



Shilajit'in (mumie) farede deneysel osteoartrit üzerindeki potansiyel farmasötik etkisi

Shahrzad Azizi¹ & Reza Khirandiah¹ & Omid Azari² & Nafise Torabi³

Geliş Tarihi: 25 Mayıs 2017 / Kabul Tarihi: 5 Ş ubat 2018
Springer-Verlag London Ltd., Springer Nature 2018'in bir parçası

Soyut

Osteoartrit (OA), insanda klinik olarak hareket kaybı ve ağ rı ile seyreden dünya çapında bir eklem hastalığıdır. Geleneksel tedaviler temel yan etkilerle iliş kilidir. Halk hekimliğ inde, artrit ve kemik kırıklarının tedavisi için Shilajit uygulanır. Bu çalış ma, fare modelinde Shilajit'in osteoartrit üzerindeki etkisini değ erlendirdi. Otuz altı yetiş kin erkek sıç an rastgele OA dahil iki gruba ayrıldı ve Shilajit grupları ile tedavi edildi. OA, femorotibial eklemde eklem boş luğ una monosodyum iyodoasetat enjeksiyonu ile indüklendi. Deney grubuna 21. güne kadar günlük olarak Shilajit'in sulu ekstraktı sonda ile verildi. Eklem örnekleri indüksiyondan 7, 14 ve 21 gün sonra incelenmiş tir. Etkilenen eklemlerdeki ana makroskopik değ iş iklikler, erken aş amalarda ş iş lik ve tikanıklıktı. Histopatolojik çalış ma, 7 ve 14 gün sonra hem OA hem de Shilajit gruplarında yüzey düzensizliğ i, erozyon ve çatlaklar, nekrotik kondrositler, toluidin mavisi boyamanın tükenmesi ve subkondral kemik erimesi gösterdi. Synovium, sinovyal hücrelerde hiperplazi ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu gösterdi. Her iki grupta da anlamlı fark olmadan orta ila ileri OA görüldü. 21 gün sonra, Shilajit grubunda yıkıcı hasarların ve sinovitin histopatolojik skorları azaldı ve OA grubuna göre anlamlı farklılık gösterdi. Bu çalış ma, Shilajit'in sulu ekstraktının diz osteoartritinde kırıkdağ dejeneratif değ iş ikliklerini azalttığı nı göstermektedir. Ayrıca sinovyal membranda inflamatuvar reaksiyonları azaltmış tir.

Anahtar Kelimeler Osteoartrit . monosodyum iyodoasetat Shilajit . Toluidin mavisi. Patoloji

Giriş

Osteoartrit (OA), eklem kırıkdağ ının ilerleyici kaybı ile karakterize edilen dejeneratif bir eklem hastalığıdır (Rosenberg 2002). Her iki cinsiyette de insanların yaklaşık %80 ila 90'ında 65 yaş ına geldiklerinde OA belirtileri vardır (Hinton ve ark. 2002). Osteoartriti (OA) olan hastalarda baş lıca klinik belirtiler ağ rı ve sakatlılıktır (Neogi 2013). Ş u anda, belirli bir tedavi OA'nın ilerlemesini azaltamaz veya durduramaz (Le Graverand-Gastineau 2010). Geleneksel tedaviler

analjezikler ve nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar (NSAID'ler) gibi sadece ağ rıyı azaltır ve eklem fonksiyonunu iyileş tirir. Bu ilaçların uzun süreli kullanımı gastrointestinal, renal ve kardiyovasküler sistemlerde önemli yan etkilerle iliş kilidir (Patrignani ve ark. 2011; Cheng ve Visco 2012). Etno-farmakoloji bilgisinde, OA'nın önlenmesi ve tedavisi için yan etkileri ve dezavantajları düş ük, güvenli ilaçlara ulaş ılması göz önünde bulundurulmuş tur. Halk hekimliğ inde Shilajit, kemik kırıkları ve eklem ağ rılarının tedavisinde kullanılır.

Shilajit (mumie, bitkisel asfalt, mineral zifti, salajit, shilajatu, mimie veya mummiyo olarak bilinir) farklı ülkelerde özellikle Hindistan ile Nepal, Rusya, Tibet, Afganistan ve Ş ili'nin kuzeyi arasındaki Himalaya Dağ ları'ndaki yüksek dağ kayalarından sızır. Kahverengimsi siyahtan koyu renge kadar yarı sert bir dokuya sahiptir (Ghosal ve diğ erleri 1991; Korago 1992). Görünüş e göre Shilajit, Shilajit eksudalı kayaların çevresinde yetiş en briyofit bitkilerinden kaynaklanmaktadır (Schepetkin ve diğ erleri , 2003; Agarwal ve diğ erleri, 2003).

2007). Yosunlar, karaciğ er suları ve boynuz suları dahil olmak üzere briyofitler en basit bitkiler olarak kabul edilir. 15–20 cm yüksekliğ e sahip olup, zemine ve kayaya kerpentele bağ lıdır.

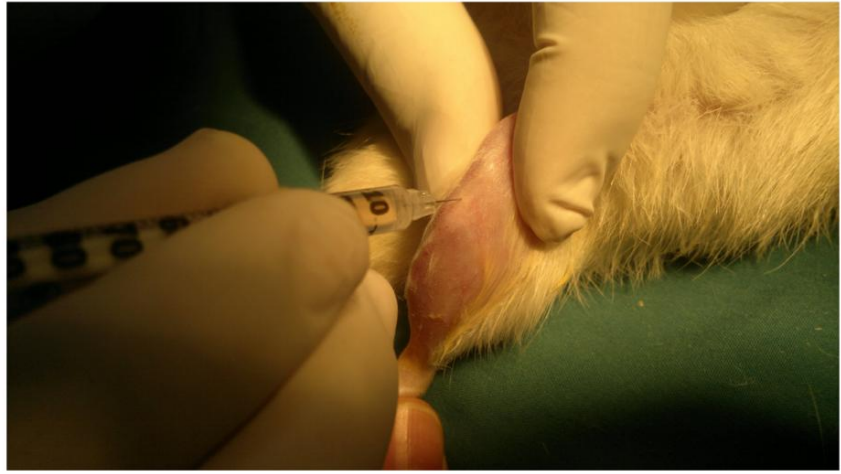
* Shahrzad Azizi
azizi.shahrzad@gmail.com

¹ Veteriner Fakültesi, Patobiyoloji Anabilim Dalı, Shahid Kirman Bahonar Üniversitesi, Kerman, İ ran

² Veteriner Fakültesi Klinik Bilimler Anabilim Dalı, Kirman Shahid Bahonar Üniversitesi, Kerman, İ ran

³ Mezun Öğ renci, Veteriner Fakültesi, Shahid Bahonar Kerman Üniversitesi, Kerman, İ ran

Ş ekil 1 İ nfrapatellar bağ yoluyla
intraartiküler MIA enjeksiyonu



rizoidler. Briyofitlerin tohumları veya çöçkleri yoktur ve sporlar yoluyla yeniden üretilirler. Shilajit esas olarak hümik maddelerden (humin, hümik asit ve fulvik asit) (%60-80), minerallerden (%20-40) ve %5'ten fazla eser elementlerden (Fe, Ca, Cu, Zn, Mg) oluş ur. , Mn, Mo ve P) (Frolova ve Kiseleva 1996).

Literatürde, Shilajit'in osteoartritteki histopatolojik etkisini gerçekten gösteren hiçbir çalış ma yoktur ve buna ihtiyaç vardır.



Ş ekil 2 Femorotibial eklemin ön kesiti

Bu çalış ma, Shilajit'in bir OA sıçan modelinde eklemdaki dejeneratif değ iş iklikler üzerindeki etkilerini değ erlendirdi.

Malzemeler ve yöntemler

Hayvanlar

Bu çalış mada 36 yetiş kin erkek sıçan (12 haftalık, 200-250 g ağı ırlığı nda) kullanıldı. Hayvanlar barındırıldı

Tablo 1 Histopatolojik Mankin skor sistemi

I. Yapı	Seviye
a. Normal	0
b. Yüzey düzensizlikleri c.	1
Pannus ve yüzey düzensizlikleri	2
d. Geçiş bölgesine yarıklar	3
e. Radyal bölgeye yarıklar	4
f. Kalsifiye bölgeye yarıklar	5
g. Tam düzensizlik	6
II. hücreler	Seviye
a. Normal	0
b. Diffüz hiperselülarite c.	1
klonlama d. Hiposelülarite III.	2
Safranin-O boyama	3
	Seviye
a. Normal	0
b. Hafif azalma	1
c. Orta derecede azalma	2
d. Ş iddetli azalma	3
e. Boya görülmedi	4
IV. Tidemark bütünlüğü ü	Seviye
a. Bozulmamış	0
b. Kan damarlarıyla geçti	1
Toplam	14

Tablo 2 Sinoviyal skorunun histopatolojik özellikleri

Sinoviyal astar hücre tabakasının genişlemesi 0 puan 1 puan 2 puan	Astar hücreleri bir katman oluş turur Astar hücreleri 2-3 katman oluş turur Astar hücreleri 4-5 katman oluş turur, birkaç çok çekirdekli hücre oluşabilir Astar hücreleri 5'ten fazla katman oluş turur, astar üsere olabilir ve çok çekirdekli hücreler oluşabilir
3 puan	
Yerleşik hücrelerin yoğunluğu 0 puan 1 puan 2 puan	Sinoviyal stroma normal selülarite gösterir. Hücresellik biraz artar Hücresellik orta derecede artar, çok çekirdekli hücreler oluşabilir Hücresellik büyük ölçüde artar, çok çekirdekli dev hücreler, pannus oluşumu ve romatoid granümler oluşabilir.
3 puan	
İnflamatuar infiltrat 0 puan 1 puan	Enflamatuar sızıntı yok Az sayıda çoğunlukla perivasküler yerleşimli lenfositler veya plazma hücreleri Çok sayıda lenfosit veya plazma hücresi, bazen folikül benzeri agregalar oluş turur İnflamatuar infiltrat benzeri yoğunun bant veya çok sayıda büyük folikül benzeri kümeler
2 puan	
3 puan	

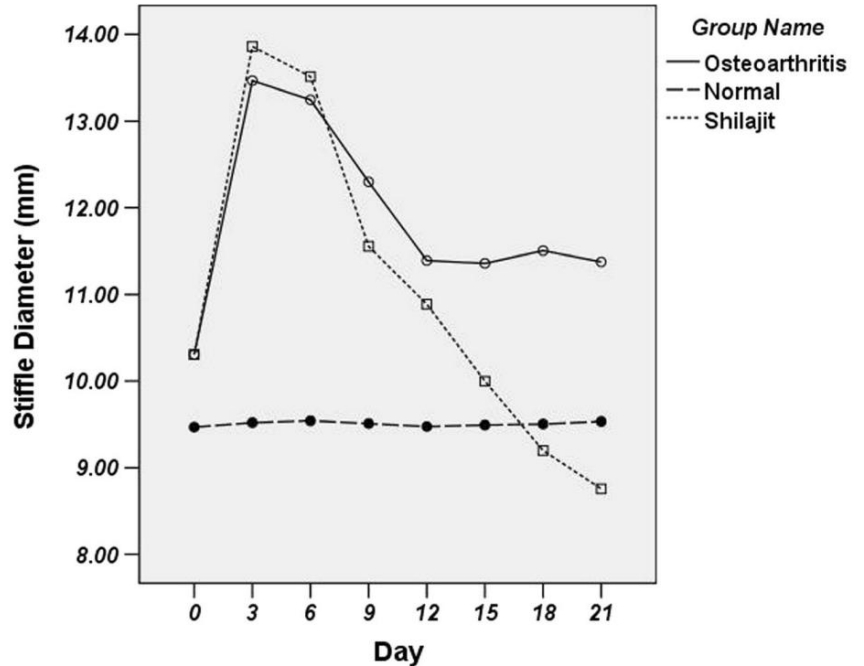
12 saatlik aydınlık-karanlık döngüsü altında, standart yiyecek ve tatlı suya ad libitum erişim. Hayvanlar rastgele OA (kontrol) ve Shilajit (OA + Shilajit) grupları olmak üzere iki gruba ayrıldı. Deney süresi 21 gün olarak kabul edildi.

osteoartrit indüksiyonu

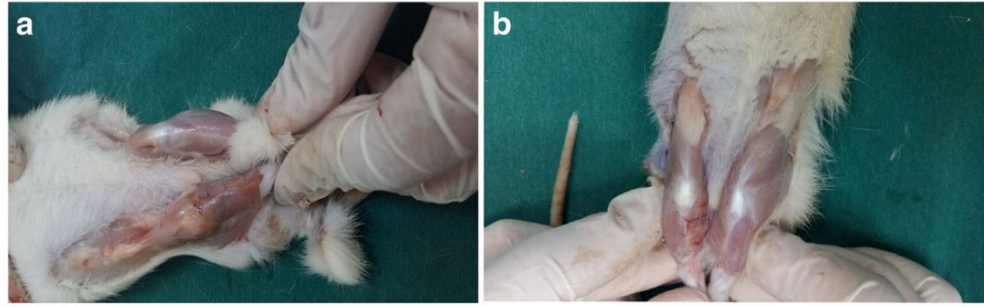
Osteoartrit indüksiyonu için, sıçanlara %2 ksilazin (5 mg/kg) ve %10 ketamin (90 mg/kg) intramüsküler enjeksiyonu ile anestezi uygulandı (Alfasan International Group of

Şirketler, Hollanda). Daha sonra hayvanlar, derin anestezi sağ lanana kadar bir ısı yastığı üzerine yerleştirildi. İki grubun sağ dizleri traş edilerek povidon iyot ile temizlendi. Her diz için 3 mg monosodyum iyodoasetat (MIA; Sigma, St. Louis, MO 63103, ABD; cat #I2512) normal salin içinde vorteksenerek çözüldü. Sağ femorotibial eklemin eklem boşluğuna infrapatellar bağ yoluyla 27 gauge insülin şırıngası ile tek taraflı olarak 50 ul hacim enjekte edildi (Şekil 1). Sol kontralateral dizde normal kontrol olarak aynı hacimde normal salin (50 ul) kullanıldı. MIA taze hazırlanmış

Şekil 3 Normal kontrol ve deney gruplarında diz eklemi çapları



Ş ekil 4 21 gün sonra MIA enjekte edilen eklemlerin brüt görünümü. a OA sıçanının sağ dizinde ş iş lik ve tıkanıklık, b Shilajit ile tedavi edilen diz normal kontralateral eklemeye yakın görünüyor



kullanılmadan önce (Guzman ve ark. 2003). Eklemelerin çapı, enjeksiyondan sonraki 3 günde bir muayenenin sonuna kadar bir dijital kulis ile ölçülmüş tür.

Shilajit özü

Shilajit, İ ran'ın Kirman eyaleti, Jiroft ş ehrinin yerel sakinlerinden hazırlandı. Shilajit'in sulu ekstraktı günlük olarak sağ landı. Yirmi gram Shilajit, oda sıcaklığı nda bir çalkalayıcı üzerinde 100 mL distile suda çözüldü.

Daha sonra çözelti, çözünmeyen safsızlıkları gidermek için 0.45 mm'lik bir filtreden geçirildi (Jung ve ark. 2002) ve saflaş tırıldı. Tedavi grubuna 21 gün boyunca günlük olarak 100 mg/kg vücut ağı ırlığı ı Shilajit dozu gavaj yoluyla verildi.

Brüt ve histopatolojik incelemeler

Her gruptan on altı sıçan, OA indüksiyonundan 7, 14 ve 21 gün sonra ötenazi edildi. Keskin bir ustura ile bağ ve tendonlar çkarıldı ve femorotibial eklemler diseke edildi. Femural ve tibial kondillerin kırık yüzeyleri kanama, konjesyon, erozyon ve ülser gibi büyük değ iş iklikler açısından incelendi. Eklem numuneleri, 48 saat boyunca %10 nötr tamponlu formalinde sabitlendi. Örnekler %10'luk formik asitte dekalsifiye edildi ve frontal düzlemde kesildi (Ş ekil 2). Eklemelerin her iki kısmı da aynı parafin bloğ a gömüldü. 5 mikron kalınlığı ndaki doku kesitleri, daha sonra dejeneratif değ iş ikliklerin ve proteoglikan içeriğ inin değ erlendirilmesi için hematoksilin-eozin ve toluidin mavisi ile boyandı.

Her dizden 200 mikronluk adımlarla üçer kesit kesildi.

Tablo 3 Eklem hasarları ve sinovit skorlarının karşı laş tırılması

gün	Grup	Eklem skorları Ortalama ± standart hata	sinovit skorları Ortalama ± standart hata
7	AH	8,4 ± 1,74	4,8 ± 0,49
	Ş ilajit	6,83 ± 0,30	3,5 ± 1,02
14	AH	8,20 ± 0,66	5 ± 0,31
	Ş ilajit	8,33 ± 0,91	5,33 ± 0,71
21	AH	10 ± 1,18a	7,20 ± 1/06a
	Ş ilajit	5 ± 0,36b	3,50 ± 0,88b

^a, ^b Anlamlı P 0,05

Histopatolojik lezyonlar ve sinovit ş iddeti Mankin ve ark. (1971)

(Tablo 1) ve Krenn ve ark. 2002 (Tablo 2), sırasıyla.

istatistiksel analiz

Elde edilen sonuçlar SPSS 16.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) ile analiz edildi ve ortalama ± standart hata (SE) olarak sunuldu. Artiküler ve sinovit skorlarının karşı laş tırılmasında Mann-Whitney testi ile parametrik olmayan analizler kullanıldı. 0,05'ten küçük p değ erleri anlamlı fark olarak kabul edildi. Eklem çapı, tekrarlanan varyans ölçüm analizi ve post-hoc Tukey testi ile değ erlendirildi.

Sonuçlar

etik

Tüm hayvanlar, Bakım ve Laboratuvar Kullanımı Kılavuzuna uygun olarak insan bakımı aldı. Ulusal Sağ lık Enstitüleri tarafından yayınlanan Hayvanlar (NIH yayını No. 85-23, 1985'te revize edilmiş tir). Çalı ş ma veteriner fakültemizin yerel etik kurulu tarafından onaylandı.

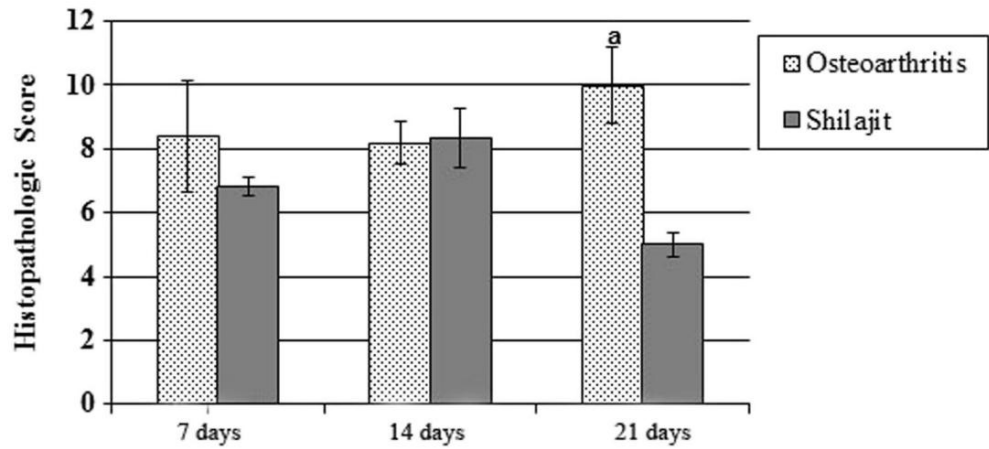
yürüyüş analizi

Bu çalı ş mada, tüm deneysel sıçanlarda 48 saatlik OA indüksiyonundan sonra hipolokomosyon ve anormal yürüme belirgindi. Etkilenen bacaklarda topallık gözlemlendi. Hayvanlar ağı ırlıklarını etkilenen uzuv üzerine taş ımadılar ve kontralateral tarafa göre fleksiyon ve ekstansiyon tam olarak yapılmadı. Sağ lam uzuv dizde tipik fleksiyon ve ekstansiyona sahipti.

Diz eklemlerinin makroskopik değ erlendirilmesi

Salin enjekte edilen grupta anormal büyük bir değ iş iklik ve ş iş me meydana gelmedi. Eklem yüzeyi pürüzsüz, parlak, soluk mavi ve yarı saydam görünüyordu. OA ve Shilajit gruplarında, eklem çapındaki artış , Shilajit ile tedavi edilen sıçanlarda 3 gün sonra maksimum boyuta ulaş tı ve ardından azalmaya baş ladı.

Ş ekil 5 Histopatolojik Mankin skorları, Shilajit ile 21 günlük tedaviden sonra kıkırdak dejenerasyonunda önemli bir azalma olduğu unu göstermektedir. Ortalama \pm ortalamanın standart hatası olarak ifade edilen veriler (a: $P < 0.05$)



grup muayene sonuna kadar (Res. 3). OA ve Shilajit gruplarının eklemlerindeki belirgin makroskopik değ iş iklikler erken dönemde ş iş lik ve kızarıklık. Kıkırdak yüzeyi pürüzlü ve opak. 7 gün sonra her iki grupta da ince yarıklar, erozyonlar ve küçük ülserler gözlemlendi. Eklem çevresindeki yumuş ak dokular hiperemik ve kalınlaş mış tı. Eklem barajı yaş ları 21. güne kadar ilerledi ve tedavi edilmeyen bazı sıçanlarda subkondral kemik açğ a çıktı. Shilajit grubunda, bazı sıçanlarda diz eklem kıkırdak ı soluktu ve görünüş olarak normale yakındı (Ş ekil 4). Bununla birlikte, kıkırdak yüzeyinde ara sıra mikro yarıklar ve çatlaklar tespit edildi.

Eklem kıkırdak ında histopatolojik bulgular

Bu çalış mada, deney gruplarındaki tüm artiküler ve sinovyal histopatolojik skorlar Tablo 3'te ve Ş ekilleri içeren iki diyagramda gösterilmektedir. 5 ve 6.

Salın verilen grupta eklem kıkırdak ında anormal yapısal değ iş iklik gözlenmedi ve yapısal bütünlük korundu. Menisküs, femoral kondilleri tibial platodan ayırdı. Kıkırdakta herhangi bir aralıklı çalış mada dejeneratif değ iş iklik olmamış tır. Eklem yüzeyleri pürüzsüzdü, düzensizlik yoktu ve üzerinde çatlaklar veya doku birikintileri yoktu.

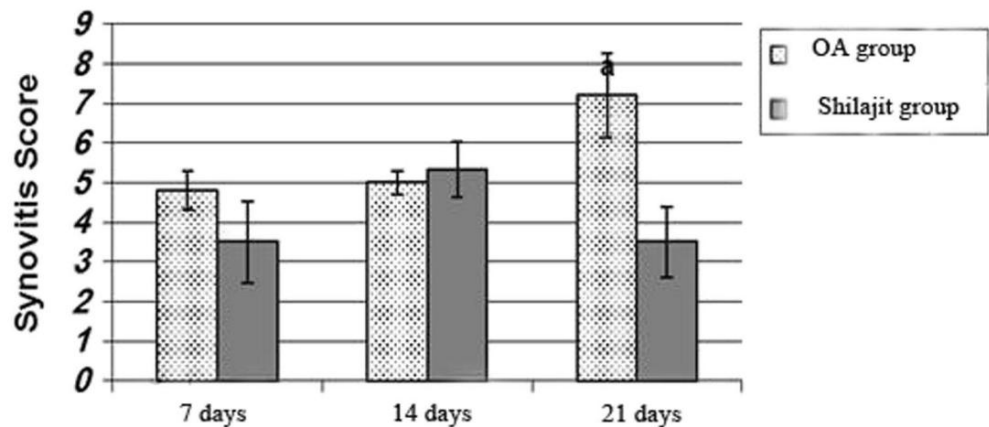
onların yüzeyi. Hüresellik normaldi ve kondrositler üç uygun yönlendirilmiş bölgeye dağı lmış tı. Lakün içindeki kondrositler, hafif eozinofilik sitoplazmaya ve bazofilik çekirdeklere sahipti. Kondrositleri çevreleyen ş effaf bir kıkırdak kapsülü Kireçlenmiş ve kireçlenmemiş bölge arasındaki sınır çzgisini olan tidemark bozulmamış tı. Toluidin mavisi yöntemi ile boyama yoğ un mavi renk gösterdi. bu

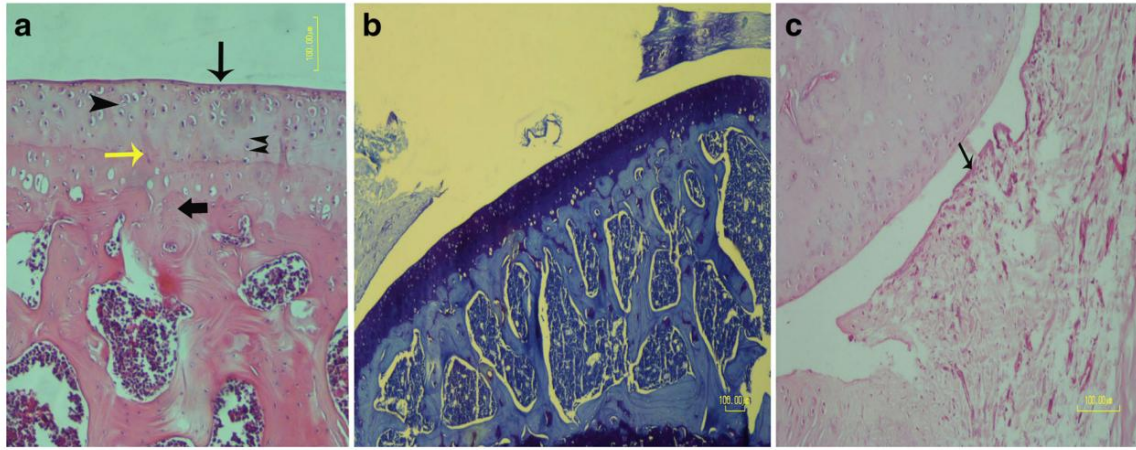
Deney süresi boyunca Mankin puanları, kıkırdak yapısının iyi kalitesini yansıtan en düş ük puandı (0). Femorotibial eklem etrafındaki sinovyum ve yumuş ak dokular histolojik olarak normaldi ve inflamatuvar reaksiyon görülmedi (Ş ek. 7).

MIA enjeksiyonundan yedi gün sonra, OA grubundaki eklem kıkırdak ının yüzeyi pürüzlü, düzensizdi ve bazı çatlaklar vardı. Kondrositler hüresel ayrıntılarını kaybetti. Yıkıcı hasarlar, geçiş ve daha az radyal bölgeye geniş letildi. Gelgit

iş areti çoğ u örnekte süreliydi. Proteoglikanın boyama yoğ unluğ u toluidin mavisi ile azaldı. Subkondral kemiğ in trabeküler boş lukları arasındaki hemopoietik elemanlar azalmış ve yerini bağ dokusu almış tır (Ş ekil 8). Sinovyal hücre proliferasyonu ve artan stromal selülarite ile iliş kili olarak sinovyal hücre zarına sızan mononükleer enflamatuvar hücreler (Ş ekil 9). orta ila

Ş ekil 6 Sinovitin histopatolojik derecelendirmesi, Shilajit ile 21 günlük tedaviden sonra enflamatuvar reaksiyonda önemli azalma gösterir. Ortalama \pm ortalamanın standart hatası olarak ifade edilen veriler (a: $P < 0.05$)





Ş ekil 7 Salin enjekte edilmiş eklem. a Eklem yüzeyi, çatlaklar olmadan pürüzsüzdür (ince ok). Geçiş (ok) ve radyal (çift ok) bölgelerinde kondrositlerin normal dağılımı, bozulmamış gelgit özgisi

(sarı ok), b yoğun toluidin mavisi rengi ve c normal histolojik yapıya sahip sinovyum (ok)

OA'nın ileri evreleri görüldü. Shilajit ile tedavi edilen sıçanlarda benzer yıkıcı hasarlar ve sinovit meydana geldi.

İstatistiksel analiz, iki grup arasında kırıkdağ ve sinovyumun histopatolojik skorlarında anlamlı bir fark göstermedi ($P = 0.05$).

14 günlük OA indüksiyonu sonrasında eklem kırıkdağında geçiş ve küçük radyal bölgelere kadar inen daha derin fissür ve çatlaklar gözlemlendi. Kondrositler, piknotik çekirdekler ve kayıp sitoplazma olarak nekrotik değişimlikler gösterdi. Bazı kondrositler lakün içinde parçalandı ve kondrolar boştu. Bazı örneklerde eklem kırıkdağında birkaç kist oluşmuştu (Ş ek. 10). Osteoklast sayısı MIA enjeksiyonundan sonraki 7. günden daha fazlaydı. Toluidin mavisi ile belirgin bir proteoglikan azalması belirlendi. Subkortikal kemiğin trabekülleri incelendi

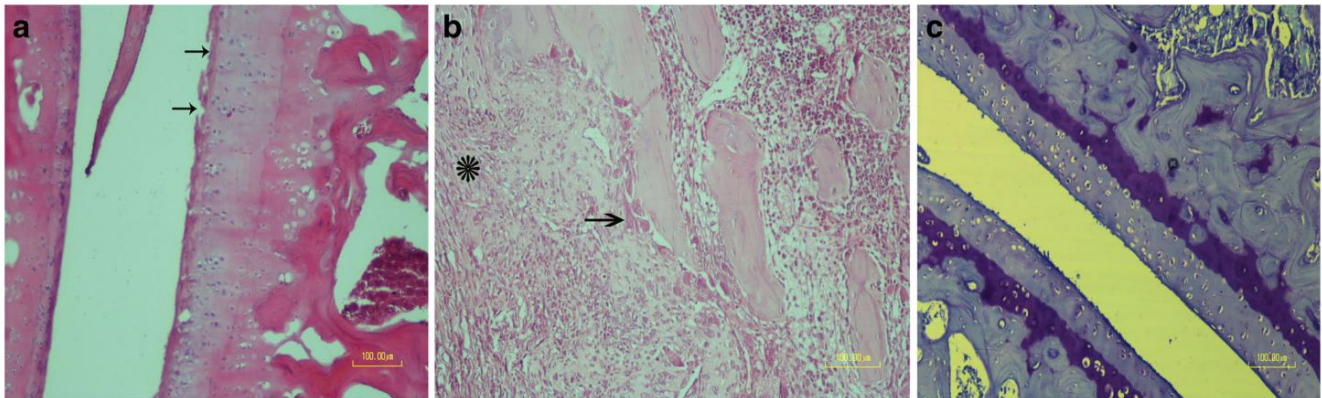
ve parçalanmış. Femorotibial eklemler, hem OA hem de Shilajit gruplarında orta ila ileri düzeyde osteoartrit ve sinovit sergiledi ve aralarında anlamlı bir fark bulunmadı ($P = 0.05$). Shilajit ile tedavi edilen sıçanlar bir

tedavi edilmemiş hayvanlarla karşılaştırıldığında orta şaft tibia periosteumunda belirgin osteogenez aktivitesi (Ş ekil 11).

21 gün sonra OA grubunda ileri evre osteoartrit gözlemlendi. Etkilenen eklemler, çok odaklı kırıkdağ soyulmuş, derin çatlaklar ve çok sayıda nekrotik kondrosit dahil olmak üzere eklem kırıkdağında önemli bir yıkım sergiledi. Bazı örneklerde, eklem kırıkdağının tamamen düzensizliği nedeniyle subkondral kemik aşınmıştı. Subkondral kemik çökmüş ve hempoetik hücreler fibröz doku ile yer değiştirmişti. Kemik trabeküllerinin bazı kalıntıları mevcuttu. Diz eklemi kenarlarında osteofitler oluşmuştu (Ş ek. 12). Alevlenmede şiddetli mononükleer hücre sinoviyal membranı ve yumuşak dokuları etkiledi.

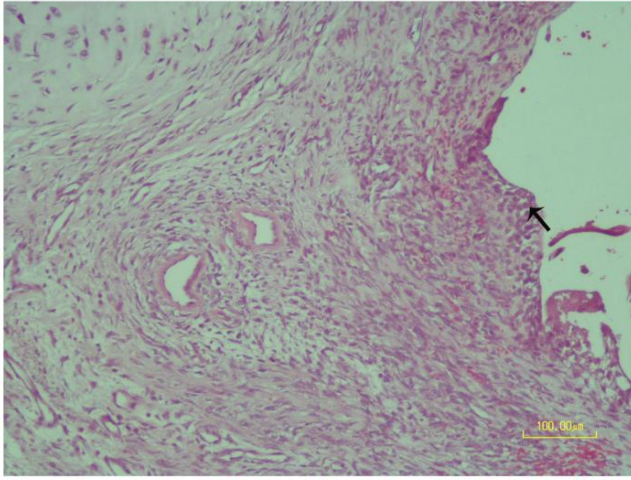
Shilajit'in sulu ekstraktı ile muamele, kırıkdağ yapısındaki ve subkondral kemikteki dejeneratif hasarları önemli ölçüde azaltmıştı. İyileşme belirtileri ağıktı.

Kırıkdağ rejenerasyonu, kondrositlerin hiperplazisi ile tanımlandı. Toluidin mavisi boyası ile proteoglikanın hafif bir şekilde tükendiği tespit edildi. Shilajit önemli ölçüde bastırıldı



Ş ekil 8 MIA enjeksiyonundan 7 gün sonra femorotibial eklem. a Eklem kırıkdağının yüzeyinde bazı çatlaklar olan düzensiz yüzey (oklar), b subkondral kemikte fragmentasyonlar, trabeküler kemiğin osteoklastlarla parçalanması

(ok) ve kemik iliğinin bağ dokusuyla değiştirilmesi (yıldız işaret). c Proteoglikanın boyama yoğunluğu toluidin mavisi ile azaldı



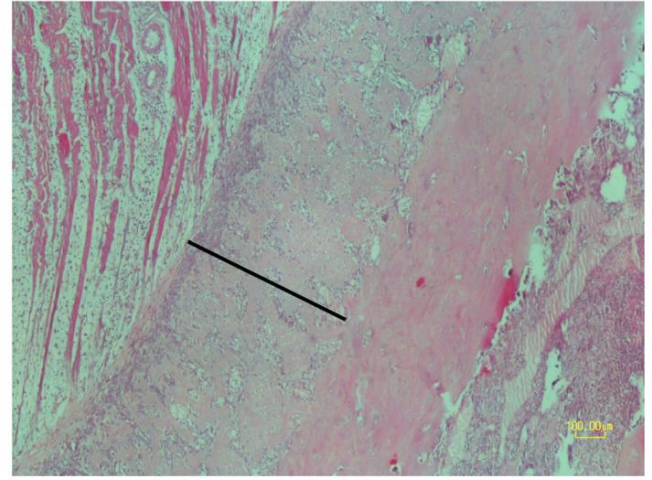
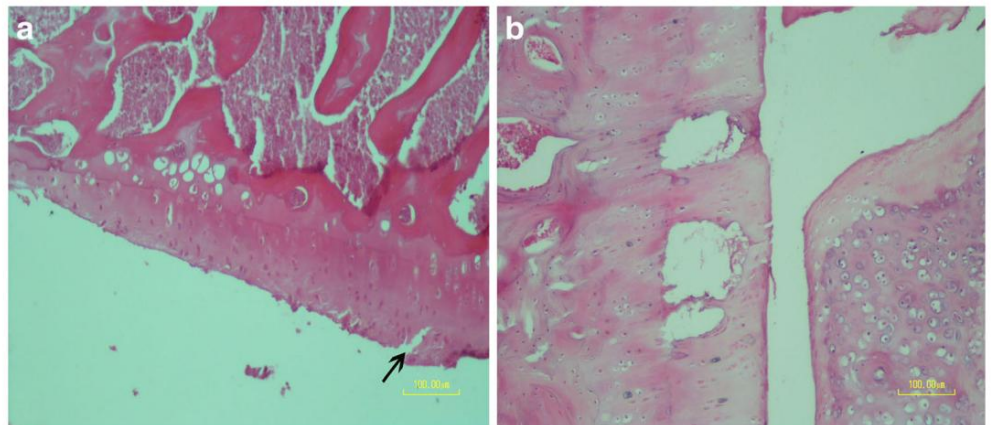
Ş ekil 9 MIA enjeksiyonundan yedi gün sonra. Sinovit, sinoviyal hücrelerin hiperplazisi (ok), stroma artışı ve mononükleer enflamatuvar hücrelerin infiltrasyonu ile karakterizedir.

sinoviyumda iltihaplanma. Ek olarak, sinoviyal hücrelerin hiperplazisi ve artan stroma inhibe edildi (Ş ekil 13). Kıkırdak değ iş iklikleri ve sinovit yoğ unluğ unun histopatolojik skorları, OA grubundaki sıçanlara kıyasla önemli ölçüde azaldı (P = 0.05).

Tartış ma

Artrit veya eklem iltihabı, eklemdede ağ rı, sertlik ve ş iş meye neden olan bir grup hastalık olarak adlandırılır. Romatizmal artrit, osteoartrit ve guttan kaynaklanan artrit olarak ayrılabilir (Di Paola ve Cuzzocrea 2008). Osteoartrit (OA), insanda klinik olarak hareket kaybı ve ağ rı ile seyreden eklemlerin sık görülen ilerleyici bir hastalığ ıdır. Osteoartrit geliş iminde travma, yaş lanma, obezite, genetik yatkınlık gibi farklı risk faktörleri sorumlu olabilir (Goldring ve Otero 2011; Iannone ve Lapadula 2010; Adatia ve ark. 2012). OA patofizyolojisinin ve risk faktörlerinin anlaş ılması,

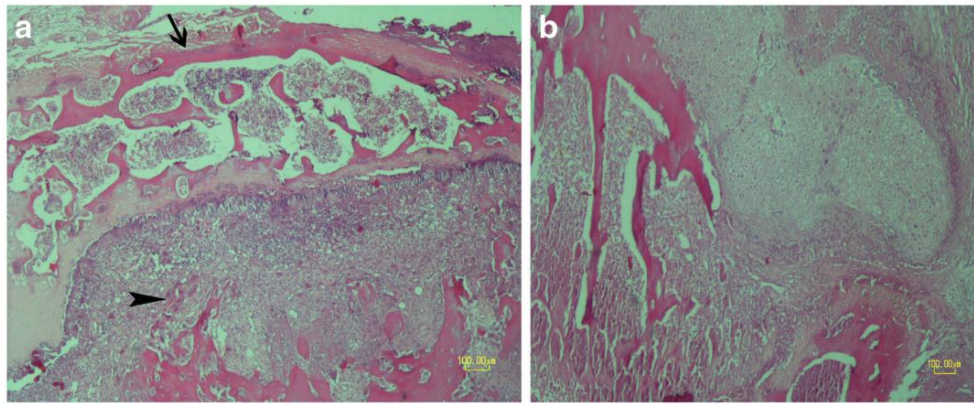
Ş ekil 10 MIA enjeksiyonundan 14 gün sonra femorotibial eklem. a Eklem yüzeyi, nekrotik kondrositlerin yanı sıra, geçiş i ve küçük radyal bölgelere (ok) kadar inen derin çatlaklar ve çatlaklar gösterir. b Eklem kıkırdağ ı içinde kistlerin varlığı



Ş ekil 11 Shilajit ile tedavi edilen sıçanlarda 14 gün sonra orta ş aft tibia periosteumunda belirgin bir osteogenez aktivitesi

Yeni tedavilere baş arı, ancak insanlarda yapılan araş tırmalar farklı sınırlamalarla iliş kilidir. Hayvan modelleri OA'nın ilerleyici evreleri, çeş itli fiziksel ve çevresel koş ulların etkileri ve bitkisel ve geleneksel kökenli yeni ilaçların etkisi üzerinde çalı ş mak için uygun bir fırsat sağ lar.

Halk hekimliğ inde Shilajit, artrit ve kemik kırıklarının tedavisi için uygulanan bir bitki-mineral bileş iğ idir. Bu terapötik madde diyabet (Bhattacharya ve Sen 1995), sindirim hastalıkları (Abshenas ve ark. 2014), yaş lanma (Agarwal ve ark. 2007), HIV virüsü (Rege ve Chowdhary 2014), kan basıncı (Gaikwad ve ark. 2014), Alzheimer hastalığ ı (Carrasco-Gallardo ve ark. 2012), sperm matogenezis ve oogenezis (Rege ve Chowdhary 2014), kemik kırıkları (Dehghan ve Sharifi Faradonbeh 2012), anemi ve egzama (Acharya ve ark. 1988); Goel ve diğ erleri 1990; Schepetkin ve diğ erleri 2002; Agarwal ve diğ erleri 2007). Shilajit'in farklı biyolojik fonksiyonları ve medikal özellikleri, fulvik aside atfedilir.



Ş ekil 12, MIA enjeksiyonundan 21 gün sonra bir femorotibial eklem osteoartritin ileri evresini göstermektedir. Artiküler kırıkdağ ın (ok) önemli ölçüde tahrip olması nedeniyle subkondral kemiğ in ağı a çıkması ve ayrıca

büyüme plakası alanında osteoklastlar (ok baş ı) ve fibröz doku. b Diz eklemi kenarlarında osteofit oluş umu

(FA) ve hümk asit (Schepetkin ve ark. 2003; Cornejo ve ark. 2011; Maccioni ve ark. 2012).

Bu çalış ma, indüksiyondan 7, 14 ve 21 gün sonra sıçanlarda deneysel osteoartrit üzerinde Shilajit'in etkisini değ erlendirdi. OA, eklem boş luğ una monosodyum iyodoasetat (MIA) enjeksiyonu ile indüklendi. Histopatolojik olarak, 7 ve 14 gün sonra, eklem kırıkdağ ında düzensiz yüzey, fibrilasyon ve bazı çatlaklar, nekrotik kondrositler, toluidin mavisi lekelenmesinin kaybı, ayrıca subkondral kemik ve sinovit destrüksiyonu görüldü. Lezyonların derecelendirilmesi, hem OA hem de Shilajit gruplarında, bu kurslarda anlamlı farklar olmadan orta ila ileri hasar yaş ları gösterdi. 21 gün sonra, OA grubunda eklem dejeneratif lezyonları ve sinovit yoğ unluğ u ilerledi, ancak sulu Shilajit ekstresi, sinoviyumdaki eklem hasarları ve enflamasyonun histopatolojik derecelendirmesinde önemli ölçüde azalma sağ ladı (P = 0.05).

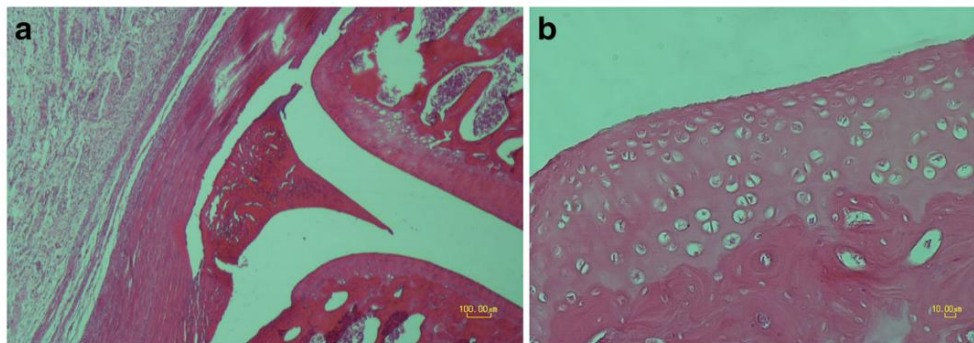
Osteoartritin farklı hayvan modellerinde incelenmesi için çeş itli yöntemler kullanılmaktadır. Kimyasal maddelerin özellikle Mİ A'nın intraartiküler enjeksiyonu, hızlı osteoartrit geli ş tirme yeteneğ i nedeniyle yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir (Guzman ve ark. 2003). Daha önceki ara ş tırmalar MIA'nın eklemlerde insan OA'sına benzeyen klinik, biyokimyasal ve yapısal değ iş ikliklere neden olduğ unu bildirmiş tir (Kobayashi ve ark. 2003). MIA glikolitikleri bozar

kondrositlerde gliseraldehit-3 fosfat dehidrojenazın inhibisyonu yoluyla yol açar ve kondrosit ölümüyle sonuçlanır (Cournil ve ark. 2001). Naveen ve ark. (2014) , sıçanda MIA ile osteoartrit indüksiyonunun, ön çapraz bağ ın (ACL) cerrahi transeksiyonundan ve klinik olarak insan OA'sından indüklenen OA ile karşı ıla ş tırılabilir dejeneratif değ iş ikliklere yol açtığ ını göstermiş tir.

Bu çalış mada orta ş aft tibia periosteumunda ş iddetli osteogenez aktivitesi gözlemledik. Bu bulgular önceki çalış malarla uyumludur. Labban (2013) , Shilajit'in ovariektomi uygulanmış sıçanlarda osteoporoz üzerindeki etkisini ara ş tırmış tir. Kontrol fareleri ile karşı ıla ş tırıldığı nda 3 ve 30 mg/kg Shilajit'in orta ş aft tibiada kortikal periosteal kemik oluş umunu sırasıyla %36 ve %66'ya yükselttiğ ini gösterdiler.

Jung ve ark. (2002) , Shilajit (mumya) ekstraktının insan ve murin hücre kültüründe mezenkimal kök hücrelerden osteoblast farklılaş ması üzerindeki etkisini inceledi. Shilajit'in mezenkimal kök hücrelerden osteoblastik farklılaş ma için güç ü bir uyarıcı olduğ unu ve osteoklastogenezi inhibe ettiğ ini öne sürdüler.

Literatüre göre Shilajit'te bulunan dihidroksibenzo-a-pironlar askorbik asit rejenerasyonu yeteneğ ine sahiptir (Ghosal ve ark. 1995). Askorbik asit, osteoblastik farklılaş mayı, sentezi, mineralizasyonu ve kollajen birikimini uyarır.



Ş ekil 13, MIA enjeksiyonundan 21 gün sonra bir Femorotibial eklem, Shilajit'in sulu ekstresi ile yapılan tedavinin, eklem kırıkdağ ı, subkondral kemikteki yıkıcı hasarları ve enflamasyonu önemli ölçüde azalttığ ını göstermektedir.

sinoviyal zar; b kondrositlerin hiperplazisi kırıkdağ iyileş mesinin bir kanıtıdır

kemikten türetilen hücrelerin kültürü (Franceschi ve diğ erleri 1995; Jaiswal ve diğ erleri 1997; Qutob ve diğ erleri 1998). Bazı çalış malarında Shilajit'in kemik kırıkları üzerindeki iyileş tirici etkisi anlatılmış tır. Primer nasır oluş umu, günlük 0.1 g/kg Shilajit tüketimi ile hızlandırılmış tır (Ismailova 1965; Kelginbaev ve ark. 1973).

Çalış mamızda Shilajit, 21 gün sonra OA grubuna kıyasla sinovyal membranların iltihaplanmasını önemli ölçüde azalttı. Shilajit, antioksidan özelliklere sahip hümk bileş enler içerir (Kučerík ve ark. 2008; Vař ková ve ark. 2011, Aeschbacher ve ark. 2012). Bu maddeler, tamamlayıcı sistemin hem klasik hem de alternatif yol yollarının inhibisyonu yoluyla hareket edebilir. Ayrıca fagositlerin degranülasyonu ve IL-1 β , IL-6, IL-10 ve TNF- α gibi enflamatuvar sitokinlerin salınması da durdurulacaktır (Joone ve van Rensburg 2004; van Rensburg ve Naude 2009). Daha yüksek konsantrasyonlarda (> 200 μ g/ml), fulvik asit, tümör nekroz faktörü alfa (TNF-alfa) salınımını azaltır.

(Junec ve ark. 2009).

Shilajit güçlü bir antioksidandır ve dokuları serbest radikal hasarından ve lipid peroksidasyonundan korur (Ghosal ve ark. 1995; Tripathi ve ark. 1996). Shilajit, subkondral kemikte oksidatif hasarı önemli ölçüde azaltabilir. Serbest radikallerin temizlenmesinin, OA'daki klinik belirtileri kontrol etmek için terapötik bir yöntem olabileceğ ini önerebilir.

Sonuç olarak, bu çalış ma Shilajit'in diz osteoartrisinde yüzey düzensizliğ i, yarıklar ve eroziv lezyonlar gibi kırıkta dejeneratif değ iş ikliklerini azalttığ ını göstermektedir. Ayrıca sinovyal membranda inflamatuvar reaksiyonları azaltmış ve tibia diafizinde osteogenezisi arttırmış tır. Mevcut veriler, hücresel ve moleküler mekanizmayı anlamak için yetersizdir.

Shilajit'in tibiofemoral kırıkta ve anti-inflamatuvar etkilerinin iyileş tirilmesinden sorumlu anizmler. Bu nedenle, gelecekteki çalış malar aktif bileş enlerin izolasyonuna ve mekanizmalarının ağıklı a kavuş turulmasına odaklanmalıdır.

Teş ekkür Doku kesitleri sağ ladiğ i için Bay Saeed Hassanzadeh'e teş ekkür etmek isteriz.

Finansman bilgileri Bu çalış ma hibe numarası (AZ-91-11) tarafından finanse edilmiş tir.

Etik standartlara uyum

Çkar çatış ması Yazarlar herhangi bir çkar çatış ması olmadığ ını beyan ederler.

Etik onay Tüm hayvanlar, Bakım ve Laboratuvar Kullanımı Kılavuzuna uygun olarak insan bakımı aldı. Ulusal Sağ lık Enstitüleri tarafından yayınlanan Hayvanlar (NIH yayını No. 85-23, 1985'te revize edilmiş tir). Çalış ma veteriner fakültemizin yerel etik kurulu tarafından onaylandı.

Referanslar

Abshenas J, Kheirandish R, Salary AR (2014) Farelerde indüklenen mide üseri üzerinde mumyanın gastroprotektif etkisi. *Comp Clin Pathol* 23(2): 305–309

- Acharya SB, Frotan MH, Goel RK, Tripathi SK, Das PK (1988) Shilajit'in farmakolojik eylemleri. *Indian J Exp Biol* 26:775–777
- Adatia A, Rainsford KD, Kean WF (2012) Diz ve kalça osteoartriti. Bölüm I: farmakoterapi için temel olarak etiyoloji ve patogenezi. *J Pharm Pharmacol* 64(5):617–625
- Aeschbacher M, Graf C, Schwarzenbach RP, Sander M (2012) Hümk maddelerin antioksidan özellikleri. *Environ Sci Technol* 46(9):4916–4925
- Agarwal SP, Khanna R, Karmarkar R, Anwer MK, Khar RK (2007) Shilajit: bir inceleme. *Fitoter Res* 21:401–405
- Bhattacharya SK, Sen A (1995) Shilajit'in biyogenik serbest radyasyon üzerindeki etkileri. *Fitother Res* 9:56–59
- Carrasco-Gallardo C, Farias GA, Fuentes P, Crespo F, Maccionia RB (2012) Nutrasötikler Alzheimer hastalığ ını önleyebilir mi? Shilajit ve kompleks B vitaminleri içeren bir formülasyonun potansiyel terapötik rolü. *Arch Med Res* 43:699–704
- Cheng DS, Visco CJ (2012) Osteoartrit için ilaç tedavisi. *PM R* 4:S82–S88
- Cornejo A, Jimenez JM, Caballero L, Melo F, Maccioni RB (2011) Fulvik asit, Alzheimer hastalığ ı ile iliş kili tau fibrillerinin toplanmasını engeller ve parçalanmasını destekler. *J Alzheimers Dis* 27:143–153
- Cournil C, Liagre B, Grosin L, Cilt C, Abid A (2001) Isı ş ok proteini (Hsp) 70'in aş ırı ekspresyonu ve indüksiyonu in vitro ve in vivo olarak monoyodoasetattan (MIA)- korur indüklenmiş kondrosit ölümü. *Arthritis Res* 3(Suppl 1):P41
- Dehghan M, Sharifi Faradonbeh A (2012) Mumyanın kemik kırıklarının iyileş mesine etkisi. *Afr J Pharm Pharmacol* 6(5):305–309
- Di Paola R, Cuzzocrea S (2008) Autoimmunity of animal model of arthritis. *Otoimmün Rev* 8:73–75
- Franceschi RT, Wilson JX, Dixon SJ (1995) Osteoblast fonksiyonunda Na (+)-bağ ımlı askorbik asit taş ınması için gereklilik. *Am J Phys* 268:C1430–C1439
- Frolova LN, Kiseleva TL (1996) Mumyanın kimyasal bileş imi ve orijinaliğ ini ve kalitesini belirleme yöntemleri. *Chem Pharm J* 8:49–53
- Gaikwad NS, Panat AV, Deshpande MS, Ramya K, Khalid PU, Augustine P (2012) Shilajit'in Daphnia'nın kalbi üzerindeki etkisi: bir ön çalış ma. *J Ayurveda Integr Med* 3(1):3–5
- Ghosal S, Lal J, Singh SK, Goel RK, Jaiswal AK, Bhattacharya SK (1991) Shilajit'in izole edilmiş aktif bileş enleri tarafından formülasyon ihtiyacı. *Fitother Res* 5:211–216
- Ghosal S, Baumik S, Chattopadhyay S (1995) Shilajit, fare peritoneal makrofajlarında morfolojik ve fonksiyonel değ iş iklikleri indükledi. *Phytother Res* 9:194–198
- Goel RK, Banerjee RS, Acharya SB (1990) Shilajit ile antiüserojenik ve antiinflamatuvar çalış malar. *J Ethnopharmacol* 29:95–103
- Goldring MB, Otero M (2011) Osteoartrite iltihaplanma. *Curr Opin Rheumatol* 23(5):471–478
- Guzman RE, Evans MG, Bove S, Morenko B, Kilgore K (2003) Sıçan femorotibial eklemlerinin subkondral kemiğ inde ve eklem kırıkta değ iş iklikleri mono iodoasetat kaynaklı histolojik değ iş iklikler: bir hayvan modeli osteoartrit . *Toxicol Pathol* 31:619–624
- Hinton R, Moody RL, Davis AW, Thomas SF (2002) Osteoartrit: teş his ve terapötik hususlar. *Aile Hekimiyim* 65: 841–848
- Iannone F, Lapadula G (2010) OA tedavisi için obezite ve inflamasyon hedefleri. *Curr Drug Targets* 11(5):586–598
- Ismailova VN (1965) Mumyanın dozajı ve uygulanması sırasında kemik kırıklarının iyileş mesinin özellikleri hakkında bir soruya. *Med J Uzbekistan* 9:69–70
- Jaiswal N, Haynesworth SE, Caplan AI, Bruder SP (1997) Saf laş tırılmış , kültür geniş letilmiş insan mezenkimal kök hücrelerinin in vitro osteojenik farklılaş ması. *J Celi Biochem* 64:295–312

Joone GK, van Rensburg CEJ (2004) Potasyum humatin anti inflamatuvar özelliklerinin in vitro araş tırılması. *Enflamasyon* 28(3): 169–117

- Junec R, Morrow R, Schoenherr JI, Schubert R, Kallmeyer R, Phull S, Klöcking R (2009) Hüyük asitlerin, farklılaşmış U937 hücrelerinden LPS ile indüklenen TNF- α salınımı üzerindeki bimodal etkisi. *Phytomedicine* 16(5):470–476
- Jung CR, Schepetkin IA, Woo SB, Khlebnikov AI, Kwon BS (2002) Mezenkimal kök hücrelerin mumya özü ile osteoblastik farklılaşması. *Drug Develop Res* 57:122–133
- Kelginbaev NS, Sorokina VA, Stefanidu AG, Ismailova VN (1973) Deneysel ve klinik koşullarda uzun tübüler kemik kırıklarının mumya asil preparatları ile tedavisi. *Exp Surg Anestezi* 4: 31–35
- Kobayashi K, Imaizumi R, Sumichika H, Tanaka H, Goda M, Fukunari A, Komatsu H (2003) Sıçanlarda sodyum iyodoasetat kaynaklı deneysel osteoartrit ve ilişkililiği modeli. *J Vet Med Sci* 65: 1195–1199
- Korago AA. (1992). *Biyominerolojiye giriş*. Nauka St. Petersburg'da. p
- 280 Krenn V, Morawietz L, Häupl T, Neidel J, Petersen I, König A (2002) Kronik sinovit derecelendirmesi—moleküler ve tanısal patoloji için histopatolojik bir derecelendirme sistemi. *Pathol Res Pratiği* 198(5): 317–325
- Kučerík J, Bakajová B, Pekař M (2008) Linyit hüyük asitlerin ve tuzlarının polivinil alkol karışımlarının termo-oksidatif stabilitesi/degradasyonu üzerindeki antioksidan etkisi. *Çevre Kimya Lett* 6(4): 241–245
- Labban NY (2013) Shilajit, kemik/kıkırdak iyileşmesinin yeni düzenleyicisi. Derece için gerekli şartların kısmen yerine getirilmesi halinde Üniversitenin Enstitü fakültesine sunulur. Indiana Üniversitesi Diş Hekimliği Okulunda Felsefe Doktoru Le Graverand-Gastineau MP (2010) Hastalık modifiye edici osteoartrit ilaçları: gelişim zorluklarıyla yüzleşmek ve moleküler katranları seçmek. *Curr İlaç Hedefleri* 11:528–535
- [PubMed] Maccioni RB, Farias GA, Red LE, Jimenez JM (2012). İnce: Mantamadiotis T (ed) *Brain WTGW-DaDoH*, s 125–150
- Mankin HJ, Dorfman H, Lippiello L, Zarins A (1971) Osteoartrit insan kalçalarından eklem kıkırdakında biyokimyasal ve metabolik anormallikler. II. Morfolojinin biyokimyasal ve metabolik verilerle korelasyonu. *J Bone Joint Surg* 53(3):523–537 Naveen SV, Ahmad RE, Hui WJ, Suhaeb AM, Murali MR, Shanmugam R, Kamarul T (2014) Histoloji, glikozaminoglikan düzeyi ve monoyodoasetat kaynaklı osteoartrit araba tilaj sertliği: karşılaştırma Sıçan modelinde ve insan osteoartritte ön çapraz bağ kesisi ile tif analiz. *Int J Med Sci* 11(1):97–105 Neogi T (2013) Osteoartrit ağrısının epidemiyolojisi ve etkisi. *Osteoarthr Kıkırdak* 21(9):1145–1153
- Patrignani P, Tacconelli S, Bruno A, Sostres C, Lanas A (2011) Steroid olmayan anti-enflamatuar ilaçların olumsuz etkilerini yönetme. *Exp Rev Clin Pharm* 4:605–621
- Qutob S, Dixon SJ, Wilson JX (1998) İnceşilin, C vitamini geri dönüşümünü ve osteoblastik hücrelerde askorbat birikimini uyarır. *Endokrinol* 139:51–56
- Rege AAA, Chowdhary AS (2014) Shilajit'in varsayılan HIV-proteaz inhibitörü olarak değerlendirilmesi. *Intern J Adv Res* 2:154–157 Rosenberg A (2002) Kemikler, eklemler, yumuşak doku tümörleri. İnce: Cotran R, Kuman V, Collins T (eds) *Hastalığın patolojik temeli*. WB Saunders, Philadelphia, pp 1215–1268 Schepetkin I, Khlebnikov A, Kwon BS (2002) Hüyük maddeden tıbbi ilaçlar: mumyaya odaklanın. *Drug Dev Res* 57:140–159 Schepetkin IA, Khlebnikov AI, Ah SY, Woo SB, Jeong CS, Klubachuk ON, Kwon BS (2003) Mumyadan hüyük maddelerin karakterizasyonu ve biyolojik aktiviteleri. *J Agric Gıda Kimyası* 51(18):5245–5254
- Tripathi YB, Shukla S, Chaurasia S (1996) Shilajit'in antilipid peroksidatif özelliği. *Phytother Res* 10:269–270 van Rensburg CE, Naude PJ (2009) Potasyum humat, inflammatuar sitokinlerin üretimini ve in vitro kompleman aktivasyonunu inhibe eder. *Enflamasyon* 32(4):270–276
- Vašková J, Velika B, Pilátová M, Kron I, Vaško L, Vaško L (2011) Hüyük asidin in vitro etkileri. *In Vitro Cell Dev Biol Anim* 47:376–382