



T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TR, Balıkesir University, Institute of Health Sciences

**KEMİK DEFECTİ OLUŞTURULAN
RATLARDA CİSSUS QUADRENGULARİS
EKSTRATININ ERKEN KEMİK
İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

EMİNCAN ENSİVRİ

Veterinerlik Cerrahi Anabilim Dalı

Bilim Alan Kodu: 10102.06



BALIKESİR

2025

T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KEMİK DEFEKTİ OLUŞTURULAN RATLARDA CİSSUS
QUADRENGULARİS EKSTRATININ ERKEN KEMİK İYİLEŞMESİ
ÜZERİNE ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

EMİNCAN ENSİVRİ

TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. MUHARREM EROL

Veterinerlik Cerrahi Anabilim Dalı
Bilim Alan Kodu: 10102.06

BALIKESİR
2026



T.C.

BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ KABUL VE ONAY

Veteriner Cerrahi Anabilim Dalı Doktora / Yüksek Lisans Programı
çerçevesinde **Emincan ENSİVRİ** tarafından yürütülmüş ve tamamlanmış olan

**“Kemik Defekti Oluşturulan Ratlarda Cissus Quadrengularis Ekstratının Erken
Kemik İyileşmesi Üzerine Etkisi”**

başlıklı tez çalışması,

Balıkesir Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin
ilgili maddeleri uyarınca aşağıdaki jüri tarafından

YÜKSEK LİSANS TEZİ

olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 30 /04 / 2026

TEZ SINAV JÜRİSİ

Doç. Dr. Muharrem EROL
Balıkesir Üniversitesi
(Başkan)

Dr. Öğr. Üyesi Eyüp Tolga AKYOL
Balıkesir Üniversitesi
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Muhammed Kaan
YÖNEZ
Erciyes Üniversitesi
Üye

Yukarıdaki Doktora/Yüksek Lisans Tezi,
sınav jüri üyeleri tarafından imzalanarak 22 /05/2026 tarihinde teslim edilmiştir.

Prof. Dr. Şükrü Metin PANCARCI
Enstitü Müdürü

BEYAN

Balıkesir Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde ve ortaya çıkan sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı,

Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir, aksi durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıpları kabullendiğimi **beyan ederim**

TARİH:

İmza

Emincan ENSİVRİ

TEŐEKKÜR

Bu çalışmanın ortaya çıkmasında ve hazırlanma sürecinin her aőamasında benden desteğini esirgemeyen çok değerli danıőman hocam Doc. Dr. Muharrem EROL'a ayrıca Balıkesir Üniversitesi Veteriner Fakóltesi Cerrahi Anabilim Dalı Öğretim üyelerine ve Dr. Eyüp Tolga Akyol hocama ve tüm asistanlarına, çalışma döneminde yardımlarını esirgemeyen Patoloji A.B.D. Prof.Dr. Musa KARAMAN hocama ve bölüm asistanı Dr. Mustafa USTA hocama, hayatımın her evresinde bana destek olan annem Nezahat ENSİVRİ ve büyük destekçim Doęan ENSİVRİ'ye teőekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

İÇİNDEKİLER	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iii
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
TABLOLAR DİZİNİ	vi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER 2	
2.1. Kemik Sisteminin Anatomisi	2
2.2. Ratların anatomik ve fizyolojik özellikleri	3
2.3. Ratların beslenme ve barınma koşulları.....	3
2.4. Cissus Quadregularis bitkisi özellikleri	4
2.5. Cissus Quadregularis bitkisinin kemik üzerine etkisi	6
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	8
3.1. Gereç.....	8
3.2. Yöntem	8
3.2.1 Deneysel çalışma	8
3.2.2. Biyokimyasal Analizler	10
3.2.3. Histopatolojik Analiz ve immunohistokimyasal analiz	11
3.2.4. İstatistiksel analiz.....	12
4. BULGULAR.....	13
5. TARTIŞMA.....	23
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	27
KAYNAKLAR.....	28

ÖZET

KEMİK DEFİKTİ OLUŞTURULAN RATLARDA CİSSUS QUADRENGULARİS EKSTRATININ ERKEN KEMİK İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİSİ

Yapılan alıőmada Balıkesir Üniversitesi Deney Hayvanları Eğitim ve Araştırma Merkezindeki 24 adet erkek rat kullanıldı. 12 adet kontrol ve 12 adet deney grubu oluşturuldu. 12 deney grubuna 30 gün boyunca cissus quadrengrularis ekstratı içirildi ve 07-15-21-30 günlerinde kan örnekleri alındı, alınan kan örneklerinden osteokalsin ve BALP değerlerine bakıldı ve kemik iyileşme süreçlerine bakıldı. 30. Gün tenazi yapılan ratların femur kemikleri çıkarıldı ve histopatolojik olarak incelenerek kemik iyileŐmelerine bakıldı.

Yapılan istatistik çalıŐmalarında gruplar arasında anlamlı bir fark yoktur. Grup içindeki çalışmalarda deney grubunda osteokalsin değerlerinde azalma gözlemlenmiştir.

Çalışma cissus quadrengrularis ekstratını kullanılan ratlarda kemik iyileşmesi gzlemlendiğini göstermektedir.

ABSTRACT

THE EFFECT OF CISSUS QUADRENGULARIS EXTRACT ON EARLY BONE HEALING IN RATS WITH INDUCED BONE DEFECTS

In this study, 24 male rats from the Balikesir University Experimental Animal Training and Research Center were used. Twelve control groups and twelve experimental groups were formed. The twelve experimental groups were given cissus quadrengrularis extract for 30 days, and blood samples were taken on days 7, 15, 21, and 30. Osteocalcin and BALP levels were measured in these samples, and bone healing processes were assessed. The femur bones of the rats euthanized on day 30 were removed and histopathologically examined to assess bone healing.

Statistical analyses showed no significant differences between the groups. Within the groups, a decrease in osteocalcin levels was observed in the experimental group.

The study demonstrates that bone healing was observed in rats treated with cissus quadrengrularis extract.

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

gr	: gram
ml/kg	: mililitre bölü kilogram
V	:vena
RBC	:red blood cell
PCV	:paketlenmiş hücre hacmi
Hb	:hemogloblin
WBC	:white blood cell
PLT	:platelet
CQ	:cissus quadrengularis
B-ALP	:alkalin fosfataz
c.a.	:canlı ağırlık

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1. Rat iskeleti (O'Malley, 2005)	2
Şekil 2. Rat kafesi.....	4
Şekil 3. Cissus Guadrenularis bitkisi	5
Şekil 4. Cissus quadrenularis kurutulmuş tozu	6
Şekil 5. CQ bitkisinin kemik iyileşmesine etkisi	7
Şekil 6. Kemik üzerinde oluşturulan defektin görüntüsü.....	10
Şekil 7. Kontrol 15 deney grubuna ait kemik dokusu. Düzensiz kemik (woven) yapıları oluşumu arasında kapiller damarlar gözlenmekte.....	13
Şekil 8. Deney 15 grubuna ait kemik dokusu. Düzensiz kemik (woven) yapıları oluşumu arasında hücreliliğin fazla olduğu gözlenmekte.	14
Şekil 9. Kontrol 30 grubuna ait kemik dokusu. Woven yapılarının yerini olgun kemik dokusu aldığı gözlenmekte. Kan damarı ve hücrelilik azaldığı görülmekte.	15
Şekil 10. Deney 30 grubuna ait kemik dokusu. Olgunlaşan kemik dokusunun içerisinde az sayıda kan damarı gözlenmekte.....	16
Şekil 11. Rat kemik dokusunda VEGF İmmunoreaktivitesi. a. Kontrol 15, b. Deney 15, c. Kontrol 30, d. Deney 30. Çalışmanın 15. gün gruplarında intrasitoplazmik yoğun VEGF immunoreaktivitesi izlenirken, 30. gün gruplarında immünopozitif hücre sayısının azaldığı görülmekte.....	17
Şekil 12. Rat kemik dokusunda FGF İmmunoreaktivitesi. a. Kontrol 15, b. Deney 15, c. Kontrol 30, d. Deney 30. Çalışmanın 15. gün gruplarında intrasitoplazmik yoğun FGF immunoreaktivitesi izlenirken, 30. gün gruplarında immünopozitif hücre sayısının azaldığı görülmekte.....	18
Şekil 13. Rat kemik dokusunda TGF İmmunoreaktivitesi. a. Kontrol 15, b. Deney 15, c. Kontrol 30, d. Deney 30. Çalışmanın 15. gün gruplarında intrasitoplazmik yoğun TGF immunoreaktivitesi izlenirken, 30. gün gruplarında immünopozitif hücre sayısının azaldığı görülmekte.....	19
Şekil 14. Rat kemik dokusunda IGF-1 İmmunoreaktivitesi. a. Kontrol 15, b. Deney 15, c. Kontrol 30, d. Deney 30. Çalışmanın 15. gün gruplarında intrasitoplazmik yoğun IGF-1 immunoreaktivitesi izlenirken, 30. gün gruplarında immünopozitif hücre sayısının azaldığı görülmekte.....	20

TABLULAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1 BALP Gruplar arası zaman farklılıklarının istatistiksel dağılımı. (Ortalama+Standart Sapma)	21
Tablo 2 Osteocalcine Gruplar arası zaman farklılıklarının istatistiksel dağılımı (Ortalama+Standart Sapma)	21
Tablo 3 BALP Grup içi farklı zamanlardaki değerlerin istatistiki dağılımı (Ortalama+Standart Sapma)	22
Tablo 4 Osteocalcine Grup içi farklı zamanlardaki değerlerin istatistiki dağılımı (Ortalama+Standart Sapma)	22

1. GİRİŞ

Kedi ve köpeklerin kemiklerinde travmaya bağlı oluşan fraktürlerin, çatlakların iyileşmesi süreçleri en az 21 günde sağlanmaktadır ve deney hayvanı olan ratlarda ise bu süreç en az 30 gündür. Kemik iyileşme süreci boyunca lokal ve genel faktörlerden etkilenir. Lokal faktör olarak oluşan travmaya bağlı besleyici damarların hasar görmesi sonucu yetersiz kanlanma, yumuşak dokuda oluşan hasar, kırık yerinde oluşacak enfeksiyon, kemoterapi, radyoterapi ve kortikosteroid kullanımı kemik iyileşmesini lokal olarak olumsuz etkiler. Kemik yapısında oluşacak zayıflık, sistemik hastalıklar ve beslenme yetersizliği kemik dokunun iyileşmesine olumsuz etki yapar.

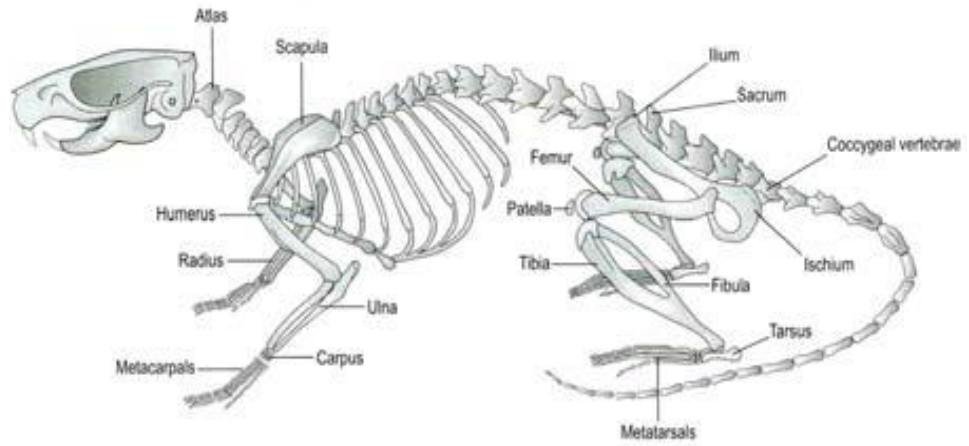
Kemik iyileşme sürecini kısaltmak canlının refah seviyesini yükseltecek, oluşabilecek enfeksiyon riskini minimum seviyeye indirecek, canlının alan kısıtlaması gibi süreçleri azaltacak, kemik fonksiyonlarını daha erken geri kazanacak, kaslarda oluşacak atrofi en aza inecektir. Aynı zamanda kemik iyileşmesini kısaltmanın yanı sıra kemik dokuya zarar vermeden, mekanik dayanıklılığı düşürmeden, kırık olan bölge var ise kallusu zayıflatmadan ve yanlış pozisyonda kaynamasının da önüne geçmek için kemik iyileşme sürecini kısaltıyoruz bu yüzden *cissus quadrangularis* bitkisi ekstratı kullanıldı.

Kırık iyileşmesi fizyolojik bir süreçtir. Bu sürecin hatasız ve devamlı bir şekilde sürdürülebilmesi kırık iyileşmesinin aksamaması açısından oldukça önemlidir. *Cissus quadrangularis* kırık iyileşmesinde kullanılmış ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Sunulan çalışma ile *cissus quadrangularis* ekstratının kırık iyileşmesinde olan etkilerinin olup olmayacağını ve hayvanlar üzerindeki etkili olup olmayacağını ortaya koyacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kemik Sisteminin Anatomisi

Rat iskeleti kazmak, yüzmek ve koşmak için özelleşmiştir. Diğer tüm küçük rodentlerde olduğu gibi ratlarda da Hevers kanalları bulunmaz ve dolayısıyla ossifikasyon 1 yaşına kadar tamamlanmaz. Rat columna vertebralis'i C7, T13, L6, S4, Cd27-31 vertebralardan oluşur. Altıncı cervical vertebra'nın proc. Transversus'u costa'nın bağlanabilmesi için değişikliğe uğramıştır. Ratlarda clavicular kemer ve ligamentler çok iyi gelişmiştir ve insandakine benzer. Scapula horizontal olarak konumlanmıştır ve spina scapula üzerinde lateral'e uzanan proc. Hamatus bulunur. Ön ayakları çok iyi gelişmiştir, tavşan ve kobaydan farklı olarak fleksiyon yapabilirler ve böylece avuç içleri ile gıdaları kavrayabilirler. Genç ratlarda os acetabulum os ischii ve os ilium'la kaynaşarak acetabulum'u şekillendirir. Tibia ve fibula distal'de birbirleri ile kaynaşmıştır. Arka ayaklar da öndekilere benzer, ancak çok daha gelişmiştir. (Doç. Dr. M.Erdem Gültiken)



Şekil 1. Rat iskeleti (O'Malley, 2005)

2.2. Ratların anatomik ve fizyolojik özellikleri

Rat beslenme şartlarına göre ortalama 2-3 yıl arasında yaşarlar. Ağırlık cinsiyetlerine göre farklılık göstermektedir, erkek ratlar 300-500 gr ağırlığında ergin dişi ratlar 250-350 gr ağırlığındadır (Van Zuthpen ve ark., 2003).

Sıçanların ısıya olan dayanıklılıkları zayıftır. Bunun sebebi vücutlarında ter bezlerinin az ya da hiç olmasıdır (Gültiken, 2010). Ratlarda ısı regülasyonunu kuyrukları sayesinde sağlarlar. Ratlarda fazladan lakrimal bez bulunur bu bez göz ve kulak tabanına yerleşmiştir. Ratların gözlerinde bulunan harder bezleri sayesinde stres koşullarında porfirin içeren kahvemsiz kırmızımtırak renkli bir sekresyon yapar. (Kaya ve Çenesiz, 2020). Ratlarda kusma refleksi görülmez ve safra kesesi bulunmamaktadır. safra kanalları bir araya gelerek ductus hepaticus oluşturur ve bu kanal aracılığıyla duodenuma açılır (Gültiken, 2010).

Ratların eritrositlerin merkezi solgun renkte olup, yuvarlak yapıda çekirdeksizdir. Ratların eritrositlerinin yüksek miktarda retikülosit içermesinden kaynaklı polikromazi ve anizositoz durumları vardır. Eritrositlerin yarılanma ömrü 45-60 gün arasındadır (Campbell ve Grant, 2022; Thrall ve ark., 2012). Ratlara ait hematolojik değerler Tablo 2.'de verilmiştir.

Ratlarda dolaşımdaki kan miktarı 100 gr canlı ağırlık başına 5-7 ml olup ortalama 60 ml/kg'dır. 100 gr ağırlık başına 0,5 ml kan tek seferde alınabilmektedir. Kanın alındığı yer kuyruk venasında bulunan V.saphena lateralis ve ventral kuyruk arterinden yapılmaktadır (Mustapha ve ark., 2019).

2.3. Ratların beslenme ve barınma koşulları

Ratlar ad libitum olarak beslenir yani serbest, özgürce beslenebilen beslenme türüne sahiptirler. Günlük beslenmeleri gereken yem miktarı 100 gr canlı ağırlık başına 5-6 gr olarak ortalama bir rat ağırlığına göre günlük 15-25 gr yem yemektirler. Pelet

yemler daha çok kullanılır. Günlük tkettikler su miktarı 100 gr c.a. başına 10-12 ml kadardır. Geceleri beslenirler (Saruhan & Dereli, 2016).

Barınma kafesleri sert plastik veya paslanmaz elik malzemeli ızgaralı kafeslerde barındırılmalıdır (Saruhan & Dereli, 2016).



Şekil 2. Rat kafesi

2.4. *Cissus Guadrenularis* bitkisi özellikleri

Vitaceae ailesine ait Afrkia ve Asyanın bazı bölgelerinde yetişen etli bir sarmaşık türüdür. Bitkinin tüm yapıları ilaç sektöründe kullanılmaktadır. İsim anlamı ‘dört köşeli sarmaşık’ anlamına gelir.

Doğu ülkelerinde gut, sifilis, hemoroid, göz rahatsızlıkları, kulak ağrısı, yaralanmalar, kırık tedavisi, obezite, sindirim düzenleyici etkileri mevcuttur.

Bütün bitki kurutulup toz haline getirilerek kullanılır. Toz halindeki rengi krem kahverengidir.

C. quarengularis bitkisinin kimyasal bileşiklerine baktığımızda metanol ekstratı üzerinde yapılan çalışmalarda 7 adet biyoaktif bileşen tespit edilmiştir. Bunlar α - ve β -amyrinler, β -sitosterol, friedelin, kuersetin, genistein, daidzein olmak üzere biyoaktif bileşenler bulunmaktadır.

Yapılan bir çalışmada diyabetik ratlarda *Cissus Quadrengularis* ekstratı kullanılmış. Bu çalışmada ratlara 200mg/kg uygulanmıştır. Ratlarda yapılan diğer uygulamalarda karşılaştırılınca 500 mg/kg doz kullanıldı.



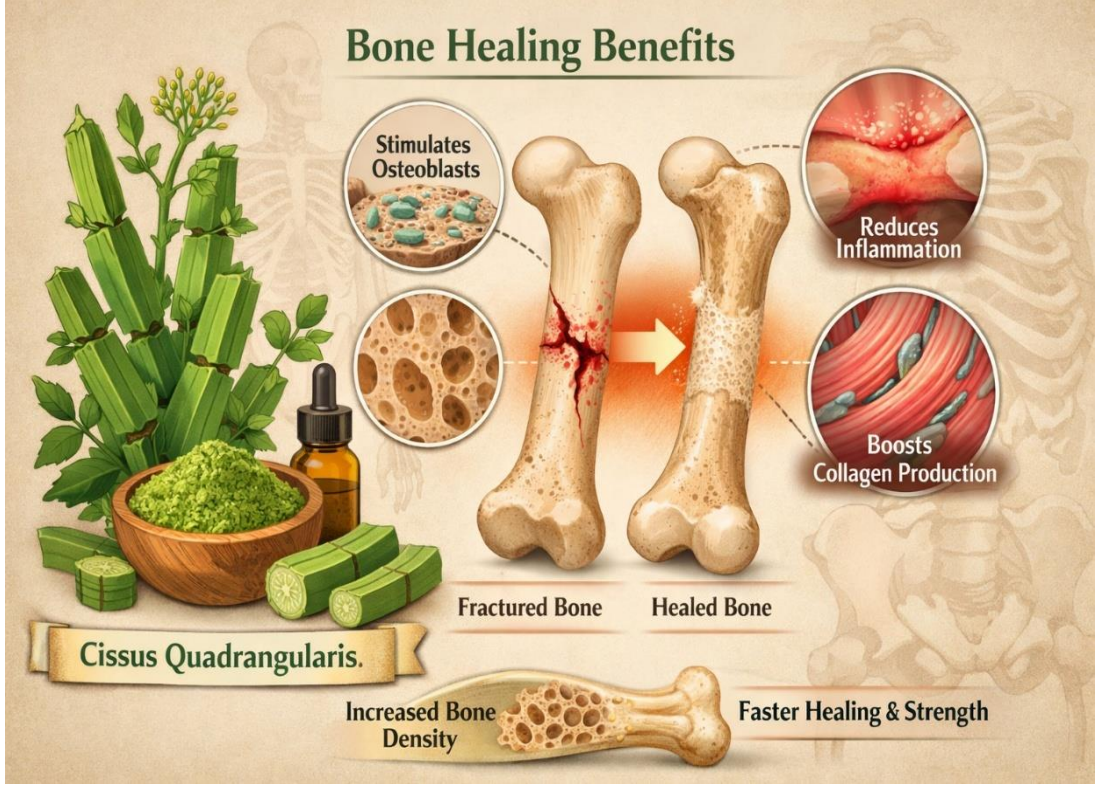
Şekil 3. *Cissus Quadrengularis* bitkisi



Şekil 4. Cissus quadrangularis kurutulmuş tozu

2.5. Cissus Quadregularis bitkisinin kemik üzerine etkisi

C. quadregularis yüksek miktarda anabolik steroid maddeler, kalsiyum ve fosfor içerir. İçerisinde bulunan steroid maddeler kırılma ve iyileşmelerde süreci hızlandırmış ve daha hızlı mineralizasyon etkisi göstermiştir. İçerisinde bulunan A ve C vitaminleri yaraların iyileşmesinde de katkısı vardır. Aynı zamanda içinde bulunan steroid maddeler, mezenkimal kökenli tüm bağ dokuların erken yenilenmesi üzerinde etkisi olmuştur bu sayede kırık iyileşmesinde fayda sağlamaktadır. (Singh ve ark,2011).



Şekil 5. CQ bitkisinin kemik iyileşmesine etkisi

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Gereç

Bu çalışma Balıkesir Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim, Bakım Uygulama ve Araştırma Merkezinde (BAÜN DEHAM) temin edilen 24 erkek rat kullanıldı. Ratlar kontrol ve deneme grubu olarak 2 gruba rastgele ayrıldı. Ana grupta kendi içinde 15 ve 30 günlük denemeler olmak üzere ikişer gruba daha ayrıldı. Her ayrılan grupta 6 hayvan vardır.

Çalışmada kullanılan hayvanlara ksilazin ve ketamin ile anestezisi sağlandı. Bu çalışmada kemik defekti oluşturmak için cerrahi matkap 1.0 mm ve 1.5 mm drill kullanılmıştır. Defekt oluşumu sonrası cissus quadrengularis (CG) tozu 500 mg/kg dozunda oral olarak kullanıldı.

Çalışmada Balıkesir Üniversite Veteriner Fakültesindeki Patoloji A.B.D. parafin mikrotomu kullanılarak hücresel inceleme sağlanmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1 Deneysel çalışma

Çalışmada deneme grupları rastgele olacak şekilde seçildi ve gruplara ayrıldı. Ayrılan her grupta 6 rat bulunacak şekilde ayrıldılar. Ratlar 15. günde deney ve kontrol grubundaki 6 ratdan kuyruk venasından 1 ml kan alındı, diğer 12 adet olan ratlar da 30. Günde tekrardan kan alındı ve ötenazi işlemi (servikal dislokasyon yöntemi ile) gerçekleşti. Ötenazi işleminden sonra defekt oluşan femur kemikleri alındı ve %10 formal içeriğine konuldu.

Aşağıda yer alan çalışma grupları uygulamalar belirtilmiştir.

Grup I (kontrol grubu K15): diğer gruptakileri karşılaştırmak amacıyla olan gurup CQ verilmeyen grup ve 15. Günüñ sonunda ötenazi yapılacak grup

Grup II (deney grubu D15): çözültisi hazırlanan CQ ekstratı 2 ml olarak gavaj yöntemiyle 15 gün boyunca ilaç içirildi.

Grup III (kontrol grubu K30): diğer gruptakileri karşılaştırmak amacıyla olan gurup CQ verilmeyen grup ve 15. Günüñ sonunda ötenazi yapılacak grup

Grup IV deney grubu D30): çözültisi hazırlanan CQ ekstratı 2 ml olarak gavaj yöntemiyle 30 gün boyunca ilaç içirildi.

Ratların anestezisi ksilazin (16 mg/kg) ve ketamin (100 mg/kg) ile sağlandıktan sonra izofluran %2-3 ile anestezisi devamı sağlanacaktır. Ratlar operasyon sehpasına sağ ayakları üstte kalacak şekilde yan olarak yatırılacaktır. Bölgenin kıllarının tıraşından sonra asepsi ve antisepsisi sağlanarak operasyon alanı steril serviyetler ile sınırlandırılacaktır. Femura paralel yapılacak deri ensizyonundan sonra kaslar küt diseksiyon ile geçildikten sonra femurun diafiz bölgesine ulaşılacaktır. Femurun diafiz önce 1.0 mm çapında drill ile delindi daha sonra 1.5 mm drill ile defekt alanı genişletildi. Monokorteks (kemik hattının diğer tarafından çıkararak) defekt hattı oluşturuldu. Standart kemik defekti oluşturulduktan sonra operasyon bölgesi basit suture ile rutin olarak kapatıldı.

Defekt işlemlerinin tümü 24 erkek rat uygulandı, defekt uygulaması esnasında rat kemiğinin ince ve hassas yapısı dikkate alındı ve drill kullanımında kemiğın, kemik tutucular ve penset yardımıyla tutularak stabilizasyonu sağlandı. Defekt işlemi sırasında kemiklerde herhangi bir kırılma veya çatlama sorunu gözlemlenmedi.



Şekil 6. Kemik üzerinde oluşturulan defektin görüntüsü

Ratlar anesteziden uyandıktan sonra her bir rat kendi kafesine yerleştirildi. 3 gün boyunca gruplara antibiyotik (15 mg/kg, enroflaksasin) ve ağrı kesici (1mg/kg, meloksikam) SC uygulandı. 15 ve 30 gün boyunca deneme grubunda bulunan ratlara *cissus quadrengrularis* bitkisinin ekstraktı gavaj yöntemiyle 500 mg/kg dozunda distile su ile karıştırılarak verildi. Kontrol grubuna herhangi bir ilaç uygulaması yapılmadı sadece oral eşit miktarda serum fizyolojik verildi.

3.2.2. Biyokimyasal Analizler

Tüm gruplarda operasyondan önce, operasyondan sonra ise 7., 15., 22. Ve 30. Günlerde kuyruk venalarından intracat ile 1 ml kan serum tüpüne alınarak, 700 G'de, +4 oC'de 10 dk santrifüj edilen kanlardan çıkarılacak serumlar analizler yapılincaya kadar -20oC'de saklandı Saklana numunelerden Elisa yöntemi ile Rat-kemik spesifik alkale fosfat (B-ALP) ve Rat-osteokalsin seviyelerine bakıldı.

3.2.3. Histopatolojik Analiz ve immunohistokimyasal analiz

Kemik dokularının histopatolojik incelemesi için alınan örnekler öncelikle %10'luk nötral tamponlu formaldehit içerisinde uygun süreyle tespit edildi. Fiksasyonu takiben dokular Dekastro dekalsifikasyon solüsyonunda dekalsifiye edildi. Bu solüsyon 1 L için 300 mL absöü alkol, 50 g kloralhidrat, 670 mL distile su ve 30 mL %70'lik konsantre nitrik asit içerecek şekilde hazırlandı. Dekalsifikasyon süresince dokuların yumuşaklığı her gün kontrol edildi ve solüsyon iki günde bir yenilendi. Yeterli dekalsifikasyon sağlandıktan sonra dokular bir gece boyunca akan suda yıkandı. Ardından rutin doku takibi amacıyla sırasıyla %80 alkolde 12 saat (2 × 6 saat), %95 alkolde 12 saat (2 × 6 saat), absöü alkolde 12 saat (2 × 6 saat) dehidratasyona tabi tutuldu. Daha sonra dokular kloroformda toplam 5 saat (3 değişim) saydamlaştırıldı ve 12 saat süreyle parafin infiltrasyonu yapılarak parafine gömüldü.

İmmünohistokimyasal boyamalar, avidin-biotin-peroksidaz yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi. Parafin bloklardan alınan 4-5 µm kalınlığındaki kesitler ksilol ve dereceli alkol serilerinden geçirilerek deparafinizasyon ve rehidrasyon işlemlerine tabi tutuldu. Antijen geri kazanımı mikrodalga yöntemi ile sitrat tamponu (pH 6.0) içerisinde sağlandı. Endojen peroksidaz aktivitesi %3 hidrojen peroksit ile bloke edildikten sonra, non-spesifik bağlanmayı önlemek amacıyla kesitler uygun bloklama serumu ile inkübe edildi. Ardından kesitler primer antikorlar olan FGF2 (Affinity Biosciences, DF6038), VEGFA (Affinity Biosciences, AF5131), TGF-β (Affinity Biosciences, AF1027) ve IGF1 (Affinity Biosciences, DF6096) ile inkübe edildi. Takiben uygun sekonder antikor ve streptavidin-peroksidaz kompleksi uygulanarak reaksiyon 3,3'-diaminobenzidin (DAB) ile görünür hale getirildi. Karşı boyama hematoksilen ile yapıldı. Negatif kontrol preparatlarında primer antikor yerine PBS kullanıldı. Işık mikroskobuna entegre kamera ile çekilen fotoğraflar FIJI yazılımı kullanılarak immunopozitif alanların yüzdesi olarak hesaplanarak o olguya ait ekspresyon değeri hesaplandı.

3.2.4. İstatiksel analiz

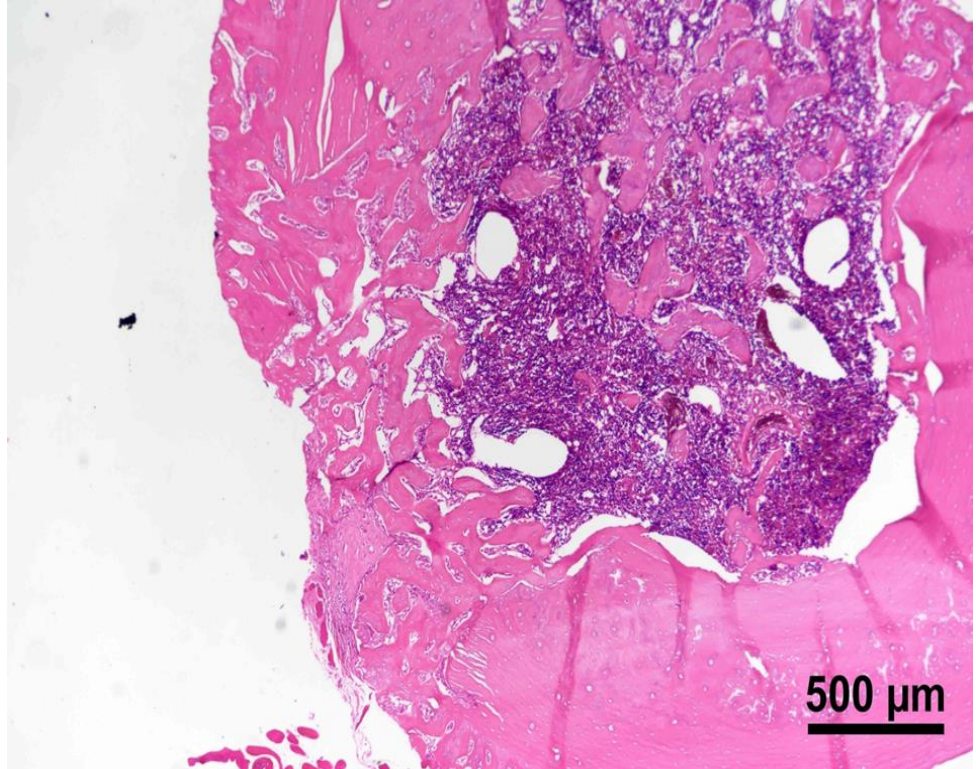
Çalışmada kapsamında derlenen veriler için ilk olarak tanımlayıcı istatistikler verildikten sonra grup ortalamaları arasında anlamlı farklılıklar olup olmadığı, farklılık var ise hangi gruptan kaynaklandığı ve örneklem hacmi dikkate alınarak parametrik olmayan istatistiksel testlerle incelendi.

Bu bağlamda grupların karşılaştırılmasında Mann-Whitney U (iki yönlü) testinden, aynı grup içerisindeki farklı zaman dilimleri arasındaki farklılığın karşılaştırılmasında ise Friedman's testinden yararlanıldı, çalışma kapsamındaki hipotezlerin testi %95 güvenirlilikle ($\alpha=0.05$) SPSS paket programında gerçekleştirilmiştir.

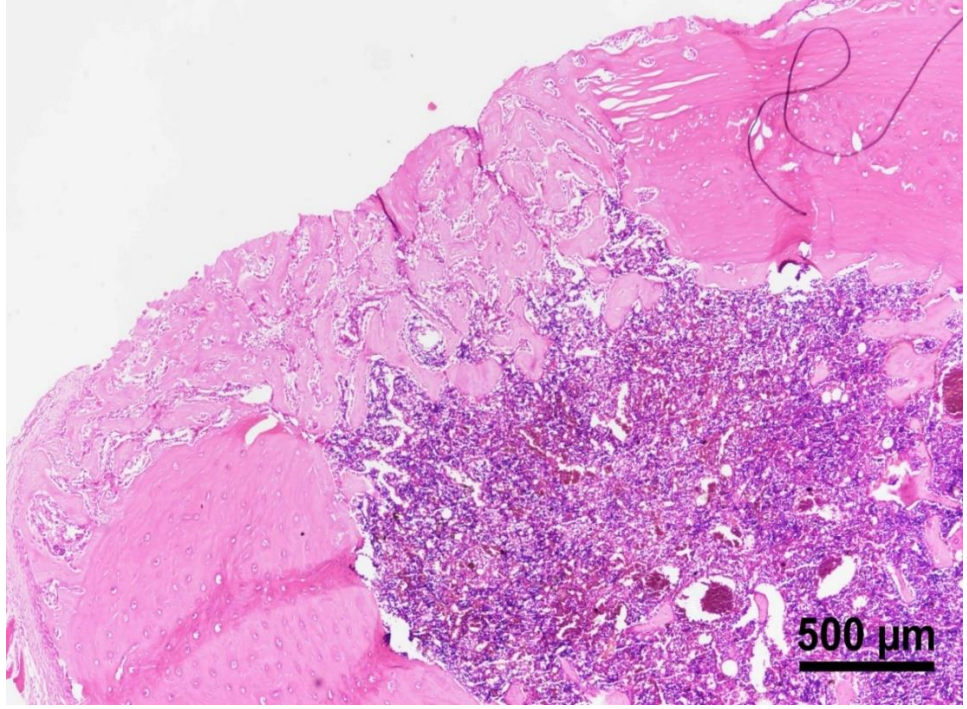
4. BULGULAR

Yapılan immunohistokimyasal ve histopatolojik incelemelerde sonuçlar mikroskop eşliğinde incelendi. Kemik iyileşmesi için incelemelerde bulunuldu.

Hem kontrol hem de deney grubunun on beşinci günde kemik defekt alanında iyileşmenin aktif proliferatif ve erken ossifikasyon evresine ait bulgular dikkati çekmektedir. Defekt sahasında belirgin fibro-vasküler doku proliferasyonu ile yoğun kapiller damar oluşumu izlenmiş, granülasyon dokusunun yerini kısmen düzensiz yapıda (woven) yeni kemik trabeküllerinin almaya başladığı gözlenmiştir. Osteoblastik aktivitenin arttığı, osteoid matriks birikiminin belirgin olduğu ve osteosit lakünlerinin henüz düzensiz yerleşim gösterdiği dikkati çekmiştir. Yer yer kondroblast benzeri hücreler ve kıkırdak matriksi alanları izlenerek endokondral ossifikasyon sürecinin devam ettiği değerlendirilmiştir. İnflamatuvar hücre infiltrasyonu hafif-orta düzeyde olup, iyileşme sürecine eşlik eden fizyolojik bir yanıt olarak yorumlanmıştır (Şekil 9-10).

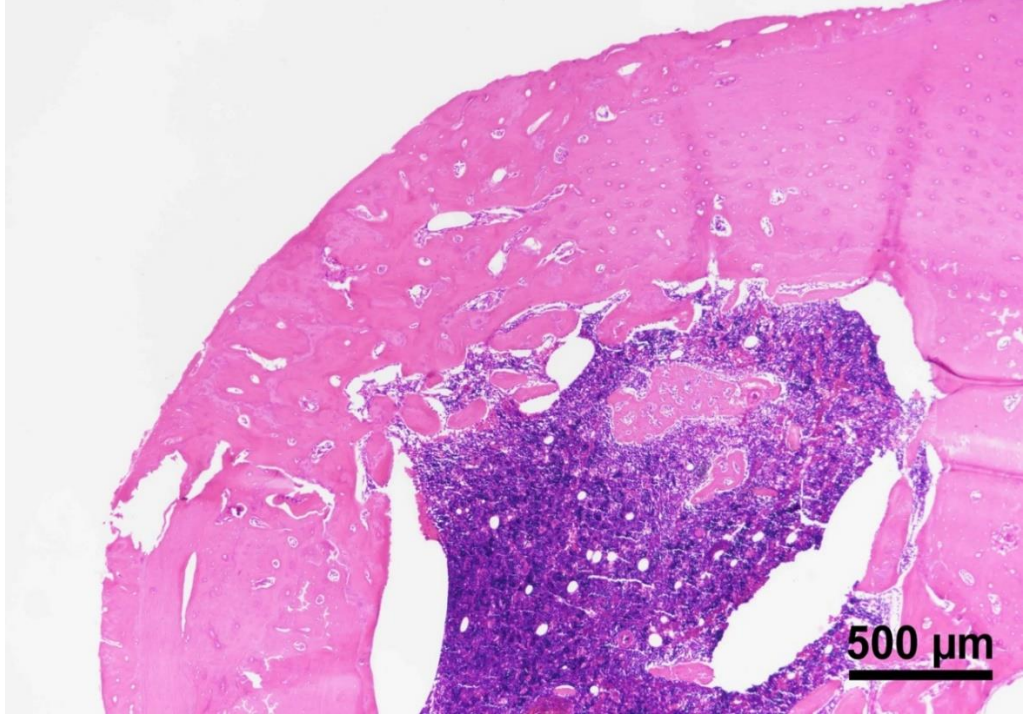


Şekil 7. Kontrol 15 deney grubuna ait kemik dokusu. Düzensiz kemik (woven) yapıları oluşumu arasında kapiller damarlar gözlenmekte

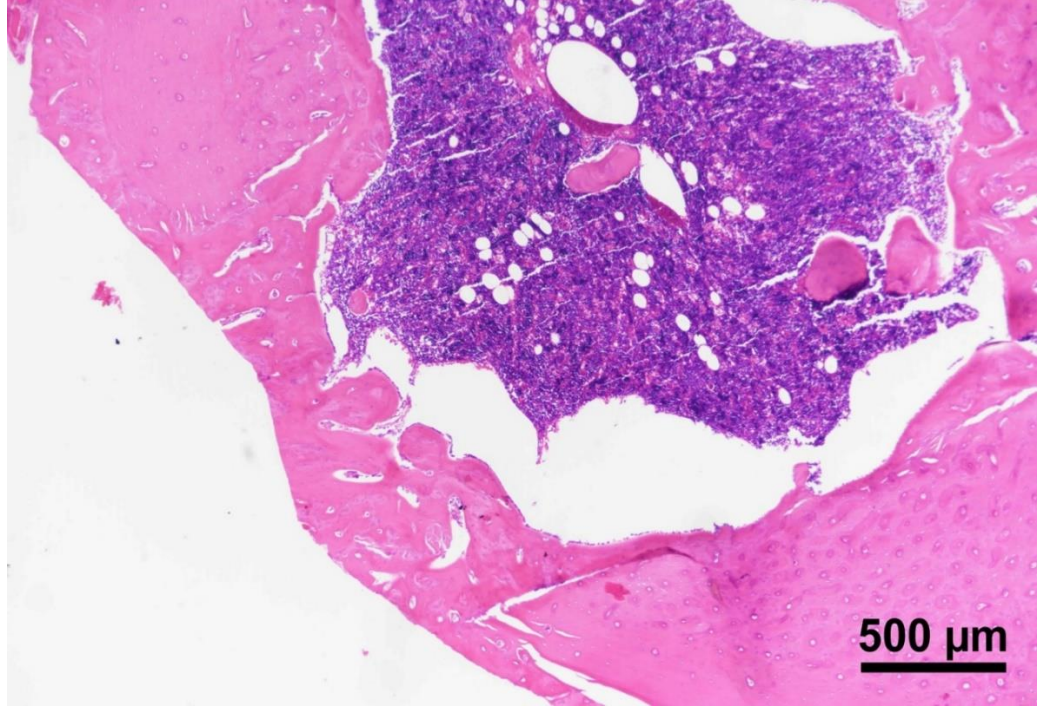


Şekil 8. Deney 15 grubuna ait kemik dokusu. Düzensiz kemik (woven) yapıları oluşumu arasında hücreliliğin fazla olduğu gözlenmekte.

Otuzuncu günde kemik iyileşmesinin ileri ossifikasyon ve yeniden şekillenme (remodelling) evresine ait bulgular ön plandadır. Defekt alanının büyük ölçüde yeni kemik dokusu ile doldurulduğu, düzensiz woven kemik yapısının yerini daha organize lameller kemik trabeküllerinin aldığı gözlenmiştir. Osteoid matriks miktarının azaldığı, osteositlerin düzenli lakünler içerisinde yerleştiği ve kemik iliği boşluklarının belirginleştiği dikkati çekmiştir. Osteoblast aktivitesi azalırken, yer yer osteoklastik hücrelerin varlığı kemik remodelling sürecinin aktif olduğunu göstermektedir. Vaskülarizasyonun fizyolojik seviyelere gerilediği ve inflamatuvar hücre infiltrasyonunun minimal düzeyde olduğu izlenmiştir. Genel olarak 30. gün bulguları, fonksiyonel ve yapısal olarak olgun kemik dokusuna geçişi desteklemektedir. (Şekil 11-12)

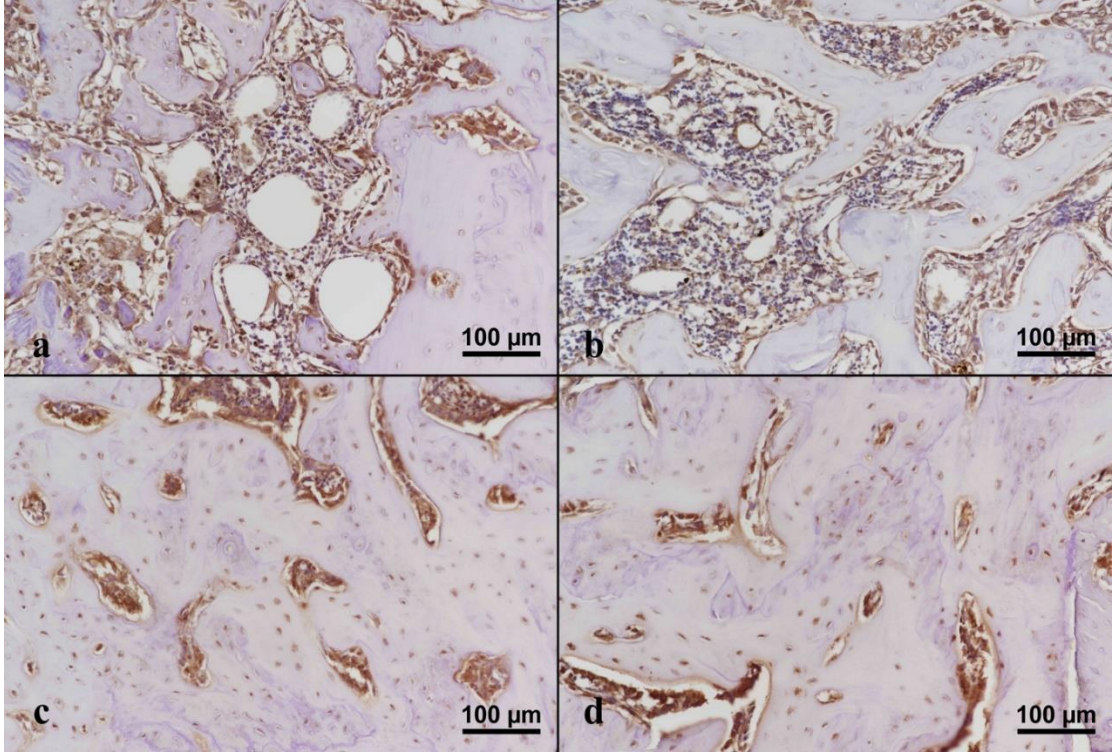


Şekil 9. Kontrol 30 grubuna ait kemik dokusu. Woven yapılarının yerini olgun kemik dokusu aldığı gözlenmekte. Kan damarı ve hücresellik azaldığı görülmekte.



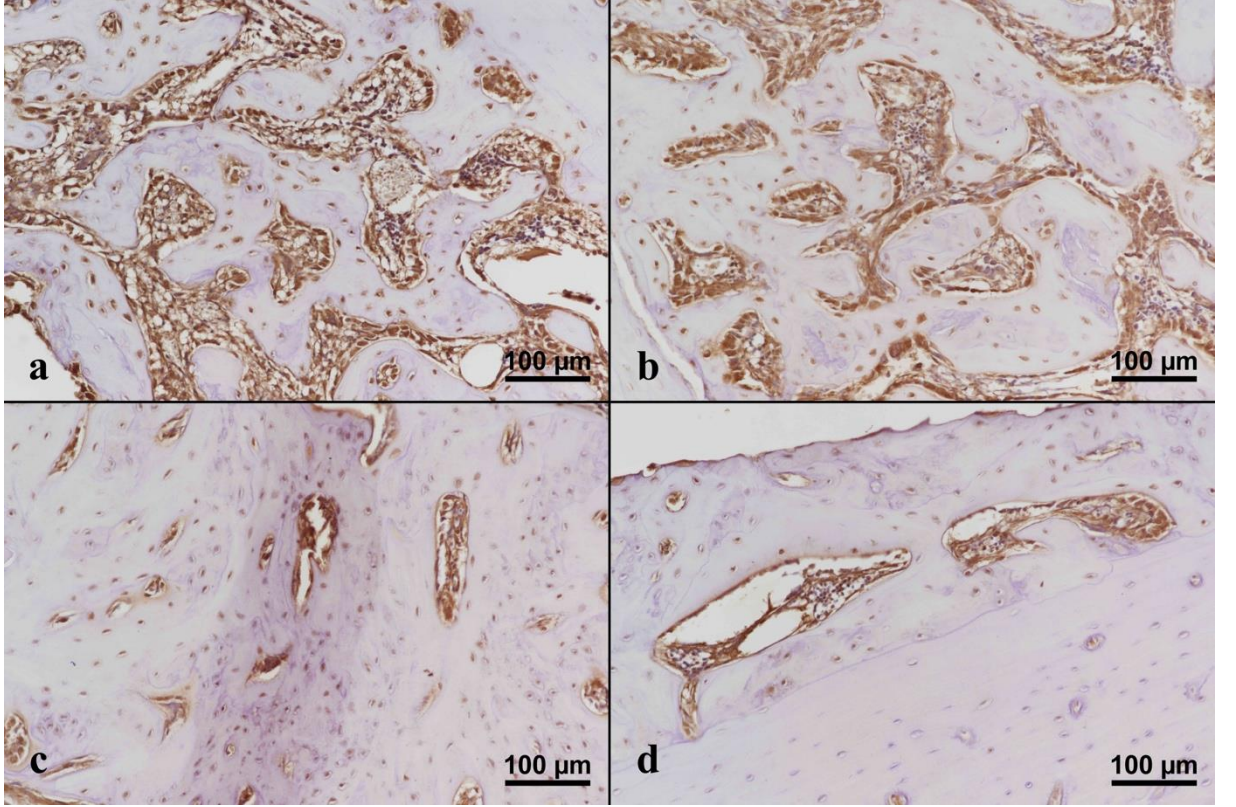
Şekil 10. Deney 30 grubuna ait kemik dokusu. Olgunlaşan kemik dokusunun içerisinde az sayıda kan damarı gözlenmekte.

Mevcut çalışmada VEGF, FGF, TGF ve IGF moleküllerinin kemik dokusundaki ekspresyonları immunohistokimyasal yöntem kullanılarak araştırılmıştır. VEGF immunohistokimyasal boyamasında, 15. günde hem kontrol hem de deney grubunda belirgin düzeyde immunoreaktivite gözlemlendi. Bu dönemde pozitif boyanmanın özellikle damar endotel hücrelerinde yoğunlaştığı, ayrıca fibroblastlar ve osteoblastlarda da sitoplazmik lokalizasyon gösterdiği dikkat çekti. 30. günde ise her iki grupta VEGF immünoreaktivitesinin şiddetinde belirgin bir azalma olduğu izlendi. Buna rağmen, pozitif boyanmanın dağılımı değişmeyerek yine başlıca damar endotel hücreleri ile fibroblast ve osteoblastların sitoplazmasında sınırlı kaldı (Şekil 13).



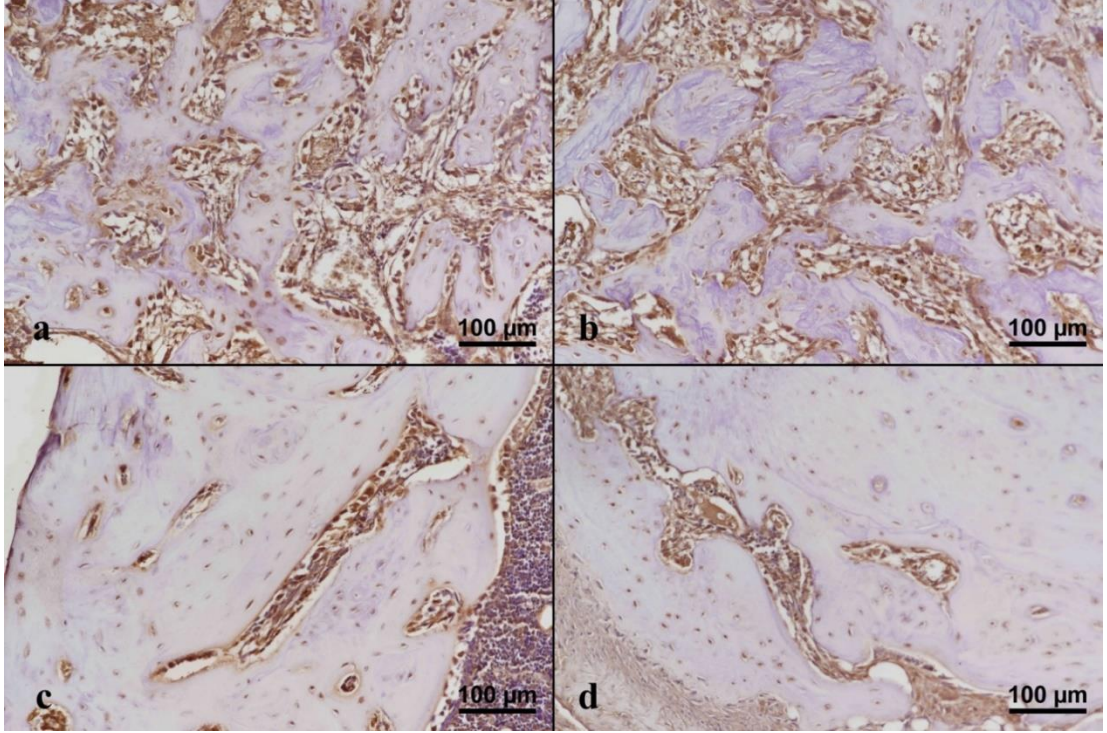
Şekil 11. Rat kemik dokusunda VEGF İmmunoreaktivitesi. a. Kontrol 15, b. Deneş 15, c. Kontrol 30, d. Deneş 30. Çalışmanın 15. gün gruplarında intrasitoplazmik yoğun VEGF immünoreaktivitesi izlenirken, 30. gün gruplarında immünopozitif hücre sayısının azaldığı görülmekte.

FGF immünohistokimyasal boyamasında, 15. günde hem kontrol hem de deneş grubunda belirgin düzeyde immünoreaktivite gözlemlendi. Bu dönemde pozitif boyanmanın fibroblastlar ve osteoblastlarda sitoplazmik lokalizasyon gösterdiği dikkat çekti. 30. günde ise her iki grupta FGF immünoreaktivitesinin şiddetinde belirgin bir azalma olduğu izlendi. Buna rağmen, pozitif boyanmanın dağılımı değişmeyerek yine başlıca fibroblast ve osteoblastların sitoplazmasında sınırlı kaldı (Şekil 14).



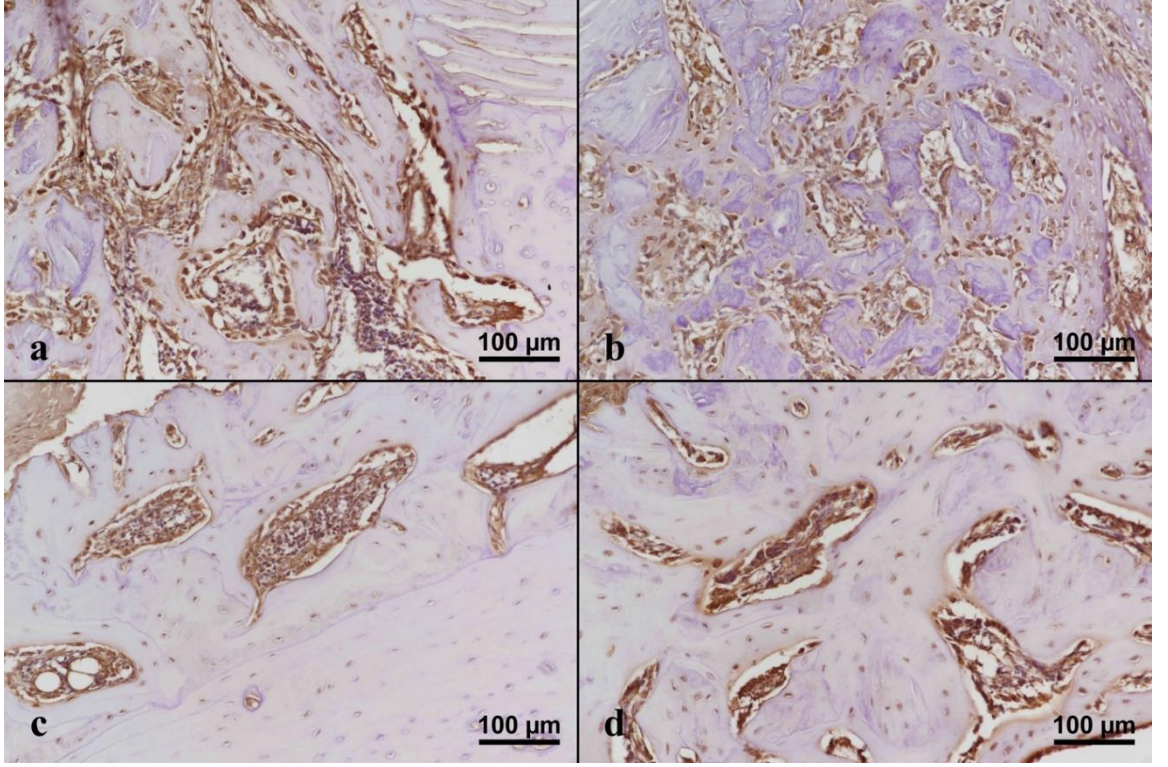
Şekil 12. Rat kemik dokusunda FGF İmmunoreaktivitesi. **a.** Kontrol 15, **b.** Deney 15, **c.** Kontrol 30, **d.** Deney 30. Çalışmanın 15. gün gruplarında intrasitoplazmik yoğun FGF immunoreaktivitesi izlenirken, 30. gün gruplarında immüno pozitif hücre sayısının azaldığı görülmekte.

TGF- β immunohistokimyasal boyamasında, 15. günde hem kontrol hem de deney grubunda güçlü immunoreaktivite saptandı. Bu dönemde pozitif boyanmanın ağırlıklı olarak fibroblastlar ve osteoblastların sitoplazmasında lokalize olduğu gözlemlendi. 30. günde ise her iki grupta TGF- β immunoreaktivitesinde belirgin bir azalma dikkat çekti. Bununla birlikte, pozitif boyanmanın dağılım paterni değişmeyerek yine fibroblast ve osteoblastların sitoplazması ile sınırlı kaldı (Şekil 15).



Şekil 13. Rat kemik dokusunda TGF İmmunoreaktivitesi. **a.** Kontrol 15, **b.** Deney 15, **c.** Kontrol 30, **d.** Deney 30. Çalışmanın 15. gün gruplarında intrasitoplazmik yoğun TGF immunoreaktivitesi izlenirken, 30. gün gruplarında immüno pozitif hücre sayısının azaldığı görülmekte.

IGF-1 immunohistokimyasal boyamasında, 15. günde hem kontrol hem de deney grubunda güçlü immunoreaktivite saptandı. Bu dönemde pozitif boyanmanın ağırlıklı olarak fibroblastlar ve osteoblastların sitoplazmasında lokalize olduğu gözlemlendi. 30. günde ise her iki grupta IGF-1 immüno reaktivitesinin şiddetinde azalma olmakla birlikte, orta düzeyde immüno reaktivitenin devam ettiği dikkat çekti. Bununla birlikte, pozitif boyanmanın dağılım paterni değişmeyerek yine fibroblast ve osteoblastların sitoplazması ile sınırlı kaldı (Şekil 16).



Şekil 14. Rat kemik dokusunda IGF-1 İmmunoreaktivitesi. **a.** Kontrol 15, **b.** Deneysel 15, **c.** Kontrol 30, **d.** Deneysel 30. Çalışmanın 15. gün gruplarında intrasitoplazmik yoğun IGF-1 immünoaktivitesi izlenirken, 30. gün gruplarında immünoaktif hücre sayısının azaldığı görülmektedir.

Yapılan çalışmada alınan kemik defektlerinin incelenmesi için iki adet parametreden faydalanıldı. Bunlar osteokalsine ve BAIP (alkalin fosfataz) parametreleridir. 7.-15.-21.ve 30. Gün alınan kanlar santrifüj yapıldı. Çıkan sonuçlar incelendi.

0-15 gün arasında kontrolü yapılan gruplara kontrol 15 (K15) ve deneysel 15(D15) olarak ilk iki grup, 15-30 gün arasında olan gruplara kontrol 30 (K 30) ve deneysel 30 (D30) olarak adlandırıldı.

Yapılan çalışmada gruplar arasındaki alınan kanlarda cissus guadregularis ekstraktı kullanıldığı andan itibaren belirli bir yükselme istatistiksel olarak gözlemlenmiştir. Aynı şekilde deneysel ve kontrol grupları kendi içlerinde incelendiğinde CQ ekstraktı kullanılmaya başladığı andan itibaren 0.-7. Günlerden itibaren osteokalsin değerleri yükselmiştir bu da bize dokuda oluşan iyileşme sürecinin hızlandığını

göstermektedir. 7-15 gün aralığında osteokalsin değeri sabitliğini korumaktadır. Grup içlerinde anlamlı fark olmadığı istatistiksel olarak belirlenmiştir. (tablo 3-4-5-6)

Tablo 1 BALP Gruplar arası zaman farklılıklarının istatistiksel dağılımı.
(Ortalama+Standart Sapma)

Gruplar	0 gün	7 gün	15 gün	21 gün	30 gün
Deneme	1,234±0,1	1,379±0,2 ^{a*}	1,29±0,1 ^a	1,48±0,1 ^a	1,40±0,1 ^a
Kontrol	1,237±0,1	1,042±0,1 ^{b*}	1,21±0,2 ^b	1,28±0,2 ^b	1,23±0,1 ^b

a,b: Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan gruplar arasında $p < 0,05$

*: Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan gruplar arasında $p < 0,001$

Kontrol grubunda 7. günde bir düşüş ($1,042 \pm 0,1$) gözlenirken, CQ (Deneme) grubunda 0. güne göre anlamlı bir artış ($1,379 \pm 0,2$) kaydedilmiştir. Bu fark istatistiksel olarak yüksek düzeyde anlamlıdır ($p < 0,001$).

Tablo 2 Osteocalcine Gruplar arası zaman farklılıklarının istatistiksel dağılımı
(Ortalama+Standart Sapma)

Gruplar	0 gün	7 gün	15 gün	21 gün	30 gün
Deneme	2642±284	2989±521 ^a	2781±350 ^a	3265±478 ^a	3053±232 ^a
Kontrol	2635±395	2155±258 ^b	2600±632 ^b	2758±704 ^b	2634±269 ^b

a,b: Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan gruplar arasında $p < 0,05$

*: Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan gruplar arasında $p < 0,001$

CQ grubunda Osteokalsin seviyeleri 21. günde zirve yaparak (3265 ± 478) Kontrol grubuna (2758 ± 704) kıyasla istatistiksel üstünlüğünü korumuştur.

Tablo 3 BALP Grup içi farklı zamanlardaki değerlerin istatistiki dağılımı
(Ortalama+Standart Sapma)

Zaman	Kontrol	Deneme
0 gün	1,237±0,1 ^a	1,234±0,1 ^c
7 gün	1,042±0,1 ^b	1,379±0,2 ^b
15 gün	1,21±0,2 ^a	1,29±0,1 ^{ab}
21 gün	1,28±0,2 ^a	1,48±0,1 ^a
30 gün	1,23±0,1 ^a	1,40±0,1 ^a

a,b: Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan gruplar arasında $p<0,05$

BALP değerleri kontrol grubunda 7-30 gün arasında yakın benzerlik seyrederken, deneme grubunda ise 21-30 arasında benzerlik göstermektedir bu da deneme grubunun ilerleyişini olumlu yönde etkilemektedir.

Tablo 4 Osteocalcine Grup içi farklı zamanlardaki değerlerin istatistiki dağılımı
(Ortalama+Standart Sapma)

Zaman	Kontrol	Deneme
0 gün	2635±395 ^a	2642±284 ^c
7 gün	2155±258 ^b	2989±521 ^{ab}
15 gün	2600±632 ^a	2781±350 ^b
21 gün	2758±704 ^a	3265±478 ^a
30 gün	2634±269 ^a	3053±232 ^a

a,b: Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan gruplar arasında $p<0,05$

5. TARTIŞMA

Yapılan bu çalışmada 24 adet rat kullanılmış, kontrol ve deney grupları belirlenmiştir. 0-15 gün aralığında 6 adet deney grubundan ve 6 adet kontrol grubundan ratlar incelenmiştir. 15-30 günleri aralığında 6 adet deney grubu ve 6 adet kontrol grubundan rat incelenmiştir. Deney grubundaki ratlara CQ (cissus quadregularis) ekstratı içilmiştir.

Bu çalışmada, deneysel olarak femur defekti oluşturulan ratlarda oral yolla uygulanan Cissus quadrangularis (CQ) ekstratının erken dönem kemik iyileşmesi üzerine etkileri histopatolojik, immünohistokimyasal ve biyokimyasal yöntemlerle değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgular, istatistiksel olarak gruplar arasında anlamlı farklılıklar göstermemekle birlikte, histolojik ve immünohistokimyasal incelemelerde CQ uygulanan gruplarda kemik iyileşmesini destekleyebilecek bazı olumlu değişikliklerin meydana geldiğini ortaya koymuştur.

Yapılan çalışma kemikte meydana değişimlerin histolojik ve biyokimyasal olarak CQ ekstratı kullanımına bağlı olarak kemik gelişime olumlu etkisi gözlemlenmiştir.

Cissus bitkisi hazırlamasında ve verilirken dikkat edilmesi gereken husus ekstrat madde toz halinde fakat cissus bitkisi sarmaşık türünde olduğu için gavaj esnasında tıkanmalara ve gavajın tekrarlanmalarına sebebiyet veriyor, yeterli şekilde distile su karışması bu sorunu çözmiyor, ekstrat dibe çöktüğü için aktif olarak karıştırılması gerekiyor.

Çalışmamızda yapılan histopatolojik değerlendirmelerde özellikle 30. gün gruplarında yeni kemik oluşumunun belirginleştiği, woven kemik yapılarının yerini daha organize ve olgun kemik dokusuna bıraktığı gözlenmiştir. Deney grubunda olgunlaşan kemik trabeküllerinin daha düzenli görünüm sergilemesi ve iyileşme alanındaki hücrel organizasyonun daha belirgin olması CQ ekstratının kemik rejenerasyonunu destekleyebileceğini düşündürmektedir. Her ne kadar bu farklılıklar istatistiksel olarak ortaya konulamamış olsa da histolojik bulgular biyolojik açıdan değerlendirildiğinde olumlu kabul edilebilir

Histolojik incelemelerde K30 ve D30 gruplarına bakıldığında D30 grubunda kemik oluşumu gözlemlenmeye başlamışken K30 grubunda ise D30'a göre daha az hücrelilik ve kemik oluşumu meydana geldiği gözlemlenmiştir. Aynı şekilde alınan 0-7-15-21 ve 30. Günlerdeki kan sonuçlarından bakılan osteokalsin ve BALP değerlerine bakıldığında 15-21. Gün arasında değer aralığı sabit kalmış ve daha sonrasında osteokalsin değeri hızlıca düşmeye başlamıştır. Yapılan kan analizlerinde deney grupları ve kontrol grupları kıyaslandığında osteokalsin miktarı kontrol grubundaki değişimi artış gösterirken, deney grubunda artış miktarı azalış göstermektedir.

Immunohistokimyasal sonuçlar incelediğimizde VEGF, FGF, TGF ve IGF moleküllerinin değerleri kontrol grubunda ve deneme grubunda da olumlu sonuçlar gözlemlenmiştir.

Kemik iyileşmesinin erken dönemlerinde anjiyogenez büyük önem taşımaktadır. Bu nedenle çalışmada VEGF, FGF, TGF- β ve IGF-1 ekspresyonları immünohistokimyasal olarak incelenmiştir. VEGF'nin özellikle yeni damar oluşumunda önemli rol oynadığı bilinmektedir. Çalışmamızda hem kontrol hem de deney gruplarında 15. günde yoğun VEGF immünreaktivitesi gözlenirken, 30. günde bu aktivitenin azalması iyileşme sürecinin ilerlemesiyle uyumludur. Benzer şekilde FGF ve TGF- β ekspresyonlarının erken dönemde yüksek bulunması, fibroblast aktivasyonu ve osteoblast farklılaşmasının sürdüğünü göstermektedir.

IGF-1'in kemik matriks sentezi ve osteoblast proliferasyonu üzerinde etkili olduğu bilinmektedir. Deney grubunda gözlenen IGF-1 pozitif hücre varlığı, CQ ekstratının osteojenik aktiviteyi destekleyebileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte immünohistokimyasal değerlendirmelerde deney grubunda gözlenen olumlu değişimlerin istatistiksel yöntemlerle desteklenebilmesi için daha geniş örneklem büyüklüklerine ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

İstatiksel olarak değerlendirildiğinde Literatürde *Cissus quadrangularis*'in mezenkimal kök hücrelerin osteoblastlara farklılaşmasını (proliferasyon) teşvik ettiği bilinmektedir. Çalışmamızda 7. günde CQ grubunda BALP seviyelerinin Kontrol

grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunması ($p < 0,001$), bitkinin erken dönemde osteoblastik aktiviteyi hızlandırdığını doğrulamaktadır. BALP, kemik mineralizasyonu için gerekli olan inorganik fosfatı sağlayan temel bir enzimdir; dolayısıyla CQ'nun bu enzimi artırması, kemik dokusunun onarım sürecini Kontrol grubuna göre daha erken başlattığı anlamına gelir. Osteokalsin, olgun osteoblastlar tarafından sentezlenen ve kemik matrisine kalsiyum bağlanmasını (mineralizasyon) sağlayan bir proteindir. CQ grubunda Osteokalsin seviyelerinin 15. günden itibaren belirginleşmesi ve 21. günde en yüksek değere ulaşması (3265 ± 478), ekstremin sadece hücre bölünmesini değil, aynı zamanda kemik dokusunun sertleşme (kalsifikasyon) aşamasını da desteklediğini göstermektedir. Bu durum, CQ'nun içeriğindeki fitoöstrojenik steroidler ve ketosteronların kemik metabolizması üzerindeki anabolik etkisiyle açıklanabilir. Bu sonuçlar, CQ'nun kemik kırıkları veya defektlerinin tedavisinde etkili bir destekleyici ajan olarak kullanılabileceğini istatistiksel olarak desteklemektedir.

Biyokimyasal değerlendirmelerde kullanılan osteokalsin ve kemik spesifik alkalen fosfataz (BALP) değerleri kemik oluşumunun önemli göstergeleri arasında yer almaktadır. Çalışmamızda gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır. Bununla birlikte deney grubunda osteokalsin düzeylerinde zaman içerisinde azalma gözlenmiştir. Osteokalsin seviyelerindeki bu değişim kemik iyileşmesinin farklı evrelerinde osteoblast aktivitesinin değişkenlik göstermesiyle ilişkili olabilir. Ayrıca ölçümlerin yalnızca belirli zaman noktalarında yapılmış olması biyobelirteçlerde meydana gelen geçici değişikliklerin tespit edilmesini güçleştirmiş olabilir.

C. quadrangularis'in farmakolojik özellikleri antioksidan, serbest radikal temizleme potansiyeli, antibakteriyel aktivite, antiosteoporoz aktivitesi, antitümör aktivitesi, antiülser aktivitesi, analjezik aktivite, antiobezite etkinliği, antipiretik aktivite ve kemik kırığı iyileşme etkinliğidir. (Brahmkshatriya ve Ark, 2015)

CQ ekstratının içerdiği doğal antioksidan bileşenlerin inflamatuvar yanıtı düzenleyebildiği ve serbest radikal oluşumunu azaltabildiği bilinmektedir. Kemik iyileşmesinin erken döneminde aşırı oksidatif stresin baskılanması, osteoblast fonksiyonlarının korunmasına ve yeni kemik oluşumunun desteklenmesine katkı

sağlayabilir. Bu mekanizma çalışmamızda gözlenen olumlu histolojik değişimlerin açıklanmasında önemli bir faktör olabilir.

Çalışmanın bazı sınırlılıkları bulunmaktadır. Öncelikle deney gruplarındaki hayvan sayısının sınırlı olması istatistiksel gücü azaltmıştır. Ayrıca biyomekanik testlerin yapılmamış olması yeni oluşan kemiğin fonksiyonel dayanıklılığının değerlendirilememesine neden olmuştur. Gelecekte yapılacak çalışmalarda daha fazla hayvan kullanılması, farklı doz uygulamalarının karşılaştırılması, mikro-BT analizlerinin eklenmesi ve biyomekanik dayanıklılık testlerinin uygulanması CQ'nun kemik iyileşmesindeki etkilerinin daha ayrıntılı ortaya konulmasına katkı sağlayacaktır.

Cissus quadrangularis, kemik kırıklarının iyileşmesinde spesifik etkisi bulunan vitaminler ve steroidler içerir. *Cissus quadrangularis*'in anabolik steroid prensipsi, kallusun iyileşmesinde ve daha hızlı mineralizasyonunda yer alan tüm bağ dokularının erken rejenerasyonunu etkileyerek kırık iyileşme hızı üzerinde belirgin bir etki gösterir. Kemik iyileşme süresi yaklaşık iki hafta kısaltıldı. (Singh ve Ark, 2011)

Cissus quadrangularis'in etanol ekstraktı (%95), fetal femurda kortikal kemik ve trabeküllerin gelişimini artırır; bu da kalsiyum, fosfor ve fitoöstören steroidlerin zengin içeriğiyle ilişkili olabilir ve kemik kırığının iyileşme sürecinin erken yenilenmesini ve hızlı mineralizasyonunu etkilediği gösterilmiştir. *Cissus quadrangularis*'in petrol eteri ekstraktı, osteojenik koşullandırma ortamı olmasa bile, mezenkimal kök hücrelerin osteoblastlara farklılaşmasını doz bağımlısı olarak uyarabilir. (Mohammad, Shadab, 2014)

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu yapılan çalışmada ratlarda oral olarak kullanılan CQ ekstratının kemik defektleri üzerine etkisini inceleyerek veteriner hekimlik alanına önemli bulgular sunmaktadır. Normal kemik iyileşmesi sürecindeki osteokalsin ve BALP değerlerinin CQ kullanılan ratlara göre daha düşük olduğu gözlemlenmiştir. Özellikle osteokalsin değerlerine baktığımızda CQ ekstratının kullanımı ratların kemik iyileşme sürecini 30 günden daha hızlı iyileşme sağladığı gözlemlenmektedir.

Histolojik olarak incelenen rat femur kemiği dokularında az sayıda kan damarı gözlemlenmesi CQ etki sistemini göstermektedir.

İmmunohistokimyasal olarak incelendiğinde kontrol ve deney grubunda bulunan numunelerdeki VEGF, FGF, TGF ve IGF moleküllerinin kırık iyileşmesine paralel olarak incelendiğinde olumlu sonuçlar ve artışlar yaşanmıştır.

Bu doğrultuda ileride yapılacak çalışmalarda öneri olarak defekt oluşması yerine kırık, çatlak ezik gibi travmaya bağlı kemik hasarlarında kullanımı incelenebilir.

Deney hayvanları yerine çeşitli canlı türleri ile CQ ekstratı kullanılarak çalışmalar yapılabilir.

Kanatlı grubu hayvanlarda kemik yapısının farklı olmasından kaynaklı ne tür sonuçlar verileceği incelenebilir.

Aynı tür canlının farklı kemik türlerinde nasıl sonuçlar ulaşılabileceği incelenebilir.

Sonuç olarak bu çalışma veteriner hekimlikte ortopedi ve travmatoloji alanında CQ (*Cissus quadrangularis*) ekstratı kullanılarak kemik iyileşmesindeki süreyi sağlıklı ve dengeli yönden kısaltarak kemiğin sağlıklı bir biçimde iyileşmesini desteklediğini ileri sürmektedir. Yapılan çalışma ileride yapılacak veteriner hekimliği ortopedi ve travmatoloji alanındaki bilimsel çalışmalara katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Akhbar, A., & Sulong, W. (2021). Surgical drill bit design and thermomechanical damage in bone drilling: A review. *Annals of Biomedical Engineering*, 49(1), 29–56. <https://doi.org/10.1007/s10439-020-02600-2>
- Bafna, P. S., Patil, P. H., Maru, S. K., & Mutha, R. E. (2021). *Cissus quadrangularis* L: A comprehensive multidisciplinary review. *Journal of Ethnopharmacology*, 279, 114355. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114355>
- Banu, J., Varela, E., Bahadur, A., Soomra, R., Kazi, N., & Fernandes, G. (2012). Inhibition of bone loss by *Cissus quadrangularis* in mice: A preliminary report. *Journal of Osteoporosis*, 2012, 1-9. <https://doi.org/10.1155/2012/101206>
- Brahmkshatriya, H. R., Shah, K. A., Ananthkumar, G. B., & Brahmkshatriya, M. H. Clinical evaluation of *Cissus quadrangularis* as osteogenic agent in maxillofacial fracture: A pilot study. *AYU (An International Quarterly Journal of Research in Ayurveda)*. <https://doi.org/10.4103/0974-8520.175542>
- Enechi, O., & Odonwodo, I. (2003). An assessment of the phytochemical and nutrient composition of the pulverized root of *Cissus quadrangularis*. *Journal of Biological Research and Biotechnology*, 1(1), 63-68.
- Gupta, R., Gupta, S., Gupta, P., Nüssler, A., & Kumar, A. *Cissus quadrangularis*'ten Ekstraselüler Veziküllerin Kallus Tabanlı İzolasyonunun Oluşturulması ve Osteojenik Farklılaşmadaki Rollerinin Açıklanması. *Journal of Functional Biomaterials*, 14(11), 540. <https://doi.org/10.3390/jfb14110540>
- Histing, P., Garcia, P., Holstein, J. H., Klein, M., Matthys, R., Nuetzi, R., Steck, R., Laschke, M. W., Wehner, T., Bindl, R., Recknagel, S., Stuermer, E. K., Vollmar, B., Wildemann, B., Lienau, J., Willie, B., Peters, A., Ignatius, A., Claes, L., ... Menger, M. D. (2011). Small animal bone healing models: Standards, tips, and pitfalls results of a consensus meeting. *Bone*, 49(4), 591-599. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2011.07.007>
- Lee, J., Craig, C., & Park, J. (2018). Parameters affecting mechanical and thermal responses in bone drilling: A review. *Journal of Biomechanics*, 71, 4-21. <https://doi.org/10.1016/j.jbiomech.2018.02.025>
- Lekshmi, R. K., Divya, B. T., & Mini, S. (2014). *Cissus quadrangularis* extract attenuates hyperglycaemia-mediated oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *Redox Report: Communications in Free Radical Research*, 19(5), 214–220. <https://doi.org/10.1179/1351000214Y.0000000096>
- Öngel, S. (2017). *The effect of silimarin on fractura healing in rats* (Yayımlanmamış uzmanlık tezi/doktora tezi veya çalışma).
- Shadab, M., Pal, U. S., Pradhan, R., & Singh, N. (2014). Herbal remedies for mandibular fracture healing. *National Journal of Maxillofacial Surgery*, 5(1), 35-38. <https://doi.org/10.4103/0975-5950.140167>
- Siddiqua, A., & Mittapally, S. (2017). A review on *Cissus quadrangularis*. *The Pharma Innovation Journal*, 6(7), 329-334.
- Singh, N., Singh, V., Singh, R. K., Pantolon, A. B., Pal, A. B., Malkunje, L. R., & Mehta, G. (2013). Osteogenic potential of *cissus qudrangularis* assessed with osteopontin expression. *National Journal of Maxillofacial Surgery*, 4(1), 52-56. <https://doi.org/10.4103/0975-5950.117884>
- Singh, V., Singh, N., Pal, U. S., Dhasmana, S., Mohammad, S., & Singh, N. Clinical evaluation of *cissus quadrangularis* and *moringa oleifera* and osteoseal as osteogenic agents in mandibular fracture. *National Journal of Maxillofacial Surgery*. <https://doi.org/10.4103/0975-5950.94466>

Sundaran, J., Begum, R., Vasanthi, M., Kamalpathy, M., Bupesh, G., & Sahoo, U. A short review on pharmacological activity of *Cissus quadrangularis*. <https://doi.org/10.6026/97320630016579>

Zahan, M. N., Hasan, M., Mallik, S., Hashim, M. A., & Juyena, N. S. (2022). Effect of *Cissus quadrangularis* on fracture healing in laboratory animal. *Journal of Health and Biological Sciences*, 10(1), 1-5. <https://doi.org/10.12662/2317-3076jhbs.v10i1.3670.p125.2022>