2 (Defekt (Sham))



Grup 3 (Defekt +14 günlük MC grubu)

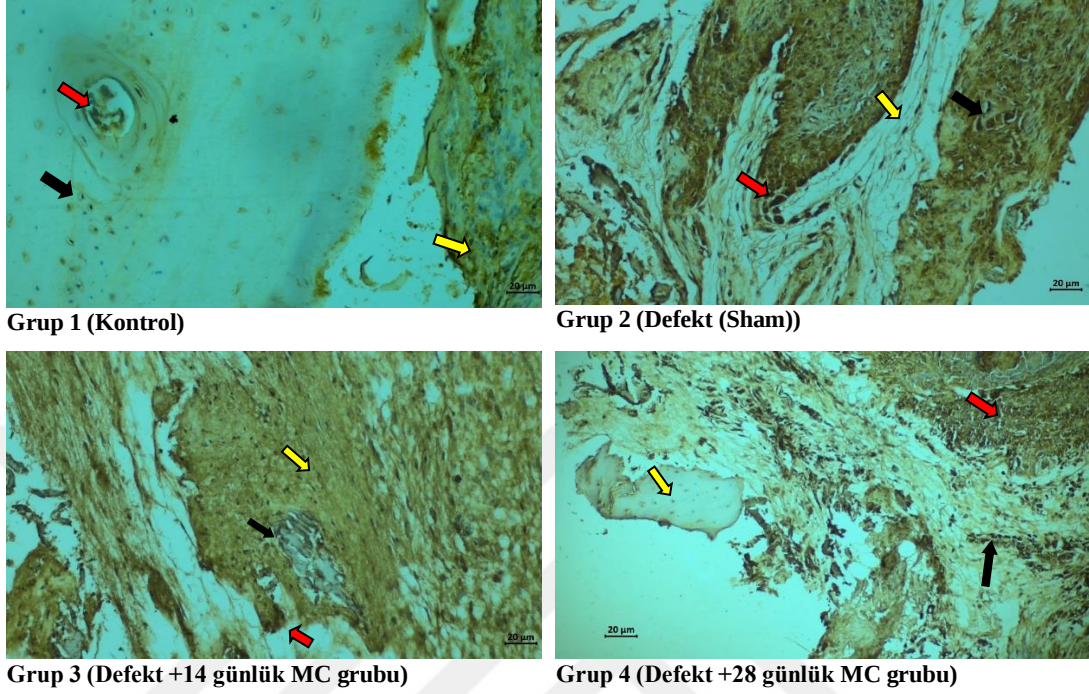


Grup 4 (Defekt +28 günlük MC grubu)

Resim 5. Grupların Histopatolojik değerlendirmesi (Ölçek: 50 µm)

Gruplardaki tibial doku kesitlerinin osteopontin açısından immünohistokimyasal olarak incelenmesinde; Grup 1'e ait kesitte ana kemik trabekül parçasında lakuna içindeki osteosit hücrelerinde (siyah ok) osteopontin ekspresyonu pozitif aradaki bazı osteoklast hücrelerinde (kırmızı ok) osteopontin negatif ekspresyonu gözlenirken genellikle osteoblastlarda da (sarı ok) osteopontin ekspresyonu pozitif tespit edildi (Resim 6). Grup 2'ye ait kesitlerde kemiklerin periferinde yer alan ve özellikle osteoklastlarda (kırmızı ok) pozitif osteopontin ekspresyonu gözlemlendi. Lökositlerde (sarı ok) osteopontin ekspresyonu pozitifliği ana kemik hücresinde (siyah ok) osteopontin pozitifliği izlendi (Resim 6). Grup 3'e ait kesitte ana kemik bölgesinde yoğun osteoblastik aktiviteler ve osteosit aktivitesi gözlenirken osteopontin ekspresyonu pozitif tespit edildi. Ancak bunların arasında yer alan yeni kemik trabeküllerine ait olan kesitlerde küçük kemik trabekül alanları ve özellikle periferindeki osteblast hücrelerinde (siyah ok) ve yer yer de aradaki soliter taraftaki osteoklast hücrelerinde (kırmızı ok) osteopontin ekspresyonu pozitif ancak kemik matriksinde (sarı ok) osteopontin ekspresyonu henüz belirginleşmemiş olduğu izlendi (Resim 6). Grup 4'te özellikle ana kemik trabekülün bulunduğu alanın dışında yeni oluşan kemik parçalarında hem osteoblastlarda (siyah ok) hem osteositlerde (sarı ok)

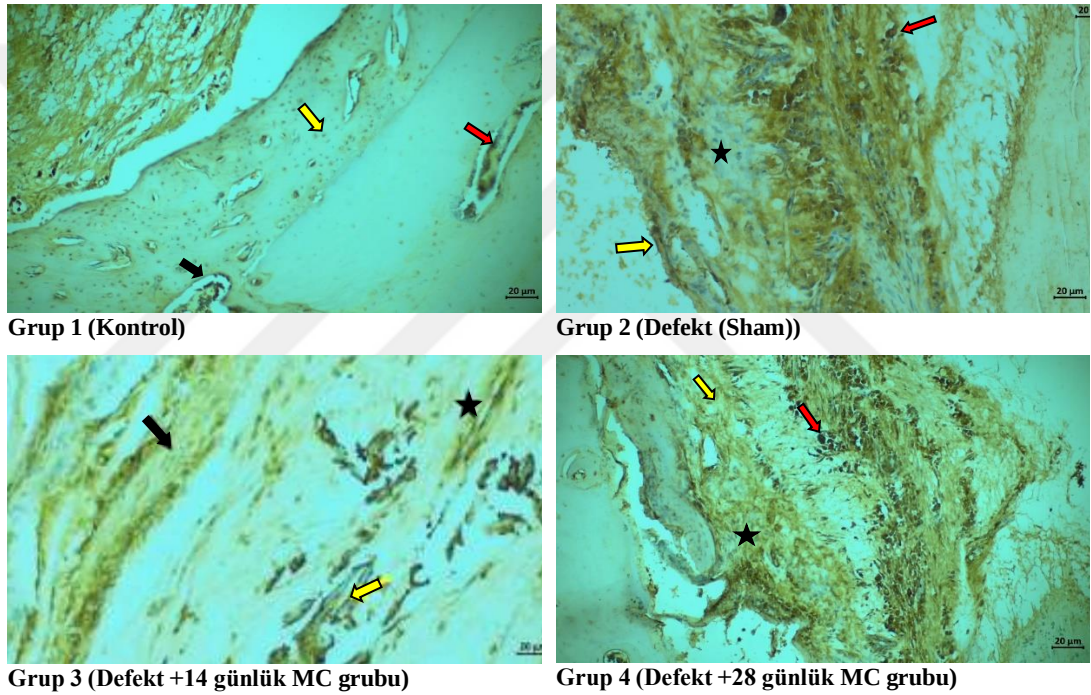
osteopontin ekspresyonu belirginleştigi ve yeni kemik oluşumuna ait olan trabekül parçalarının (kırmızı ok) da matriks salınımını hızlandırdığı görüldü (Resim 6).



Resim 6. Grupların İmmünohistokimyasal değerlendirmesi (Osteopontin) (Ölçek: 20 µm)

Gruplardaki tibial doku kesitlerinin osteonektin açısından immünohistokimyasal olarak incelenmesinde; Grup 1'e ait tibia bölgesinin longitudinal kesitinde genel anlamda osteoblastik aktivitenin (siyah ok) belirgin olduğu ve osteositlerin lakuna içine yerleştiği nükleuslarının (sarı ok) osteonektinle pozitiflik gösterdiği dışı doğru hem lifsel yapıların hem de bağ doku hücrelerinde (kırmızı ok) da osteonektin ekspresyonunun pozitif olduğu görüldü. Bazı havers kanallarında da yine dış bölgeye doğru özellikle osteon yapılarının osteonektin ekspresyonunun da pozitif olduğu tespit edildi (Resim 7). Grup 2'ye ait kesitte özellikle defekt alanı içinde küçük parçacıklar şeklinde her ne kadar kemik oluşumları olsa da inflamasyon (yıldız) oldukça belirgin artış izlenmiştir. Osteoklast hücrelerinde (kırmızı ok) osteonektin ekspresyonu pozitif ve yeni oluşmaya başlamış küçük parçacıklarda osteblastlarında (sarı ok) negatif etkileşme gösterdiği tespit edildi. Osteositler bölgede henüz oluşmamıştır (Resim 7). Grup 3'te defekt bölgesinde yeni oluşan kemik trabeküllerinde osteoblast hücrelerinde

(sarı ok) belirgin bir osteonektin ekspresyonunda artış izlendi. Osteositler belirgin olmasa bile arada yer yer osteosit hücrelerinde (siyah ok) de osteonektin ekspresyonu pozitif görüldü. Ancak matriks alanında (yıldız) orta düzeyde osteonektin ekspresyonu tespit edildi (Resim 7). Grup 4'te defekt alanı içinde genişlemiş trabeküllerin osteoblast hücrelerinde osteositlerde (siyah ok) osteonektin ekspresyonu pozitif yer yer bazı alanlarda az sayıdaki osteoklast hücrelerinde (kırmızı ok) pozitif osteonektin ekspresyonu görüldü. Bu gruba ait kesitte dikkat çeken hususlardan biri de özellikle lifsel yapıların (yıldız) çok belirginleşmeye başladığı ve yapısal bütünlüğü gelişmeye başladığı görülürken osteonektin ekspresyonu da pozitif tespit edildi (Resim 7).



Resim 7. Grupların İmmünohistokimyasal olarak değerlendirmesi (Osteonektin)
(Ölçek: 20 µm)

6. TARTIŞMA

Şifalı bitkiler ve ürünleri sağlığın geliştirilmesi amacıyla küresel olarak geçmişten günümüze kadar kullanılmaktadır (58). Gelişmekte olan toplumlarda mevcut veya uygun fiyatlı bitkiler tıbbın temel bir parçası olan geleneksel sağlık hizmetine destek olmaktadır (58,59). Günümüzde modern tıba destek olmakta ve ayrıca ilaçların etken maddesinin üretilmesinde faydalanılmaktadır. Dünyada reçete edilen ilaçların yaklaşık %25'i bitkilerden elde edilmektedir (58). Halk sağlığını korumak için bitkisel ilaçların güvenli, uygun kalitede olmasını sağlamak ve gerekli önlemlerin alınması gerekmektedir (58,59). Bu bitkisel bileşenin kullanım miktarı bileşeni ve içeriğinden emin olunmalıdır. Tüketicilere ayrıca dozaj, kontrendikasyonlar ve etkinlik hakkında bilime dayalı bilgiler verilmesi gerekmektedir (58). Halk sağlığını korumak için uygun önlemlerin belirlenmesindeki en önemli faktör akademik çalışmalar sonucu elde edilen verilerdir. Çalışmalarda bitkisel ilaçların kullanımı ve güvenliği hakkında yeterli bilgi sağlanması gerekmektedir (59). Yeterli bilimsel yarar sağlayan bitki çalışmaları mevcutsa bu bitkinin hastalıkların tedavisi için teşvik edilip kullanılmasına izin verilmesi gerektiği bildirilmektedir (58). Bizde çalışmamızda birçok alanda çalışması yapılmış ve olumlu sonuçlar alınmış, ulaşılması kolay olan ileri çalışmaları sonucu halk sağlığı yararlarından dolayı MC tercih ettik. Bitkinin her bölümünden faydalanılmaktadır. Hatta olgunlaşmayan kısımları ile ilgili yapılan çalışmaları bile mevcuttur. Güncel bir çalışmada *M. charantia*'nın olgunlaşmamış meyve özütünün, yüksek yağlı bir diyetle beslenen sıçanlar üzerinde güçlü antilipidemik etkilere sahip olduğu bildirilmiştir (60). Antidiyabetik çalışmalarda tedavide kullanılan bir çok formu olup çalışma sonuçlarında kan şekeri regülasyonunda etkili olduğu tespit edilmiştir (61–65). Akciğer kanserine karşı (66,67), yüksek tansiyonu düşürmede (68), kardiyomiyositlerin radyasyona karşı korunmasında (69), alerjik astım ve iltihabi reaksiyonlara karşı (70), bağırsak iltihabı ile ilgili problemlerde (71), iskemik beyin hasarına karşı (72), invitro bir çalışmada anti mikrobiyal etkisinin olduğu (73), diyabetik nefropatinin iyileşmesi (74), gastrik ülserde mide koruyucu etkisi (75), karaciğer kanserine karşı (76), ağız kanserine karşı (77,78), yara iyileşmesi (79), SARS-CoV-2 viral enfeksiyonların tedavisi (80), testosteron etkinliğinin iyileştirilmesinde (81), pankreas kanserine karşı (82) etkinliğiyle ilgili yapılan güncel

alışmalarla popülaritesini korumaktadır. MC'nin birçok farklı preparat ve karışımı ülkemizin farklı bölgelerinde aktar ve eczanelerden temin edilebilmektedir (27).

Küresel olarak artan nüfus ve gelişen teknoloji sonucu artan trafik kazaları, silahla yaralanmalar gibi travmatik veya fizyolojik olarak meydana gelen kemik defeklerinde ciddi artış görülmektedir (83). Gelişen teknolojiyle ortalama yaşam süresinin artması bununla birlikte kötü beslenme, sedanter yaşam, menopoza, düşük östrojen hormonu, gastrointestinal problemler gibi nedenlere bağlı kemiklerin zayıflaması sonucu gelişen osteoporotik kırıklarda da atış olduğu bildirilmektedir (84). Kemik defekleri sağlık açısından hem hastalar hem de tedavi edici kişiler için ciddi sorunlar oluşturabilmektedir. Özellikle kemikteki büyük defektlerin iyileşmesinin geç olması, estetik veya fonksiyonel açıdan yeterli onarılamaması son zamanlarda kemik onarımı ile ilgili yeni araştırmaların artmasına neden olmuştur. Kemik onarımının yetersiz kaldığı durumlarda geleneksel ya da alternatif tıp yöntemlerine başvurulmaktadır (85). Gelişmekte olan ülkelerde nüfusun çoğunluğu geleneksel yöntemlere (bitki, meyve, çay v.b.) başvurarak problemini çözmeye çalışır. Bu sebeple son yıllarda şıfalı meyve ve bitkilerin çalışmalarda popüler olarak kullanıldığı bildirilmektedir (27). MC'nin birçok rahatsızlıkta etkili olması araştırma alanlarını her geçen gün arttırmaktadır (22-44). Özellikle diyabet hastaları üzerinde MC'nin kan şekeri regülasyonunda etkili olduğu tespit edilmiştir (61–64,86). Diabetes mellitus'un kemik sağlığına etkisinin araştırıldığı bir çalışmada insülin benzeri büyüme faktörü 1'in yetersiz salınımı kemik homeostazını bozarak kırılmalara yol açabileceği bildirilmiştir (87). Glikoz ve insülin metabolizmasındaki düzensizlik kemik vaskülarizasyonunun bozulmasına neden olmaktadır. Bu da kemik onarımı için gerekli olan osteoblast, osteoklast aktivitelerinde ve mineralizasyonda bozulmalara sebebiyet verecektir (87,88). Vasküler rejenerasyon kemik hücrelerinin çoğalmasında ve göçünde önemli bir rol oynadığı bildirilmektedir (89). MC'nin diyabet ve diğer problemler üzerindeki olumlu sonuçları göz önüne alınacak olursa kemik rejenerasyon mekanizmasını dolaylı yoldan etkileyebileceği düşünülmektedir. Böylece yaygın, ucuz ayrıca erişimi kolay olan bu bitkinin kırık iyileşmesi ile ilgili çalışmalarının yeterli düzeyde olmaması kemikte oluşan defekt üzerinde koruyucu ve iyileştirici etkisi deneysel modelimizin oluşturulmasında katkı sağladı.

Malondialdehit (MDA) üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunun son ürünlerinden biridir. MDA üç karbonlu bir dialdehittir (33,34). MDA lipid peroksidasyonunun başlıca toksik ürünü olduğu bildirilmiştir (35). Oksidatif stres lipid peroksidasyonu (LP) ile sonuçlanır (34). Lipid peroksidasyonu, biyolojik membranlarda serbest radikallerin neden olduğu ve fonksiyon kaybı ile hücre ölümüne yol açan zincirleme bir reaksiyon sürecidir (36). Lipidler reaktif oksijen ürünlerinin zararlı etkilerine oldukça duyarlıdır. Hücre zarında yer alan üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin serbest oksijen radikalleri ile yüksek oranda tepkimeye girmektedir. Bunun sonucunda lipid peroksidasyonu meydana gelmektedir. Lipid peroksidasyonu esnasında biyolojik yapılarda tespiti kolay olan ve peroksidatif hasarın belirteci olan MDA oluşur (37). Lipid peroksidasyonu membran lipidlerinin yıkımına neden olmakla beraber lipid peroksitleri ve aldehitler gibi yan ürünleri de oluşturmaktadır (34). Aynı zamanda hidrojen peroksit zardaki doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonunu başlatarak MDA artışına neden olabilmektedir. MDA artışı serbest oksijen radikallerin etkisiyle lipid peroksidasyonu artışını göstermektedir (34,36). Çoklu doymamış yağ asitlerinin parçalanması sonucu açığa çıkan MDA düzeyi lipid peroksitlerin durumu ve düzeyi hakkında bir ipucu olarak kullanılabilir. Hücre membranından kolay bir şekilde geçebilen MDA hücredeki protein sentezini, enzimatik reaksiyonları ve DNA yapısını da olumsuz etkilediği söylenmektedir (34). MDA fosfolipitleri çapraz bağlayarak membran polimerizasyonu, iyon transportu ve enzim aktivitesi ile ilgili problemler oluşturur. Hücre membran dayanıklılığı, geçirgenlik, membran potansiyeli ile ilgili olumsuzluklar meydana gelir (34,36). Hücre içinde aşırı kalsiyum birikmesi sonucu hücre hasarı ve ölümleri görülebilmektedir (36). Meydana gelen LP'nin hücre bütünlüğünde meydana getirdiği olumsuzluklar sonucu hücre hasarı ve ölümleri oluşmaktadır. Serbest radikallerin hücreye vereceği zararları önlemek için endojen enzimler başlangıçta artış göstermektedir. Ancak daha sonra enzimlerin azalması ve yetersiz kalması sonucu oksidatif hücre hasarı oluşmaktadır (34). Oksidatif stres lipid peroksidasyonu sonucu hücre onarımına zarar verdiğini bildirilmektedir. Bu zararın ancak oksidan-antioksidan sistemdeki bazı bozuklukların giderilmesiyle çözülebileceği düşünülmektedir (38). Oksidatif strese karşı fitokimyasalların koruyucu etkilerinin olduğunu ortaya koyan birçok çalışma vardır (39,40). Özşahin ve

arkadaşlarının 2011 yılında yaptığı bir çalışmada kayısı ve üzüm ekstraktlarındaki polifenolik bileşiklerin eritrositlerde meydana gelen lipid peroksidazı engellediğini tespit etmişlerdir (40). Başka bir çalışmada ratların bağırsağında oluşturulan oksidatif hasar sonrası ve β -karotenin koruyucu etki gösterdiği tespit edilmiştir. Bunu da MDA seviyelerinde azalma ile antioksidan enzim düzeylerindeki artışla bildirmişlerdir (39). Normalde tüm dokularda az miktarda da olsa lipid peroksidasyonu görülmektedir. Meydana gelen bu lipid peroksidasyonu antioksidan sistemler tarafından kontrol edilmektedir. Şayet bu kontrol sağlanmazsa membran lipidlerinin bozulmasına yol açarak oksidatif hasar meydana gelir (40). İskemi modeli oluşturulan bir deneysel modelde oksidatif stres meydana geldiği için MDA düzeyinde önemli artışların olduğu ancak bazı antioksidan kullanımı sonrasında bu değerlerin kontrol grubu seviyelerine geldiği bildirilmektedir (41). Prunus dulcis sulu ekstraktının tibial kemik iyileşmesi üzerindeki etkisini inceleyen bir çalışmada tedavi gruplarında oksidatif stresin biyobelirteci olan serum MDA düzeylerinin önemli ölçüde azaldığını bildirmektedir (90). Çalışmamızda defekt grubunda MDA seviyesinin anlamlı artışı göz önüne alındığı zaman lipid peroksidasyonunun arttığı söylenebilmektedir. MDA düzeyinin yüksek olması defekt oluşturulan sıçanlarda oksidatif hasarın olduğunu göstermektedir. MC uygulanan gruplardaki MDA düzeyindeki anlamlı düşüşün varlığı hücre ve hücre membranı ile ilgili sorunların (dayanıklılığı, geçirgenlik, potansiyel ve enzim aktivitesi gibi) çözülmesi ile meydana geldiği düşünülmektedir. MC uygulanan gruplardaki MDA düzeyindeki anlamlı düşüş lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu etkilerinin olduğunu göstermektedir. Bu sonuçlar ışığında kemik hücre onarımı için MC'nin iyi bir antioksidan olabileceği düşünülmektedir.

Oksidatif strese yanıt olarak MPO lökositler (nötrofiller vb.) tarafından depolanıp üretilen lizozomal bir enzimdir (42,43). Birçok akut ve kronik inflamatuvar hastalıkla ilgili hemoproteindir (43). MPO'nun ateroskleroz, astım, artrit ve kanser gibi birçok hastalığın patogenezinde etkili olduğu bildirilmektedir (44). MPO nötrofillerin granüllerinde bulunan ve kofaktör olarak glikolizlenmiş hem grubu içeren bir enzimdir (44). Hem içeren protein olan MPO, iltihaplanma bölgelerinde uyarılmış polimorfonükleer lökositlerden salınır (45). Hem enzimi MPO, hidrojen peroksit ve klorürün hipokloröz aside dönüşümünü katalize eder. Hipokloröz asit mikroorganizmalar üzerine parçalayıcı etkiden sorumludur (44,45). MPO güçlü

oksidanların oluşumunda katalizör görevi görerek çeşitli oksidanların üretimini sağladığı söylenmektedir (43,44). Hipokloröz asit, nötrofiller tarafından üretilen başlıca güçlü bir oksidandır. Hipokloröz asit gibi oksidanlar çeşitli hücre fonksiyonlarına müdahale eder ve doku hasarına neden olduğu söylenmektedir (43,45). Ayrıca MPO çeşitli inflamatuvar hastalıklarda doku hasarında lokal bir inflamasyon aracı olabileceği bildirilmiştir (46). Son yıllarda kritik bir inflamasyon modülatörü olarak karşımıza çıkmaktadır. İnflamasyon durumunda MPO düzeyinde belirli artışların olduğu söylenmektedir (43). Artan MPO aktivitesi nitrik oksit inaktivasyonu artışına, bunun sonucunda nitrik oksitin vazodilatör ve antiinflamatuvar etkilerinin azalması ile öncelikle vasküler patolojiler ve birçok patolojik olayda etkisinin olabildiği bildirilmiştir (42). Bazı antiinflamatuvar ilaçların MPO aktivitesini inhibe edebildiği ve bu inhibisyonun ilaçların antiinflamatuvar etkisini açıklayabileceğini bildirmişlerdir (45). Bir çalışmada melatoninin güçlü bir MPO inhibitörü olarak etki gösterdiği bildirilmektedir (44). Koroner arter tutulumu ile ilgili yapılan bir çalışmada MPO enzim yüksekliği, troponin T ve KK-MB belirteçler gibi komplikasyon riski hakkında bilgi verebileceği söylenmektedir. Ayrıca plazma MPO enzim yüksekliği aterosklerotik plakın instabilitesi ile ilgili bir belirteç olabileceğini bildirilmektedir (47). Başka bir çalışmada üç *Hypericum* türünün insandaki antiinflamatuvar aktivitesinin, MPO inhibisyonu ile ilişkili olabileceği belirtilmektedir (45). Tıbbi bir bitki olarak kullanılan çakşır otu ve tarla atkuyruğu bitkilerinden elde edilen preparatlar in vitro olarak MPO düzeylerini düşürdüğü bildirilmektedir (48). Çalışmamızda yukarıdaki çalışmalara paralel olarak inflamatuvar durumun bir göstergesi olarak artan MPO düzeyleri defekt grubunda diğer gruplara kıyasla anlamlı bir artış tespit edilmiştir. MC verilen gruplarda defekt gruplarına göre MPO düzeyinde ise anlamlı düşüş varlığı tespit edilmiştir. Ayrıca sağlıklı kemikteki MPO düzeyine en yakın değerlere sahip grup 28 gün uygulanan MC'nin olduğu grup bulunmuştur. MPO düzeyinin normal kemikteki düzeyine regüle edilmesinde grup 4'ün daha başarılı olduğu bulunmuştur. MC'nin uygulandığı gruplardaki MPO düzeyindeki anlamlı azalışın oksidan-antioksidan sistemdeki bazı bozuklukların giderilmesiyle inflamasyonun regülasyonu sonucu meydana gelebileceği düşünülmektedir. MC'nin MPO enzim inhibisyonunun regülasyonundaki olumlu etkisi antiinflamatuvar özelliğinin olduğunu bizlere göstermektedir.

İnsan vücudu karmaşık bir oksidan ve antioksidan sistem etkisi altında canlılığını sürdürür. Oksidan sistem dokulara zarar veren serbest radikaller meydana getirirken antioksidan sistem ise bunların zararlı etkilerine karşı savunma meydana getirirler. Katalaz vücudumuzdaki önemli antioksidanlarından biridir. Oksidan sistemden meydana gelen serbest radikallerin hücrede birikmesi oksidatif stres oluşturarak dokuların zarar görmesine ve lipid peroksidasyonuna neden olabilmektedir (49,50). Katalaz demir içeren ve birçok dokuda peroksizomlarda yer alan bir enzimdir (50,51). Katalaz hidrojen peroksiti (H_2O_2) oksijen ve suya dönüştürerek dokunun zarar görmesini önlemektedir (52). Serbest radikaller ve lipid peroksidasyonu hastalıkların meydana gelmesinde etkili olduğu söylenmektedir. Buna karşın antioksidanlar lipid peroksidasyonunu azaltarak dokunun korunmasını sağlamaktadır (36,51). Katalaz, serbest radikallerin birleşmesini ve lipid peroksidasyonunun önlenmesini sağlayarak birtakım hastalıkların oluşmasını engellemektedir. Katalazın aktif çalışması hidroksil radikalının meydana gelmesini önlemektedir (36). Antioksidan enzimlerin hücredeki artış ve azalışını serbest radikaller ve oksidatif stres etkilemektedir. Hücrede serbest radikaller arttığı zaman savunma olarak homeostaziyi sağlamak için antioksidan enzim düzeyleri de yükselmektedir (50,51). Katalaz hidrojen peroksit yoğunluğuna göre artış ve azalış göstermektedir. Hidrojen peroksit yüksek konsantrasyonlarda hücre için çok zararlı olduğu söylenmektedir. Katalaz saniyede milyonlarca hidrojen peroksiti parçalayabilir (50). Prunus dulcis sulu ekstraktının tibial kemik iyileşmesi üzerindeki etkisini inceleyen bir çalışmada tedavi gruplarında oksidatif stresin biyobelirteci olan CAT düzeylerinin önemli ölçüde arttığını bildirmektedir (90). Çalışmamızda defekt grubunda katalaz enzim düzeyinde anlamlı bir düşüş tespit edilmiştir. Ancak MC'nin uygulandığı gruplarda defekt grubuna göre anlamlı bir yükseliş ile normal düzeye regüle olduğu saptanmıştır. MC uygulanan gruplardaki katalaz enzimindeki bu artış hücre oksidatif hasarı önlemek amacı ile antioksidan enzim sistemlerinde aktivite artışı ile ilişkili olduğunu göstermektedir. MC'nin uygulandığı gruplarda katalaz enzim seviyesindeki anlamlı yükseliş ile enzim seviyelerinin normale dönmesi göz önüne alındığında kemik onarımında iyi bir antioksidan olabileceği söylenebilir.

Yara dokusunda artan oksidatif stres iyileşmeyi engelleyen en önemli faktörlerden biridir ve kronik yaralarda oksidatif stres nedeniyle iyileşmenin bozulduğu bilinmektedir (91). Bizim çalışmamızda kemik dokusu onarımının MC uygulanan

gruplarda anlamlı derecede daha iyi onarımın meydana gelmesi oksidatif stresi azalttığını ve lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu aktivitesini göstermektedir. Ayrıca defekt grubunda kemik dokusunun diğer gruplara göre daha az onarım sergilemesi MC yokluğunda iyileşmenin uzaması ve oksidatif stresin koruyucu etkisinden yoksun kalması ile ilişkilendirilebilir.

Kırık iyileşmesinin biyolojik süreci karmaşık ve birçok faktörden doğrudan veya dolaylı olarak etkilenmektedir. Bunlar hastanın sağlık durumu, yaşı, beslenmesi vb. faktörler olabildiği gibi kırık stabilizasyonu ve travma şiddeti gibi faktörlerden de etkilenebilmektedir (24). Çalışmamızda kırık iyileşmesini etkileyebilecek diğer faktörleri engellemek amacıyla bu çalışma aynı şekilde beslenen aynı ortamda yaşayan ağırlıkları benzer aynı cins hayvanlar üzerinde yapılmıştır. Kırık stabilizasyonu ve travma şiddeti gibi faktörlerden etkilenmemesi için tüm ratlarda ortak protokol kullanılarak deneysel kırık modeli meydana getirilmiştir.

Akut kırıkların %5-10'unu oluşturan kaynamama kırıkları yaygın bir komplikasyondur. Bilimsel anlayış ve tedavi yöntemlerindeki gelişmelere rağmen, hala kırık kaynamama oranları büyük ölçüde değişmeden kalmıştır (92). Kırık iyileşme sürecini olumlu ve olumsuz etkileyen birçok çalışma yapılmış ve yeni çalışmalar yapılmaya devam etmektedir. Çalışmalarda uygulanan, üçüncü kuşak nitrojen içeren bisfosfonat olan zoledronik asit'in (93), Ankaferd BloodStopper (ABS) ile β -trikalsiyum fosfat (TCP) kombinasyonunun (94), profilaktik bir ajan olarak *Potentilla fulgens*'in (95), psoralen tedavisinin (96), polaprezinc (97), Src inhibitörü saracatinib'in (AZD0530) (98), depresif sıçanlarda fluoksetinin (99), D vitamini ve Silicon Chelates'in (100), helyum-neon lazerin (101), kırık onarımının erken fazında Glukozamin-Sülfat'ın (102), kobalt klorür (CoCl_2) tedavisinin (103), ghrelin tedavisinin (104), erken kırık iyileşmesinde insan amniyotik zarının (HAM) (105), kemik iliği mezenkimal kök hücrelerinin (BM-MSC'ler) ve trombosit zengin fibrinin (PRF) (106), Erektile disfonksiyon için kullanılan sildenafil sitratın (107), antioksidan α -tokoferolün (108), trombosit zengin plazmanın (PRP) (109), seçici olmayan periferik melatonin reseptörü (MT) agonistleri olan agomelatin ve ramelteonun (110), kemik iliği aspiratı (BMA) ve düşük seviyeli lazer tedavisinin (LLLT) (80), aralıklı pnömatik yumuşak doku kompresyonunun (111), *Prunus dulcis* özünü ile tedavinin (90) kemik iyileşmesi ve onarımında olumlu etkiler meydana

getirdiği bildirilmiştir. Ancak insülin yetmezliği, hiperglisemi ve oksidatif stres (112), kalsiyum sülfat dihidratın (KSD) (113), depresyonun (114), sigara dumanının (115) ise kemik gelişim ve onarımı üzerinde olumsuz etkilerinin olduğu bildirilmektedir. Bizim çalışmamızda MC'nin uygulandığı gruplarda histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak kemik onarımını anlamlı bir şekilde desteklediği tespit edilmiştir. MC'nin uygulandığı gruplarda sham grubuna göre osteoblastik aktivite ve osteosit gelişimi artarken osteoklastik aktivitenin azaldığı ve normal kontrol grubu seviyesine regüle edildiği tespit edilmiştir. MC'nin uygulandığı gruplarda osteopontin, osteonektin ekspresyonunun da pozitif olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca MC'nin 28 gün uygulanması kemik onarımının kontrol grubu seviyesine regüle edilmesinde daha etkili olabileceği saptanmıştır.

Osteoklast hücreleri kırık onarımı ve artrit ve tümör metastazı gibi hastalıklarda aktif çalışan hücrelerdir. Çalışmalarda bir belirteç olarak kullanılabilmektedir (116). Sağlıklı erkeklerde ağızdan temin edilebilen Src inhibitörü saracatinib'in (AZD0530) kemik döngüsü üzerindeki etkisinin incelendiği bir çalışmada insanlarda osteoklast fonksiyonu azaltacağı ve buna bağlı kemik rezorpsiyonunun da azalacağı bildirilmektedir (98). Profilaktik bir ajan olarak Potentilla fulgens'in sıçandaki tibial defektler üzerindeki etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada Potentilla fulgens ekstraktının yeni kemik oluşumunda koruyucu etki sağladığını ve kemik gelişimindeki önemli roller olan osteoblastlarda osteosit gelişimini ve matriks salgılanmasını desteklemektedir. Ayrıca 14. ve 28. gün bulguları arasında osteopontin ve osteonektinin ekspresyonu, osteoblast ve osteositlerin gelişimi üzerinde pozitif etki gösterdiği vurgulanmaktadır (95). Kemik iliği aspiratı (BMA) ve düşük seviyeli lazer tedavisinin (LLLT) kemik gelişimi üzerindeki etkisini inceleyen bir in vivo çalışmada osteopontin (OPN) ekspresyonu ağırlıklı olarak yeni oluşan kemiğin yüzeyinde yer alan yüksek sentez aktivitesi ile tutarlı morfoloji sergileyen osteoblastlarda ve bu dokunun kenarlarında yer alan osteositlerde gözlemlendiği söylenmektedir. Ayrıca OPN ekspresyonu ve VEGF, PCNA, Runx2, BMP-2, OPN ve OCN ekspresyonu geliştirilerek kemik iyileşmesini arttırabileceği söylenmektedir. Anjiyogenez, hücre proliferasyonu, osteoblast farklılaşması ve mineralizasyonu artırılmasıyla kemik iyileşmesine katkı sağladığı bildirilmiştir (80). Ganoderma lucidum'in kalvaryal kemik defekti üzerine etkisinin histolojik ve immünohistokimyasal olarak

incelenmesinde defekt grubunda osteoklast hücrelerinde artış osteoblast ve osteosit hücre sayısında azalma tespit edilmiştir. Ayrıca osteoklast hücrelerinde pozitif osteoblast hücrelerinde negatif ONC ekspresyonu görülürken inflamatuvar hücrelerde OPN artışı olduğu tespit edilmiş. Ganoderma lucidum ile tedavi edilen grupta ise osteoklast hücrelerinde azalma osteoblast ve osteosit hücre sayısında artış görülmüştür. Ayrıca Osteoblast, osteosit, osteonlarda pozitif OPN ekspresyonu ile osteoblastlarda, osteositlerde pozitif ONC ekspresyonu tespit edilmiştir (117). Sıçanlarda tibial kemik defektlerine uygulanan simvastatinin kemik rejenerasyonu üzerindeki histolojik ve immünohistokimyasal olarak inceleyen bir çalışmada defekt grubunda inflamasyon, kan damarlarında tıkanıklık ve osteoklast hücrelerinde artış görülmüştür. Simvastatin grubunda yeni kemik trabeküllerinde osteosit ve matriks oluşumu bulunmuştur. Kontrol grubunda OPN ve ONC ekspresyonu osteoklast hücrelerinde pozitif olduğu osteoblastlar ve bazı osteositlerde OPN pozitif reaksiyonunu görülmüştür. Simvastatin grubunda osteoblast ve osteosit hücrelerinde ONC ve OPN ekspresyonu pozitif, yeni kemik trabeküllerinde de osteon oluşumunda pozitif ekspresyonları izlenmiştir (53). Bizim çalışmamızda defekt grubunda trabeküler yapılarda düzensizlik ve bütünlük bozulmuş özellikle plazma hücreleri ve osteoklast hücrelerinde önemli derecede artış izlenmiştir. Osteoklastik aktivite de dejenerasyon ve yer yer bozulmalar inflamatuvar hücrelerde agregat ve soliter tarzda dağılmış yapısal özellikteki oluşumlar belirgin olarak saptanmıştır. Ayrıca kemiklerin periferinde yer alan ve özellikle osteoklastlarda pozitif osteopontin ekspresyonu gözlemlendi. Lökositlerde osteopontin ekspresyonu pozitifliği ana kemik hücresinde osteopontin pozitifliği izlendi. Defekt alanı içinde küçük parçacıklar şeklinde her ne kadar kemik oluşumları olsa da inflamasyonda oldukça belirgin artış izlenmiştir. Osteoklast hücrelerinde osteonektin ekspresyonu pozitif ve yeni oluşmaya başlamış küçük parçacıkların osteoblastlarında negatif etkileşme gösterdiği tespit edildi. MC uygulanan 4. grupta yeni oluşmaya başlamış kemik trabeküllerinin olgunlaşmaya başladığı gözlemlendi Bununla birlikte hem osteoblastik aktivitede hem de lakuna içinde yerleşmiş osteositlerde belirginleşme görüldü. Osteoklastlarda azalma gözlenirken inflamasyonda azalma dikkat çekiciydi. Osteoblast, osteositlerde osteopontin ekspresyonu belirginleştiği ve yeni kemik oluşumuna ait olan trabekül parçalarının da matriks salınımını hızlandırdığı görüldü. Defekt alanı içinde genişlemiş trabeküllerin

osteoblast hücrelerinde osteositlerde osteonektin ekspresyonu pozitif yer yer bazı alanlarda az sayıdaki osteoklast hücrelerinde pozitif osteonektin ekspresyonu görüldü. Lifsel yapıların çok belirginleşmeye başladığı ve yapısal bütünlüğü gelişmeye başladığı görülürken osteonektin ekspresyonu da pozitif tespit edilmiştir. İncelediğimiz ve kemik onarımını etkileyen bu parametrelere göre MC'nin 14 gün yerine 28 gün ve daha fazla uygulanması kemik onarımını daha fazla artırabileceği söylenebilir.

Kemik iyileşmesi biyokimyasal ve mekanik sinyallerle düzenlenen birçok hücrenin etkisi ile etkileşimini içermektedir (118). Karmaşık ve hassas bir fizyolojik süreç olan kırık iyileşmesinde başarılı restorasyon için hipoksinin ve anjiyogenezin hayati önem taşıdığı bildirilmektedir (118–120). Bir çalışmada vasküler yaralanma veya kompartman sendromu ile ilişkili tibia kırığı olan ratlarda iskeminin kırık iyileşmesi üzerindeki olası olumsuz etkileri melatonin ve kafeik asit fenetil ester (CAPE) ile ortadan kaldırılabilceği bildirilmiştir (121). Melatoninin hem osteogenezi hem de anjiyogenezi desteklediğini ve osteoporotik kemik defekti onarımını hızlandırdığını bildirmişlerdir (122). Çalışmamızda MC'nin uygulandığı grupta kan damarlarında dilatasyon ve kemik onarımındaki başarı göz önüne alındığında kemik onarımındaki hayati öneme sahip olan anjiyogeneze katkı sağladığı söylenebilir.

Teikoplaninin(antibiyotik) kırık iyileşmesi üzerine etkisini stereolojik ve histopatolojik olarak inceleyen bir çalışmada teikoplaninin vaskülarizasyonu ve bağ dokusunu arttırdığı gözlemlenmiştir. Ayrıca antibakteriyel etkisi olduğu bilinen Teikoplanin enfeksiyona eşlik eden kemik defektlerinin tedavisinde güvenle kullanılabilceği bildirilmiştir (123). Non-steroid antiinflamatuvar (NSAİİ) ilaçlar hayvan modellerinde kırıklardan sonra gecikmiş kaynama ve kaynamama gelişiminde rol oynamaktadır. NSAİİ ilaçlar sınıfından olan Tenoksikamın kırık iyileşmesini olumsuz etkilediği belirtilmektedir (124). Başka bir deneysel çalışmada sıçanlarda sistemik levofloksasin ve sefalekssin uygulamasının kırık iyileşmesi üzerindeki olası olumsuz etkileri nedeniyle, kemik kırıklarının cerrahi tedavisinden sonra 1 haftadan fazla reçete edilmemesi önerildiği bildirilmektedir (125). Pıhtılaşma önleyici olarak kullanılan aspirin nonsteroid antiinflamatuvar bir ilaçtır. Birçok araştırmada kullanılan aspirin defekt alanındaki osteoklastlarda, osteoblastlarda ve onların progenitör hücrelerinde sitokinleri ve bazı aracıları aktive ederek kemik rejenerasyonunu teşvik

edebileceği söylenmektedir. Kemik kırığı onarımında önemli olan anjiyogenezi endotel hücrelerinin göçünü artırarak uyardığı bildirilmektedir (126). Çalışmamızda MC'nin defekt onarımındaki etkinliğini daha sağlıklı inceleyebilmek için kırık onarımındaki inflamatuvar yanıtı ve kemik onarımındaki iyileşmeyi olumlu veya olumsuz etkileyebilecek herhangi bir ilaç kullanılmamıştır.

Sinir sistemi kemiğin büyümesi ve onarılması üzerinde önemli etkiye sahip olduğu söylenmektedir. İnervasyon kırık iyileşmesinde düzenleyici bir etkiye sahiptir. Sinir yaralanmasında kırık kemikte mekanik açıdan dayanıksız ve zayıf kallus oluşmakta ayrıca daha küçük kallus boyutlarının oluşmasına sebep olmaktadır. Yapılan bir araştırmada hiperbarik oksijen tedavisi (HBO) tedavisi ile sinir yaralanması sonucu kemiğin mekanik özellikleri de dahil olmak üzere, kırık iyileşmesi üzerine olumsuz etkilerinin sınırlandırılabilceği bildirilmektedir (127). Siyatik sinir rezeksiyonunun tibia kırığı iyileşmesindeki etkisinin in vivo olarak araştırıldığı bir çalışmada kırık iyileşmesinin olumsuz etkilenebileceği bildirilmiştir (128). Botulinum toksini-A lokal enjeksiyonunun neden olduğu kısa süreli kas atrofisi, sıçan femurunda kırık iyileşmesini olumsuz etkilediği bildirilmiştir (129). Kasların kullanılması sonucu yüksek vaskülarite ve bölgesel kan dolaşımına katkısına kemik onarımı için faydalı olduğu söylenmektedir. Ayrıca kas progenitörlerinin doğrudan kemik iyileşmesine katkıda bulunabileceği bildirilmiştir (130). Bizim çalışmamızda tibial defekt meydana getirilme aşamasında ilgili bölgedeki kasların uyarılmasında etkili olan mevcut sinirlere dikkat edilerek oluşacak denervasyonlar ekarte edilmiştir.

7. SONUÇ

Çalışmamızda MC'nin uygulandığı gruplarda sham grubuna göre MDA ve CAT düzeylerini kontrol grubu düzeyine regüle ettiği için iyi bir antioksidan olabileceği ve oksidan-antioksidan bozukluğun regülasyonu ile lipit peroksidasyonuna karşı kemik dokusu üzerinde koruyucu etkisinin olduğu söylenebilir. Ayrıca MC'nin uygulandığı gruplarda sham grubuna göre MPO düzeylerini kontrol grubu düzeyine regüle ettiği için anti-inflamatuar etkisi ile kemik dokusunu olumlu yönde destekleyebileceği söylenebilir. Bu da MC'nin antiinflamatuvar ve antioksidan aktiviteler gösterdiği in vitro çalışmaları desteklemektedir.

Kırık iyileşmesinin biyolojik süreci karmaşık ve birçok faktörden doğrudan veya dolaylı olarak etkilenmektedir. Literatüre destek olmak amacıyla kemik onarımı üzerinde yapılan birçok çalışmaya ek olarak MC'nin kemik onarımı üzerindeki olumlu etki oluşturabildiği bulunmuştur. Ancak bu sonuçların desteklenmesi veya daha detaylı araştırılması için daha fazla ve kapsamlı çalışmalar gerekmektedir.

8. KAYNAKLAR

1. Baloglu M, Özkorkmaz EG. Biochemical and immunohistochemical investigations on bone formation and remodelling in ovariectomised rats with tamoxifen citrate administration. *Folia Morphol.* 2019;78(4):789-97.
2. Kelm RJ, Swords NA, Orfeo T, Mann KG. Osteonectin in matrix remodeling. A plasminogen-osteonectin-collagen complex. *J Biol Chem.* 1994;269(48):30147-53.
3. Walters G, Pountos I, Giannoudis PV. The cytokines and micro-environment of fracture haematoma: Current evidence. *J Tissue Eng Regen Med.* 2018;12(3):e1662-77.
4. Kılıçoğlu SS. Mikroskopi düzeyinde kırık iyileşmesi. *J Ankara Üniv Fac Med.* 2002; (2):143-150
5. Grover JK, Yadav SP. Pharmacological actions and potential uses of *Momordica charantia*: a review. *J Ethnopharmacol.* 2004;93(1):123-32.
6. Güvenalp, Z. Kudret Narı *Momordica charantia*, FDD Monografı, Editörler: Demirezer Ö.; Ersöz, T.; Saraçoğlu, İ.; Şener, B., Medikal & Nobel Tıp Kitabevi, 2011; s: 403-415.
7. Basch E, Gabardi S, Ulbricht C. Bitter melon (*Momordica charantia*): a review of efficacy and safety. *Am J Health Syst Pharm.* 2003;60(4):356-9.
8. Baykal B. Histoloji konu anlatımı ve atlas. Palme Yayın Ank. 2014;676.
9. Arıncı K, Elhan A. Anatomi: Kemikler, Eklemler, Kaslar, İç organlar. 6. bs. C. 1. Akara: Güneş Tıp Kitabevleri; 2016; s:1-69
10. Junqueira LCU, Carneiro J, Aytekin Y, Solakoğlu S. Temel histoloji: text & atlas. Nobel Tıp Kitabevleri; 2009; s:130-160

11. Hall JE. Guyton ve Hall tıbbi fizyoloji (13. Baskı). Ank Güneş Tıp Kitabevleri. 2016; s: 950-998
12. Unur E, Ülger H, Ekinçi N. Anatomi. 5. bs. Akara: Kıvılcım Kitabevi; 2015; s:5-95
13. Ono T, Nakashima T. Recent advances in osteoclast biology. *Histochem Cell Biol.* 2018;149(4):325-41.
14. Asagiri M, Takayanagi H. The molecular understanding of osteoclast differentiation. *Bone.* 2007;40(2):251-64.
15. Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL. Osteoclast differentiation and activation. *Nature.* 2003;423(6937):337-42.
16. Tsukasaki M, Takayanagi H. Osteoclast biology in the single-cell era. *Inflamm Regen.* 2022;42(1):1-9.
17. McDonald MM, Kim AS, Mulholland BS, Rauner M. New insights into osteoclast biology. *JBMR Plus.* 2021;5(9):e10539.
18. de Vries TJ, Mullender MG, van Duin MA, Semeins CM, James N, Green TP, et al. The Src inhibitor AZD0530 reversibly inhibits the formation and activity of human osteoclasts. *Mol Cancer Res.* 2009;7(4):476-88.
19. Duvall CL, Taylor WR, Weiss D, Wojtowicz AM, Guldborg RE. Impaired angiogenesis, early callus formation, and late stage remodeling in fracture healing of osteopontin-deficient mice. *J Bone Miner Res.* 2007;22(2):286-97.
20. Hou P, Sun Y, Yang W, Wu H, Sun L, Xiu X, et al. Magnesium promotes osteogenesis via increasing OPN expression and activating CaM/CaMKIV/CREB1 pathway. *J Biomed Mater Res.* 2022;110:1594–1603
21. Pacifici M, Oshima O, Fisher LW, Young MF, Shapiro IM, Leboy PS. Changes in osteonectin distribution and levels are associated with mineralization of the chicken tibial growth cartilage. *Calcif Tissue Int.* 1990;47(1):51-61.

22. Sivaraj KK, Majev PG, Jeong HW, Dharmalingam B, Zeuschner D, Schröder S, et al. Mesenchymal stromal cell-derived septoclasts resorb cartilage during developmental ossification and fracture healing. *Nat Commun.* 2022;13(1):1-16.
23. Hadjiargyrou M. Effects of bisphosphonates on appendicular fracture repair in rodents. *Bone.* 2022;116542.
24. Giganti MG, Tresoldi I, Masuelli L, Modesti A, Grosso G, Liuni FM, et al. Fracture healing: from basic science to role of nutrition. *Front Biosci-Landmark.* 2014;19(7):1162-75.
25. Maes C. Role and regulation of vascularization processes in endochondral bones. *Calcif Tissue Int.* 2013;92(4):307-23.
26. Anilakumar KR, Kumar GP, Ilaiyaraja N. Nutritional, pharmacological and medicinal properties of *Momordica charantia*. *Int J Nutr Food Sci.* 2015;4(1):75-83.
27. Arslanoğlu F, Hendekçi A. A research on grown of bitter melon (*Momordica charantia* L.) in mild climate condition. *Bibad Biyol Bilim Araştırma Derg.* 2012;5(2):1-5.
28. Kumar DS, Sharathnath KV, Yogeswaran P, Harani A, Sudhakar K, Sudha P, et al. A medicinal potency of *Momordica charantia*. 2010; p:95-100
29. Megala S, Radha R, Nivedha M. Review On *Momordica Charantia* Linn. *World J Pharm Pharm Sci.* 2019;8(4):247-60.
30. Shethi KJ, Doty MK, Liza SJ, Rashid P. Anatomical study of *Momordica charantia* L. from Bangladesh. *Dhaka Univ J Biol Sci.* 2018;27(1):69-74.
31. Dandawate PR, Subramaniam D, Padhye SB, Anant S. Bitter melon: a panacea for inflammation and cancer. *Chin J Nat Med.* 2016;14(2):81-100.

32. Batool R, Yasmin I, Munawar I, Aziz M, Tehseen S, Khan WA, et al. Evaluation of a Bitter Gourd protein isolate in a cookie formulation. *Int J Veg Sci.* 2021;27(5):480-95.
33. Cighetti G, Duca L, Bortone L, Sala S, Nava I, Fiorelli G, et al. Oxidative status and malondialdehyde in β -thalassaemia patients. *Eur J Clin Invest.* 2002;32:55-60.
34. Sreejai R, Jaya DS. Studies on the changes in lipid peroxidation and antioxidants in fishes exposed to hydrogen sulfide. *Toxicol Int.* 2010;17(2):71.
35. Valko M, Rhodes CJB, Moncol J, Izakovic MM, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact.* 2006;160(1):1-40.
36. Sağlam F. Serbest Radikaller ve Bazı Hastalıklarla İlişkisi. *Beslenme Ve Diyet Derg.* 1995;24(2):303-12.
37. de Zwart LL, Meerman JH, Commandeur JN, Vermeulen NP. Biomarkers of free radical damage: applications in experimental animals and in humans. *Free Radic Biol Med.* 1999;26(1-2):202-26.
38. Yildirim M, Inaloz HS, Baysal V, Delibas N. The role of oxidants and antioxidants in psoriasis. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2003;17(1):34-6.
39. Vardi N, Parlakpınar H, Ozturk F, Ates B, Gul M, Cetin A, et al. Potent protective effect of apricot and β -carotene on methotrexate-induced intestinal oxidative damage in rats. *Food Chem Toxicol.* 2008;46(9):3015-22.
40. Özşahin AD, Yılmaz Ö, Tuzcu M. Oksidatif strese maruz kalan ratların eritrositlerinde lipid peroksidasyonu oluşumu üzerine meyve fenolik bileşiklerinin koruyucu rolü. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilim Vet Derg.* 2011;25(1):37-41.

41. Doğan G, İpek H. The protective effect of *Ganoderma lucidum* on testicular torsion/detorsion-induced ischemia-reperfusion (I/R) injury. *Acta Cirúrgica Bras.* 2020;35.
42. Nauseef WM. Biosynthesis of human myeloperoxidase. *Arch Biochem Biophys.* 2018;642:1-9.
43. Nussbaum C, Klinke A, Adam M, Baldus S, Sperandio M. Myeloperoxidase: a leukocyte-derived protagonist of inflammation and cardiovascular disease. *Antioxid Redox Signal.* 2013;18(6):692-713.
44. Galijasevic S, Abdulhamid I, Abu-Soud HM. Melatonin is a potent inhibitor for myeloperoxidase. *Biochemistry.* 2008;47(8):2668-77.
45. Pabuçcuoğlu A, Konyalıoğlu S, Baş M, Meral GE. The in vitro effects of *Hypericum* species on human leukocyte myeloperoxidase activity. *J Ethnopharmacol.* 2003;87(1):89-92.
46. Weng M, Yue Y, Wu D, Zhou C, Guo M, Sun C, et al. Increased MPO in Colorectal Cancer Is Associated With High Peripheral Neutrophil Counts and a Poor Prognosis: A TCGA With Propensity Score-Matched Analysis. *Front Oncol.* 2022;12.
47. Kaya MG, Yalçın R, Okyay K, Poyraz F, Bayraktar N, Timurkaynak T, ve ark.. ST yükselmesi olan akut miyokard infarktüsünde plazma miyeloperoksidaz enzim düzeyleri ile koroner arter hastalığı yaygınlığı ve erken prognoz ilişkisi. *Tıp Araştırmaları Derg.* 2005;3(3):27-31.
48. Kirit A, Mesut I. Serum Katalaz, Miyeloperoksidaz ve Paraoksonaz 1 Üzerine Bazı Bitki Ekstraktlarının In Vitro Etkisi. *Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Derg.* 2020;17(1):127-32.
49. Aslankoç R, Demirci D, Ümmahan İ, Yıldız M, Öztürk A, Çetin M, ve ark. Oksidatif stres durumunda antioksidan enzimlerin rolü-Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPX). *SDÜ Tıp Fakültesi Derg.* 2019;26(3):362-9.

50. Ighodaro OM, Akinloye OA. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alex J Med.* 2018;54(4):287-93.
51. Simsek F. Serbest oksijen radikalleri, antioksidanlar ve lipid peroksidasyonu. *Türkiye Klin J Pediatr.* 1999;8(1):42-7.
52. Goyal MM, Basak A. Human catalase: looking for complete identity. *Protein Cell.* 2010;1(10):888-97.
53. Laçın N, İzol BS, Özkorkmaz EG, Deveci B, Tuncer MC. The effect of graft application and simvastatin treatment on tibial bone defect in rats. A histological and immunohistochemical study. *Acta Cirúrgica Bras.* 2019;34(4):e201900408
54. Laçın N, İzol BS, Özkorkmaz EG, Deveci B, Deveci E. Effects of alloplastic graft material combined with a topical ozone application on calvarial bone defects in rats. *Folia Morphol.* 2020;79(3):528-47.
55. Özevren H, İrtegün S, Deveci E, Aşır F, Pektanç G, Deveci Ş. Ganoderma Lucidum Protects Rat Brain Tissue Against Trauma-Induced Oxidative Stress. *Korean J Neurotrauma.* 2017;13(2):76-84.
56. Özevren H, Deveci E, Tuncer MC. Histopathological changes in the choroid plexus after traumatic brain injury in the rats: a histologic and immunohistochemical study. *Folia Morphol.* 2018;77(4):642-8.
57. Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol.* Academic press. 1984; 105: 121-6.
58. Wachtel-Galor S, Benzie IFF. An Introduction to Its History, Usage, Regulation, Current Trends, and Research Needs In Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects. CRC Press/Taylor and Francis Group, LLC; 2011.
59. Ekor M. The growing use of herbal medicines: issues relating to adverse reactions and challenges in monitoring safety. *Front Pharmacol.* 2014;4:177.

60. Doosti-Moghaddam M, Miri HR, Ghahghaei A, Hajinezhad MR, Saboori H. Effect of unripe fruit extract of *Momordica charantia* on total cholesterol, total triglyceride and blood lipoproteins in the blood of rats with hyperlipidemia. *Cell Mol Biomed Rep.* 2022;2(2):74-86.
61. Yang YS, Wu NY, Kornelius E, Huang CN, Yang NC. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial to evaluate the hypoglycemic efficacy of the mcIRBP-19-containing *Momordica charantia* L. fruit extracts in the type 2 diabetic subjects. *Food Nutr Res.* 2022;66:3685.
62. Cortez-Navarrete M, Martinez-Abundis E, Perez-Rubio KG, Gonzalez-Ortiz M, Méndez-del Villar M. *Momordica charantia* administration improves insulin secretion in type 2 diabetes mellitus. *J Med Food.* 2018;21(7):672-7.
63. Peter EL, Kasali FM, Deyno S, Mtewa A, Nagendrappa PB, Tolo CU, et al. *Momordica charantia* L. lowers elevated glycaemia in type 2 diabetes mellitus patients: Systematic review and meta-analysis. *J Ethnopharmacol.* 2019;231:311-24.
64. Liu Z, Gong J, Huang W, Lu F, Dong H. The effect of *Momordica charantia* in the treatment of diabetes mellitus: A review. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2021; p:1-14
65. Xu B, Li Z, Zeng T, Zhan J, Wang S, Ho CT, et al. Bioactives of *Momordica charantia* as Potential Anti-Diabetic/Hypoglycemic Agents. *Molecules.* 2022;27(7):2175.
66. Fisher L. Retraction: Structural characterization of *Momordica charantia* L.(Cucurbitaceae) oligopeptides and the detection of their capability in non-small cell lung cancer A549 cells: induction of apoptosis. *RSC Adv.* 2022;12(19):11612-11612.
67. Dong J, Zhang X, Qu C, Rong X, Liu J, Qu Y. Structural characterization of *Momordica charantia* L.(Cucurbitaceae) oligopeptides and the detection of their

capability in non-small cell lung cancer A549 cells: induction of apoptosis. RSC Adv. 2019;9(15):8300-9.

68. Zeng L, Chen M, Ahmad H, Zheng X, Ouyang Y, Yang P, et al. Momordica charantia Extract Confers Protection Against Hypertension in Dahl Salt-Sensitive Rats. Plant Foods Hum Nutr. 2022;1-10.
69. Cui WW, Ye C, Wang KX, Yang X, Zhu PY, Hu K, et al. Momordica. charantia-Derived Extracellular Vesicles-Like Nanovesicles Protect Cardiomyocytes Against Radiation Injury via Attenuating DNA Damage and Mitochondria Dysfunction. Front Cardiovasc Med. 2022;9:864188.
70. Frota C do PL, Ribeiro AC, Calil Filho MTA, de Freitas Morel LJ, Ramalho LNZ, Amaral JC, et al. Momordica charantia L. improves airway hyperresponsiveness and suppresses inflammation in a murine model of allergic asthma. Allergol Immunopathol (Madr). 2022;50(2):115-23.
71. Ji S, Zhang Q. Momordica charantia polysaccharides alleviate diarrhea-predominant irritable bowel syndrome by regulating intestinal inflammation and barrier via NF- κ B pathway. Allergol Immunopathol (Madr). 2022;50(3):62-70.
72. Cai H, Huang LY, Hong R, Song JX, Guo XJ, Zhou W, et al. Momordica charantia Exosome-Like Nanoparticles Exert Neuroprotective Effects Against Ischemic Brain Injury via Inhibiting Matrix Metalloproteinase 9 and Activating the AKT/GSK3 β Signaling Pathway. Front Pharmacol. 2022;13:908830.
73. Singh V, Kaur R, Devashree Y, Kaur D, Gupta S. In vitro Antimicrobial Activity of Cucumis L. and Momordica L. against Human Pathogens. Dokl Biol Sci Proc Acad Sci USSR Biol Sci Sect. 2022;504(1):85-93.
74. Liao PY, Lo HY, Liu IC, Lo LC, Hsiang CY, Ho TY. Correction: The novel anti-inflammatory activity of mclRBP from Momordica charantia is associated with the improvement of diabetic nephropathy. Food Funct. 2022;13(3):1681.
75. Abu Bakar N 'Ain, Hakim Abdullah MN, Lim V, Yong YK. Gastroprotective Effect of Polypeptide-K Isolated from Momordica charantia's Seeds on Multiple

Experimental Gastric Ulcer Models in Rats. Evid-Based Complement Altern Med. Ecam. 2022; p:1-11

76. Yuan MK, Kao JW, Wu WT, Chen CR, Chang CI, Wu YJ. Investigation of cell cytotoxic activity and molecular mechanism of 5 β ,19-epoxycucurbita-6,23(E)-diene-3 β ,19(R),25-triol isolated from *Momordica charantia* on hepatoma cells. Pharm Biol. 2022;60(1):1214-23.
77. Lee YT, Pao LH, Chen CY, Huang SQ, Kumaran A, Chyuan JH, et al. Microwave- and Ultrasound-Assisted Extraction of Cucurbitane-Type Triterpenoids from *Momordica charantia* L. Cultivars and Their Antiproliferative Effect on SAS Human Oral Cancer Cells. Foods Basel Switz. 2022;11(5):729.
78. Sur S, Ray RB. Diverse roles of bitter melon (*Momordica charantia*) in prevention of oral cancer. J Cancer Metastasis Treat. 2021;7:12.
79. Sagástegui-Guarniz WA, Silva-Correa CR, Torre Vevl, González-Blas MV, Sagástegui-Guarniz WO, Calderón-Peña AA, et al. Wound healing by topical application of *Momordica charantia* L. formulations on mice. Vet World. 2021;14(10):2699-704.
80. Singh SK, Singh S, Singh R. Targeting novel coronavirus SARS-CoV-2 spike protein with phytoconstituents of *Momordica charantia*. J Ovarian Res. 2021;14(1):126.
81. Lee KS, Kim HP, Park HJ, Yoon YG. Improvement of testosterone deficiency by fermented *Momordica charantia* extracts in aging male rats. Food Sci Biotechnol. 2021;30(3):443-54.
82. Kandhari K, Paudel S, Raina K, Agarwal C, Kant R, Wempe MF, et al. Comparative Pre-clinical Efficacy of Chinese and Indian Cultivars of Bitter Melon (*Momordica charantia*) against Pancreatic Cancer. J Cancer Prev. 2021;26(4):266-76.
83. Arvidson K, Abdallah BM, Applegate LA, Baldini N, Cenni E, Gomez-Barrena E, et al. Bone regeneration and stem cells. J Cell Mol Med. 2011;15(4):718-46.

84. Merlotti D, Mingiano C, Valenti R, Cavati G, Calabrese M, Pirrotta F, et al. Bone Fragility in Gastrointestinal Disorders. *Int J Mol Sci.* 2022;23(5):2713.
85. Marsell R, Einhorn TA. Emerging bone healing therapies. *J Orthop Trauma.* 2010;24:S4-8.
86. Ogwang PE, Umba Tolo C, Duncan S. *Momordica charantia* L. lowers elevated glycaemia in type 2 diabetes mellitus patients: Systematic review and meta-analysis. 2018; p:311-329
87. Daştan B, Hintistan S. Tatlı Kemikler: Diabetes Mellitus’ un Kemik Sağlığına Etkisi. *Dokuz Eylül Üniversitesi Hemşire Fakültesi Elektronik Derg.* 2022;15(2):240-5.
88. Rathinavelu S, Guidry-Elizondo C, Banu J. Molecular modulation of osteoblasts and osteoclasts in type 2 diabetes. *J Diabetes Res.* 2018; p:1-11
89. Greenhill C. Formation of blood vessels in bone maturation and regeneration. *Nat Rev Endocrinol.* 2014;10(5):250-250.
90. Anaraki N, Beyraghi AH, Raisi A, Davoodi F, Farjanikish G, Sadegh AB. The effect of aqueous extract of *Prunus dulcis* on tibial bone healing in the rabbit. *J Orthop Surg.* 2021;16(1):1-11.
91. Ozler M, Simsek K, Ozkan C, Akgul EO, Topal T, Oter S, et al. Comparison of the effect of topical and systemic melatonin administration on delayed wound healing in rats that underwent pinealectomy. *Scand J Clin Lab Invest.* 2010;70(6):447-52.
92. Panteli M, Vun JS, Pountos I, J Howard A, Jones E, Giannoudis PV. Biological and molecular profile of fracture non-union tissue: A systematic review and an update on current insights. *J Cell Mol Med.* 2022;26(3):601-23.
93. Koparal M, Gülsün B, Deveci E, Agacayak KS, Hamidi A. Effect of Zoledronic Acid Application on Different Graft Materials in Calvarial Bone Defect Models.

- An Experimental Analysis. *Anal Quant Cytopathol Histopathol*. 2016;38(2):117-25.
94. Tanik A, Doğru AG, Akpolat V, Kaya FA, Sarıbaş E, Gül M, et al. Investigation of the effect of combined use of alloplastic-based tricalcium phosphate bone graft and antihemorrhagic plant extract (ABS) on bone regeneration in surgically induced bone defects in nondiabetic rats: an experimental animal study. *Turk J Med Sci*. 2018;48(6):1302-14.
 95. Koparal M, Irtegün S, Alan H, Deveci E, Gülsün B, Seker U. Effects of *Potentilla fulgens* as a Prophylactic Agent in Tibial Defects in Rats. *Anal Quant Cytopathol Histopathol*. 2016;38(2):111-6.
 96. Zhang T, Han W, Zhao K, Yang W, Lu X, Jia Y, et al. Psoralen accelerates bone fracture healing by activating both osteoclasts and osteoblasts. *Faseb J*. 2019;33(4):5399-410.
 97. Ko E, Park YJ, Yoon DS, Lee KM, Kim J, Jung S, et al. Drug repositioning of polaprezinc for bone fracture healing. *Commun Biol*. 2022;5(1):1-11.
 98. Hannon RA, Clack G, Rimmer M, Swaisland A, Lockton JA, Finkelman RD, et al. Effects of the Src kinase inhibitor saracatinib (AZD0530) on bone turnover in healthy men: a randomized, double-blind, placebo-controlled, multiple-ascending-dose phase I trial. *J Bone Miner Res*. 2010;25(3):463-71.
 99. Özbay H, Atçı T, Adanır O, Alagöz E, Çay T. Effects of social stress and fluoxetine treatment on fracture healing in a rat femur fracture model. *Injury*. 2022;53(2):362-7.
 100. Bychkov A, Koptev V, Zaharova V, Reshetnikova P, Trofimova E, Bychkova E, et al. Experimental Testing of the Action of Vitamin D and Silicon Chelates in Bone Fracture Healing and Bone Turnover in Mice and Rats. *Nutrients*. 2022;14(10):1992.

101. Peccin MS, De Oliveira F, Muniz Renno AC, Pacheco de Jesus GP, Pozzi R, Gomes de Moura CF, et al. Helium–neon laser improves bone repair in rabbits: Comparison at two anatomic sites. *Lasers Med Sci.* 2013;28(4):1125-30.
102. Ugras A, Guzel E, Korkusuz P, Kaya I, Dikici F, Demirbas E, et al. Glucosamine-sulfate on fracture healing. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg.* 2013;19 (1):8-12
103. Huang J, Liu L, Feng M, An S, Zhou M, Li Z, et al. Effect of CoCl₂ on fracture repair in a rat model of bone fracture. *Mol Med Rep.* 2015;12(4):5951-6.
104. Erener T, Ceritoğlu KU, Aktekin CN, Dalgic AD, Keskin D, Geneci F, et al. Investigation of the effect of ghrelin on bone fracture healing in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2021;48(10):1382-90.
105. Sarı E, Yalçınözan M, Polat B, Özkayalar H. The effects of cryopreserved human amniotic membrane on fracture healing: Animal study. *Acta Orthop Traumatol Turc.* 2019;53(6):485-9.
106. Rady, D., Mubarak, R., & Moneim, R. A. A. Healing capacity of bone marrow mesenchymal stem cells versus platelet-rich fibrin in tibial bone defects of albino rats: an in vivo study. *F1000Research*, 2018; 7(1573).
107. Yaman F, Atılğan S, Günes N, Ağacayak S, Günay A, Ucan MC, et al. Phosphodiesterase-5 inhibitors may facilitate bone defect recovery. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2011;15(11):1301-5.
108. Turk CY, Halici M, Guney A, Akgun H, Sahin V, Muhtaroglu S. Promotion of fracture healing by vitamin E in rats. *J Int Med Res.* 2004;32(5):507-12.
109. Simman R, Hoffmann A, Bohinc RJ, Peterson WC, Russ AJ. Role of platelet-rich plasma in acceleration of bone fracture healing. *Ann Plast Surg.* 2008;61(3):337-44.
110. Köse D, Köse A, Halıcı Z, Gürbüz MA, Aydın A, Ugan RA, et al. Do peripheral melatonin agonists improve bone fracture healing? The effects of agomelatine

and ramelteon on experimental bone fracture. *Eur J Pharmacol.* 2020;887:173577.

111. Diwu W, Hu G, Zhou M, Bi L, Yan M, Wei H, et al. Effects of different intensities of intermittent pneumatic soft-tissue compression on bone defect repair. *BMC Musculoskelet Disord.* 2022;23(1):1-8.
112. Kayal RA, Siqueira M, Alblowi J, McLean J, Krothapalli N, Faibish D, et al. TNF- α mediates diabetes-enhanced chondrocyte apoptosis during fracture healing and stimulates chondrocyte apoptosis Through Foxo1. *J Bone Miner Res.* 2010;25(7):1604-15.
113. Şener N, Akman Ş, Göğüş A, Bilgiç B. Sıçan tibia diafiz kırıklarında kalsiyum sülfatın kırık iyileşmesi üzerine etkileri. *Acta Ortop Traumatol Turc* 2001; 35: 431–437.
114. Nie C, Wang Z, Liu X. The effect of depression on fracture healing and osteoblast differentiation in rats. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2018; 14:1705.
115. Kallala R, Barrow J, Graham SM, Kanakaris N, Giannoudis PV. The in vitro and in vivo effects of nicotine on bone, bone cells and fracture repair. *Expert Opin Drug Saf.* 2013;12(2):209-33.
116. Odgren PR, Witwicka H, Reyes-Gutierrez P. The cast of clasts: catabolism and vascular invasion during bone growth, repair, and disease by osteoclasts, chondroclasts, and septoclasts. *Connect Tissue Res.* 2016;57(3):161-74.
117. Laçın N, İzol SB, İpek F, Tuncer MC. *Ganoderma lucidum*, a promising agent possessing antioxidant and anti-inflammatory effects for treating calvarial defects with graft application in rats. *Acta Cir Bras.* 2019;34.
118. Geris L, Gerisch A, Vander Sloten J, Weiner R, Van Oosterwyck H. Angiogenesis in bone fracture healing: a bioregulatory model. *J Theor Biol.* 2008;251(1):137-58.

119. Keramaris NC, Calori GM, Nikolaou VS, Schemitsch EH, Giannoudis PV. Fracture vascularity and bone healing: a systematic review of the role of VEGF. *Injury*. 2008;39:S45-57.
120. Portal Núñez S, Lozano D, Esbrit P. Role of angiogenesis on bone formation. *Histol Histopathol*. 2012; 27: 559-566
121. Erdem M, Gulabi D, Murat A, Bostan B, Gunes T, Koseoglu RD. The effects of melatonin and caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on fracture healing under ischemic conditions. *Acta Orthop Traumatol Turc*. 2014;48(3):339-45.
122. Zheng S, Zhou C, Yang H, Li J, Feng Z, Liao L, et al. Melatonin Accelerates Osteoporotic Bone Defect Repair by Promoting Osteogenesis–Angiogenesis Coupling. *Front Endocrinol*. 2022;13.
123. Göçer H, Önger ME, Kuyubaşı N, Çıraklı A, Kır MÇ. The effect of teicoplanin on fracture healing: an experimental study. *Jt Dis Relat Surg*. 2016;27(1):016-21.
124. Giordano V, Giordano M, Knackfuss IG, Apfel MIR, Gomes RDC. Effect of tenoxicam on fracture healing in rat tibiae. *Injury*. 2003;34(2):85-94.
125. Golestani S, Golestaneh A, Gohari AA. Comparative effects of systemic administration of levofloxacin and cephalexin on fracture healing in rats. *J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg*. 2022;48(2):94.
126. Fattahi R, Khani MM, Soleimani M, Hosseinzadeh S. Aspirin effect on bone remodeling and skeletal regeneration. *Tissue Cell*. 2022;101753.
127. Tuncel Ş, Ozan F, Aydın F, Yıldız H, Bora OA. Denerve sıçan femurunda hiperbarik oksijen tedavisinin kırık iyileşmesi üzerine etkisi. *Ege Tıp Derg*. 2013;52(1):20-6.
128. Nordsletten L, Madsen JE, Almaas R, Rootwelt T, Halse J, Kontinen YT, et al. The neuronal regulation of fracture healing: effects of sciatic nerve resection in rat tibia. *Acta Orthop Scand*. 1994;65(3):299-304.

129. Hao Y, Ma Y, Wang X, Jin F, Ge S. Short-term muscle atrophy caused by botulinum toxin-A local injection impairs fracture healing in the rat femur. *J Orthop Res.* 2012;30(4):574-80.
130. Liu R, Schindeler A, Little DG. The potential role of muscle in bone repair. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2010;10(1):71-6.





TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

9. ÖZGEÇMİŞ

Adı	Zeynettin	Soyadı	KASIRGA
Doğum Yeri		Doğum Tarihi	
Uyruğu		Tel	
E-posta			

EĞİTİM DÜZEYİ

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Tezli Yüksek Lisans		
Lisans		
Lise		

İŞ DENEYİMİ

Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1		

Yabancı Dil Sınav Notu								
ÜDS/YDS	YÖKDİL	TIPDİL	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı			
(Diğer) Puanı			

10. EKLER

10.1. Ek-1. Etik Kurul Raporu

T.C. DİCLE ÜNİVERSİTESİ PROF.DR. SABAHATTİN PAYZIN SAĞLIK BİLİMLERİ ARAŞTIRMA VE UYGULAMA MERKEZİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU (DÜHADEK)					
ETİK KURULU KARARI					
TOPLANTI TARİHİ	09/12/2020	KARAR NO	3	TOPLANTI SAYISI	8
KARAR : Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi ABD Prof. Dr. M. Cudi TUNCER' in yürütücüsü olduğu, Doktora Öğrencisi Zeynettin KASIRGA, Prof. Dr. Engin DEVECİ, Arş. Gör. Fırat AŞIR' ın yardımcı araştırmacı olarak yer aldığı, "Sıçanlarda Oluşturulan Tibial Defekt Hasarı Üzerine Kudret Narı'nın (Momordica charantia) Etkilerinin Araştırılması." başlıklı ve 2020/37 protokol numaralı çalışma; Etik kurulumuzca görüşülmüş olup, daha önceden belirtilen eksikler/düzeltilmeler yapılmış olduğu, başkan ve raportör tarafından görülerek uygun olduğuna karar verilmiştir.					
Deney Hayvanının	Türü	Cinsiyeti	Sayısı	Yaşı	
	Sprague Dawley	Erkek	32	12 Hafta, 250-300 gr	
KATILIMCILARIN					
ÜNVANI	ADI SOYADI	GÖREVİ	İMZA		
Prof. Dr.	Beran YOKUŞ	(BAŞKAN)			
Prof. Dr.	Ayşe MEŞE	(ÜYE)			
Doç. Dr.	Selçuk TUNİK	(ÜYE)			
Doç. Dr.	Ramazan DEMİREL	(ÜYE)			
Doç. Dr.	Mehmet Erdem AKBALIK	(ÜYE)			
Doç. Dr.	Mehmet Hüseyin ALKAN	(ÜYE)			
Doç. Dr.	Ulaş ALABALIK	(ÜYE)			
Doç. Dr.	Feray ALTAN	(ÜYE)			
Doç. Dr.	Elif VARHAN ORAL	(ÜYE)			
Dr. Öğr. Üyesi	Ersin UYSAL	(ÜYE)			
Dr. Öğr. Üyesi	Akın KOÇHAN	(ÜYE)			
Dr. Öğr. Üyesi	Selim KARAHAN	(ÜYE)			
Öğr. Gör.	Ömer Faruk KATANALP	(ÜYE)			
Avukat	Abdullah YAVUZ	(ÜYE)			
Öğretmen	M. Yavuz KAHRAMAN	(ÜYE)			

KYK-FRM-387/00

İletişim: DÜBTAM binası, Zemin Kat, DÜSAM laboratuvarları (İlahiyat Fak. Karşısı) 21280 Sur /DİYARBAKIR
E-posta: dusam@dicle.edu.tr Sekreteryası: 0 412 248 8431 (3956) Vet.Hekim: 0 412 2488001-16 hat (4423)

10.2. Ek- 2. Makale

Tezden üretilmiş yayınumıza ilişkin bilgiler aşağıda verilmiştir.

DOI: <http://dx.doi.org/10.22270/jddt.v13i6.6107>

Kasirga et al Journal of Drug Delivery & Therapeutics. 2023; 13(6):66-72

Available online on 15.06.2023 at <http://jddtonline.info>

Journal of Drug Delivery and Therapeutics

Open Access to Pharmaceutical and Medical Research

Copyright © 2023 The Author(s). This is an open-access article distributed under the terms of the CC BY-NC 4.0 which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium for non-commercial use provided the original author and source are credited

Open Access Full Text Article

Check for updates

Research Article

Evaluation of the effects of *Momordica charantia* on tibial defect injury in rats

Zeynettin Kasirga¹, Mehmet Cudi Tuncer^{2*}, Rabia Gezer³, Engin Deveci⁴, Fırat Aşır⁴

¹ Kilis 7 Aralık University, Vocational School of Health Services, Department of Therapy and Rehabilitation, Physiotherapy Pr., Kilis, Turkey

² Dicle University, Faculty of Medicine, Department of Anatomy, Diyarbakir, Turkey

³ Bingöl State Hospital, Bingöl, Turkey

⁴ Dicle University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Diyarbakir, Turkey

Article Info:

Article History:

Received 19 April 2023
Reviewed 17 May 2023
Accepted 28 May 2023
Published 15 June 2023

Cite this article as:

Kasirga Z, Tuncer MC, Gezer R, Deveci E, Aşır F, Evaluation of the effects of *Momordica charantia* on tibial defect injury in rats, Journal of Drug Delivery and Therapeutics. 2023; 13(6):66-72

DOI: <http://dx.doi.org/10.22270/jddt.v13i6.6107>

***Address for Correspondence:**

Mehmet Cudi TUNCER, Professor, Ph.D. Dicle University, Faculty of Medicine, Department of Anatomy, Diyarbakir, Turkey

Abstract

We aimed to examine the histological and immunohistochemical effects of *Momordica charantia* on bone repair, which provides positive regulation such as blood sugar, blood pressure, antilipidemic, anticarcinogenic, antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory, wound healing, and tissue regeneration in rats with tibial bone defect. *Momordica charantia* (MC) (commonly called bitter melon; Goya; bitter apple; bitter gourd; bitter squash; balsam-pear; with many more names listed below) is a tropical and subtropical vine of the family Cucurbitaceae, widely grown in Asia, Africa, and the Caribbean for its edible fruit. Its many varieties differ substantially in the shape and bitterness of the fruit. In this study, 32 male Sprague Dawley rats, 12 weeks old and weighing 250-300gr, were used. 8 rats in each group randomly, 1st group control, 2nd group defect (Sham), 3rd group defect + MC group (14 days), 4th group defect + MC group (28 days) separated into the group. In this experimental study, 600 mg/kg/day MC (bitter melon) extract was mixed into the drinking water of groups 3 and 4 and administered to rats by oral tube. One 6 mm diameter cylindrical defects were created in the body of the right tibia bone. No action was taken in Group 1. In Group 2, only tibial defect was made. For 14 days in group 3 and 28 days in group 4, 600 mg/kg/day MC extract was mixed with drinking water and given by oral gavage. Elevated Malondialdehyde (MDA) levels and Myeloperoxidase (MPO) decreased. In groups 3 and 4, osteoblastic activity and osteocyte development increased, while osteopontin and osteonectin expression were found to be positive, while osteoclastic activity decreased compared to the sham group. It is a good antioxidant in the groups where MC is applied. It has been observed that it can have a positive effect on bone repair.

Keywords: *Momordica charantia*; Tibial defect; Fracture healing; Bone repair; Antioxidant

INTRODUCTION

Bones form the passive elements of our movement system and support the muscles and organs. And it serves as a storehouse for calcium, which is an important requirement of our body. The deterioration of the integrity of the bone as a result of internal or external stress is called a fracture ¹. Trauma is the most common cause of fracture, which is one of the main causes of workforce loss in the world. Fracture healing in the human body has become an important health problem for humans today. In fracture healing, hematoma occurs first at the fracture site. Macrophages, which are the beginning of the inflammation phase, come to this region ². Platelets are transferred to this region together with macrophages. Cytokines (PDGF, TGF- β , IL-1, IL-6 and PGE2) that have a critical effect on the healing of the fracture are released. Fibroblast growth factor 8 initiates new vessel formation and mesenchymal cell growth. Cells of fibroblast and mesenchyme origin replace the hematoma in the fracture area. BMP is secreted from and from these cells and the surrounding periosteum, which ensures cell growth/differentiation. Mesenchymal cells transform into chondrocytes and then callus bone tissue to form cartilage callus. While the repair

process continues after the callus tissue, the remodeling process begins ³. In addition, osteonectin (ONC) and osteopontin (OPN), which are an important indicator of fracture healing and synthesized by osteoblastic cells in the rat femoral marrow ablation model, are known as glycoproteins that are overexpressed in bone tissue that shows active remodeling ⁴.

Many scientific studies have been carried out on bone regeneration from past to present. Different strategies are being developed to reduce and improve the normal repair time of bone. Studies have shown that multiple factors are effective on bone regeneration. Applications for the use of plants in the treatment of diseases date back to the beginning of medicine thousands of years ago. The increasing demand for plants and products prepared from plants in recent years has led to an increase in the number of herbal products as a result of developments in both pharmacological and analytical methods, and the number of preclinical and clinical studies to obtain therapeutic efficacy and safety data for them ⁵. *Momordica charantia* L. (*M. charantia*), a member of the Cucurbitaceae family, is widely distributed in tropical and subtropical regions of the world. It has biologically active chemicals such as glycosides, saponins, alkaloids and fixed

11. ORJİNALLİK RAPORU

SIÇANLARDA OLUŞTURULAN TİBİAL DEFECT HASARI ÜZERİNE KUDRET NARI'NIN (MOMORDICA CHARANTIA) ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ORJİNALLİK RAPORU

% 11	% 10	% 2	% 4
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	% 3
2	acikerisim.dicle.edu.tr İnternet Kaynağı	% 3
3	"Poster Özetleri / Poster Abstracts", Turkish Journal of Biochemistry, 2015 Yayın	% 1
4	www.yumpu.com İnternet Kaynağı	% 1
5	jag.journalagent.com İnternet Kaynağı	<% 1
6	hdl.handle.net İnternet Kaynağı	<% 1
7	beslenmevediyetdergisi.org İnternet Kaynağı	<% 1
8	docplayer.biz.tr İnternet Kaynağı	<% 1

