

TC. YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

AĞIZ, DIŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**KRİTİK BOYUTLU SIÇAN KALVARYUM  
DEFEKTLERİNDE LOKAL SİMVASTATİN VE OZON  
UYGULAMASININ YENİ KEMİK YAPIMI,  
İNFLAMASYON, FİBROZİS VE HÜCRE HASARI  
ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN HİSTOPATOLOJİK  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

DOKTORA TEZİ

DIŞ HEKİMİ

Dt. Hakan GÜLŞEN

DANIŞMAN

Doç. Dr. Ediz DENİZ

İSTANBUL – 2016

TC. YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

AĞIZ, DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**KRİTİK BOYUTLU SIÇAN KALVARYUM  
DEFEKTLERİNDE LOKAL SİMVASTATİN VE OZON  
UYGULAMASININ YENİ KEMİK YAPIMI,  
İNFLAMASYON, FİBROZİS VE HÜCRE HASARI  
ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN HİSTOPATOLOJİK  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

DOKTORA TEZİ

DİŞ HEKİMİ

Dt. Hakan GÜLŞEN

DANIŞMAN

Doç. Dr. Ediz DENİZ

İSTANBUL – 2016


## TEZ ONAYI FORMU

Kurum : Yeditepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
Program : Ağız Diş Çene Cerrahisi  
Tez Başlığı : Kritik Boyutlu Şıçan Kalvaryum Defektlerinde Lokal Simvastatin ve Ozon Uygulamasının Yeni Kemik Yapımı, İnflamasyon, Fibrozis ve Hücre Hasarı Üzerindeki Etkilerinin Histopatolojik Değerlendirilmesi  
Tez Sahibi : Hakan GÜLŞEN  
Sınav Tarihi : 23/11/2016

Bu çalışma jürimiz tarafından kapsam ve kalite yönünden Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı, Adı-Soyadı (Kurumu)	İmza
Jüri Başkanı:	<b>Prof.Dr. Nurhan GÜLER</b> Yeditepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız Diş ve Çene Cerrahisi AD	
Tez danışmanı:	<b>Doç.Dr. Ediz DENİZ</b> Yeditepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız Diş ve Çene Cerrahisi AD	
Üye:	<b>Prof.Dr. Nurhan GÜLER</b> Yeditepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız Diş ve Çene Cerrahisi AD	
Üye:	<b>Prof.Dr. Bilgin ÖNER</b> İstanbul Üniversite Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız Diş ve Çene Cerrahisi	
Üye:	<b>Prof.Dr. Kamil GÖKER</b> Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız Diş ve Çene Cerrahisi	
Üye:	<b>Doç.Dr. Ahmet ARSLAN</b> Yeditepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız Diş ve Çene Cerrahisi AD	

Bu tez Yeditepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun 01.../12.../2016 tarih ve 2016/23...10...sayılı kararı ile onaylanmıştır.

  
Prof. Dr. Bayram YILMAZ  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## BEYAN

Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışması ile elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Dt. Hakan GÜLŞEN

# TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresinde her zaman her konuda yanımda olan, tezimin fikir babası danışmanım Doç. Dr. Ediz Deniz hocama,

Öğrenciliğim ve doktora hayatım boyunca sonsuz bilgisinden ve tecrübelerinden yararlandığım Yeditepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Nurhan Güler hocama,

Asistanlığımın ilk gününden son gününe kadar özellikle klinik çalışmalarında çok emeği olan Doç. Dr. Ceyda Özçakır Tomruk hocama ve Doç. Dr. Ahmet Arslan hocama,

Gerek eğitim hayatımda gerek sosyal hayatımda bana hocalık ve ağabeylik yapan Yrd. Doç. Dr. Fatih Cabbar ve Dr. Çağrı Burdurlu'ya,

Tezimin laboratuvar çalışmasında en az benim kadar çalışıp, emek sarfeden Msc. Dt. Doğuhan Taşçı ve Dt. Ayşe Yılmaz'a,

Doktora dönemini eğlenceli hale getiren tüm asistan arkadaşlarıma ve birlikte çalışarak çok şey öğrendiğim tüm ameliyathane ekibine,

Üniversiteyi kazandığım ilk günden bugüne kadar bana güvenen, desteklerini hiç esirgemeyen, beni ben yapan annem, idolüm babam ve ablama,

Burada kelimelerle ifade edemeyeceğim duygularla eşime ve oğluma teşekkür ederim.

# İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK	I
ONAY SAYFASI	II
BEYAN	III
TEŞEKKÜR	IV
İÇİNDEKİLER	V
KISALTMALAR ve SİMGELER	VII
ŞEKİLLER	IX
RESİMLER	X
TABLolar	XII
TÜRKÇE ÖZET	XIII
İNGİLİZCE ÖZET	VIX
1.GİRİŞ ve AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kemik Yapısı	3
2.1.1. Kemik Hücreleri	3
2.1.1.1. Osteoblast	3
2.1.1.2. Osteosit	4
2.1.1.3. Osteoklast	4
2.1.1.4. Osteoprogenitör Hücreler	4
2.2. Kemik İyileşmesi	5
2.2.1. Kritik Boyutlu Kemik Defektinde İyileşme	7
2.3. Greft Materyalleri	7
2.3.1. Otojen Kemik Greftleri	8
2.3.1.1. Ağız İçi Otojen Greft Kaynakları	9
2.3.1.2. Ağız Dışı Otojen Greft Kaynakları	9
2.3.2. Homojen Greft Materyalleri (Allogreftler)	10
2.3.3. İzogreftler	10
2.3.4. Ksenogreftler	11
2.3.5. Alloplastik Kemik Materyalleri	11
2.4. Membranlar	11

2.4.1. Rezorbe olmayan membranlar	11
2.4.2. Rezorbe olan membranlar	12
2.5. Statinler	12
2.5.1. Statinlerin sınıflandırılması	13
2.5.1.1. Simvastatin	14
2.5.2. Statinlerin Endikasyonları	14
2.5.3. Kontraendikasyonları	15
2.5.4. Yan etkileri	15
2.5.5. İlaç etkileşimleri	16
2.5.6. Pleiotropik etkileri	17
2.5.7. Kemik üzerindeki etkileri	20
2.5.7.1. Mevalanot yapımı inhibisyonu	20
2.5.7.2. BMP-2 aktivasyonu ve VEGF üretimi	21
2.5.8. Diş Hekimliğinde Statin Kullanımı	21
2.6. Ozon	22
2.6.1. Diş Hekimliğinde Ozon Kullanım Alanları	22
2.6.2. Ozon Kullanımının Kontraendikasyonları	24
<b>3. GEREÇ ve YÖNTEM</b>	<b>25</b>
3.1. Materyalin Hazırlanması	26
3.2. Cerrahi Yöntem	27
3.3. Histopatolojik Değerlendirme	31
3.4. İstatistiksel Değerlendirme	31
<b>4. BULGULAR</b>	<b>32</b>
4.1. Histopatolojik Bulgular	32
4.2. İstatistiksel Bulgular	39
<b>5. TARTIŞMA ve SONUÇLAR</b>	<b>50</b>
<b>6. KAYNAKLAR</b>	<b>65</b>
<b>EK-1: Etik Kurul Onay Belgesi</b>	<b>77</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>78</b>

## KISALTMALAR ve SİMGELER

<b>mg</b>	Miligram
<b>BMP</b>	Bone Morphogenic Protein
<b>ark.</b>	Arkadaşları
<b>O<sub>3</sub></b>	Ozon
<b>IL-1</b>	İnterlökin-1
<b>IL-6</b>	İnterlökin-6
<b>IL-11</b>	İnterlökin-11
<b>TGF-β</b>	Transforming Growth Factor Beta
<b>mm</b>	Milimetre
<b>AIDS</b>	Acquired Immune Deficiency Sendrome
<b>HIV</b>	Human Immunodeficiency Virus
<b>HA</b>	Hidroksi apatit
<b>TCP</b>	Trikalsiyum fosfat
<b>HMG-CoA</b>	3-Hidroksi 3-metilglutaril Coenzim A
<b>%</b>	Yüzde
<b>LDL</b>	Low Density Lipoprotein
<b>ALT</b>	Alanin Amino Transferaz
<b>AST</b>	Aspartat Amino Transferaz
<b>HDL</b>	High Density Lipoprotein



<b>MMP</b>	Matrix Metalloproteinase
<b>VEBF</b>	Vascular Endothelial Growth Factor
<b>°C</b>	Celcius
<b>T.C</b>	Türkiye Cumhuriyeti
<b>gr</b>	Gram
<b>ml</b>	Mililitre
<b>HCl</b>	Hidroklorür
<b>kg</b>	Kilogram
<b>µm</b>	Mikrometre
<b>PLA</b>	Polilaktik Asit
<b>α-Trikalsiyum Fosfat</b>	Alfa-trikalsiyum Fosfat
<b>Micro-CT</b>	Micro- Computed Tomography
<b>mRNA</b>	Messenger RiboNucleic Acid
<b>RANK</b>	Receptor Activator of Nuclear Factor
<b>RANKL</b>	Receptor Activator of Nuclear Factor kappa-B ligand
<b>PLGA</b>	Polilaktik Co-glikolik asit
<b>P. gingivalis</b>	Porphyromonas gingivalis
<b>S. sanguinis</b>	Streptococcus sanguinis
<b>µg</b>	Mikrogram

## ŞEKİLLER

**Şekil 1:** SO ve JO gruplarının 21. ve 28. günlerdeki değerlerinin karşılaştırılması

**Şekil 2:** S ve J gruplarının 21. ve 28. günlerdeki değerlerinin karşılaştırılması

**Şekil 3:** S ve SO gruplarının 21. ve 28. günlerdeki değerlerinin karşılaştırılması

**Şekil 4:** J ve JO gruplarının 21. ve 28. günlerdeki değerlerinin karşılaştırılması



## RESİMLER

**Resim 1:** Osteoprogenitör hücreler kemikteki aktiviteye göre osteoblastlara, osteoblastlar da osteositlere farklılaşabilir.

**Resim 2:** Kemik iyileşmesinin evreleri

**Resim 3 :** Sıçan Kafatası Diagramı ve Bregma Noktası

**Resim 4 :** Sıçan Kafatası Bilateral Defektler

**Resim 5 :** Simvastatin uygulanmış kavite ve boş kavite

**Resim 6 :** Ozon uygulamasında kullanılan Ozonytron-X cihazı

**Resim 7:** Ozon uygulaması yapılırken

**Resim 8:** S21 grubu fibrozis (\*) ve yeni kemik oluşumu (→) görülmektedir. Hematoksilen&Eosin boyaması.

**Resim 9:** S21 grubu kontrol tarafı fibrozis (\*) ve yeni kemik oluşumu (→) görülmektedir. Hematoksilen&Eosin boyaması.

**Resim 10:** S28 grubu yeni oluşan kemik spikülleri (→), azalmış fibrozis (\*) ve inflamasyon (▲) görülmektedir. Hematoksilen&Eosin boyaması.

**Resim 11:** SO21 grubu kontrol tarafı fibrozis (\*) ve yeni kemik oluşumu (→) görülmektedir. Hematoksilen&Eosin boyaması.

**Resim 12:** SO28 grubu kontrol tarafı hasar bölgesinde yoğun fibrozis (\*)görülmektedir. Hematoksilen&Eosin boyaması.

**Resim 13:** SO28 grubu yeni oluşan kemik spikülleri (→), azalmış fibrozis (\*) ve inflamasyon (▲) görülmektedir. Hematoksilen&Eosin boyaması

**Resim 14:** J21 grubu yoğun fibrozis (\*) ve infiltratuvar hücre inflamasyonu (▲) görülmektedir. Hematoksilen&Eosin boyaması.

**Resim 15:** J21 grubu kontrol tarafı yoğun fibrozis (\*) ve infiltratuvar hücre inflamasyonu (▲) görülmektedir. Hematoksilen&Eosin boyaması.

**Resim 16:** J28 grubu yoğun fibrozis (\*), infiltratuvar hücre inflamasyonu (▲) ve yeni kemik oluşumu (→) görülmektedir. Hematoksilen&Eosin boyaması.

**Resim 17:** JO21 grubu kontrol tarafı yoğun fibrozis (\*) ve hemoraji (h) görülmektedir. Hematoksilen&Eosin boyaması.

**Resim 18:** JO28 grubu azalmış fibrozis (\*) ve yeni oluşan kemik spikülleri (→) görülmektedir. Hematoksilen&Eosin boyaması.

## TABLolar

- Tablo 1:** SO ve JO gruplarının 21. ve 28. günlerdeki değerlerinin karşılaştırılması
- Tablo 2:** S ve J gruplarının 21. ve 28. günlerdeki değerlerinin karşılaştırılması
- Tablo 3:** S ve SO gruplarının 21. ve 28. günlerdeki değerlerinin karşılaştırılması
- Tablo 4:** J ve JO gruplarının 21. ve 28. günlerdeki değerlerinin karşılaştırılması
- Tablo 5:** Sağ ve sol defektlerdeki inflamasyon düzeylerinin değerlendirilmesi
- Tablo 6:** Sağ ve sol defektlerdeki hücre hasarı düzeylerinin değerlendirilmesi
- Tablo 7:** Sağ ve sol defektlerdeki fibrozis düzeylerinin değerlendirilmesi
- Tablo 8:** Sağ ve sol defektlerdeki yeni kemik oluşumu düzeylerinin değerlendirilmesi

## ÖZET

**Gülşen H. Kritik Boyutlu Sıçan Kalvaryum Defektlerinde Lokal Simvastatin ve Ozon Uygulamasının Yeni Kemik Yapımı, İnflamasyon, Fibrozis ve Hücre Hasarı Üzerindeki Etkilerinin Histopatolojik Değerlendirilmesi. Yeditepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı Doktora Tezi, İstanbul 2016.**

Diş hekimliğinde cerrahi bölgede oluşturulan defektlerin iyileşmesini hızlandırmak amacıyla çeşitli ilaçlar kullanılmaktadır. Bu ilaçlar arasındaki yüksek kan kolesterol seviyesini düşürme amaçlı kullanılan statin grubu ilaçlardan simvastatinin, yeni kemik oluşumu üzerinde olumlu etkileri olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Genel tıp alanında ve diş hekimliğinde yaygın kullanımı olan ozon ise yine kemik yapımı üzerinde olumlu etkileri olan alternatif bir tedavi olarak son yıllarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmanın amacı sıçan kalvaryumlarında oluşturulan kritik boyutlu defektlerde simvastatin ve ozon uygulamaları yaparak, yeni kemik oluşumu, inflamasyon, fibrozis ve hücre hasarının değerlendirilmesidir. Çalışmamızda 14 haftalık 48 adet Spraque Dawley cinsi erkek sıçan kullanıldı. Sıçan kalvaryumlarında oluşturan bilateral defektlerde sağ taraf deney grubu olurken sol taraf kontrol grubu olarak bırakıldı. 21. ve 28. günlerde yapılan sakrifikasyonlar sonrası histopatolojik incelemeler yapıldı. Yapılan histopatolojik inceleme sonrası lokal uygulanan 0.5 mg simvastatinin yeni kemik yapımı üzerine anlamlı derecede bir etkisi olmadığı, aynı zamanda inflamasyonu ve fibrozisi arttırdığı görüldü. Ozon ise hem simvastatin uygulanan defektlerde hem de sadece jelatamp uygulanan defektlerde yeni kemik yapımını indüklerken, inflamasyon, hücre hasarı ve fibrozi azaltmıştır. Çalışmamızın sonucunda ozon uygulamasının yeni kemik yapımı üzerine olumlu katkısı olduğunu, simvastatinin ise yeni kemik yapımı üzerine etkisini göstereceği optimum doz ve taşıyıcının belirlenmesinde daha fazla çalışma yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

**Anahtar Kelimeler:** Simvastatin, Ozon, Yeni Kemik Yapımı, İnflamasyon, Fibrozis, Hücre Hasarı, Lokal, Defekt.

## **ABSTRACT**

**Gülşen H. Histopatologic Evaluation of Effect of Local Simvastatin and Ozone Application on Bone Formation, Inflammation, Fibrosis and Cell Destruction in Rat Calvarium Defects.** Various medications are used to induce the healing of defects created in the area of dental surgery. Statin group of drugs, used for lowering high blood cholesterol levels has been shown in several studies that also have positive effects on new bone formation. In general medicine and dentistry, ozone is in widespread use as an alternative treatment and has positive effects on new bone formation. The aim of this study is the evaluation of new bone formation, inflammation, fibrosis and cell damage after application of local simvastatin and ozone on critical-sized rat calvarium defects. In our study, 14 weeks 48 male Sprague Dawley rats were used. Biteral defects are created in the rat calvariums. Right side defects were experimental group and the left side defects were set as control group. At 21. and 28. days sacrifices are done and specimens are histopatologically analyzed. After histopatological examination, it is concluded that locally applied 0.5 mg simvastatin was not effective on new bone formation at 21. and 28. day. Simvastatin also increased the inflammation and fibrosis. Ozone induces new bone formation both in simvastatin and jelatamp groups. Inflammation, fibrosis and cell damage is decreased with ozone application in all groups. As a result of our study there is a positive effect of ozone on formation of new bone, however further studies must be developed for the optimum dose and carrier for simvastatin which helps new bone formation.

**Keywords:** Simvastatin, Ozone, New Bone Formation, Inflammation, Fibrosis, Cell Damage, Local, Defect.

## 1.GİRİŞ ve AMAÇ

Oral ve maksillofasial cerrahide, operasyon alanındaki iyileşme ve kemik oluşumu en fazla üstünde durulan konulardan biri olmuştur. Günümüzde kemik iyileşmesinde altın standart olarak kabul edilip kullanılan otojen greftlemedir. Ancak otojen greftlemenin dezavantajlarından dolayı allogreftler, ksenogreftler ve alloplastik materyaller de sıklıkla kullanılmaktadır [1]. Bu geleneksel cerrahi yöntemlerin başarılı sonuçlarının yanısıra beraberinde gelişebilen komplikasyonlar, araştırmaları kemik iyileşmesinde yararlanılabilecek yeni arayışlara yönlendirmiştir.

Son zamanlarda, kallus stimülasyonu ile ilgili yapılan çalışmalarda biyoaktif materyallerin kullanımı öne çıkmıştır. Bunlardan en sık kullanılanlardan bir tanesi de kemik morfojenik proteindir (BMP). BMP kendi içinde sınıflara ayrılmıştır. BMP-2 yüksek osteoindüktif kapasiteye sahip olduğu gösterilmiştir. Mundy ve ark., BMP-2 salınımı gerçekleştiren bileşikler bulmak için yaptıkları çalışmada 30000'den fazla bileşiği incelemişler ve statinlerin BMP-2 salınımını arttıran bileşikler olduğunu bildirmişlerdir [2]. Biyoaktif maddelerin kemik yapımı üzerine olumlu etkileriyle beraber doz aşımı, yan etki riski ve yüksek maliyeti nedeniyle farklı maddelerin araştırılması zorunluluk haline gelmiştir [3].

Statinler, kan kolesterol seviyesini düşüren ve kardiyovasküler hastalık riskini düşürmek amacıyla kullanılan ilaçlardır [4]. Statinlerin, kemik üzerindeki anabolik etkileri ve osteoklast inhibisyonuna sebep olmaları nedeniyle bu ilaçların oral cerrahide kemik yapımı üzerine olumlu etkisi olabileceği akla gelmiştir. Düşük maliyeti, kolay elde edilebilirliği ve uygulama kolaylığı sayesinde çalışmalarda sıklıkla kullanılan bir ilaç haline gelmiştir.

Ozon ( $O_3$ ) üç oksijen atomundan oluşan doğal bir bileşiktir. Ozon kimyasal yapısı nedeniyle radikal bir molekül değildir ancak bilinen en güçlü üçüncü oksidandır. Ozon depolanamaması ve 40 dakikalık yarı ömre sahip olması nedeniyle tek seferde kullanılması gereken stabil olmayan bir gazdır. Ozon, sahip olduğu antimikrobiyal özellikler, analjezik etki, mikrodolaşım ve periferik kan dolaşımını üzerindeki düzenleyici etkileri nedeniyle 1993'ten bu yana diş hekimliğinde ve oral cerrahide sıklıkla kullanılmaktadır [5].



Yapılan literatür taramasında simvastatin ve ozonun birlikte uygulanmasıyla yeni kemik oluşumunu inceleyen herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Çalışmamızda, oluşturduğumuz kritik boyuttaki kemik defeklerinde simvastatin ve ozon uygulaması yaparak, yeni kemik oluşumu, inflamasyon, fibrozis ve hücre hasarı düzeylerini değerlendirmeyi amaçladık.

Çalışmamızın amacı, oluşturduğumuz kritik boyuttaki kemik defektlerinde simvastatin ve ozonun ayrı ayrı ve kombine uygulamalarının, yeni kemik oluşumu, inflamasyon, fibrozis ve hücre hasarının karşılaştırılarak değerlendirilmesidir.



## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1. KEMİK YAPISI

Kemik, organizmaya destek veren en sert dokudur ve vücudun kalsiyum deposudur. Kemikğin yapısı ve içeriği; yaşa, bulunduğu lokalizasyona ve mekanik özelliklerine bağlı değişiklikler gösterebilir. Kemik, vücutta destek doku olmasının yanında, aynı zamanda mineral dengesinin düzenleyicisi ve kan hücrelerinin rezervuarı olarak da görev almaktadır [6].

Kemik dokusu kendi içinde organik ve inorganik olmak üzere iki ana gruba ayrılır; organik kısım %35'ini (Tip I kollajen), inorganik kısım ise %65'ini (kalsiyum hidroksiapatit) oluşturur. Kemikğin enine kesitine bakıldığında iç ve dış yüzeyleri saran bir zar yapı görülmektedir. İç yüzeyi saran zar *endosteum*, dış yüzeyi saran zar ise *periosteum* olarak adlandırılır.

Kemik yapısında, çeşitli kemik hücreleri ve hücreler arası madde (matriks) bulunmaktadır [7].

#### 2.1.1. Kemik Hücreleri

Kemik 4 tip hücreden oluşur. Bunlar; osteoblast, osteosit, osteoklast ve osteoprogenitör (osteojenik) hücrelerdir.

##### 2.1.1.1. Osteoblast

Kemik yapımından sorumlu olan osteoblast hücreleri, periosteum ve endosteum gibi kemikğin gelişim alanlarında bulunurlar. Bölünme özelliği olmayan osteoblastlar, kollajen matriks ve kalsiyum tuzlarının salgılanmasında rol oynarlar. Salgıladıkları matriks tarafından çevrelenen osteoblast hücreleri matriksin kalsifiye olmasıyla matriks içerisinde hapsolür. Bunun sonucunda yapısı değişen osteoblast, olgun kemik hücresi olan osteosite dönüşür [8].

### 2.1.1.2. Osteosit

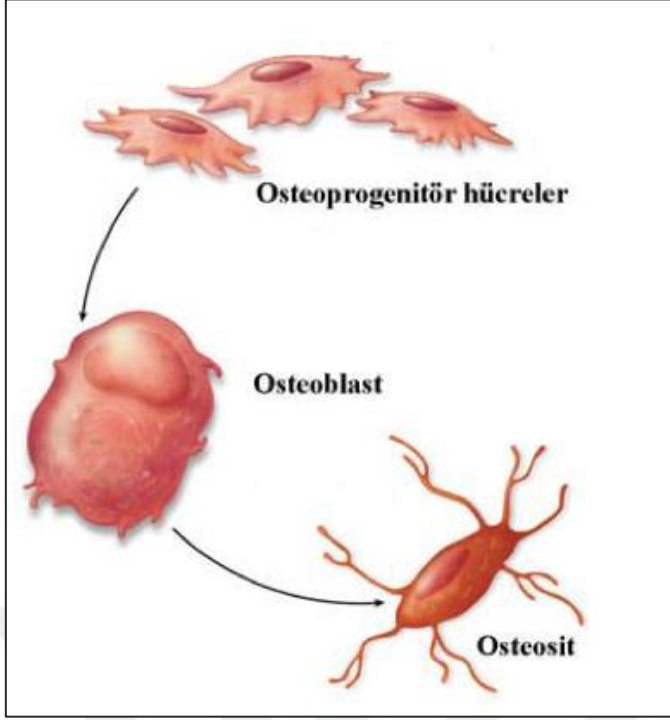
Osteosit olgun kemik yapısının primer hücresi olup, en sık görülen hücre tipidir ve salgıladıkları enzimler ile matriksin mineral dengesinden sorumludur. Osteoblastik hücreler, osteositlere dönüştükten sonra komşu osteositler ve yüzeydeki osteoblastlarla iletişim sağlamak amacıyla '*canaliculi*' adı verilen uzantılar oluştururlar. Bu kanalların içerisinde uzanan sitoplazmik uzantılar ile hem hücreler arası iletişim hem de besin alışverişi sağlanır.

### 2.1.1.3. Osteoklast

Osteoklastlar kemiğin rezorpsiyon yapan hücreleridir. Büyüklükleri (150-200 mikron çap) ve birden fazla nükleusları ile karakterize hücrelerdir. Monositler ve makrofajlar gibi kemik iliğinin pluripotent hücrelerinden oluşurlar. Osteoklastların kemik rezorpsiyonu için yerleştikleri bölgelere '*Howship lakuna*' denmektedir [9]. Osteoklastların temel görevi kemik rezorpsiyonu olup, kemiğin remodelizasyonunda aktif rol oynarlar.

### 2.1.1.4. Osteoprogenitör Hücreler

Kemiğin dış ve iç yüzeylerini saran periosteum ve endosteum zarlarının iç kısmınlarında, hücresel olarak zengin birer tabaka vardır. Buradaki hücreler mitoz bölünme aktivitesi yüksek olan ve osteoblastlara dönüşebilen hücrelerdir. Bu hücrelere '*osteoprogenitör hücreler*' denilmektedir. Osteoprogenitör hücreler kemikteki aktiviteye göre osteoblastlara, osteoblastlar da osteositlere dönüşebilirler [12] (Resim 1). Bu hücreler embriyonel mezenkim kaynaklı olup, büyüme-gelişme döneminde aktif halde bulunurlarken, erişkin hayatta ancak yaralanmalarda (kırık iyileşmesi vb.) aktifleşirler [10][11].



**Resim 1:** Osteoprogenitör hücreler kemikteki aktiviteye göre osteoblastlara, osteoblastlar da osteositlere farklılaşabilir.

## 2.2. Kemik İyileşmesi

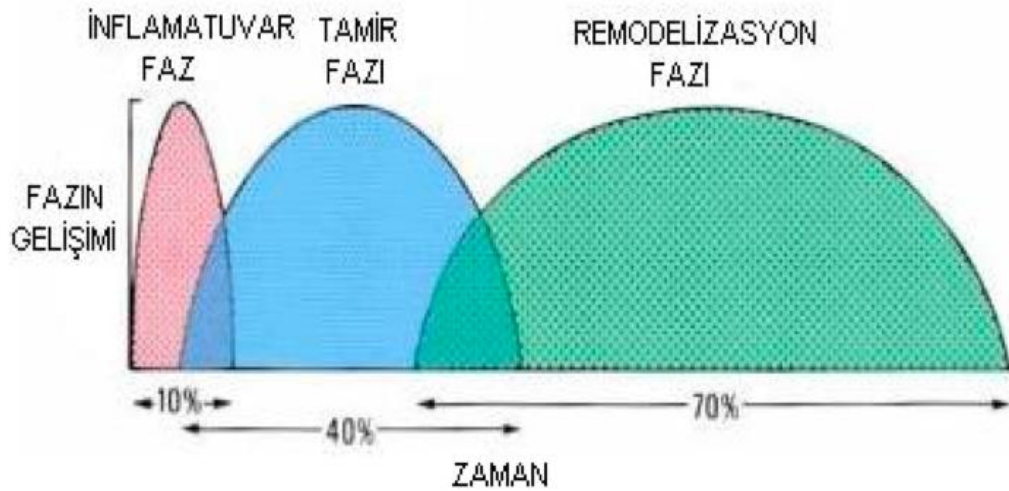
Kemik iyileşmesi 3 ayrı birbirini takip eden süreçten meydana gelmektedir. Bunlar; erken enflamatuar dönem, tamir dönemi ve remodelizasyon dönemleridir [13](Resim 2).

Enflamatuar dönem, travmadan sonra ilk birkaç saat içerisinde başlar ve yumuşak kallusla yer değiştirene kadar birkaç gün devam eder [14]. Vazokonstrüksiyon, vazodilatasyon, pıhtı oluşumu (hemostaz), fagositoz, damarlanma ve granülasyon dokusunun oluşumu bu dönemde gerçekleşmektedir. Prostaglandin sentezi sonucu makrofajlar, monositler, lenfositler, fibroblastlar ve polimorfonükleer hücreler gibi enflamasyon hücreleri yara bölgesine nüfuz ederler. Bunun sonucunda yara bölgesinde damardan zengin granülasyon dokusunun oluşması ve mezenkimal hücrelerin bu bölgeye gelmesi gerçekleşir. Bu sırada ortama interlökin-1 (IL-1), interlökin-6 (IL-6), interlökin-11 (IL-11) gibi iltihapsal sitokinler ve TGF- $\beta$  gibi büyüme faktörleri salgılanır [15]. Özellikle yaralanma sonrası ilk hafta kullanılan antiinflamatuar ve sitotoksik ilaçlar inflamatuvar cevabı etkileyip, iyileşmeyi yavaşlatabilmektedir.

Tamir sürecinde organize hematoma çevresindeki damarlardan fibroblast infiltrasyonu gelişerek osteoblastlara farklılaşır. Osteoblastlar 7 gün içinde immatür vaskülarize kallus dokusunu oluşturur. Bu döneme “*fibröz kallus dönemi*” denir. Oluşan fibröz doku kırıkta ve genç kemik fibrillerinden meydana gelen, damarlanması zengin bir dokudur. Yaklaşık 40 gün sonra kalsiyum hidroksiapatit kristallerinin katılımıyla sert kallus oluşur. Osteoblastların artmasıyla kartilaj yapı tamamen ortadan kalkar ve yeni oluşmuş kemik dokusu ile tamir süreci tamamlanmış olur [16].

Remodalizasyon evresinde, geriye kalan kallusun rezorpsiyonu ve ağı kemik yerini lamellar kemik aldığı görülmektedir [17]. Kemik yeniden şekillenmesi teorisinde günümüzde hala Wolff kanunları geçerlidir. Bu kanuna göre, kemik işlevsel durumundaki değişiklik, dokuda yapısal değişikliklere yol açmaktadır. Böylece işlev ile stres arasındaki ilişki yani kemik mekanik strese karşı bir yanıt olduğu vurgulanmıştır. Konveks tarafta gerilmeye bağlı stres azalır ve osteoklastlar tarafından kemik rezorpsiyonu olurken, konkav tarafta kompresyon sebebiyle stres artar ve osteoblastlar tarafından yeni kemik oluşturulur. [18]

Remodalizasyon evresi iyileşmenin son evresidir ve çeşitli faktörlere bağlı olarak aylar yıllar boyunca sürebilmektedir [19][20].



**Resim 2:** Kemik iyileşmesinin evreleri

### 2.2.1. Kritik Boyutlu Kemik Defektinde İyileşme

Hayvanlar da oluşturulan yara modellerinden elde edilen deneysel sonuçları karşılaştırmak son derece güçtür. Tamirin miktarı aynı tür hayvanlar arasında da büyük oranda değişmektedir. Kritik boyutlu kemik defekti, bir hayvan türü ve o hayvan türündeki ilgili kemikte, herhangi bir osteopromotif materyal kullanmadan spontan olarak iyileşemeyecek en küçük intraosseöz yara olarak tanımlanmaktadır. Kritik boyutlu kemik defektleri sıklıkla fibroz bağ dokusu ile iyileşme eğilimindedirler [22].

Kalvaryum bölgesi çalışmalarda sıklıkla tercih edilen bölgedir. Önemli tercih sebebi kemik yapısının membranöz kemikleşme göstermesi, bikortikal kemik yapısına sahip olmasıdır ki bu özellikler maksillofasiyal bölgeyle benzerlik gösterir [23]. Bosch ve ark. 1998 yılında yaptıkları çalışmada sıçanların kalvaryumlarında oluşturulan 5 mm'lik defektlerin kritik boyutlu defekt olduğunu bildirmişlerdir [24].

### 2.3. Greft Materyalleri

Rekonstrüktif amaçla biyolojik ortama yerleştiren ve çevre dokularla uyum içinde olacak şekilde hazırlanan sentetik ya da doğal orijinli doku ve materyallere 'greft' adı verilmektedir. Travma, kemik enfeksiyonları, konjenital anomaliler, kas iskelet sistemi tümör cerrahisi, revizyon artroplastisi cerrahisi ve spinal cerrahi gibi rekonstrüktif işlemler sırasında oluşan kemik defektlerini tedavi etmek amacıyla kemik greftleri ve kemik yerini tutabilecek biyomateryaller sıklıkla kullanılmaktadır [25][26]. Klinik başarı, oluşan kemiğin yeniden şekillenme sonucu çevre kemik dokusu ile yapısal bütünleşmesi (integrasyon) ve oluşan kemiğin fonksiyon görmek için yeterli mekanik dayanıklılığa sahip olması ile belirlenir. Kemik greftleme işleminin biyolojik mekanizması osteogenezis, osteokondüksiyon ve osteoindüksiyon olmak üzere üç temel dayanak üzerine kurulmuştur ve kullanılan greft materyalleri bu özelliklerden birine veya birden fazlasına sahiplerdir. Bu terimlerden kısaca bahsetmemiz gerekirse:

**a- Osteogenezis:** Osteogeneziste, kemik greft materyalleri, direkt olarak osteoblast hücrelerinden kemik oluşturma kapasitesine sahip organik materyalleri içerir. Böylece greft materyali içindeki hücreler (osteoblast ve preosteoblastlar), transplantasyon sonrası nakil edilen alanda yeni kemik oluşturmaya başlar [27]. Bu nedenle osteogenez özelliğe sahip tek greft materyali otojen kemiktir [28][29][30].

**b- Osteokondüksiyon:** Greft materyalinin, bölgede çatı oluşturarak kendi yüzeyi üzerine yeni kemiğin büyümesini destekleme potansiyelidir. Osteokondüksiyon temel olarak pasif bir kemikleşme anlamında olup, transplante edilen greft materyali içerisinde doğru kapillerlerin çoğalmasını ve mezenşimal hücrelerin alıcı yatağından greftte doğru yönlendirilmelerini tanımlamaktadır [31].

**c- Osteoindüksiyon:** Osteoindüktif greft materyalleri doku içerisindeki farklılaşmamış mezenkim hücrelerinin osteoblastlara ve kondroblastlara dönüştürme özelliğine sahip materyallerdir [28][30].

Günümüz oral ve maksillofasiyal cerrahide kullanılan greft materyalleri elde edilme yöntemlerine göre; otojen greft, homojen kemik greftleri (allogreft), izogreft, heterojen kemik greftleri (ksenogreft) ve alloplastik materyaller olarak sınıflandırılmışlardır.

### 2.3.1. Otojen Kemik Greftleri

Aynı bireyin bir bölgesinden diğer bölgesine taşınan kemik greftidir. Taze otojen greftin osteojenik hücreler bulundurması ve immünolojik reaksiyona sebep olmaması bu grubu en avantajlı greft materyali olarak göstermektedir [1]. Ancak donör sahada ikinci operasyon alanı olması ve bu nedenle postoperatif ağrının daha yaygın olması, bakım süresinin uzaması ve hareket kısıtlılığı gibi dezavantajları da bulunmaktadır [32].

### **2.3.1.1. Ağız İçi Otojen Greft Kaynakları**

Otojen kemik grefti sağlama amacıyla ağız içinde donör alan olarak faydalanılabilecek bölgeler tercih edilme sıklığına göre; simfiz, ramus, korpus (gövde), koronoid proses, maksiller tüber bölgesi, sinüs duvarı ve zigomatik butress olarak sayılabilir. Bunların yanında normal bir anatomik yapı olmamasına rağmen torus çıkıntıları da uygun alanlar arasında sayılabilmektedir. Ağız içi otojen greftlerin mikrobiyolojik kontaminasyon riski bulundurması, ikinci bir cerrahi sahaya ihtiyaç duyulması, donör alanda enfeksiyon ve morbidite riski taşıyan başka bir defekt oluşturma, sınırlı miktarda greft almanın mümkün olması, çene ucundan alınan greftlerde diş köklerinin yaralanma riski ve duyuşal sinir yaralanmaları gibi dezavantajları bulunmaktadır [32][33].

### **2.3.1.2. Ağız Dışı Otojen Greft Kaynakları**

Komplike cerrahi vakalarda ya da intraoral alanlardan yeterli miktarda greft sağlamak mümkün olmayacaksa insan vücudunda kalvaryum, iliak krest, tibia, fibula ve kostalar ekstraoral donör sahalar greft olarak kullanılabilir [33].

Vaskülarize olmayan serbest otojen kemik greftleri kortikal ve kansellöz tipte alınabilirler. Kortikal greftler dayanıklı, sert bir yapı oluşturur, formun devamlılığını sağlar. Horizontal veya vertikal olarak alveoler sırtta kaybın mevcut olduğu durumlarda onlay greftlemede, ya da kemik tabakalarının arasına inley yerleştirilerek fasiyal kontürün düzeltilmesinde kullanılabilirler [32]. Kansellöz greftler ise hem osteoblastlara dönüşebilen canlı hücrelere, hem de osteojeniteyi indükleme kapasitesine sahiplerdir. Kortikal greftlere göre daha çabuk revaskülarize olurlar ve daha geniş kullanım alanı sağlarlar. Daha çok diş çekim soketi greftlemede, sinüs tabanı elevasyonu sonrası greftlemede ve alveoler yarık onarımında kullanılırlar. Bu greftlerin dezavantajı; mekanik desteği sağlayamamalarıdır. Bilinen en verimli kansellöz kemik grefti kaynağı anterior veya posterior iliak kresttir. Bunun yanında kortikokansellöz kemik greftleri de kullanılabilir. Kortikokansellöz greftlerin avantajı; kortikal greftler gibi mekanik sağlamlık ve form kazandırmak, bir miktar da osteogenezise fayda sağlamaktır. Bu



tip greft genel olarak, kosta veya iliak kaynaklıdır. Ancak, bu iki kaynaktan elde edilen kortikokansellöz greftler arasında da farklılıklar vardır. Örneğin; kosta, iliakdan daha az kansellöz kemik içermektedir [34].

### **2.3.2. Homojen Greft Materyalleri (Allogreftler)**

Aynı türdeki farklı bireyler arasında taşınan kemik greftleridir. Homogreft olarak da bilinmektedirler. Greft reddinin önlenmesi için alıcı ile verici arasındaki uyumsuzluğun baskılanması gerekir [35]. Kemik allogreftleri değişik genetik tipte farklı insanlardan ve kadavralardan elde edilebilmektedir.

Allogreftlerin hazır olması ve hastada donör alan gerektirmemesi, böylece operasyon süresinin kısılması avantajları arasındadır. Fakat başka canlıdan alınan dokunun kullanılıyor olması ve bu nedenle enfeksiyon, malign neoplazma, dejeneratif kemik hastalıkları, hepatit B,C, AIDS gibi bulaşıcı hastalıkların taşınma riski vardır. Literatürde kemik allogrefti ile HIV'in bulaşmış olduğu bir vaka rapor edilmiştir [36]. Detaylı testlerden geçirilerek hazırlanan allogreftlerin bu tarihten sonra daha geniş HIV araştırması yapılarak bankalanmalarına başlanmıştır. Allogreftlerin immünolojik komplikasyonlarını ve hastalık taşıma potansiyellerini ortadan kaldırmak için hazırlanmalarındaki son teknikler dondurma, dondurup kurutma gibi kriyobiyolojik metotlar veya radyasyona tabi tutmadır [37]. 4 çeşit allogreft kullanılmaktadır:

- a- Dondurulmuş Kurutulmuş Kemik Allogrefti (FDBA)
- b- Demineralize Dondurulmuş Kurutulmuş Kemik Allogrefti (DFDBA)
- c- Işınlanmış Kansellöz Kemik Allogrefti
- d- Demineralize Kemik Matriksi

### **2.3.3. İzogreftler**

Genetik olarak aynı özellikleri taşıyan (tek yumurta ikizleri) bir bireyden diğerine taşınan greft tipidir.

### **2.3.4. Ksenogreftler**

Farklı bir türde vericiden alınan greftlerdir. Ksenogreftler '*heterogreff*' olarak da adlandırılır. Ksenogreftler memeli kemiklerinden elde edilebilmektedir. Günümüzde yaygın olarak sığır kaynaklı ksenogreftler kullanılmaktadır. Farklı türlerden elde edildikleri için immünolojik reaksiyonlara sebep olabilen ksenogreftlerin, deproteinize edilmeleriyle birlikte antijenik özellikleri azaltılmıştır.

### **2.3.5. Alloplastik Kemik Materyalleri**

Tamamen sentetik olarak üretilen kemik rejenerasyon materyallerine alloplastik kemik greftleri denir. Biyouyumlu olan bu materyaller osteoindüktif özelliğe sahip olmamakla birlikte belli oranda osteokondüktif özelliğe sahiptir. Bununla birlikte defekt kenarlarından köken alan yeni kemik dokusu defekti tek başına dolduramayacağı durumlarda, alloplastik kemik materyali fiziksel bir matriks ya da iskelet görevi görerek defekti tümü ile dolduracak şekilde yönlendirirler. Alloplastik materyaller;

- a- Seramikler (sentetik HA, trikalsiyum fosfat-TCP, biyoaktif cam)
- b- Kalsiyum karbonat
- c- Kompozit polimerler (rezorbe olan ve olmayan)
- d- Kalsiyum sülfat olarak 4 ana gruba ayrılabilir [38].

## **2.4. Membranlar**

### **2.4.1. Rezorbe olmayan membranlar**

İlk kullanılan membranlar genişletilmiş polytetrafluoroethylene'den üretilmiştir. (ePTFE) [39]. İnsan için bilinen en inert maddelerden olan ePTFE, uzun bir karbon zincirine sahiptir. Vücut dokuları bu yapı ile reaksiyona girmediği için hafif bir doku reaksiyonu gerçekleşir fakat immünolojik bir reaksiyon meydana gelmez [40].

Rezorbe olmayan membranların en önemli dezavantajları ikinci bir cerrahi ile çıkarılmalarının gerekmesidir. Bu işlem de yeni oluşmuş, hassas dokuların zarar görmesine ve iyileşmenin gecikmesine yol açabilmektedir. Ayrıca hasta uyumunun sağlanması, zaman, maliyet ve morbidite gibi dezavantajlar da gözününde bulundurulmalıdır. Diğer yandan membranın ekspoz olma riski de bulunmaktadır. Bu da potansiyel komplikasyonlara ve başarısızlıklara neden olmaktadır. Enfeksiyon riskinin artmasıyla kemik rejenerasyonu potansiyeli de azalmaktadır. Bundan dolayı rezorbe olabilen membranlara ihtiyaç duyulmuştur.

#### **2.4.2. Rezorbe olan membranlar**

Rezorbe olan membranlar glikolid ve laktid polimerlerinden hazırlanmaktadır. Membran absorpsiyonu hidroliz ile gerçekleşmekte olup, son ürünler karbondioksit ve su olarak Krebs döngüsü ile atılır. Absorpsiyon 4-6 haftaları arasında başlar ve 8. aya kadar tamamlanır [41]. Rezorbe olabilen membranların sahip olması gereken özellikler şu şekilde sıralanmıştır.:

1. Toksik ve antijenik olmamalıdır.
2. Dokuyu destekleyebilecek yapıya sahip olmalıdır.
3. Boşluk oluşturabilmesi ve bunu koruyabilmesi gereklidir.
4. Defekt şekline uyabilmeli ve manipülasyonu kolay olmalıdır.
5. Bakteri kontaminasyonuna dirençli olmalıdır.
6. Defekt içine seçilmiş hücre proliferasyonunu ve migrasyonunu artırmalıdır [42].

#### **2.5. Statinler**

Statin olarak isimlendirilen 3-hidroksi-3-metilglutaril koenzim A (HMG-CoA) redüktaz enzimi inhibitörlerinin kolesterol seviyesini düşüren, kolesterol seviyesi yüksek olan hastalarda kardiyovasküler hastalık riskini azaltan ilaçlar olduğu yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir [4]. Statinler kolesterol düşürücü etkileri dışında pleiotropik olarak değerlendirilebilecek birçok etkiye de sahip ilaçlardır. Bir ilacın özellikle geliştirildiği etki dışında gösterdiği etkiye "*pleiotropik etki*" denilmektedir. Bu

etkiler ilacın primer etki mekanizması ile ilgili olarak ortaya çıkabileceği gibi, primer etki mekanizmasından bağımsız olarak da görülebilmektedir. Statinlerin pleiotropik etkileri olarak, platelet agregasyon ve trombüs birikimini azaltma, anjiyogenezisi artırma, inflamasyonu azaltma, hücre proliferasyonunu azaltma, T-lenfosit aktivasyonunu azaltma ve BMP-2 sentezini artırarak kemik formasyonunda artış sağlamaları sayılabilmektedir [43][44]. Statinlerin pleiotropik etkilerinden, kemik üzerindeki anabolik etkisi ve antiinflamatuvar etkisi dış hekimliği açısından önemli olan pleiotropik etkilerdir. Statinlerin pleiotropik etkileri kullanılarak yapılan çalışmaların amaçları; fraktür iyileşme oranını arttırmak, kritik boyuttaki kemik defektlerinin iyileşmesini sağlamak, kemik ogmentasyonu yapmak, diş çekimi sonrası alveol kret yüksekliğini korumak, distraksiyon osteogenezisi prosedüründe kemik oluşumunu hızlandırmak, dental implant başarısını arttırmak, periodontal hastalıkları tedavi etmek olarak sayılabilir. Statinlerin yan etkilerinden en ciddi olanı miyopati, teratojenik bir ilaç olduğu için hamile ve emzirenlerde kullanılmaması önerilmektedir. Karaciğerde metabolize olurlar ve %30-90 arasında gastrointestinal emilim görülür bu yüzden karaciğer ve gastrointestinal sistem sorunları olan hastaların kullanırken çok daha dikkatli olması gerekmektedir [45].

### **2.5.1. Statinlerin Sınıflandırılması**

#### **Elde Edilişlerine Göre :**

Lovastatin, pravastatin ve simvastatin mantar fermantasyonundan elde edilirken, fluvastatin, atorvastatin ve serivastatin kimyasal sentez yolu ile elde edilmektedir [46] [47].

#### **Fizikokimyasal Özelliklerine Göre:**

Lovastatin, simvastatin, atorvastatin ve serivastatin hidrofobik yapıda, pravastatin hidrofilik yapıdadır. Fluvastatin ise her iki özelliğe de sahiptir [47].

## **Kimyasal metabolizmasına göre:**

Bütün statinler karaciğer yoluyla metabolize olmaktadır [47]. Sitokrom P450 (CYP) enzim sistemi sitokinlerin metabolizmasında önemli bir rol almaktadır. Lovastatin, simvastatin, atorvastatin ve serivastatin CYP3A, fluvastatin CYP2C9 sistemleri ile metabolize olurken, paravastatin CYP sistemi ile metabolize olmamaktadır [48].

### **2.5.1.1. Simvastatin**

Simvastatin, '*Aspergillus terreus*' un fermentasyon ürününden elde edilen statin grubu bir ilaçtır. Simvastatin, beyaz ya da beyaza yakın bir renkte olup, higroskopik olmayan, kristal şeklinde bir tozdur. Suda çözünmez; kloroform, metanol ve etanolda çözünmektedir [49]. Simvastatin, vücutta %60-80 oranında emilime uğrar fakat uygulanan dozun %5 kadarı sistemik dolaşıma geçer. Simvastatinin atılımı %13 oranında idrarla, %60 oranında feçesle olur [50]. İlacın yarılanma ömrü ise 3 saattir.

### **2.5.2. Statinlerin Endikasyonları**

Kolesterol kanda ve tüm vücut hücrelerinde bulunan mum yapısında yağ benzeri bir maddedir. Memeli hücre zarının önemli bir bileşenidir ve sağlıklı bir vücudun önemli bir parçasıdır. Birçok hormonun yapıtaşı olan kolesterolün, kan normal değerlerinin üzerinde bulunmasının, başta mortalite ve morbiditenin önde gelen nedenlerinden olan koroner kalp hastalığı gibi istenmeyen komplikasyonlara yol açtığı bilinmektedir. Hiperkolesterolemi, koroner kalp hastalığının en önemli risk faktörlerinden biridir [51]. Bundan dolayı kolesterolün biyosentez yolağında hız sınırlayıcı enzim olan 3-hidroksi-3-metilglutaril koenzim A ( HMG-CoA) redüktaz inhibitörü olan statinler çok önemli bir noktadadır. Statinlerin en önemli klinik yararı, serum LDL kolesterol seviyesini önemli ölçüde düşürmesidir.

Statinler, orta ve yüksek risk grubu kardiyovasküler hastalıklarda kullanılmaktadır. Bu hastalıklar; LDL kolesterol değerine bağlı olmaksızın ateroskleroz, diyabet ve diğer risk faktörleriyle seyreden hipertansiyondur. Statinlerin, kalp krizi veya geçici iskemik atak sonrası gelişebilecek serebrovasküler ve koroner komplikasyonların riskini de azalttığı bildirilmiştir [52].

### 2.5.3. Kontraendikasyonları

Statinler, içerisindeki herhangi bir bileşene karşı duyarlılığı olanlarda, aktif karaciğer hastalığı olanlarda ve karaciğer transamin, ALT ve AST seviyelerinin ısrarcı yüksekliğinde kontraendikedir. Ayrıca gebelik kategorisi X olan statinler, hamilelik döneminde kullanılmamalıdır. Sahip oldukları yan etkilerinden dolayı emzirme döneminde de kullanılmamaları uygun görülmüştür [53].

### 2.5.4. Yan Etkileri

Statinler, orta şiddetli gastrointestinal rahatsızlıklara sebep olabildiği gibi miyopati ve rabdomiyolizis gibi hayatı tehdit eden yan etkilere de sahip olabilmektelerdir. En önemli yan etkilerine bakılacak olursa;

**Kaslar üzerine:** En sık görülen yan etkiler arasında mide bulantısı, kabızlık, diyare ve miyotoksisite görülmektedir. Miyotoksisite orta şiddetli miyalji ya da nadir görülen rabdomiyoliz olarak ortaya çıkmaktadır. Statin kullanımına bağlı rabdomiyoliz gelişmesi %9 olarak bildirilmiştir [54].

**Karaciğer üzerine:** Karaciğer enzimlerinden özellikle ALT ve AST değerlerindeki yükselme görülebilmektedir. Fakat bu etki genellikle asemptomatik ve geçicidir. Statin kullanımına bağlı karaciğer yetmezliği 100 bin hastada 0.5-1 oranında görülmüştür [55]. Bu oran genel popülasyonda rastlanan karaciğer yetmezliğiyle yakın olduğu için statin kullanımı ile karaciğer yetmezliği arasında bir ilişki bildirilmemiştir. Yine de statin tedavisinin başlangıcından sonra 6. ve 12.

haftalarda veya doz artışı yapıldıktan sonra, karaciğer fonksiyon testlerinin yapılması önerilmiştir.

**Böbrek üzerine:** Statinlerin böbrek yetmezliği üzerine herhangi bir etkisi bildirilmemiştir [56].

**Sinir sistemi üzerine:** Statinler, lipofilik olma özelliklerinden dolayı kan-beyin bariyerini geçerek santral sinir sistemini etkileyebilmektedirler. Fakat statinlerin santral sinir sistemi üzerine bildirilmiş bir yan etkisi bulunmamaktadır. Bunun aksine statinlerin Alzheimer ve bunama üzerine olumlu etkileri olabileceği bildirilmiştir [57].

### 2.5.5. İlaç Etkileşimleri

Statinler, HMG-CoA redüktaz enzimine selektif inhibitörlerdir ve başka bir enzim veya reseptör sisteminine afinite göstermezler. Bu doğrultuda farmakodinamik açıdan (etki bölgeleri) başka ilaçlarla etkileşime girme potansiyellerinin düşük olduğu söylenebilir. Fakat statinler farmakokinetik düzeyde (emilim, dağılım, biyotransformasyon ve atılım) yarılanma ömrü, maksimum plazma konsantrasyonu, aktif metabolitler, atılım yolu gibi birçok farklılık göstermektedirler. Bu farklılıklar da statilerin, diğer ilaçlarla etkileşim potansiyelini etkilemektedir.

Fibratlar, eritromisin, itrakonazol, siklosporin ve immünsüpresif ilaçların birarada kullanımının, statin seviyesinin yükselmesine ve miyopati riskinin artmasına sebep olabileceği bildirilmiştir. Özellikle pravastatin-siklosporin kullanımının statin kullanımına bağlı rabdomiyoliz riskini arttırdığı FDA tarafından bildirilmiştir [58].

Hiperkolesterolemi hastaları, yüksek kan basıncı sebebiyle kalsiyum kanal antagonisti antihipertansif ilaçlar da kullanmaktadır. Verapamil ve diltiazem, CYP3A4'ün zayıf inhibitörleridir ve simvastatin plazma konsantrasyonunun 4 katına çıkarmaktadır. Diltiazemin ise, lovastatin seviyesini 4 katına çıkardığı bildirilmiştir [59][60]. Diltiazemin, atorvastatin veya simvastatin ile birlikte kullanımına bağlı gelişen rabdomiyoliz vakası da bildirilmiştir [61].

Statinlerin, antitrombotik ilaçlarla etkileşimi de gösterilmiştir [62]. Warfarin kullanan hastalarda, statin başlanması sonucu antikoagülan etkinin arttığı gözlenmiş, bundan dolayı warfarin dozunun azaltılarak tekrar ayarlanması gerektiği bildirilmiştir [58].

### 2.5.6. Pleiotropik Etkileri

Statinlerin kardiyovasküler olay sıklığını ve mortaliteyi azalttığı pek çok klinik çalışmada gösterilmiştir. Bu çalışmaların analizlerinde, elde edilen olumlu sonuçlar tek başına statinlerin lipid düşürücü etkisi ile açıklanamamıştır. Bu etkilerin HMG-CoA redüktaz inhibisyonu ile kolesterolün yanısıra pek çok izoprenoid bileşiğin oluşumunun engellenmesi ile ortaya çıktığı iddia edilmektedir [63]. Pleiotropik etkilerin her zaman olumlu etkiler olmadığı, istenmeyen yan etkiler olabileceği de göz önünde bulundurulmalıdır [64]. Statinlerin başlıca pleiotropik etkileri şunlardır:

**Statinler ve Dislipidemi:** Dislipidemi tedavisinde diyet ve yaşam tarzı değişiklikleri vazgeçilmezdir, ancak hedeflenen lipid değerlerine ulaşmada yetersiz kalabilirler ve tedaviye farmakolojik ajanların eklenmesi gerekebilir. Statinler kolesterol düşürücü etkilerini HMG-KoA redüktaz enzimi üzerinde HMG-KoA'nın bağlanma bölgesini işgal ederek gösterir. Böylece substratın enzimin aktif bölgesine bağlanmasını kompetitif olarak engeller ve hücre içi kolesterol sentezi azalır. Statinler LDL'yi en çok düşüren ilaçlardır. Tedavi ile LDL için beklenen düşüş %20-50 iken, yüksek yağlı lipoprotein (HDL) düzeyinde %10 kadar artış görülebilmektedir. Trigliserid değerlerinde beklenen düşüş ise %10-40 oranındadır [65][66]. Hastanın kar-zarar durumu incelendiğinde, HDL'deki artış gözardı edilebilmektedir. Bugün için statinler dislipidemi tedavisinde etkinliği kanıtlanmış ajanlardır.

**Statinler ve Endotel Disfonksiyonu:** Vasküler endotel, damar duvarının kontraktıl durumu ve hücresel kompozisyonu düzenleyen önemli bir otokrin ve parakrin organ olarak hizmet vermektedir. Hiperkolesterolemi endotel fonksiyonunu bozan en önemli sebeplerdendir. Endotel disfonksiyonunun genel bir göstergesi, endotel kaynaklı nitrik oksidin sentez, salınım ve aktivitesinin bozulmasıdır [67].



Endotelial nitrik oksit, vasküler gevşemeyi düzenleyerek, trombosit agregasyonunu ve vasküler düz kas proliferasyonunu inhibe ederek aterosklerotik pek çok fizyopatolojik olguyu giderdiği gösterilmiştir [68]. Statinler, kolesterol seviyesini düşürerek, endotelial nitrik oksit sentezini stimüle ederek, oksidize LDL'nin azaltılması gibi antioksidatif etkileriyle nitrik oksit biyoyararlanımını artırırlar [69] [70]. Bu etkileri sayesinde statinler endotel üzerinde olumlu etkiler gösterip aterosklerotik risk faktörlerinin varlığında endotel disfonksiyonu azaltıp hafifletirler.

**Statinlerin antiinflamatuvar etkileri:** Ateroskleroz, ateroma içinde T lenfositleri, monositler ve makrofajların bulunmasıyla karakterize olan kompleks bir inflamatuvar olgudur. Ateroma içindeki makrofajlar ve T lenfositleri tarafından salgılanan inflamatuvar sitokinler, endotel fonksiyonunu, düz kas hücre proliferasyonunu, kolajen degradasyonunu ve trombozisi değiştirebilir [71].

Makrofajların aktivasyonu ile birlikte başlayan süreç sonucunda gerçekleşen monosit adezyonu ve sonrasında monositlerin subendotelial yüzeye geçişleri aterosklerozun erken fazını oluşturmaktadır. Son yapılan çalışmalar, statinlerin aterosklerotik plaklarda bulunan inflamatuvar hücreleri azaltabilme yeteneklerinin onların antiinflamatuvar özelliklerinden kaynaklandığını göstermiştir [72]. Etki mekanizması tam olarak açıklanamasa da, statinlerin bir düzenleyici bölge olan  $\beta 2$  integrin ve lökosit fonksiyonlu antijen-1'e bağlanarak inflamatuvar yanıtı azalttığı gösterilmiştir [73].

**Statinler ve plak stabilizasyonu:** Aterosklerotik plakların rüptüre olarak buldukları yerden ayrılmaları, akut koroner sendromun en önemli nedenidir. Aterom plağındaki fibröz yapıda oluşan herhangi bir çatlama, yırtılma ya da hasar sonucu, plak bulunduğu yerden ayrılır ve tromboz oluşur. Makrofajlar ise fibröz yapıyı aşındırabilen matriks metalloproteinazlar (MMP) gibi proteolitik enzimler salgılayarak fibröz yapıyı aşındırır. Aşınan fibröz yapı plak stabilitesinin bozulmasına, plağın bulunduğu yerden kopmasına ve sonuçta trombus oluşumuna neden olmaktadır [71]. Statinler tarafından lipid düzeylerinin düşürülmesi, lipid çekirdeğin fizyokimyasal özelliklerini etkileyerek, ayrıca aterosklerotik lezyonlarda makrofaj birikimini azaltarak ve aktive makrofajlarda matriks metalloproteinazlarının sentezini azaltarak plak stabilitesine katkıda bulunduğu düşünülmektedir [74].

**Statinler ve sepsis:** Sepsis, infeksiyon nedeniyle tetiklenmiş olan savunma sisteminin aşırı aktivasyonu sonucu gelişen ölümcül bir sendromdur. Statinlerin, antiinflamatuvar ve immünomodülatuar etkileri ile bağışıklık sistemindeki abartılmış yanıtın baskılanmasında faydalı olabileceği öne sürülmüştür [75]. İnfeksiyon sırasında bakteriyel ve ya diğer mikroorganizmalara ait ürünler ortaya çıkar ve bunlar lökositler ya da immün sistemin diğer hücreleri tarafından çeşitli reseptörler aracılığıyla tanınır, böylece sepsis süreci başlar. Statinlerin reseptör-ligand etkileşimini engelleyerek sepsisi baskıladığı düşünülmektedir. Moleküler düzeyde öne sürülen mekanizma mavelonat yolağı inhibisyonundan bağımsızdır. Statinler  $\beta$ 2-integrin bölgesinden lökosit fonksiyon ilişkili antijene bağlanır ve böylece lenfosit fonksiyonlarına engel olur [76].

**Statinler ve kanser:** Solid tümörler ve hematolojik malignitelerin progresyonunda anjiyogenez çok önemlidir. Bu nedenle yeni damar oluşumunun inhibisyonunu sağlayan ajanlar kanser tedavisinde yeni bir çığır açmıştır. Düşük dozlarda proanjiyogenik özellikleri olan ve bu sayede kardiyovasküler faydalar sağlayan statinlerin yüksek dozlarda antianjiyogenik özellikleri olduğu gösterilmiştir [77]. Statinler bu özelliklerini endotel hücre proliferasyonu ve migrasyonunu inhibe etmek ve apoptozu artırmak suretiyle kazanırlar. Bir diğer mekanizma ise statinler ile vasküler endotel büyüme faktörü sentezinin inhibisyonudur. Ayrıca, yüksek doz statin ile tümör hücrelerinin apoptozunun tetiklendiği de gösterilmiştir. Bugüne kadar yapılmış olan prelinik çalışmalar statinlerin antitümör etkilerini desteklemektedir [77].

**Statinler ve böbrek yetmezliği:** Tüm böbrek hastalıklarında, böbrek yetmezliği gelişince dislipidemi de görülür ve kardiyovasküler komplikasyonlar gelişir. Öte yandan, dislipidemi böbrek fonksiyon kaybında hızlanma ile ilişkilidir ve statinler dislipidemi tedavi ederek böbrek için koruyucu özellik gösterirler. Pek çok prelinik çalışmada statinlerin mezangiyal ve tübüler hücreler üzerine etkileri araştırılmış, glomerüloskleroz, mezangiyal hücre proliferasyonu ve tübülointerstisyel inflamasyonun statinler tarafından baskılandığı gösterilmiştir [78].

**Statinler ve Alzheimer hastalığı:** Çeşitli doku ve organ sistemlerinde buraya kadar bahsedilen etkilerin yanı sıra statinlerin nörolojik sistem üzerinde de pleiotropik etkileri vardır. İskemik inmeden demansa, konjenital nörometabolik depo

hastalıklarından nörodejeneratif hastalıklara kadar geniş bir yelpazede olumlu sonuçlar bildirilmiş pek çok araştırma vardır. Yakın zamanda sonuçları yayınlanan Rotterdam çalışmasında, 6992 hasta ortalama 9 yıl izlenmiş ve statinlerin Alzheimer hastalığı riskini azalttığı görülmüştür. Aynı çalışmada statin grubu olmayan kolesterol düşürücü ajanlarda risk azalması olmamıştır [79].

### **2.5.7. Kemik Üzerindeki Etkileri**

Statinlerin kemik metabolizması üzerindeki etkileri ilk olarak 1999 yılında Mundy ve ark. tarafından yayınlanan bir çalışmada gösterilmiştir. [2]. Statinlerin, antiaterosklerotik ve antiinflamatuvar etkileri nedeni ile arter ve kemik gelişiminde önemli bir rol oynadıkları bildirilmiştir [80][81]. Yapılan çalışmalar sonucunda statinlerin sistemik kullanımları sonucu, kemikte kırık riskinin azaldığı, kemik mineral yoğunluğunun arttığı, osteokalsin ve alkalenfosfataz gibi kemik biyomarkerlerinin artışını sağladıkları sonuçları elde edilmiştir [82][83]. Statinlerin kemik üzerindeki etkileri 2 yolla oluşmaktadır:

- a) Mevalanot Yapımı
- b) BMP-2 Aktivasyonu ve VEGF Üretimi

#### **2.5.7.1. Mevalanot Yapımı İnhibisyonu**

Osteoklastlar, ara ürünlerden farnesil pirofosfat (farnesil PP) ve bundan oluşan geranilgeranil pirofosfatları (geranil PP), osteoklast hücre membran oluşumu, fonksiyonu ve şekillendirilmesinden sorumlu ana intraselüler proteinlerden glutamiltranspeptidazları (GTPaz) modifiye ve aktive etmek için kullanırlar. Bu olay 'prenilasyon' olarak adlandırılır. Statinlerin, izoprenoidlerin sentezini ve prenilasyonu engellemesi ile osteoklastların aktivasyonu engellenmiş olur. Böylece osteoklast sayısı azalarak, antirezorptif etki ortaya çıkar [84]. Bifosfonatlar, farnesilsentetazi inhibe ederek, statinler ise HMG-CoA redüktazı inhibe ederek bu lipid ürünlerinin oluşumunu engellerler. Böylece her iki grup ilaç osteoklastların aktivasyonunu engelleyerek antirezorptif etki gösterirler [85][86].

### 2.5.7.2. BMP-2 Aktivasyonu ve VEGF Üretimi

Statinlerin kemik oluşumunu arttırmadaki ikinci mekanizma kemik morfojenik protein-2 (BMP-2) öncüsünü aktive etmesi ile gerçekleşmektedir. BMP-2, osteoblastların proliferasyonu, matürasyonu ve yeni kemik oluşmasına yardımcı olan bir büyüme faktörüdür [84]. Statınlerin BMP-2 aktivasyonunu arttıran etkileri ilk defa Mundy ve arkadaşları tarafından saptanmıştır [87]. Yenidoğan sıçanların kafatası kemiklerinden hazırlanan organ kültürlerine, 5 gün boyunca günde 3 kez lovastatin enjekte edildiğinde kemik volümü plaseboya oranla %50 artmıştır. Histolojik incelemede kemik yapım yüzeyleri ve osteoid birikiminde artış görülmüştür. Daha sonra düzenlenen bazı çalışmalarda da postmenopozal osteoporoz için iyi bir örnek olan ooferektomili sıçanlarda, oral simvastatin uygulandığında trabeküler kemik hacminde %39-%94'e varan artışlar tespit edilmiştir [2][88]. Kemik oluşumunu arttırıcı etkisi nedeniyle, bu ilaç grubunun kırık riskini azaltması da beklenmektedir. Retrospektif çalışmalarda, statin grubu ilaçları kullanan ileri yaş grubu hastalarda, kırık riskinin azaldığı görülmüştür [89][90].

Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), endotel hücreleri üzerinde direk etkiye sahip, anjiojenik bir sitokindir. VEGF ile yeni kan damarı oluşumu artar ve kan damarları genişler. Bu da mezenşimal hücrelerin bölgedeki popülasyonunu artırır. Ayrıca VEGF endotel hücrelerin, osteoanabolik faktörler üretimini uyararak indirekt yolla osteoblastların farklılaşması ve çoğalmasını sağlamaktadır [91].

### 2.5.8. Diş Hekimliğinde Statın Kullanımı

Statinlerin sahip oldukları pleiotropik etkiler, bu ilaçların hiperlipidemi tedavisinden başka tedavilerde de kullanılabilineceği akla getirmiştir. Pleiotropik etkilerden özellikle kemik üzerindeki anabolik etkileri ve antiinflamatuvar etkileri ile, statınlerin diş hekimliği alanlarında da kullanılabilineceğini fikri gündeme gelmiştir. Statınlerin pleiotropik etkileri kullanılarak yapılan çalışmaların amaçları; fraktür iyileşme oranını arttırmak, kritik boyuttaki kemik defektlerinin iyileşmesini sağlamak, kemik ogmentasyonu yapmak, diş çekimi sonrası alveol kret yüksekliğini korumak,

distraksiyon osteogenezisi prosedüründe kemik oluşumunu hızlandırmak, dental implant başarısını arttırmak ve periodontal hastalıkların tedavisindeki etkilerini incelemek olmuştur [92].

## **2.6. Ozon**

Ozon ( $O_3$ ) üç oksijen atomundan oluşan ve doğada gaz halinde bulunan, oldukça kararsız bir oksijen bileşimidir. Kısa yarılanma ömrü ile basınç ve ısı gibi çevre koşullarına bağlı olarak kısa süre içinde moleküler oksijenden atomik oksijene dönüşür [93]. Ozon gazının 20 °C'de yarılanma ömrü 40 dakika olarak bildirilmiştir. Çabuk yarılanma ömrü özelliğinden dolayı kullanılmak üzere saklanması önerilmemektedir. Ozon, kimyasal yapısı itibariyle radikal özellik taşıyamamakla birlikte florin ve persülfattan sonra, bilinen en güçlü üçüncü oksidan maddedir [94].

### **2.6.1. Diş Hekimliğinde Ozon Kullanım Alanları**

Ozon gazı, diş hekimliğinin her dalında kullanım alanına sahiptir. Konvansiyonel dental tedaviler ile birlikte kullanımda birçok avantaj sağladıkları düşünülmektedir.

Ozon bakteri, mantar, protozoa ve virüslere karşı oldukça etkili bir antimikrobiyaldir. Özellikle karyojenik bakteriler üzerinde yıkıcı etkiler gösterirler. Ozon gazının, karyojenik bakterilerin salgıladıkları piruvik asidin dekarboksilasyon ile asetik asite dönüşmesini sağlayarak, remineralizasyona katkı sağladığı da bildirilmiştir [95]. Ozon gazının, sahip olduğu antimikrobiyal özellikler sebebiyle endodontide, kanal içi dezenfeksiyonda da kullanımı yaygındır [96].

Ozon, hipersensitivite tedavisinde de etkin olarak kullanılmaktadır. Hassasiyet üzerindeki etkisinin, dentin tübülleri üzerindeki smear tabakasını kaldırarak ve dentin tübüllerinin çaplarının genişlemesini sağlayarak, uygulanan kalsiyum ve florun daha etkin bir şekilde tübülleri tıkaması şeklinde olduğu bilinmektedir. Bu şekilde, hassasiyet üzerinde hemen etki edildiği görülmüş ve bu etkinin

konvansiyonel tedavilere kıyasla daha uzun süre devam ettiği bildirilmiştir [97][98].

Periodontal hastalıklarda etkin olan gram-pozitif, gram-negatif bakteriler ve oral *Candida albicans* da özellikle ozonlanmış suya karşı hassas mikroorganizmalardır. Ozonlanmış suyun antimikrobiyal aktivitesinin 2,5% konsantrasyona sahip sodyum hipoklorite eşdeğer olduğu, bunun yanısıra fibroblastların metabolik aktiviteleri üzerinde de olumlu etkiler gösterdiği bildirilmiştir. Sıvı formdaki ozonun, gaz ozondan ve klorheksidin diglukonat, hidrojen peroksit ve ya sodyum hipoklorit gibi antimikrobiallardan daha az sitotoksik olduğu da yapılan çalışmalarla gösterilmiştir [99][100][101].

Ozon, kemik metabolizması ve kemiğin reparatif prosesi üzerinde de olumlu etkilere sahiptir. Kemik iyileşmesi histolojik olarak 4 fazdan oluşmaktadır. Hematom oluşması, erken inflamatuvar faz (2-4 hafta), tamir süreci (proliferasyon ve hücre farklılaşması, 1-2 ay) ve aylar veya yıllar sürebilen remodalizasyon süreci bu fazlardır. Ozonun kemik iyileşmesi üzerindeki olumlu etkilerinin bu fazlardan erken inflamatuvar dönem üzerinde ve osteoblast proliferasyonunda artış sağladığı için tamir süreci üzerinde etkilerinin olduğunu söyleyebiliriz. Kronik mandibular osteomyelitte sahip hastalarda, medikal ozon uygulanmasından sonra nonspesifik direncin ve T-hücre immünitesinin daha hızlı bir şekilde normale döndüğü, klinik iyileşmenin daha hızlı olduğu ve komplikasyon riskinin azaldığı bildirilmiştir [102]. Ozon terapisi, boyun ve kafa bölgesindeki refrakter osteomyelitin antibiyotik, cerrahi ve hiperbarik oksijen tedavisine ek olarak kullanıldığında da faydalı olduğu bildirilmiştir [103].

Ozon, avasküler nekroza bağlı patolojilerde de etki göstermektedir. Bu etki şu yollarla gerçekleşmektedir:

- a- Endojen antioksidan sistemi stimüle ederek [104],
- b- Kan akımını, kırmızı kan hücrelerini ve hemoglobin konsantrasyonunu aktive ederek diapedezi ve fagositozu artırarak [105]
- c- Tüm biyolojik reaksiyonları, özellikle doku oksijenlenme sürecini, kalsiyum, fosfor ve demir metabolizmasını stimüle ederek ve bakterisid ajan olarak etki ederek [106],

Bifosfanat kullanan hastalarda nekroz bölgelerde ve cerrahi uygulanmış alanlarda, ozon uygulanması ile hücre proliferasyonu ve yumuşak doku iyileşmesi stimüle ettiği bildirilmiştir [107].

### **2.6.2. Ozon Kullanımının Kontraendikasyonları**

Ozon terapisi hamilelerde, ileri anemilerde, hipertiroidizmde, trombositopenide, akut alkol intoksikasyonunda, yeni geçirilmiş kalp krizi sonrası, glukoz-6-fosfat-dehidrogenaz eksikliğinde, aktif hemorajide ve ozon alerjisi durumunda kontraendikedir. Ayrıca ozon gazının uzun süre inhale edilmesi de tehlikeli bulunmuştur [105][108][109].

Ozonun inhalasyonu, pulmoner sistem ve diğer organlar için toksik etkiler yaratabilir. Ozon terapisinde komplikasyon çıkma olasılığı 10000 vakada 7 olarak bildirilmiştir. Bilinen komplikasyonlar arasında epifora (aşırı gözyaşı salgılanması), üst solunum yolu iritasyonu, rinit, öksürük, baş ağrısı, bulantı, kusma vardır [110]. Ozon intoksikasyonu durumunda hastanın supin pozisyona getirilip, E vitamini ve nasetilsistein ile tedavisi yapılmalıdır [111] .

### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamız T.C Yeditepe Üniversitesi Deneysel Hayvanları Etik Kurulu Onayı alındıktan sonra (Ek-1); hayvan deneyleri Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırmalar Merkezi'nde, histopatolojik incelemeler Bahçeşehir Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir.

Çalışmada 14 haftalık 48 adet Sprague Dawley cinsi erkek sıçan kullanıldı. Ağırlık ortalamaları 294 gram (gr) olarak ölçüldü. Denekler, tüm çalışma boyunca laboratuvar hayvanları bakım prensiplerine uygun olarak [112] 22±2 santigrat derece (°C) kontrollü oda sıcaklığında %50 ±10 nem oranında, 12 saat gündüz 12 saat gece sirkülasyonunda, gıda ve suya serbest ulaşabilecekleri şartlarda muhafaza edildiler.

Çalışmamızda gruplar aşağıdaki şekilde oluşturuldu;

**1. Grup (S21): Simvastatin uygulanan ozon uygulanmayan 21. günde sakrifiye edilen grup (n=6);** Bu gruptaki sıçanların kalvaryumlarında bilateral defekt oluşturuldu. Bu defektlerden sol taraf boş bırakılırken, sağ tarafa jelatin sünger ile birlikte 0.5 mg simvastatin uygulandı. Sıçanlar 21. günde sakrifiye edildi .

**2. Grup (S28): Simvastatin uygulanan ozon uygulanmayan 28. günde sakrifiye edilen grup (n=6);** Bu gruptaki sıçanların kalvaryumlarında bilateral defekt oluşturuldu. Bu defektlerden sol taraf boş bırakılırken, sağ tarafa jelatin sünger ile birlikte 0.5 mg simvastatin uygulandı. Sıçanlar 28. günde sakrifiye edildi .

**3. Grup (SO21): Simvastatin ile birlikte ozon uygulanan ve 21. günde sakrifiye edilen grup (n=6);** Bu gruptaki sıçanların kalvaryumlarında bilateral defekt oluşturuldu. Bu defektlerden sol taraf boş bırakılırken, sağ tarafa jelatin sünger ile birlikte 0.5 mg simvastatin uygulandı. Sıçanlar 21. günde sakrifiye edildi .

**4. Grup (SO28): Simvastatin ile birlikte ozon uygulanan ve 28. günde sakrifiye edilen grup (n=6);** Bu gruptaki sıçanların kalvaryumlarında bilateral defekt oluşturuldu. Bu defektlerden sol taraf boş bırakılırken, sağ tarafa jelatin sünger ile birlikte 0.5 mg simvastatin uygulandı. Sıçanlar 28. günde sakrifiye edildi.



**5. Grup (J21): Sadece jelatin sünger uygulanan ve 21. günde sakrifiye edilen Grup (n=6);** Bu gruptaki sıçanların kalvaryumlarında bilateral defekt oluşturuldu. Bu defektlerden sol taraf boş bırakılırken, sağ tarafa sadece jelatin sünger uygulandı. Ozon uygulanmadı. Sıçanlar 21. günde sakrifiye edildi.

**6. Grup (J28): Sadece jelatin sünger uygulanan ve 28. günde sakrifiye edilen Grup (n=6);** Bu gruptaki sıçanların kalvaryumlarında bilateral defekt oluşturuldu. Bu defektlerden sol taraf boş bırakılırken, sağ tarafa sadece jelatamp uygulandı. Ozon uygulanmadı. Sıçanlar 28. günde sakrifiye edildi.

**7. Grup (JO21): Jelatin sünger ile ozon uygulanan ve 21.günde sakrifiye edilen Grup (n=6);**Bu gruptaki sıçanların kalvaryumlarında bilateral defekt oluşturuldu. Bu defektlerden sol taraf boş bırakılırken, sağ tarafa sadece jelatamp uygulandı. Sıçanlar 21. günde sakrifiye edildi.

**8. Grup (JO28): Jelatin sünger ile ozon uygulanan ve 28. günde sakrifiye edilen Grup (n=6);** Bu gruptaki sıçanların kalvaryumlarında bilateral defekt oluşturuldu. Bu defektlerden sol taraf boş bırakılırken, sağ tarafa sadece jelatamp uygulandı. Sıçanlar 28. günde sakrifiye edildi.

### **3.1. Materyalin Hazırlanması**

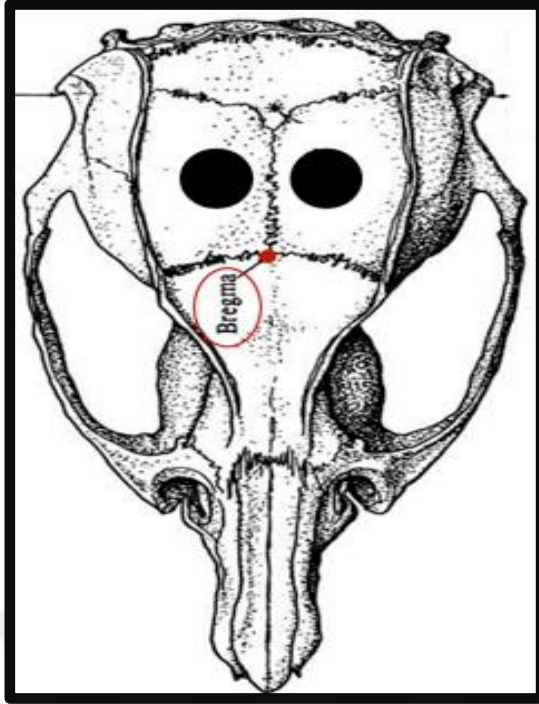
Simvastatin çözeltisi literatür incelemeleri sonrası, optimum etki sağlamak için, 0,5 miligram(mg)/mililitre(ml) konsantrasyonunda hazırlandı [146]. Toz şeklindeki 5 mg simvastatin (Simvastatin; Sigma-Aldrich, Canada). 10 ml fosfat tamponlu tuzlu su (PBS) kullanılarak çözdürüldü. Çözelti hazırlandıktan sonra üretici firmanın öngördüğü şekilde +4°C sıcaklıkta karanlık ortamda saklandı.

Operasyon sahasında çözeltinin daha uzun süre etkin olabilmesi için köpükleştirilmiş jelatinden yapılan taşıyıcı bir sünger (Gelatamp®; Coltene / Whaledent, Ohio, USA) kullanıldı. Taşıyıcı süngerler 5 mm çapında kesilerek manuel olarak silindir şekline getirildi.

### 3.2. Cerrahi Yöntem

Disosisatif anestezi Ketamin HCl (Ketalar; Eczacıbaşı-Warner Lambert, İstanbul, Türkiye) 90 mg/kg oranında, trankilizan olarak  $\alpha$ -2 adrenerjik agonisti Ksilizan (Rompun %2; Bayer, İstanbul, Türkiye) 8 mg/kg oranında intramusküler yolla enjekte edilerek denekler genel anesteziye alındı. Denekler genel anestezi altındayken vücut ısılarını stabilize edebilmek için 35-37°C sıcaklığında ısıtıcı cihazda bekletilerek hipotermi gelişmesi engellendi. Cerrahi girişimin uygulanacağı saha polivinilpirolidon-iyot (Batticon; Adeka, İstanbul, Türkiye) içerikli antiseptik solüsyonla silinerek tıraş edildi ve daha sonra operasyona başlandı.

Anestezinin derecesi çimdikleme refleksi ile değerlendirildi. Anestezi yapılmayan taraftaki ayak çimdiklenerek deneğin tepkisi ölçüldü. Tepki veren hayvanlarda anestezinin derinleşmesi için beklenerek tekrar test yapıldı. Tepki vermeye devam eden hayvanlara ek doz uygulamasına gidildi. Denekler dorsa ventral pozisyonda stereotaktik çerçeve aygıtında stabilize edildikten sonra cerrahi işlem başlatıldı. Sagittal sutur boyunca kulaklar arası sınıra kadar 20 mm insizyon yapıldı. Subkutan dokular ve periost eleve edilerek kranyum ekspoze edildi. Bregma noktası referans alınarak parietal kemiklerde trefin frez yardımıyla 4000 devir/dakika hızında 2 adet 5 mm çapında bilateral kavite oluşturuldu (Resim 3,4). Soğutma amacıyla %0.9' luk steril sodyum klorürle irrigasyon yapıldı. Kavite açılırken dura materin zarar görmemesine dikkat edildi.



**Resim 3 :** Sıçan Kafatası Diagramı ve Bregma Noktası



**Resim 4 :** Sıçan Kafatası Bilateral Defektler

Standardizasyon sağlamak amacıyla sol kavite boş bırakıldı, sağ kavitelere simvastatin çözeltisi emdirilmiş taşıyıcı sünger yerleştirildi (Resim 5). Histopatolojik inceleme aşamasında çalışma kolaylığı sağlamak ve defektlerin karışmasını önlemek amacıyla simvastatin uygulanan ve sadece jelatin sünger uygulanan defektlerin parietal kemik sınırlarına 4-0 ipek suture ile işaretleme yapıldı. Periost ve subkutan dokular rezorbe olabilen 4-0 suture materyali (Pegelak®; Doğsan, Trabzon, Türkiye) ile, cilt dokusu 3-0 ipek suture (İpek; Doğsan; Trabzon, Türkiye) ile primer olarak kapatıldı. İnsizyon hattı Batticon ile temizlendi. Denekler cerrahi öncesi kafeslere 4'erli eşit sayıda yerleştirilirken, cerrahi sonrası konforu artırmak ve birbirlerine zarar vermelerini önlemek için kafeslere 3'erli gruplar halinde yerleştirildi.



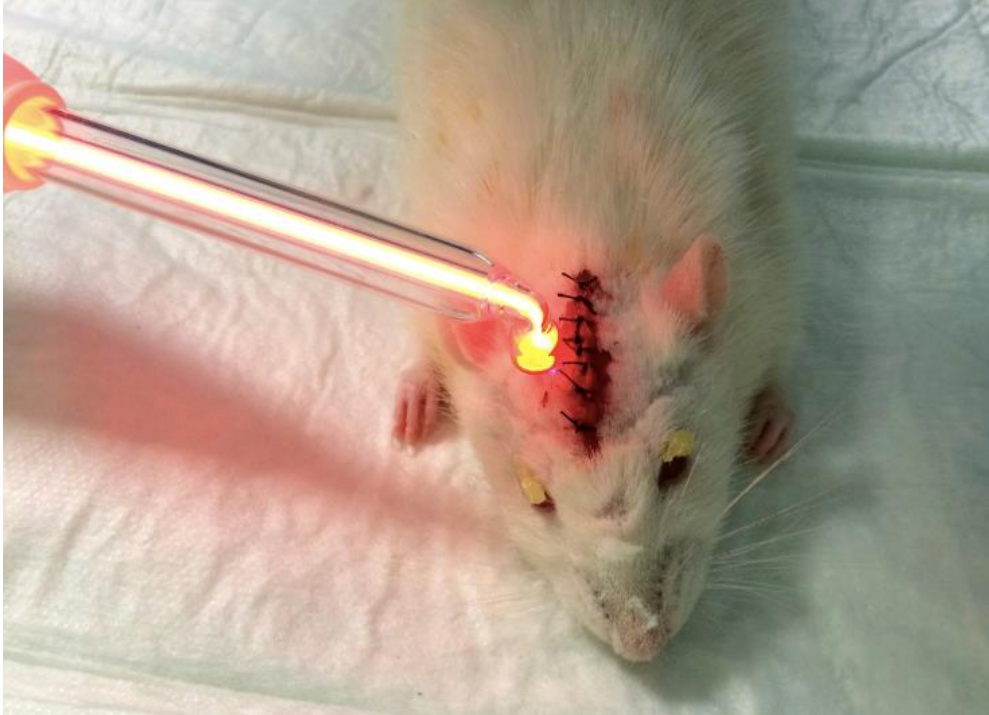
**Resim 5 :** Simvastatin uygulanmış kavite ve boş kavite

Ozon uygulaması Ozonytron-X cihazının periodontal probu kullanılarak yapıldı (Resim 6,7). Ozon uygulanan gruptaki deneklere ozon uygulaması operasyon günü başlandı. Ezirganlı ve ark. çalışmasına paralel olarak ozon 2 hafta süresince haftada 3 kez, her seans 30 saniye olmak üzere, defekt bölgelerine uygulandı [153]. İşlem esnasında deneklerin stabilizasyonu elle sağlandı. Oksijen oranı 80% olarak ayarlandı. Kullanılan cihaz ile optik hasar oluşturmuyor olsa da

ozon seansları süresince deneklerin korneasında oluşabilecek dehidratasyonu önlemek için %0.9' luk steril sodyum klorürle irrigasyon yapıldı. Denekler cerrahi işlemleri takip eden 21 ve 28. günlerde sakrifiye edildi. Sakrifikasyon, inhalasyon anestezisini takiben boyun dislokasyonu yöntemi ile gerçekleştirildi.



**Resim 6:** Ozon uygulamasında kullanılan Ozonytron-X cihazı



**Resim 7:** Ozon uygulaması yapılırken

### **3.3. Histopatolojik Değerlendirme**

Sıçanlardan elde edilen sağ ve sol pariyatel kemikler %10'luk tamponlanmış formalinde fikse edildi. Daha sonra dekalsifiyer çözeltisinde dekalsifiye edilen kemikler, alkol serilerinden geçirilerek rutin doku takibi yapıldı ve parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan elde edilen 5 µm kalınlığındaki kesitler Hematoksilen-Eozin (H&E) ile boyanıp Leica DM500 ışık mikroskopunda incelendi ve fotoğraflandı.

İnceleme sırasında inflamatuvar hücre infiltrasyonu, hücre hasarı, fibrozis ve yeni kemik yapısı kriter olarak alındı.

İnflamatuvar hücre infiltrasyonu, hücre hasarı, fibrozis ve yeni kemik oluşumu boyanma yüzdelerine göre;

- (%0) , 1(+) (%5-%30) , 2(++ ) (%30-%60) veya 3(+++) (%60-%100) olarak değerlendirildi.

### **3.4. İstatistiksel Değerlendirme**

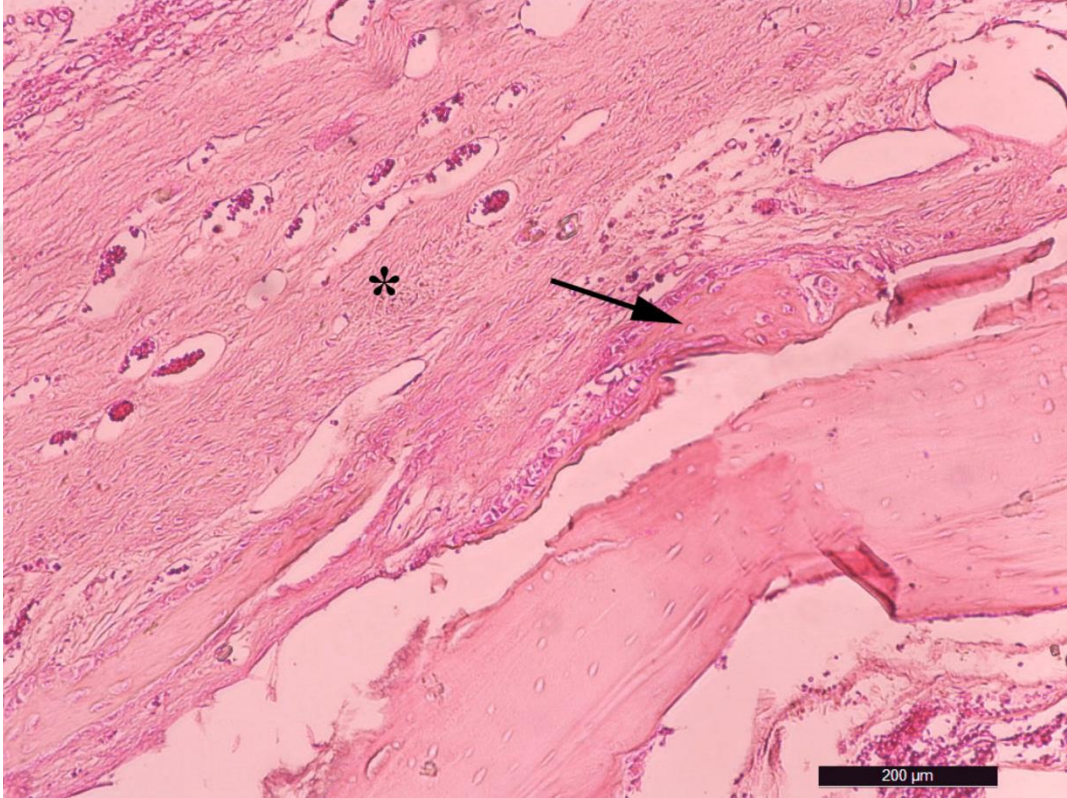
Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için IBM SPSS Statistics 22 (IBM SPSS, Türkiye) programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken parametrelerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilks testi ile değerlendirilmiş ve verilerin normal dağılıma uygunluk göstermediği saptanmıştır. Parametrelerin iki grup arası karşılaştırmalarında Mann Whitney U test kullanıldı. Sağ ve sol tarafların değerlendirmelerinde ise Wilcoxon Signed Ranks test kullanıldı. Anlamlılık  $p < 0.05$  düzeyinde değerlendirildi.



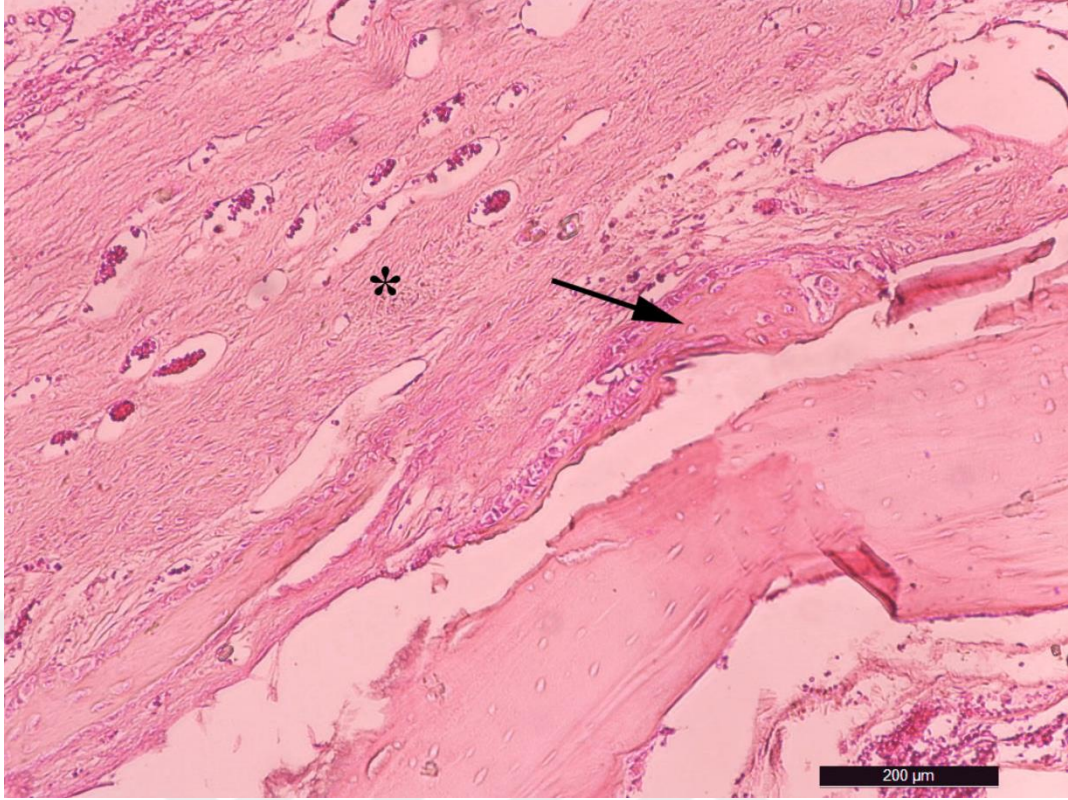
## 4. BULGULAR

Araştırmamızda elde edilen bulgular histopatolojik ve istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

### 4.1. Histopatolojik Bulgular

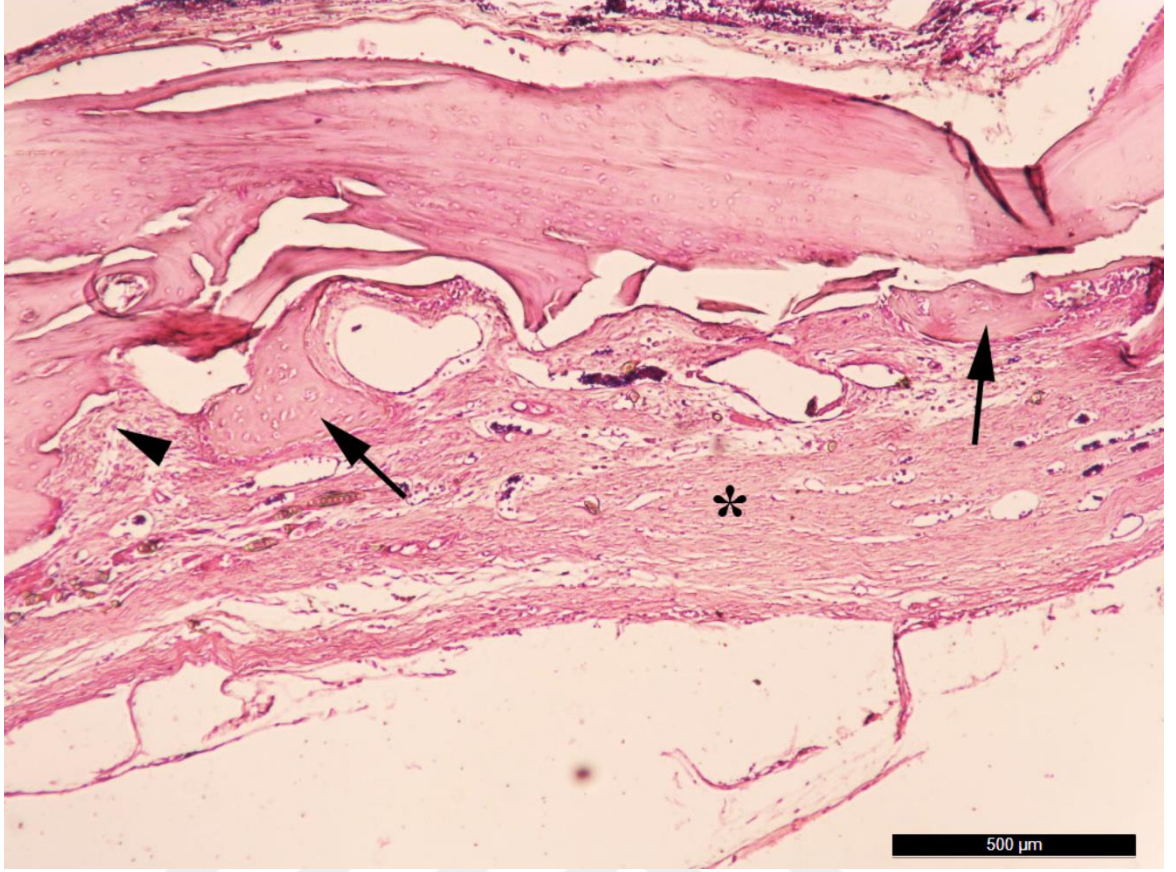


**Resim 8:** S21 grubu fibrozis (\*) ve yeni kemik oluşumu (→) görülmektedir. Hematoksilen&Eosin boyaması.

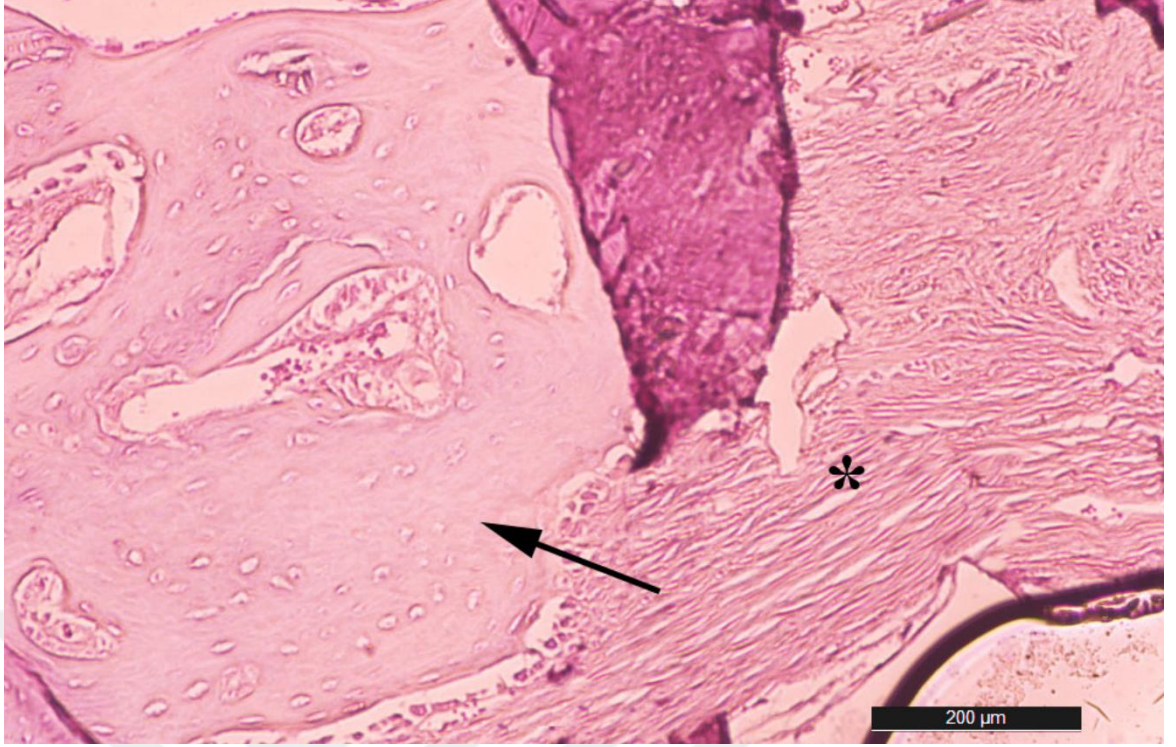


**Resim 9:** S21 grubu kontrol tarafı fibrozis (\*) ve yeni kemik oluşumu (→) görülmektedir. Hematoksilen&Eosin boyaması.

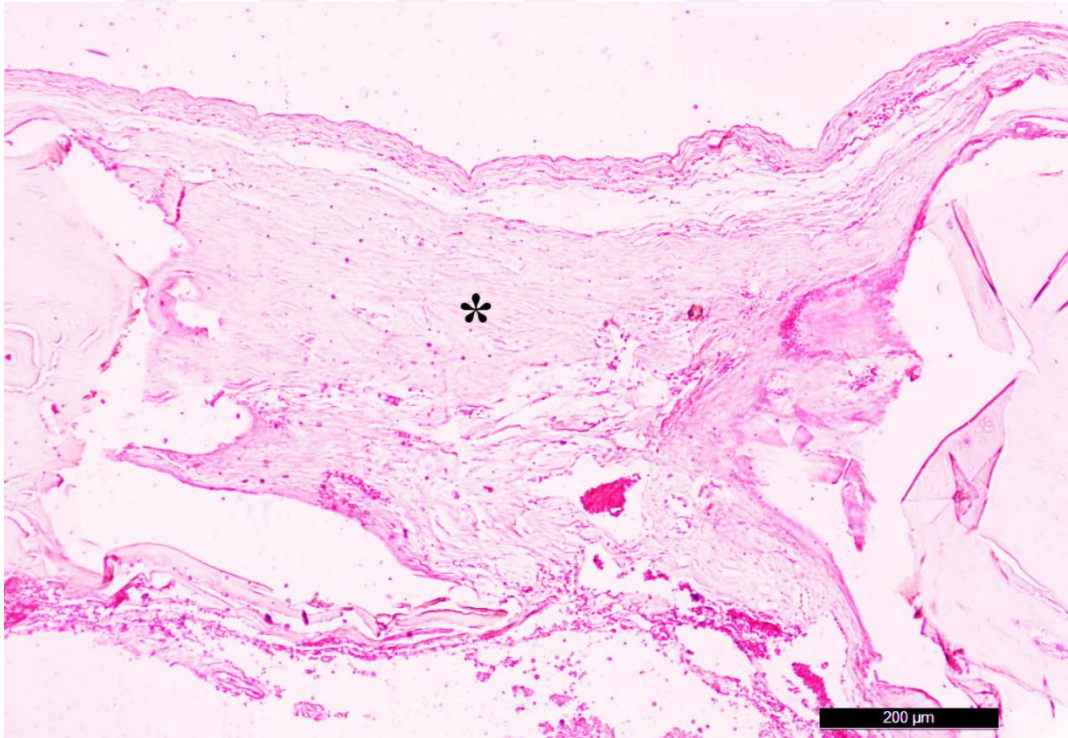




**Resim 10:** S28 grubu yeni oluşan kemik spikülleri (→), azalmış fibrozis (\*) ve inflamasyon (▲) görülmektedir. Hematoksilen&Eosin boyaması.

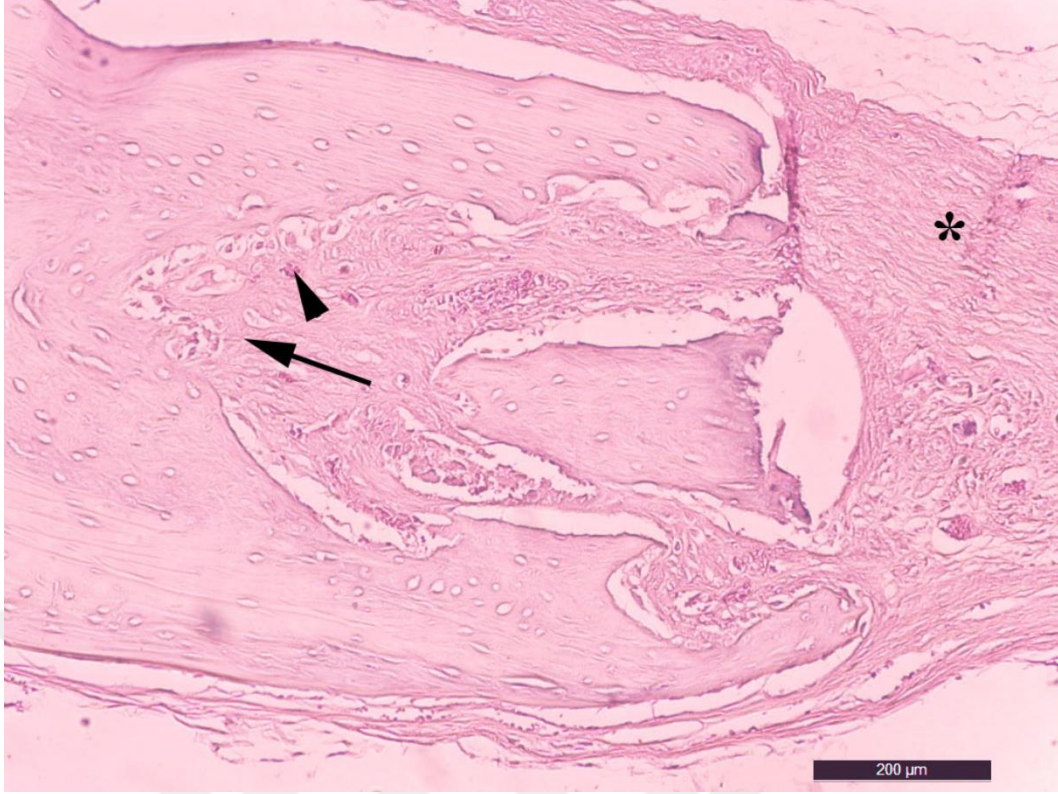


**Resim 11:** SO21 grubu kontrol tarafı fibrozis (\*) ve yeni kemik oluşumu (→) görülmektedir. Hematoksilen&Eosin boyaması.

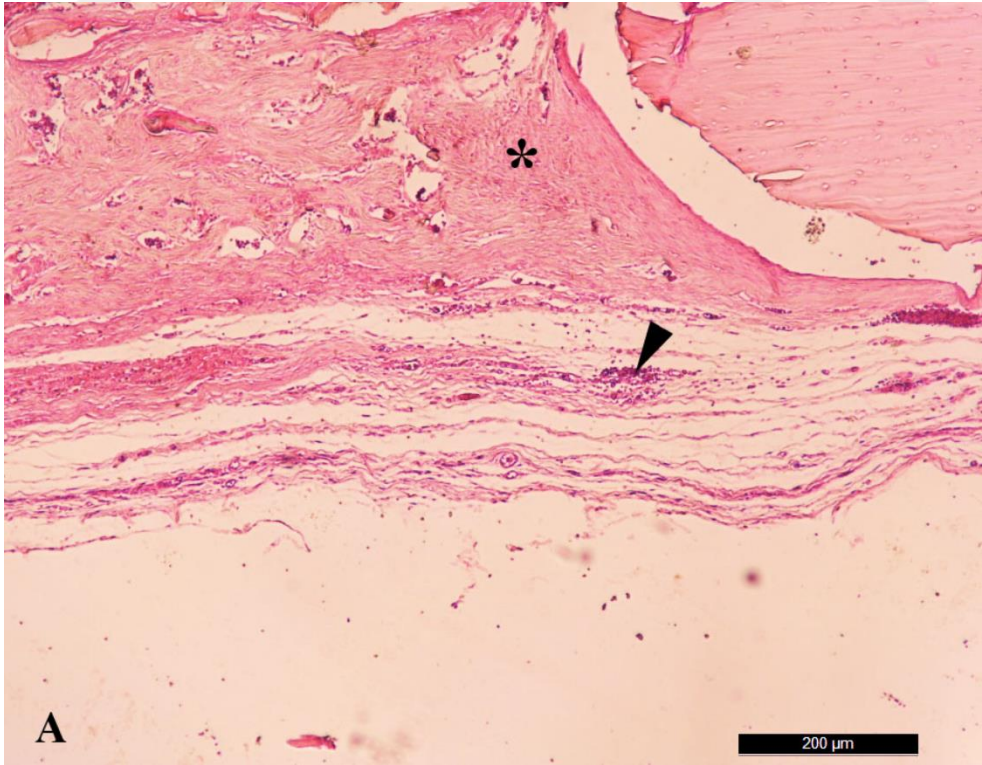


**Resim 12:** SO28 grubu kontrol tarafı hasar bölgesinde yoğun fibrozis (\*)görülmektedir. Hematoksilen&Eosin boyaması.



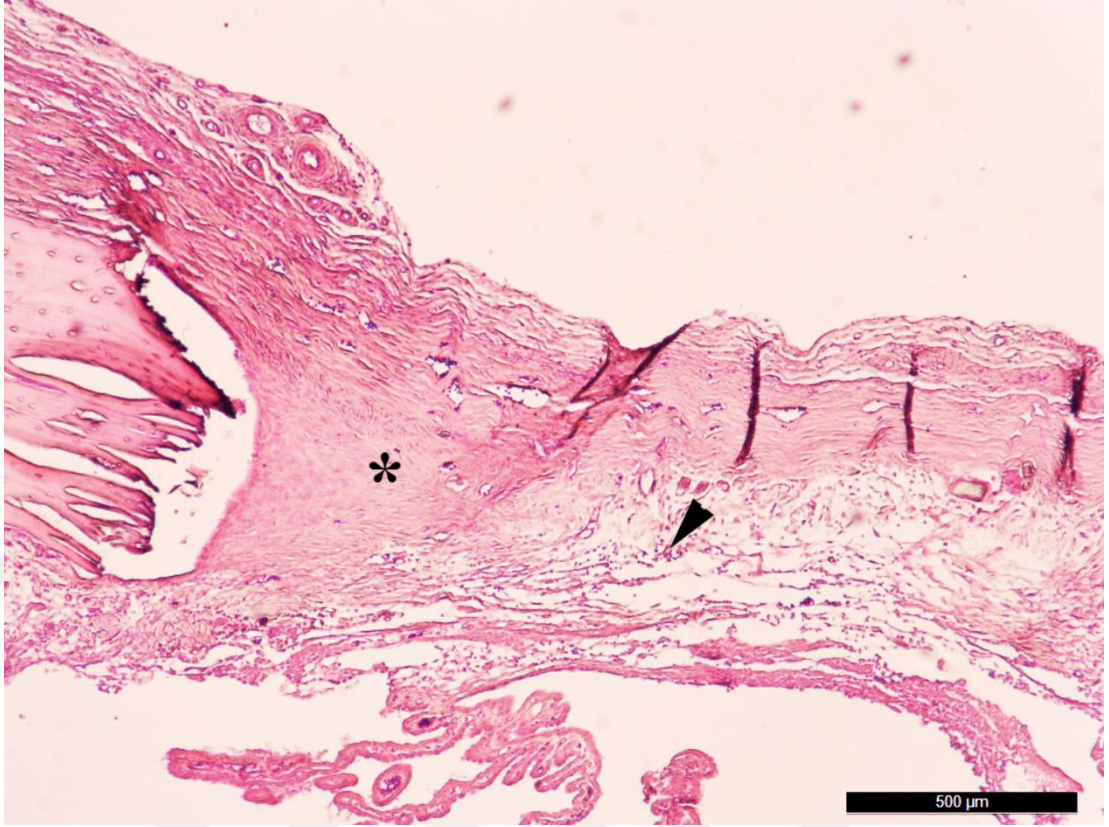


**Resim 13:** SO28 grubu yeni oluşan kemik spikülleri (→), azalmış fibrozis (\*) ve inflamasyon (▲) görülmektedir. Hematoksilen&Eosin boyaması.

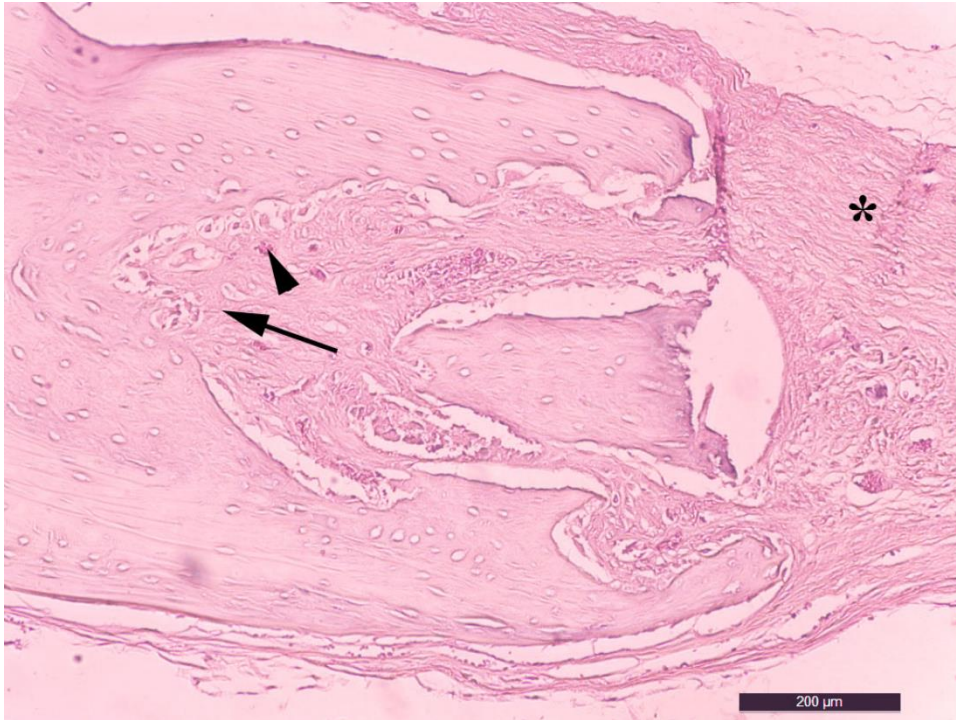


**Resim 14:** J21 grubu yoğun fibrozis (\*) ve infiltratuvar hücre inflamasyonu (▲) görülmektedir. Hematoksilen&Eosin boyaması.



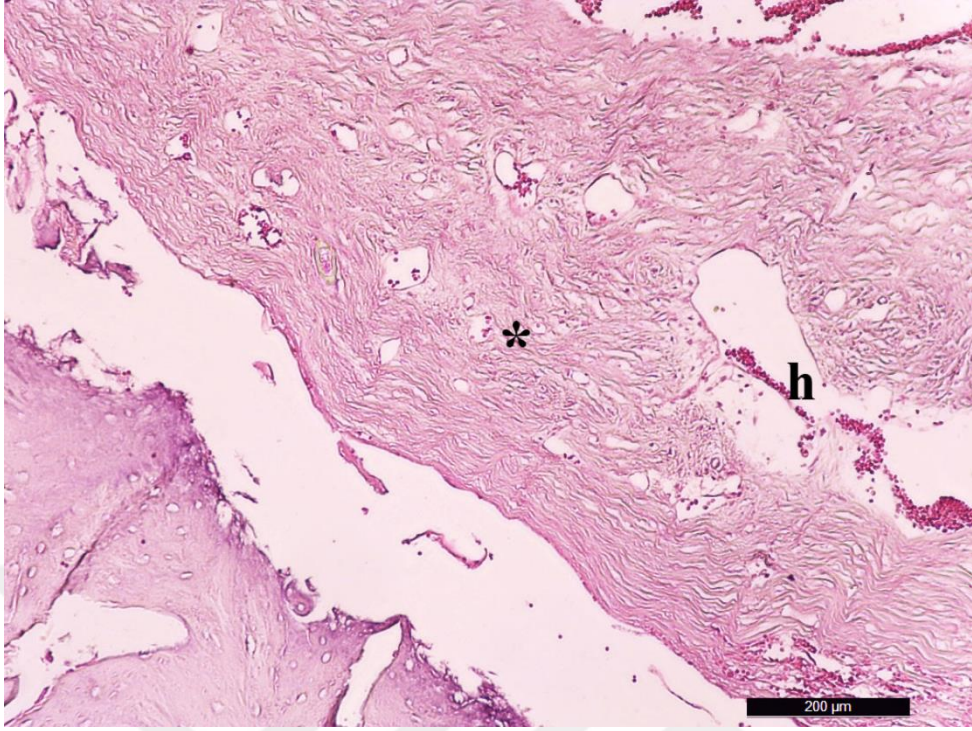


**Resim 15:** J21 grubu kontrol tarafı yoğun fibrozis (\*) ve inflamatuvar hücre inflamasyonu (▲) görülmektedir. Hematoksilen&Eosin boyaması.

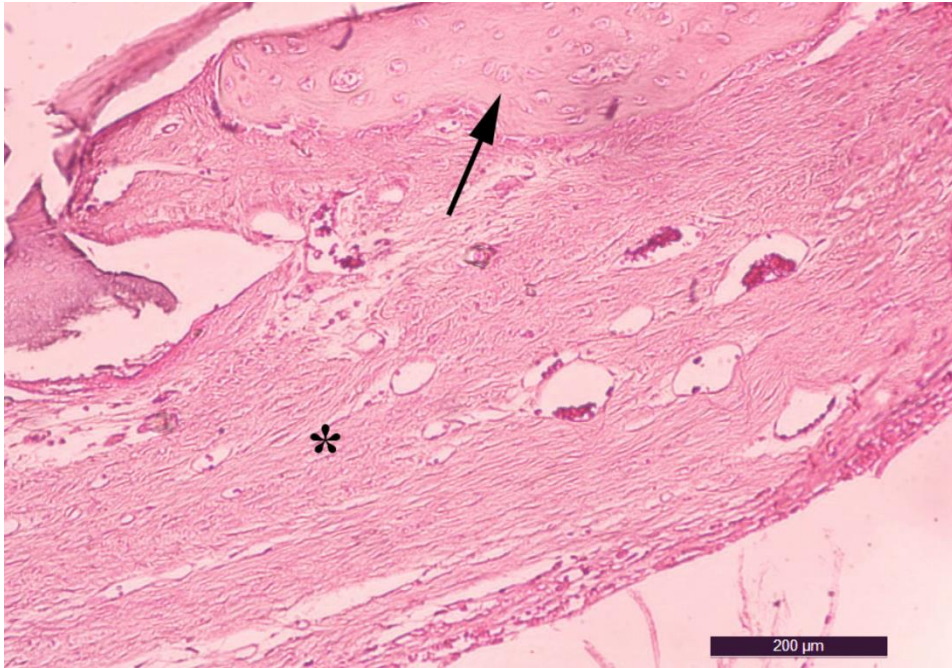


**Resim 16:** J28 grubu yoğun fibrozis (\*), inflamatuvar hücre inflamasyonu (▲) ve yeni kemik oluşumu (→) görülmektedir. Hematoksilen&Eosin boyaması.





**Resim 17:** JO21 grubu kontrol tarafı yoğun fibrozis (\*) ve hemoraji (h) görülmektedir. Hematoksilen&Eosin boyaması.



**Resim 18:** JO28 grubu azalmış fibrozis (\*) ve yeni oluşan kemik spikülleri (→) görülmektedir. Hematoksilen&Eosin boyaması.

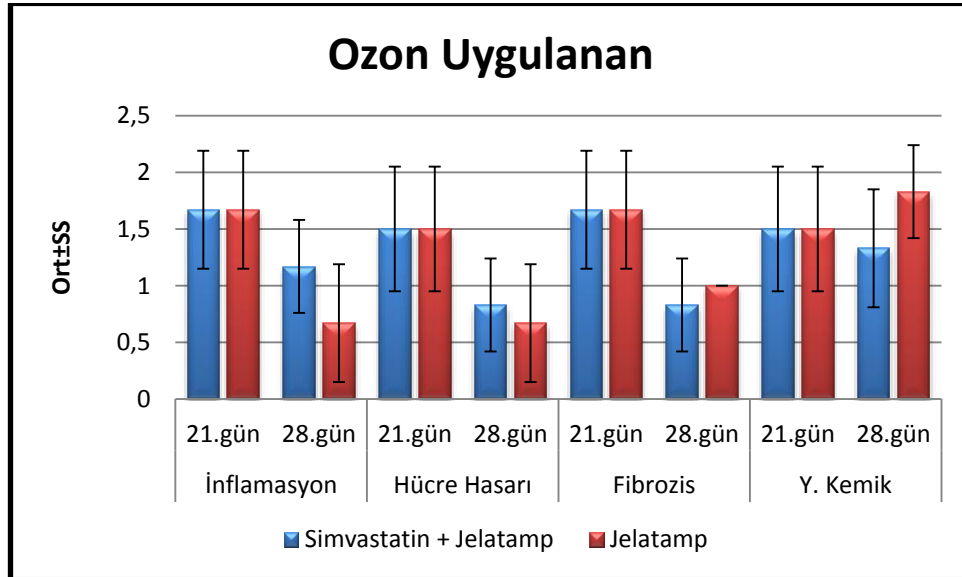
## 4.2. İstatistiksel Bulgular

Tablo 1: SO ve JO gruplarının 21. ve 28. günlerdeki değerlerinin karşılaştırılması

		SO21 ve SO28		JO21 ve JO28		p
		Ort±SS		Ort±SS		
		(Medyan)		(Medyan)		
İnflamasyon	21.gün	1,67±0,52 (2)	1,67±0,52 (2)	1,000		
	28.gün	1,17±0,41 (1)	0,67±0,52 (1)		0,092	
Hücre Hasarı	21.gün	1,5±0,55 (1,5)	1,5±0,55 (1,5)	1,000		
	28.gün	0,83±0,41 (1)	0,67±0,52 (1)		0,523	
Fibrozis	21.gün	1,67±0,52 (2)	1,67±0,52 (2)	1,000		
	28.gün	0,83±0,41 (1)	1±0 (1)		0,317	
Y. Kemik	21.gün	1,5±0,55 (1,5)	1,5±0,55 (1,5)	1,000		
	28.gün	1,73±0,52 (1)	1,83±0,41 (2)		0,093	

Mann Whitney U Test \*p<0.05

Şekil-1: SO ve JO gruplarının 21. ve 28. günlerdeki değerlerinin karşılaştırılması



### **Ozon uygulanan gruplarda;**

SO ve JO grupları arasında 21.gün ve 28.günlerdeki **yeni kemik oluşumu** düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

SO ve JO grupları arasında 21.gün ve 28.günlerdeki sağ taraf **inflamasyon** düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

SO ve JO grupları arasında 21.gün ve 28.günlerdeki sağ taraf **hücre hasarı** düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

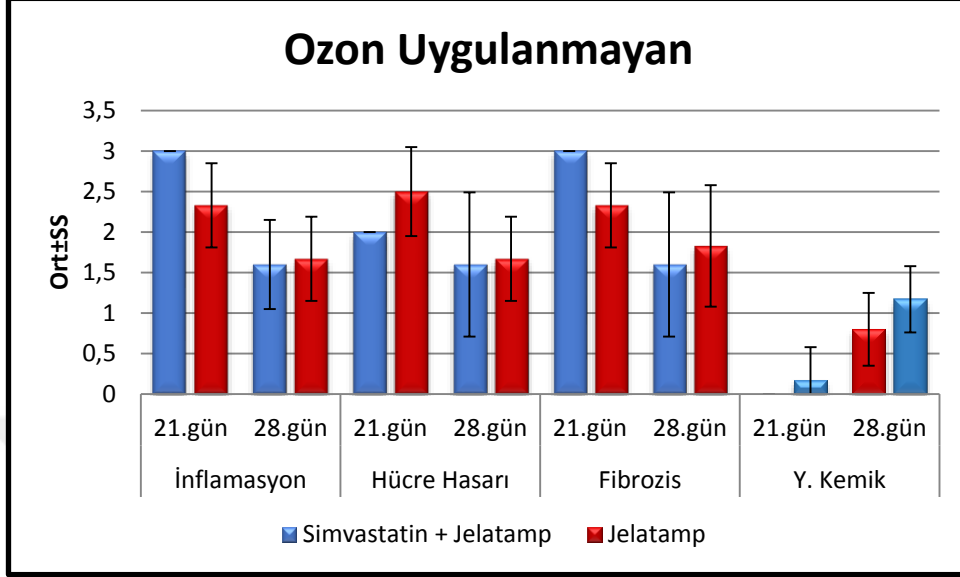
SO ve JO grupları arasında 21.gün ve 28.günlerdeki sağ taraf **fibrozis** düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

**Tablo 2:** S ve J gruplarının 21. ve 28. günlerdeki değerlerinin karşılaştırılması

		S21 ve S28	J21 ve J28	p
		Ort±SS (Medyan)	Ort±SS (Medyan)	
İnflamasyon	21.gün	3±0 (3)	2,33±0,52 (2)	<b>0,029*</b>
	28.gün	1,6±0,55 (2)	1,67±0,52 (2)	<b>0,827</b>
Hücre Hasarı	21.gün	2±0 (2)	2,5±0,55 (2,5)	<b>0,077</b>
	28.gün	1,6±0,89 (1)	1,67±0,52 (2)	<b>0,686</b>
Fibrozis	21.gün	3±0 (3)	2,33±0,52 (2)	<b>0,029*</b>
	28.gün	1,6±0,89 (1)	1,83±0,75 (2)	<b>0,555</b>
Y. Kemik	21.gün	0,17±0,41 (0)	0±0 (0)	<b>0,361</b>
	28.gün	1,17±0,41 (0)	0,8±0,45 (1)	<b>0,176</b>

*Mann Whitney U Test* *\*p<0.05*

Şekil-2: S ve J gruplarının 21. ve 28. günlerdeki değerlerinin karşılaştırılması



### S21 - J21 değerlendirilmesi;

S21'deki **inflamasyon** düzeyleri, J21' den istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir (p:0.029; p<0.05).

S21 ve J21 grupları arasında **hücre hasarı** düzeyleri açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p>0.05).

S21 **fibrozis** düzeyleri, J21'den istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir (p:0.029; p<0.05).

S21 ve J21 grupları arasında **yeni kemik oluşumu** düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ancak S21 grubu J21 grubundan daha yüksek miktarda yeni kemik içermektedir (p>0.05).

### S28 - J28 değerlendirilmesi;

S28 ve J28 arasında **inflamasyon** düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p>0.05).

S28 ve J28 grupları arasında **hücre hasarı** düzeyleri açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p>0.05).

S28 ve J28 arasında **fibrozis** düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p>0.05).

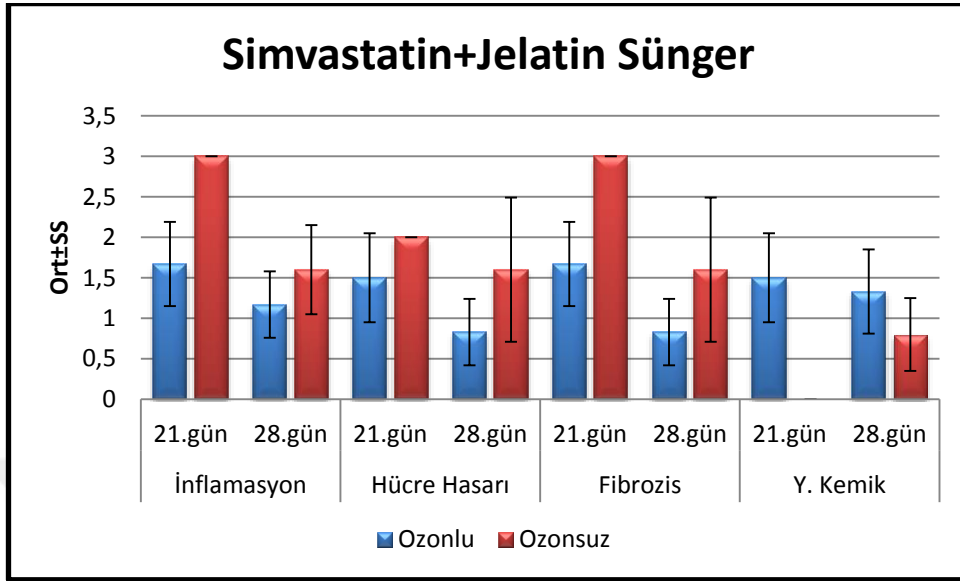


S28 ve J28 grupları arasında **yeni kemik oluşumu** düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ancak S28 grubu S28 grubundan daha yüksek miktarda yeni kemik içermektedir ( $p>0.05$ ).

**Tablo 3:** S ve SO gruplarının 21. ve 28. günlerdeki değerlerinin karşılaştırılması

		S21 ve S28	SO21 ve SO28	p
		Ort±SS (Medyan)	Ort±SS (Medyan)	
<b>İnflamasyon</b>	<b>21.gün</b>	3±0 (3)	1,67±0,52 (2)	<b>0,003*</b>
	<b>28.gün</b>	1,6±0,55 (2)	1,17±0,41 (1)	<b>0,156</b>
<b>Hücre Hasarı</b>	<b>21.gün</b>	1,5±0,55 (1,5)	2±0 (2)	<b>0,077</b>
	<b>28.gün</b>	0,83±0,41 (1)	1,6±0,89 (1)	<b>0,082</b>
<b>Fibrozis</b>	<b>21.gün</b>	1,67±0,52 (2)	3±0 (3)	<b>0,003*</b>
	<b>28.gün</b>	0,83±0,41 (1)	1,6±0,89 (1)	<b>0,082</b>
<b>Y. Kemik</b>	<b>21.gün</b>	0±0 (0)	1,5±0,55 (1,5)	<b>0,003*</b>
	<b>28.gün</b>	0,8±0,45 (1)	1,33±0,52 (1)	<b>0,103</b>
<i>Mann Whitney U Test</i>		<i>*p&lt;0.05</i>		

Şekil-3: S ve SO gruplarının 21. ve 28. günlerdeki değerlerinin karşılaştırılması



#### S21 ve SO21 karşılaştırıldığında;

S21 **inflamasyon** düzeyleri, SO21'den istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir ( $p:0.003$ ;  $p<0.01$ ).

S21 ve SO21 arasında **hücre hasarı** açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

S21 **fibrozis** düzeyleri, SO21'den istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir ( $p:0.003$ ;  $p<0.01$ ).

SO21 **yeni kemik oluşumu** düzeyleri, S21'den istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir ( $p:0.003$ ;  $p<0.05$ ).

#### S28 ve SO28 karşılaştırıldığında;

S28 ve SO28 arasında **inflamasyon** düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

S28 ve SO28 arasında **hücre hasarı** açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

S28 ve SO28 arasında **fibrozis** düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

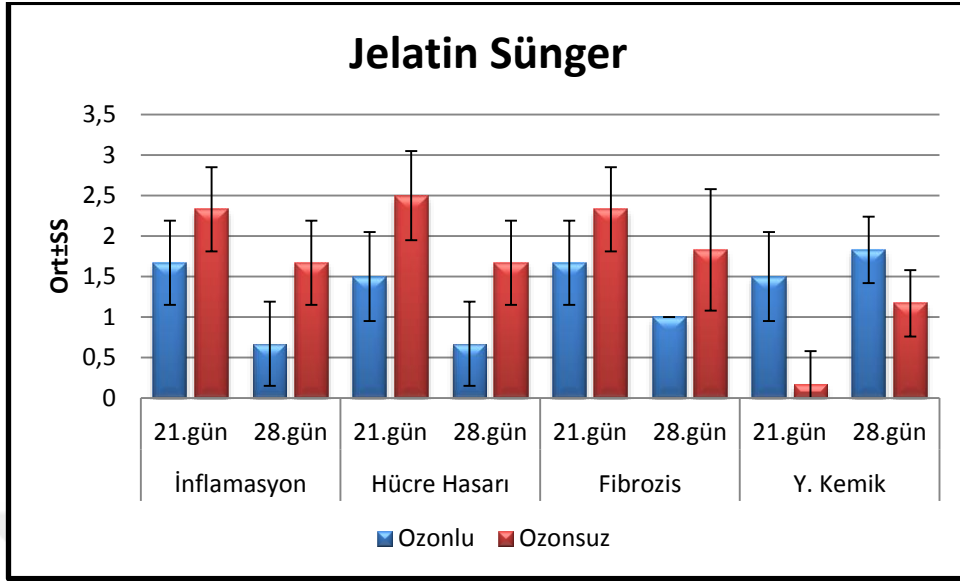
S28 ve SO28 arasında **yeni kemik oluşumu** düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

**Tablo 4:** J ve JO gruplarının 21. ve 28. günlerdeki değerlerinin karşılaştırılması

		J21 ve J28	JO21 ve JO28	p
		Ort±SS (Medyan)	Ort±SS (Medyan)	
İnflamasyon	21.gün	2,33±0,52 (2)	1,67±0,52 (2)	<b>0,056</b>
	28.gün	1,67±0,52 (2)	0,67±0,52 (1)	<b>0,014*</b>
Hücre Hasarı	21.gün	2,5±0,55 (2,5)	1,5±0,55 (1,5)	<b>0,019*</b>
	28.gün	1,67±0,52 (2)	0,67±0,52 (1)	<b>0,014*</b>
Fibrozis	21.gün	2,33±0,52 (2)	1,67±0,52 (2)	<b>0,056</b>
	28.gün	1,83±0,75 (2)	1±0 (1)	<b>0,021*</b>
Y. Kemik	21.gün	0,17±0,41 (0)	1,5±0,55 (1,5)	<b>0,005*</b>
	28.gün	1,17±0,41 (1)	1,83±0,41 (2)	<b>0,027*</b>

*Mann Whitney U Test*                      \* $p<0.05$

**Şekil 4:** J ve JO gruplarının 21. ve 28. günlerdeki değerlerinin karşılaştırılması



***Jelatin sünger uygulanan sağ kavitelere;***

***J21 ve JO21 karşılaştırıldığında;***

J21 de **inflamasyon** düzeyleri, JO21'den daha yüksek olarak tespit edilmiş ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p>0.05$ ).

J21 de **hücre hasarı** düzeyleri, JO21'den istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir ( $p:0.019$ ;  $p<0.05$ ).

J21 de **fibrozis** düzeyleri, JO21'den daha yüksek olarak tespit edilmiş ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p>0.05$ ).

JO21 de **yenı kemik oluşumu** düzeyleri, J21'den istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir ( $p:0.005$ ;  $p<0.01$ ).

***J28 ve JO28 karşılaştırıldığında;***

J28 de **inflamasyon** düzeyleri, JO28'den istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir ( $p:0.014$ ;  $p<0.05$ ).

J28 de **hücre hasarı** düzeyleri, JO28'den istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir ( $p:0.014$ ;  $p<0.05$ ).

JO28 de **yenı kemik oluşumu** düzeyleri, J28'den istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir ( $p:0.027$ ;  $p<0.05$ ).

**Tablo 5:** Sağ ve sol defektlerdeki inflamasyon düzeylerinin değerlendirilmesi

İnflamasyon	Sağ	Sol (boş defekt)	p
	Ort±SS (Medyan)	Ort±SS (Medyan)	
<b>S21</b>	3±0 (3)	3±0 (3)	<b>1,000</b>
<b>S28</b>	1,6±0,55 (2)	1,6±0,55 (2)	<b>1,000</b>
<b>SO21</b>	1,67±0,52 (2)	2,17±0,41 (2)	<b>0,180</b>
<b>SO28</b>	1,17±0,41 (1)	2,33±0,52 (2)	<b>0,020*</b>
<b>J21</b>	2,33±0,52 (2)	2,83±0,41 (3)	<b>0,083</b>
<b>J28</b>	1,67±,52 (2)	1,67±0,52 (2)	<b>1,000</b>
<b>JO21</b>	1,67±0,52 (2)	2,17±0,41 (2)	<b>0,083</b>
<b>JO28</b>	0,67±0,52 (1)	1,5±0,55 (1,5)	<b>0,059</b>

S21 grubunda, sağ ve sol **inflamasyon** düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

S28 grubunda, sağ ve sol **inflamasyon** düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

SO21 grubunda, sağ ve sol **inflamasyon** düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

SO28 grubunda, sol taraftaki **inflamasyon** düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir ( $p:0.020$ ;  $p<0.05$ ).

J21 grubunda, sağ ve sol **inflamasyon** düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

J28 grubunda, sağ ve sol **inflamasyon** düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

JO21 grubunda, sağ ve sol **inflamasyon** düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

JO28 grubunda, sağ ve sol **inflamasyon** düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

**Tablo 6:** Sağ ve sol defektlerdeki hücre hasarı düzeylerinin değerlendirilmesi

Hücre Hasarı	Sağ	Sol	p
	Ort±SS (Medyan)	Ort±SS (Medyan)	
<b>S21</b>	2±0 (2)	2±0 (2)	<b>1,000</b>
<b>S28</b>	1,6±0,89 (1)	1,6±0,55 (2)	<b>1,000</b>
<b>SO21</b>	1,5±0,55 (1,5)	2,17±0,41 (2)	<b>0,102</b>
<b>SO28</b>	0,83±0,41 (1)	2±0 (2)	<b>0,020*</b>
<b>J21</b>	2,5±0,55 (2,5)	2,17±0,41 (2)	<b>0,317</b>
<b>J28</b>	1,67±0,52 (2)	1,67±0,52 (2)	<b>1,000</b>
<b>JO21</b>	1,5±0,55 (1,5)	1,83±0,41 (2)	<b>0,317</b>
<b>JO28</b>	0,67±0,52 (1)	1,67±0,52 (2)	<b>0,063</b>
<i>Wilcoxon Signed Ranks Test</i>		<i>*p&lt;0.05</i>	

S21 grubunda, sağ ve sol **hücre hasarı** düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

S28 grubunda, sağ ve sol **hücre hasarı** düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

SO21 grubunda, sağ ve sol **hücre hasarı** düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

SO28 grubunda, sol taraftaki **hücre hasarı** düzeyleri, sağ taraftan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir ( $p:0.020$ ;  $p<0.05$ ).

J21 grubunda, sağ ve sol **hücre hasarı** düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

J28 grubunda, sağ ve sol **hücre hasarı** düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

JO21 grubunda, sağ ve sol **hücre hasarı** düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

JO28 grubunda, sağ ve sol **hücre hasarı** düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

**Tablo 7:** Sağ ve sol defektlerde fibrozis düzeylerinin değerlendirilmesi

Fibrozis	Sağ	Sol	p
	Ort±SS (Medyan)	Ort±SS (Medyan)	
S21	3±0 (3)	2,2±0,45 (2)	<b>0,046*</b>
S28	1,6±0,89 (1)	2±0,71 (2)	<b>0,577</b>
SO21	1,67±0,52 (2)	2,67±0,52 (3)	<b>0,034*</b>
SO28	0,83±0,41 (1)	2,17±0,41 (2)	<b>0,023*</b>
J21	2,33±0,52 (2)	2,17±0,41 (2)	<b>0,564</b>
J28	1,83±0,75 (2)	1,83±0,75 (2)	<b>1,000</b>
JO21	1,67±0,52 (2)	2,17±0,41 (2)	<b>0,180</b>
JO28	1±0 (1)	2±0,63 (2)	<b>0,034*</b>

*Wilcoxon Signed Ranks Test*

*\*p<0.05*

S21 grubunda, sağ taraftaki **fibrozis** düzeyleri, sol taraftan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir (p:0.046; p<0.05).

S28 grubunda, sağ ve sol **fibrozis** düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p>0.05).

SO21 grubunda, sol taraftaki **fibrozis** düzeyleri, sağ taraftan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir (p:0.034; p<0.05).

SO28 grubunda, sol taraftaki **fibrozis** düzeyleri, sağ taraftan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir (p:0.023; p<0.05).

J21 grubunda, sağ ve sol **fibrozis** düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p>0.05).

J28 grubunda, sağ ve sol **fibrozis** düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p>0.05).

JO21 grubunda, sağ ve sol **fibrozis** düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p>0.05).

JO28 grubunda, sol taraftaki **fibrozis** düzeyleri, sağ taraftan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir (p:0.034; p<0.05).

**Tablo 8:** Sağ ve sol defektlerdeki yeni kemik oluşumu düzeylerinin değerlendirilmesi

Yeni Kemik Oluşumu	Sağ	Sol	p
	Ort±SS (Medyan)	Ort±SS (Medyan)	
<b>S21</b>	0±0 (0)	0±0 (0)	<b>1,000</b>
<b>S28</b>	1,2±0,45 (1)	0,8±0,45 (1)	<b>0,157</b>
<b>SO21</b>	1,5±0,55 (1,5)	0±0 (0)	<b>0,024*</b>
<b>SO28</b>	1,33±0,52 (1)	0,33±0,52 (0)	<b>0,034*</b>
<b>J21</b>	0,17±0,41 (0)	0±0 (0)	<b>0,317</b>
<b>J28</b>	1,17±0,41 (1)	1,17±0,41 (1)	<b>1,000</b>
<b>JO21</b>	1,5±0,55 (1,5)	0,83±0,41 (1)	<b>0,046*</b>
<b>JO28</b>	1,83±0,41 (2)	1,17±0,75 (1)	<b>0,046*</b>
<i>Wilcoxon Signed Ranks Test</i>		<i>*p&lt;0.05</i>	

S21 grubunda, sağ ve sol taraftaki **yeni kemik oluşumu** düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

S28 grubunda, sağ ve sol taraftaki **yeni kemik oluşumu** düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ancak sağ taraftaki yeni kemik miktarı sol taraftan daha fazladır ( $p>0.05$ ).

SO21 grubunda, sağ taraftaki **yeni kemik oluşumu** düzeyleri, sol taraftan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir ( $p:0.024$ ;  $p<0.05$ ).

SO28 grubunda, sağ taraftaki **yeni kemik oluşumu** düzeyleri, sol taraftan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir ( $p:0.034$ ;  $p<0.05$ ).

J21 grubunda, sağ ve sol taraftaki **yeni kemik oluşumu** düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

J28 grubunda, sağ ve sol taraftaki **yeni kemik oluşumu** düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ).

JO21 grubunda, sağ taraftaki **yeni kemik oluşumu** düzeyleri, sol taraftan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir ( $p:0.046$ ;  $p<0.05$ ).

JO28 grubunda, sağ taraftaki **yeni kemik oluşumu** düzeyleri, sol taraftan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir ( $p:0.046$ ;  $p<0.05$ ).



## 5. TARTIŞMA ve SONUÇLAR

Kemik miktarının yetersiz olduğu bölgelerde, kemik miktarının artırılması ya da büyük kemik defektlerinin olduğu alanların rekonstrüksiyonu amaçlı çeşitli cerrahi yöntemler uygulanabilmektedir. Bu yöntemler arasında otojen greftleme, allogreft kemik ogmentasyonları, sinüs lift operasyonları, interpozisyonel greftler, distraksiyon osteogenezisi, split kret tekniği gibi cerrahi yöntemler güncel uygulamalar arasındadır. Ayrıca bu cerrahi yöntemler ile birlikte kombine veya tek başına uygulanabilecek, yönlendirilmiş kemik rejenerasyon tedavileri de günümüzde uygulanmaktadır [113][114].

Kemik defektlerinin tamirinde biyouyumlu ve hızlı revaskülerize olmalarından dolayı otojen kemik greftlerinin kullanılması altın standart olmakla birlikte, otojen greftin elde edilmesindeki zorluk, ikinci bir cerrahi operasyon alanına ihtiyaç duyulması, istenilen miktarda greftin her zaman temin edilememesi, operasyon sonrası morbidite, ağrı gibi komplikasyonlar bu greftlerin kullanımını kısıtlamaktadır. Bundan dolayı diğer greft türlerinin kombine tedavilerle birlikte uygulanması gündeme gelmiştir [33].

Kemik matriksinde bulunan ve kemik morfogenetik proteinler olarak adlandırılan proteinlerin osteokondüktif özellikler gösterdikleri bildirilmiştir [115]. Yaklaşık 20 adet bulunan bu proteinlerden, özellikle BMP-2'nin kemik oluşturma kapasitesinin daha fazla olduğu gösterilmiştir. Kemik oluşumunu ve tamirini artırmak amacıyla BMP-2 proteininin kullanımının efektif bir yöntem olduğu çeşitli çalışmalarla da gösterilmiştir [116][117]. Fakat rekombinant BMP-2'nin uygulama ve saklama zorluklarıyla birlikte pahalı bir yöntem olması, araştırmacıları BMP-2 salınımını arttırabilecek başka ajanların arayışına itmştir.

Statinler, BMP-2'nin salınımını indükleyen, kolesterol düşürücü ilaçlardır. Statinler bu etkilerinin yanısıra, bazı yan etkilere de sahiplerdir. Statinlerin kolesterol düşürücü etkilerinden bağımsız olarak ortaya çıkan bu etkiler kısaca endotel

fonksiyonu üzerine olumlu etkiler, nitrik asidin biyoyararlanımında artma ve antioksidan özellik, trombosit fonksiyonu üzerine olumlu etkiler, aterosklerotik plak stabilizasyonu, anjiogeneziste artış ve vasküler inflamasyonda azalma olarak sıralanabilmektedir. Statinlerin kemik üzerindeki olumlu etkileri ise ilk olarak Mundy ve ark. tarafından bildirilmiştir [2]. Statinlerin kemik oluşumu üzerindeki olumlu etkilerinin yanısıra, kemik greft materyallerine göre maliyetinin düşük olması, yan etki ve komplikasyonlarının az olması ve kolay elde edilmesi sebebiyle cerrahi alandaki çalışmalarda araştırılmaya başlanmıştır. Fakat klinik uygulamaya başlanabilmesi için, materyalin insanda uygulama şekli, dozu ve yan etkileri açısından daha fazla çalışmaya gereksinim duyulmaktadır. [118]

Literatür incelemesi yapıldığında, statinler ile ilgili çok çeşitli araştırmaların yapılmış olduğu görülmüştür. Bu çalışmalarda kullanılan statinin çeşidi, dozu, uygulama şekli, birlikte kullanılan taşıyıcı ve süre bakımından çeşitlilikle beraber birçok farklı sonuçlar bildirilmiştir.

Statin türleri arasında simvastatin lipofilik yapıdadır ve hidrofilik yapıdaki statinlere oranla kemiğe bağlanma afinitesi daha yüksektir. Bundan dolayı simvastatinin hücre içine girişi daha kolaydır. Simvastatinin, BMP-2 ve kemik anabolik faktörü olan VEGF'ün açığa çıkmasını, alkalen fosfataz aktivitesini, osteokalsin ve kemik siyaloproteininin sentezini arttırdığı da bildirilmiştir [119].Yapılan çalışmalarda simvastatinin kemik üzerindeki olumlu etkilerinden dolayı biz de çalışmamızda simvastatin kullanıp, taşıyıcı olarak jelatamp sünger tercih ettik. Çalışmamızda simvastatin çözeltisinin ve ozonun oluşturulan kritik boyutlu kemik defektleri üzerindeki etkileri, ayrı ayrı ve birarada uygulandıklarında 21. ve 28. günlerdeki histopatolojik sonuçlarının elde edilmesi amaçlanmıştır. Değerlendirme kemik oluşumu, fibrozis, doku hasarı ve inflamatuvar hücre infiltrasyonuna bakılarak yapılmıştır [89][116][120].

Simvastatinin oral olarak uygulandığı klinik ve hayvan çalışmaları, ilacın karaciğerde metabolize olmasından dolayı kemiklerde çok az miktarlarda biriktiği görülmüştür [121]. Yüksek dozlarda sistemik olarak uygulanan simvastatinin karaciğer, böbrek yetmezliği, rabdomiyalzi, miyalji gibi çeşitli yan etkilerin ortaya çıkmasına sebep olduğu bildirilmiştir [122]. Özellikle yapılan insan çalışmalarının çoğunda, kullanılan dozların kemik dokusuna yüksek oranda bağlanma sağlayamadığından kemik mineral yoğunluğu üzerinde bir etki göstermediği fikri kabul görmüştür [4]. Ayrıca çalışmaların büyük bir kısmı retrospektif olduğu için ilaçların düzenli kullanımı da kesin olarak bilinmemektedir. Bu sebeple statinlerin kemik dokusu üzerine etkilerinin daha objektif değerlendirilebilmesi amacıyla hayvan çalışmaları yapılmıştır. Hayvanlar üzerinde yapılan ve oral olarak değişik dozlarda uygulanan simvastatinin, kemik yapımı ve rezorpsiyonu üzerindeki etkilerinde de farklı sonuçlar bildirilmiştir.

Ho ve ark. 2009 yılında yaptıkları çalışmada, ovariectomized sıçanlara 6 hafta boyunca oral olarak günde 10-20 mg/kg simvastatin uygulamışlardır. 10-20 mg/kg şeklinde uygulanan oral simvastatin tedavisinin kemik hacminde ve osteoblast sayısında artış sağladığı sonucunu bildirmişlerdir. Ayrıca 20 mg/kg uygulanan sıçanların vertebral kemiklerinde, immün boya ile boyalı BMP-2 içeren osteoblast hücrelerinde tip I kolajen ve osteokalsin miktarında da artış görüldüğü bildirilmiştir [123].

Oxlund ve Andreassen yaptıkları çalışmada ovariectomized sıçanları iki gruba ayırmışlar, 1. gruba 3 ay boyunca günde 2 defa oral olarak 20 mg/kg simvastatin 2. gruba ise plasebo uygulamışlardır. Simvastatinin tibia, femur ve vertebral kemiklerdeki kortikal ve kansellöz kemik üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Simvastatin uygulanan grupta, serum osteokalsin konsantrasyonunun artışıyla birlikte periostal kemik oluşum hızının iki kat daha hızlı olduğu görülmüş, simvastatinin kortikal kemik yapımı üzerinde hafif bir pozitif etkisi olduğu sonucuna varılmıştır. Kansellöz kemik sonuçlarına bakıldığında ise her iki grupta da kemik hacminin azaldığı fakat simvastatin uygulanan grupta bu farkın daha az olduğu

görülmüş, simvastatinin overektomi nedeniyle görülen kansellöz kemik hacmindeki kaybı azalttığı bildirilmiştir [124].

Mousavil ve Mohajeri 2013 yılında yaptıkları sıçan çalışmasında pravastatinin kemik üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Çalışmada 1. grup kontrol, 2. grup günde 10 mg/kg oral pravastatin, 3. grup ise günde 20mg/kg oral pravastatin olarak oluşturulmuştur. 45 gün sonra bakılan histomorfometrik ve histopatolojik sonuçlara göre kontrol grubunda 2. ve 3. gruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük osteojenik aktivite tespit edilmiştir. Ayrıca 3. grupta görülen osteogenezisin de 2. gruba göre daha fazla olduğu ildirilmiştir [125].

Mundy ve ark. 1999 yılında yaptıkları çalışmada, dişilerde görülen menopoz sonrası osteoporoz etkisinden yararlanabilmek için overektomi uyguladıkları sıçanlar üzerinde çalışmışlardır. Sıçanlarda 35 gün boyunca 5-10 mg/kg oral simvastatin uygulamışlar ve trabeküler kemikte hacmindeki artışı bildirmişlerdir [2].

Simvastatin ile yapılan çeşitli çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Yapılan birçok çalışmada simvastatinin tek başına kemik yapımı üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı bildirilmiştir [127][128][129][130]. Bu çalışmalarda uygulanan simvastatin dozları çeşitlilik göstermektedir. Bundan dolayı simvastatinin biyoyararlanımının artırılması ve kemikte birikiminin elde edilmesi için doz optimizasyonu ve taşıyıcı tipi önem taşımaktadır.

Taşıyıcılar, kemik defekt bölgesinin lokal tedavisinde uygulanacak ilaçların, bölgede yavaş salınımını sağlayan, rezorbe olabilen ajanlardır. Uygun bir taşıyıcı ilacın lokalizasyonu, uygulanan molekülün retansiyonu, yükleme dozunun düşük tutulabilmesi ve mezenşimal hücre infiltrasyonu için matriks oluşturma gibi birçok avantaj sağlamaktadır. Optimal bir taşıyıcının degradasyon hızı, yeni kemik oluşumunu engellemeyecek oranda olup fibröz doku oluşumuna da engel

olmalıdır. Lokal simvastatin uygulanmasında da, defekt bölgesinde ilacın uzun zaman salınımını sağlayabilecek bir taşıyıcıya ihtiyaç duyulmaktadır. Literatür taraması yapıldığında simvastatin ile yapılan çalışmalarda çoğunlukla metilselüloz jel, jelatin sünger, kolajen sünger, polilaktik asit/poliglolik asit, kalsiyum sülfat kombinasyonu içerikli taşıyıcılar kullanıldığı görülmüştür [118][131][132][133] . Biz de çalışmamızda kolay manipülasyonu, biyouyumluluğu, düşük maliyeti, kolay saklama koşulları ve defekt şeklini kolayca almasından dolayı jelatin sünger kullanmayı tercih ettik.

Statinlerin genellikle sistemik olarak kullanılmasından dolayı lokal uygulama çalışması çok fazla bulunmamaktadır. Hiperlipidemi tedavisinde kullanılan statinlerinde karaciğerin hedef organ seçilmesinden dolayı, ilacın kemiğe geçiş konsantrasyonu da düşüktür. Bundan dolayı statinlerin lokal uygulanmasının yeni kemik oluşumunda daha etkili olacağı düşünülmüştür. Gutierrez ve ark. yaptıkları çalışmada statinin topikal uygulanmasının, oral uygulanmasına kıyasla kemik oluşumunda 50 kat daha aktif olduğunu bildirmiştir [134].

Tylin ve ark. (2002) yaptıkları çalışmada sıçan kalvaryumuna simvastatin enjekte ederek, kemik oluşumu üzerindeki etkileri incelemişlerdir. 5 grup oluşturan araştırmacılar 1. grup sadece metilselüloz jel, 2. grup 2,2 mg simvastatin içeren jel kalvaryum periostuna subkutan olarak enjekte edilmiş, 3. grupta polilaktik membran ile birlikte jel, 4. grupta jel ve simvastatin içeren polilaktik membran kalvaryum üzerine implante yerleştirilmiştir. 5. grup ise müdahale yapılmayan kontrol grubu olmuştur. Jel ile birlikte uygulanan simvastatin grubunda kemik kalınlığı %53 artarken, membran ile uygulanan simvastatin %159-%172 oranında bir artış gösterdiği bildirilmiştir. Jel ile birlikte uygulanan simvastatin grubu, sadece jel uygulanan kontrol grubuyla karşılaştırıldığında simvastatinli grupta %58-%83 daha fazla kemik yapımı görülmüş ve simvastatinin etkinliği vurgulanmıştır. Araştırmacılar 2,2 mg simvastatin dozunun kemik yapımı üzerindeki olumlu etkilerinin yanısıra, inflamasyon ve uygulanan deride kabuklanma gibi olumsuz etkileri de bildirmişler fakat dozun azaltıldıkça yeni kemik oluşum miktarının azaldığını da bildirmişleridir [131].

Wong ve Rabie (2003) tavşanlarda yaptıkları çalışmada simvastatinin kemik üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Tavşanların parietal kemiklerinde oluşturulan 10mm x 5mm tam kalınlıklı defektlere (kalvaryum kalınlığı ortalama 2 mm) 0,2 ml simvastatin solüsyonu emdirilmiş 0,02 gr kollajen sünger yerleştirilmiştir. 14. günde sakrifikasyon gerçekleştirilmiş ve simvastatinli kolajen sünger uygulanan defekte, aktif kontrol grubu olan sadece kolajen süngerli gruba göre %308 daha fazla kemik yapımı görüldüğü bildirilmiştir. Sonuç olarak kolajen sünger ile uygulanan simvastatinin osteoindüktif özellik gösterdiği ve kemik greft materyali olarak kullanılabilceği sonucuna varılmıştır [132]. Araştırmacılar taşıyıcı olarak rezorbe olabilen kolajen sünger tercih etmelerini, yapılan insan ve hayvan çalışmalarında kolajen süngerin BMP-2' nin uygulanmasında başarıyla kullanılması olduğunu bildirmişlerdir [135][136][137]. Bouxsein ve ark. yaptıkları çalışmada BMP-2'nin kolajen sünger ile uygulandığındaki retansiyonunu gama sintigrafi ile gözlemlemiş ve ilacın ilk hafta %37, 2. hafta ise %8 'inin cerrahi alanda kaldığını bildirmiştir [138].

Aynı araştırmacılar 2005 yılında yaptıkları farklı bir çalışmada ise simvastatinin kemik üzerindeki erken dönem etkilerini araştırmışlardır. Tavşan parietal kemiklerinde oluşturulan 10mm x 5 mm tam kalınlıklı kemik defektlere simvastatin içeren kolajen matriks uygulanmış ve kolajen süngere 0,2 ml distile su emdirilmiş kontrol grubuyla karşılaştırılmıştır. Çalışmada vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), kemik morfojenetik protein (BMP-2) ve Cbfa1 (core binding factor) salınımına göre kemik üzerindeki etkiler değerlendirilmiştir. 1., 2., 3., 4., 5. ve 6. günlerde yapılan sakrifikasyonlar ile erken dönem iyileşme gözlenmiştir. Statinli grupta operasyon sonrası 3. günde VEGF, 4. günde BMP-2 ve 5. günde Cbfa1 salınımı ve yeni kemik oluşumu görülmüştür. Benzer anlamlılıklar sadece taşıyıcı içeren kontrol grubunda 1 gün gecikmeyle tespit edilmiştir. Sonuç olarak lokal simvastatin uygulamasının anjiogenezi düzenleyen büyüme faktörlerinin aktifleşmesini, kemik hücrelerinin farklılaşmasını ve osteogenezi hem indüklediği hem de hızlandırdığı bildirilmiştir [91].

Stein ve ark (2005) yaptıkları sıçan çalışmasında 0,1, 0,5, 1, 1,5 ve 2,2 mg simvastatini PLA membran ve metil selüloz jel kullanarak mandibulaya topikal olarak uygulamışlardır. 3., 7. ve 24. günlerde yapılan sakrifikasyonlarda 0,1 mg'lık doz haricinde bütün gruplarda enflamasyon görüldüğü bildirilmiştir. 7. günde en yüksek seviyeye ulaşan enflamasyon 2,2 mg'lık grup haricinde diğer tüm gruplarda 7. günden sonra azalma göstermiştir. 0,5 mg'lık dozun kontrol grubuna göre kemik oluşumunu 45% oranında arttırdığı bildirilmiş, 0,1 mg'lık simvastatin grubunda kemik oluşumunun görülmediği bildirilmiştir. 0,5 mg'lık dozda oluşan enflamasyonun 2,2 mg'lık simvastatin grubunda oluşan enflamasyondan çok daha az miktarda olduğu için, 0,5 mg'lık dozun optimal doz olabileceği görüşü ortaya atılmıştır [133].

Özeç ve ark. (2007) sıçan mandibulalarının angulus bölgesinde oluşturdukları 3 mm çapındaki kemik defektlerine 0,5 mg simvastatini jelatamp sünger ile uygulamışlardır. Aktif kontrol grubuna sadece izotonik sodyum klorür emdirilmiş jelatin sünger yerleştirilmiş, pasif kontrol grubundaki kaviterler ise boş bırakılmıştır. Deney hayvanları 14. günde sakrifiye edilmiştir. Simvastatin grubunda hiç kartilaj hücresi gözlenmezken, defekt içine doğru ilerleyen yeni kemik oluşumu tespit edilmiştir. Simvastatin grubunda pasif kontrol grubuna göre 240% oranında, aktif kontrol grubundan ise %190 daha fazla kemik oluşumu olduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar simvastatin emdirilmiş jelatin süngerin sıçan mandibulasında oluşturulan kemik defektinin iyileşmesinde başarılı olduğu sonucunu bildirmişlerdir [118].

Nyan ve ark. (2007) sıçan kalvaryumlarında oluşturdukları 8 mm çapındaki defektlere bir grupta sadece kalsiyum sülfat diğer grupta ise kalsiyum sülfat taşııcılığıyla 1 mg simvastatin uygulamışlardır. Daha önceki çalışmalarla paralel olarak 1-5 haftalarında önemli ölçüde yeni kemik oluşumu görülmezken, yumuşak doku inflamasyonu gözlemlenmiştir. 8. haftada ise yumuşak doku inflamasyonu artık görülmezken, kemik oluşumunda önemli bir artış görülmüştür. Sonuç olarak kalsiyum sülfat ile uygulanmış 1 mg'lık simvastatinin 5. haftaya kadar görülen şiddetli yumuşak doku inflamasyonundan sonra, 8. haftada yeni kemik oluşumunu arttırdığı bildirilmiştir [139].

Nyan ve ark (2009) sıçanların kalvaryumlarında biteral oluşturdukları 5 mm çapındaki defektlere değişik dozlarda simvastatin uygulamışlardır. 0, 0.01, 0.1, 0.25 ve 0.5 mg simvastatin  $\alpha$ -trikalsiyum fosfat ile uygulanmıştır. Denekler 2., 4., 8. haftalarda sakrifiye edilip, radyografik ve histolojik olarak incelenmiştir. 0.25 ve 0.5 mg simvastatin içeren gruplarda yumuşak dokuda enflamasyon görülürken, kontrol grubunda ve diğer gruplarda enflamasyon görülmemiştir. Mikro-CT incelemelerine göre  $\alpha$ -trikalsiyum fosfatla uygulanan 0,1 mg simvastatin grubunda en yüksek volümde kemik oluşumu görülmüştür. Ayrıca defektin kapanma miktarı, kemik mineral içeriği ve kemik mineral yoğunluğu olarak da  $\alpha$ -TKP - 0,1 mg simvastatin grubu diğer tüm gruplardan daha yüksek bulunmuştur. Sonuç olarak  $\alpha$ -TKP ile uygulanan 0,1 mg'lık simvastatinin inflamasyon oluşturmadan maksimum kemik rejenerasyonu sağlamak için optimal doz olduğu sonucuna varılmış ve kemik greft materyali olarak efektif bir şekilde kullanılabileceği bildirilmiştir [140].

Ayukawa ve ark. (2007) 60 adet sıçan ile yaptıkları çalışmada, sıçanların tibialarında oluşturdukları 3mm çapındaki defektlere 1 mg simvastatin enjekte etmişlerdir. Simvastatin enjeksiyonu cerrahi gününden itibaren 3 gün süresince günde 1'er kez yapılmıştır. Deneklerin sakrifikasyonları 5. ve 10. günlerde yapılmış ve kemik yapımına ilişkin proteinlerin salınımlarına bakılmıştır. 5. gün sonuçlarında kemik rejenerasyonu simvastatin uygulanan grupta kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Statin grubunda alkalin fosfataz, kemik morfogenetik protein 2 mRNA seviyelerinde önemli artış gözlemlenmiştir. RANK ve osteoprotegerin seviyeleri statin tarafından etkilenmezken, RANKL seviyesinde düşüş görülmüştür. 10. günün sonunda gruplar arasında histomorfometrik açıdan bir fark bulunmamıştır. Sonuç olarak simvastatin uygulamasıyla yeni kemik oluşumunun arttığı fakat uygulamanın kesilmesiyle etkinin de ortadan kalktığı görülmüştür. Osteoklastların baskılanmasının da RANKL seviyesinde sağlanan düşüşten olabileceği bildirilmiştir [141].

Du ve ark. (2009) dişi sıçanlar ile yaptıkları çalışmada, simvastatin uygulamanın deneklerin tibialarına yerleştirdikleri titanyum implantların çevresinde



osteogenez üzerinde bir etki yaratıp yaratmadığını araştırmışlardır. Bunun için bir kontrol grubu, bir overektomi yapılan grup, bir de overektomi yapıp simvastatin uygulanan 3 grup oluşturulmuştur. Sakrifikasyonlar 28. ve 84. günlerde yapılmıştır. Sonuç olarak osteoporozun kansellöz kemikte kemik iyileşmesi üzerinde önemli bir negatif etkiye sahip olduğu bildirilmiş, simvastatinin osteoporotik sıçanlardaki implant-kemik osteointegrasyonunu önemli derecede arttırdığı sonucuna varılmıştır [142].

Rojbani ve Nyan (2011) yaptıkları çalışmada  $\alpha$ -trikalsiyum fosfat,  $\beta$ -trikalsiyum fosfat ve hidroksiapatiti, simvastatinli ve simvastatinsiz olarak uygulayarak bu materyallerin osteokondüktif özelliklerini araştırmışlardır. 72 sıçanda 5 mm'lik defektler hazırlanmış ve 7 grup oluşturulmuştur.  $\alpha$ -TKF,  $\beta$ -TKF, hidroksiapatit grupları simvastatinsiz ve 0,1 mg'lık simvastatinli olacak şekilde boş kontrol grubuyla birlikte hazırlanmıştır. Deney hayvanları 6. ve 8. haftalarda sakrifiye edilmiştir. Sonuç olarak  $\alpha$ -TKF,  $\beta$ -TKF ve hidroksiapatitin osteokondüktif materyaller olduğu, bu materyallere 0,1 mg'lık simvastatin eklenmesiyle kemik rejenerasyonunda artış sağlandığı bildirilmiştir.  $\alpha$ -TKF'in diğer materyallere göre degradasyon süresinin kısa olmasından dolayı daha fazla yeni kemik oluşumuna izin vermesi ve simvastatinin eklenmesiyle bu özelliğin daha da ön plana çıktığı görülmüştür [143].

Calixto ve ark. (2011) 64 sıçanın kalvaryumların açtıkları 5 mm boyutundaki kritik boyutlu defekte 0,5 mg ve 2,2 mg'lık simvastatin uygulamışlardır. Simvastatin kolajen sünger ile uygulamış, sakrifikasyonlar 30. ve 60. günlerde yapılmıştır. 30 gün sonunda gruplar arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. 60. günde ise sadece kolajen sünger uygulanan grup ve 0,5 mg simvastatin emdirilmiş kolajen süngerli grupta az miktarda kemik oluşumu görülmüştür. Sonuç olarak araştırmacılar lokal olarak uygulanan simvastatinin, defekt iyileşmesinde anlamlı bir etkisi olmadığını bildirmişlerdir [144].

Allon ve ark. (2012) 20 adet sıçanın kalvaryumunda oluşturdukları 8mm x 8mm boyutlu tam kalınlıklı defektlerin 10 tanesine bioaktif cam, 10 tanesine simvastatin ile birlikte bioaktif cam yerleştirmişlerdir. Simvastatinli olan grupta yeni kan damarı ve kemik oluşumunun daha fazla olduğu görülmüştür. Sonuç olarak topikal olarak uygulanan 0,5 mg simvastatinin, bioaktif camın anjiyogenik ve osteojenik özelliklerini önemli bir inflamasyona sebep olmaksızın geliştirdiği sonucuna varılmıştır [145].

Ezirganlı ve ark. (2013) diabetik sıçanlarla yaptıkları çalışmada oluşturdukları 8 mm'lik defektlere 0.5, 1.0 ve 1.5 mg'lık simvastatin uygulamışlar ve kemik oluşumunu gözlemlemişlerdir. 1 ay sonra yapılan sakrifikasyonlarda kemik radyolojik ve histomorfometrik olarak incelenmiştir. Hiçbir grupta 8 mm'lik defekt alanında tam bir kapanma görülmemiştir. Sadece 0.5 mg'lık grupta inflamasyon gözlenmezken, simvastatin uygulanan gruplarda yeni kemik oluşumunun, kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir [146].

Fu ve ark. (2015) 60 sıçan ile yaptıkları çalışmada 5 mm çapında defektler hazırlamışlardır. Bu defektlere kalsiyum sülfat ile birlikte simvastatinin yavaş salınımı sağlayan kapsüller (SIM/PLGA) yerleştirilmiştir. Bu mikrokapsüller 3 mg olarak hazırlanmış ve 14 gün boyunca salınım yapacak şekilde tasarlanmıştır. Denekler 8., 10. ve 12. haftalarda sakrifiye edilmişlerdir. Sonuç olarak SIM/PLGA ile uygulanan kalsiyum sülfatın anjiyogenik ve osteojenik aktiviteyi arttırdığı görülmüş, hem osteokondüktif hem de osteoindüktif özellik taşıdığı bildirilmiştir [147].

Simvastatinin lokal olarak uygulandığı çalışmalar incelendiğinde çok farklı dozların ve taşıyıcıların kullanıldığı görülmüştür. Yapılan çalışmalarda kemik iyileşmesi için en efektif doz aranırken, dokuda minimal miktarda hasarın oluşması hedeflenmiştir. İncelediğimiz literatürlerde genel olarak 0,5 mg'lık dozun, doku hasarı ve inflamasyonu minimum miktarda tutarak etki gösteren optimum doz olduğu tespit edilmiştir [118] [131] [132] [133] [146]. Lokal simvastatin

uygulamalarında 0,5 mg'dan daha düşük dozların kemik iyileşmesi üzerinde bir etki göstermediği, daha yüksek dozların ise bölgede inflamasyonu arttırdığı görülmüştür. Biz de yapılan araştırmaların sonuçlarına dayanarak 0,5 mg'lık dozun optimum doz olabileceğini düşünüp, çalışmamızda 0,5 mg simvastatin uygulamayı tercih ettik. Çalışmamızın sonuçları incelendiğinde simvastatinin yeni kemik yapımı üzerine pozitif etkisinin olduğunu ancak bu etkinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığını gördük. Bu sonuçlar Calixto ve ark., Ezirganlı ve ark. ile paralellik gösterirken, Allon ve ark., Fu ve ark.'ın bildirdikleri sonuçlarla paralellik göstermemiştir.

Kapsamlı literatür araştırması yapıldığında, özellikle son yıllarda ozon terapisinin yaygın olarak kullanıldığı görülmektedir. Ozonun tıbbi amaçla ilk kullanımı 1880 yılında Dr. John Harvey Kellogg tarafından gerçekleştirilmiş olup, ancak 1935 yılında diş hekimliğinde kullanılmaya başlanmıştır. Günümüzde ozon tedavisi 16'dan fazla ülkede tedavi modeli olarak kabul görmüştür [148].

Ozonun bilinen etkileri arasında bakterisidal, virusidal, fungusidal etkileri, mikrodolaşım ve periferik kan dolaşımını artırıcı etkisi, detoksifikasyon, kanın oksijen taşıma fonksiyonunu artırıcı etkileri gelmektedir [149]. Ozon uygulanması süresince, ozonun bölgeye oksijen taşınmasını normalleştiren biyolojik mekanizmayı tetiklediği bildirilmiştir [150]. Ozonun sahip olduğu bu özelliklerden dolayı biz de çalışmamızda ozonun yeni kemik yapımı üzerindeki etkilerini inceledik.

Gerspach ve ark. (2011) yaptıkları çalışmada ozonun periimplantitis üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Çalışmada ozonun titanyum ve zirkonyum implantlar üzerindeki bakterilerde yarattığı antimikrobiyal etkiler ve ozon uygulanan yüzeylere osteoblast benzeri hücrelerin yapışabilme kapasitesi incelenmiştir. Ozonun implantlar üzerindeki *P. gingivalis*'i tamamen, *S. sanguinis* türünü ise %90 oranında elimine ettiği ve ozon uygulamasının implant yüzeyine osteoblast tutunmasını negatif yönde etkilemediği bildirilmiştir [151].

Özdemir ve ark. (2013) sıçanların kalvaryumlarında yaptıkları çalışmada ozonun kemik iyileşmesi üzerindeki etkilerini incelemiştir. 27 erkek sıçanı 3 gruba ayıran araştırmacılar oluşturdukları 5 mm boyutundaki kritik boyutlu defektlere, 1. grupta sadece otojen kemik grefti, 2. grupta otojen kemik grefti ile birlikte ozon uygulamışlar ve 3. grubu kontrol grubu olarak tedavi uygulamadan bırakmışlardır. 8 hafta sonra yapılan sakrifikasyonlarda yeni kemik oluşumuna ve osteoblast sayısına bakılmıştır. Otojen greft ile ozon uygulanan grupta hem yeni kemik oluşumu hem de osteoblast sayısındaki artış sadece otojen greft uygulanan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek çıkmıştır. Araştırmacılar sıçan kalvaryumlarında oluşturulan defektlerde, otojen kemik grefti ile uygulanan ozonun yeni kemik oluşumunu arttırdığını bildirmişlerdir [152].

Kazancıoğlu ve ark. (2013) sıçanların kalvaryumlarında oluşturdukları 5 mm'lik kemik defektlerine ozon ve düşük doz lazer uygulamışlardır. Oluşturdukları defektlere sentetik kalsiyum fosfat greft materyali yerleştiren araştırmacılar, 1. gruba sadece ozon, 2. gruba sadece düşük doz lazer uygulamışlar ve 3. grubu kontrol grubu olarak bırakmışlardır. 1 ay sonra yapılan sakrifikasyonda inflamasyon ve yeni kemik oluşumu incelenmiştir. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, ozon ve düşük doz lazerin yeni kemik yapımını istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttırdığı bildirilmiştir [153].

Buyuk ve ark. (2015) 48 adet sıçanla yaptıkları çalışmada çeşitli konsantrasyonlardaki ozonun kemik iyileşmesi üzerindeki etkilerini incelemiştir. Sıçanlar 4 gruba ayrılmış, premaksiller suturda yapılan genişletme bölgesine 10, 25, 40 µg/ml ozon, kontrol grubuna ise 1 ml salin solüsyonu enjekte edilmiştir. Sütür bölgesindeki kemik rejenerasyonu histomorfometrik olarak incelenmiş ve yeni kemik alanı, fibrotik alan, osteoblast, osteoklast sayısı ve vaskülarizasyona bakılmıştır. Bakılan bütün parametreler deney gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. 25 µg/ml ozon uygulanan grupta ise değerlerin hem diğer deney gruplarından hem de kontrol grubundan yüksek bulunduğu bildirilmiştir [154].

Çalışmamızda S21 ve S28 gruplarında yeni kemik oluşumu, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. SO21 ve SO28 grupları, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında ise yeni kemik yapımı ilaç gruplarında anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Verilere göre 0,5 mg lokal uygulanan simvastatinin yeni kemik yapımı üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir etkisinin olmadığını, fakat simvastatin ile birlikte ozon uygulanmasının kemik yapımı üzerinde olumlu bir etkisi olduğunu söyleyebilmekteyiz. Sadece jelatin sünger uygulanan gruplar, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında ise 21. ve 28. günlerde yeni kemik oluşumunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmezken, JO21 ve JO28 gruplarında yeni kemik oluşumu kontrol grubundan anlamlı düzeyde yüksek çıkmıştır. Jelatin süngerin tek başına kemik yapımı üzerine anlamlı bir etkisinin olmadığı fakat jelatin sünger ile ozonun birlikte uygulanmasının yeni kemik yapımı arttırdığı sonucuna varılmıştır. Ozon uygulamasının yeni kemik yapımı üzerinde olumlu etki gösterdiğini, bunun da ozonun antiinflamatuvar etkisine bağlı olduğunu düşünmekteyiz.

Kritik boyutlu defekt, bir canlının yaşam süresi boyunca herhangi bir materyal ya da dış etken olmadan kemik yapımıyla iyileşme göstermeyen, en küçük boyuttaki kemik defekti olarak tanımlanmaktadır. Kritik boyutlu defektler fibröz bağ dokusu ile iyileşme eğilimi gösterirler [22]. Literatürde boyutları 4-5 mm olarak kabul gören bu defektler, deney hayvanlarının doğal yolla ölümleri beklenmediği için çalışma süresi boyunca kendi kendine iyileşme gösteremeyecek boyuttaki defektler olarak kabul edilmektedir [155][156]. Ayrıca 5 mm üzerinde oluşturulan defektlerde iyileşmenin rejenerasyon yerine skar dokusuyla olduğu gözlemlenmiştir [157][158]. Nyan ve ark., Rojbani ve ark., Calixto ve ark. da lokal simvastatin ile yaptıkları çalışmada 5 mm çapında kritik boyutlu defekt oluşturmayı tercih etmişlerdir [140][143][144]. Bu sebeplerden dolayı biz de 5 mm çapında kemik defektleri oluşturarak çalışmamızı planladık.

Kalvaryaya, iki kortikal tabakaya sahip olması ile mandibulaya benzerlik gösteren bir bölgedir. Parietal bölgenin tabanında dura mater ve üzerinde periostun

bulunması ile osteojenik potansiyele sahip bir alan olmasından dolayı çalışmamızda defektleri sıçan parietal kemiklerde açılmasını tercih ettik. Ayrıca cerrahi girişim kolaylığı ve post operatif dönemde hayvanın kendine zarar verme riskinin elime edilmesi nedenlerinden dolayı da çalışmamızı parietal bölgede gerçekleştirdik. Denek farklılıklarından kaynaklanabilecek ve çalışma sonuçlarını etkileyebilecek farklılıkların ortadan kaldırılması amacı ile kontrol ve deney grupları aynı denekler üzerinde oluşturulmuştur.

Sonuç olarak lokal simvastatin ve ozon uygulamasının kemik yapımı, fibrozis, hücre hasarı ve inflamasyon üzerine etkilerinin histopatolojik olarak incelendiği çalışmamızda;

1. Sadece jelatin sünger uygulanan kaviterler (J21 ve J28) kontrol grubuyla karşılaştırıldığında inflamasyon düzeyi, hücre hasarı, fibrozis ve yeni kemik oluşumu değerleri arasında 21. ve 28. günlerde bir farklılık görülmemiştir. Sonuç olarak jelatin süngerin yeni kemik yapımı üzerinde anlamlı bir etkisinin bulunmadığı gözlemlenmiştir.

2. Simvastatin uygulanan grupta (S21 ve S28) inflamasyon düzeyi ve fibrozis değerleri sadece jelatin sünger uygulanan gruba (J21 ve J28) göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Simvastatinin inflamasyon ve fibrozis düzeylerini arttırdığı görülmüştür.

3. Simvastatin uygulanan gruba (S21 ve S28) sadece jelatin sünger uygulanan grup (J21 ve J28) karşılaştırıldığında yeni kemik yapımı açısından anlamlı bir fark görülmemiştir. 0.5 mg lokal olarak uygulanan simvastatinin yeni kemik yapımı üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi olmadığı görülmüştür.

4. Simvastatin ve ozon uygulanan grup (SO21 ve SO28) ile jelatin sünger ve ozon uygulanan gruplar (JO21 ve JO28) karşılaştırıldığında, gruplar arasında inflamasyon düzeyi, fibrozis, hücre hasarı ve yeni kemik oluşumu değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Simvastatin ile yükselen inflamasyon ve fibrozis değerleri, ozon kullanımı ile düşüş göstermiştir.

5. Simvastatin uygulanan gruplara ozon uygulandığında (SO21 ve SO28) inflamasyon değeri, fibrozis, hücre hasarı değerleri ozon uygulanmayan gruba (S21

ve S28) göre düşük çıkmıştır. Yeni kemik oluşumu ise istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek çıkmıştır.

6. Ozon uygulanmayan jelatin sünger grubunda (J21 ve J28) 21. ve 28. günlerdeki inflamasyon düzeyi, hücre hasarı ve fibrozis düzeyi ozon uygulanan gruplara göre yüksek bulunmuştur. Ozon uygulanan jelatin sünger grubunda, ozon uygulanmayan jelatin sünger grubuna göre yeni kemik yapımı miktarı 21. ve 28. günlerde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir. Sadece jelatin sünger uygulanan gruplarda ozon uygulaması ile yeni kemik yapımı indüklenmiş, inflamasyon, hücre hasarı ve fibrosiz düzeyleri düşmüştür.

7. Ozon, hem jelatin sünger uygulanan grupta hem de simvastatin uygulanan grupta yeni kemik oluşumunu arttırmıştır. Buna göre ozon yeni kemik oluşumunda etkili olurken, inflamasyon fibrosiz ve hücre hasarı oluşumunda da azaltıcı yönde etkili olmuştur.

8. Ozon uygulanmayan, simvastatin uygulanan grup (S21 ve S28) kontrol grubuyla karşılaştırıldığında inflamasyon, hücre hasarı ve yeni kemik yapımı değerleri arasında bir fark bulunmamıştır. Simvastatinin yeni kemik yapımı üzerinde anlamlı bir etkisi olmadığı görülmüştür.

9. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, ozon ve simvastatinin birlikte uygulandığı grupta (SO28) 28. gündeki inflamasyon düzeyi, hücre hasarı, fibrozis kontrol grubunda anlamlı düzeyde düşüktür. Yeni kemik oluşumu ise deney grubunda hem 21. hem de 28. günde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir. Sonuç olarak ozon ve simvastatin birarada kullanıldığında yeni kemik oluşumunu arttırdığı, hücre hasarı, fibrozis ve inflamasyonu ise azalttığı tespit edilmiştir.

10. Tezimizin sonuçlarına baktığımızda klinik çalışmalara fayda sağlayacağını ancak ek çalışmalarla desteklenmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

## 6. KAYNAKLAR

- [1] “Pejrone G, Lorenzetti M, Mozzati M, Valente G, Schierano GM. Sinus floor augmentation with iliac bone block grafts: a histological and histomorphometrical report on the two-step surgical technique. *Int J Maxillofac Surg*: 41, 383-388, 1999.”
- [2] “Mundy G, Carett R, Harris S, Chan J. Stimulation of bone formation in vitro and in rodents by statins. *Science*.286(3): 1946-1949, 1999.”
- [3] “Lee Y, Schmid MJ, Marx DB, Beatty MW, Cullen DM, Collins ME, Reinhardt RA. The effect of local simvastatin delivery strategies on mandibular bone formation in vivo. *Biomaterials*, 29(12): 1940-9, 2008.”
- [4] “Horiuchi N, Maeda T. Statins and Bone Metabolism. *Oral diseases*. 2:85-101, 2006.”
- [5] “Korkmaz H, Küçükkolbaşı H. Diş Hekimliğinde Ozon Uygulamaları Atatürk Üniv. Diş Hek. Fak. Derg. Cilt: 7 ; 125-134, 2013.”
- [6] Schenk RK. *Biology of Fracture*. In: Browner B, Jupiter J, Levine A, Traflon P (Eds) *Skeletal Trauma*. Saunders, Philadelphia, Vol 1:29-74, 2003. .
- [7] P. M. . Fonseca Rj, Walker N.J, Barber H.D, “No Title,” in *Oral and Maxillofacial Trauma*, 2005, p. 3rd Edition Vol. 1.
- [8] J. Caetano-lobes and H. Canhão, “Joana Caetano-Lopes, \* Helena Canhão, \*\*, João Eurico Fonseca \*\*,” pp. 103–110.
- [9] K. I. Bostrom M., Yang X., “Biologics in bone healing. *Curr Opin Orthop* 11:403-12,2000.”
- [10] 1989. Junquera LC, Carnerio J, Kelley RO. *Basic Histology*. 6th Edt. Appleton&Lange Company, p: 136-153, *No Title*. .
- [11] “Caplan AI, Pechak DG. The cellular and molecular embryology of bone formation, in *Bone and Mineral Research*. Vol. 5. New York: W.A. (Ed.), Elsevier, 117-184, 1987.”
- [12] “Kierszenbaum A.L. *Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology*, Mosby Inc., St. Louis, s:127, 2002.”
- [13] “Burchardt H., Enneking WF. Transplantation of bone. *Surg Clin North Am*. 58: 403-427, 1978.”
- [14] “Marsell R, Einhorn TA. The biology of fracture healing. *Injury*; 42(6): 551-555, 2011.”
- [15] “Gerstenfeld LC, Cullinane DM, Barnes GL. Fracture healing as a post-natal developmental process: molecular, spatial and temporal aspects of its regulation. *J Cell Biochem*; 88(5):873-84, 2003.”



- [16] “Bolander ME. Regulation of fracture repair by growth factors. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 200(2), 165-170, 1992.”
- [17] “Hollinger J., Wong ME. The integrated processes of hard tissue regeneration with special emphasis on fracture healing. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endodont. 82(6), 594-606, 1996.”
- [18] *Heinrich SD. Fracture of the Shaft of the Tibia. 5. ed. Philadelphia, PA: Lippincott, Williams and Wilkins, 1077-119,2001. .*
- [19] “Calvin M. Cutaneous wound repair. Wounds: A compendium of clinical research and practice. Jan 10(1): 12-32, 1998.”
- [20] “Gogia P. Physiology of wound healing. In Gogia P. ed. Clinical Wound Management. Thorofare, NJ: Slack:1-12, 1995.”
- [21] “[www.davidnelson.md/articles/Fractures\\_in\\_general.htm](http://www.davidnelson.md/articles/Fractures_in_general.htm).” .
- [22] “Bozkaya S. Maksillofasiyal Cerrahide Kritik Boyut Defekti Kavramı. Ondokuz Mayıs Üniv. Diş Hekim. Fak.Derg. 6(1):49-54,2005.”
- [23] “Freeman E, Turnbull R.S. The role of osseous coagulum as a graft material. J.Periodont Res, 8: 229,1973.”
- [24] “Bosch C, Melsen B, Vargervik K. Importance of the critical-size bone defect in testing bone-regeneration materials. J Craniofac Surg. 1998; 9: 310-6.”
- [25] “Greenwald AS, Boden SD, Goldberg VM, Khan Y, Laurencin CT, Rosier RN. Bone-graft substitutes:facts, fictions and applications. J Bone Surg Am. 83-A(Suppl 2, PT 2): 98-103, 2001.”
- [26] “Szpalski M, Gunzburg R. Applications of calcium phosphate-based cancellous bone void fillers in trauma surgery. Orthopedics. 25(Suppl 5):601-9, 2002.”
- [27] “Bruggenkate CM, Kraaijenhagen HA, Krekeler G, Oostenbeek HS. Autogeneous Maxillary Bone Grafts in Conjunction with Placement of ITI Endosseous Implants. Int. J. Oral Maxillofac. Surg.21: 81-84, 1992.”
- [28] “Tadjoedin ES, De Lange GL, Bronckers ALJJ, Lyaruu DM, Burger EH. Deproteinized cancellous bovine bone (Bio-Oss) as bone substitute for sinus floor elevation.J. Clin. Periodontol. 30: 261-270, 2003.”
- [29] “Cordioli G, Mazzocco C, Schepers E, Brugnolo E, Majzoub Z. Maxillary sinus floor augmentation using bioactive glass granules and autogenous bone with simultaneous implant placement: Clinical and histological findings. Clin Oral Imp Res. 12:270-278, 2001.”
- [30] “Sandallı P. Oral İmplantoloji. İstanbul, Erler Matbaacılık; s:127, 2000.”

- [31] “Bernard GW. Healing and repair of osseous defects. *Dent Clin North Am.* 35(3): 469-477,1991.”
- [32] “Ashammakhi N, Ferretti JK Jr. Topics in tissue engineering. Volume I (Electronic book), Chapter 7: 1-46, 2003.”
- [33] “Alfaro FH. Bone grafting in oral implantology. Techniques and clinical applications. Quintessence Books, 2006.”
- [34] “Milorio M, Ghali GE, Larsen PE, Waite PD. Peterson’s Principles of Oral and Maxillofacial Surgery. 2nd ED., London: BC Decker Inc, 2004.”
- [35] “Manson PN. Facial bone healing and bone grafts. A review of clinical physiology. *Clin Plast Surg.* 21(3): 331-348, 1994.”
- [36] “Marx RE, Carlson ER. Tissue Banking Safety: Caveats and Precautions for the Oral and Maxillofacial Surgen. *J Oral Maxillofac Surg* 51: 1372-1379, 1993.”
- [37] “Fonseca RJ, Walker RV. Oral and Maxillofacial Trauma. Vol II WB Saunders Company, 1991.”
- [38] “Berglundh T, Lindle J. Healing around implant place in bone defects treated with Bio-Oss. An experimental study in the dog. *Clin Oral Implant Res.* 8: 198-207, 1997.”
- [39] “Wikesjo U, Nilveus RE, Selvig KA. Significance of early healing events on periodontal repair: A review. *J Periodontol.* 63: 158-165, 1992.”
- [40] “Cafesse GR, Nasgleti CE. Comparison of Bioabsorbable and Non-Bioabsorbable Membranes Histological and Histometric Study in Dogs. *J. Periodont.* 65: 583-591, 1994.”
- [41] “Lewis DH. Controlled release of bioactive agents from lactide/glycolide polymers. In: Chasen M, Langer R. Biodegradable polymers as drug delivery systems. New York: Marcel Dekker, Inc., 1-41, 1990.”
- [42] “Wang HL, Mac NL. Guided tissue regeneration. *Dent Clin of North Am*;3:505-522, 1998.”
- [43] “Jones P, Kafonek S, Laurora I. Comparative dose efficacy study of atorvastatin versus simvastatin, pravastatin, lovastatin and fluvastatin in patients with hypercholesterolemia. The curves study. *Am J Cardiol.* 81: 582-7, 1998.”
- [44] “Stein EA, Lane M, Laskarzewski P. Comparison of statins in hypertriglyceridemia. *Am J Cardiol.* 81: 4A: 66B-9B, 1998.”
- [45] “Staal A, Frith JC, French MH, Swartz J, Güngör T, Harrity. The ability of statins to inhibit bone resorption is directly related to their inhibitory effect on HMG-CoA reductase activity. *J Bone Miner Res*,18(1): 88-96, 2003.”

[46] "Alegret M, Silvestre JS. Pleiotropic effects of statins and related pharmacological experimental approaches. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*. 28(9): 627, 2006."

[47] "Blumenthal RS. Statins: Effective antiatherosclerotic therapy. *Am Heart J*. 139 c(4): 577-83,2000."

[48] "Williams D, Feely J. Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Drug Interactions with HMG-CoA Reductase Inhibitors. *Clinical Pharmacokinetics*. 41:5, 343-370, 2002."

[49] "Mauro F.V. Clinical Pharmacokinetics and Practical Applications of Simvastatin. *Clinic Pharmacokinetics*. 24; 3, 195-202, 2012."

[50] "Vickers S,Duncan CA, Chen IW,Rosegay A, Duggan DE. Metabolic disposition studies on simvastatin, a cholesterol-lowering prodrug. *Drug Metab Dispos*. 18; 138-145, 1990."

[51] "Zhang QY, Wan J, Xu X, Yang GF, Ren YL, Liu JJ. Structure-based rational quest for potential novel inhibitors of human HMG-CoA reductase by combining CoMFA 3D QSAR modeling and virtual screening.*J Comb Chem*.9(1):131-8, 2007."

[52] "The Stroke Prevention by Aggressive Reduction in Cholesterol Levels (SPARCL) Investigators. High-dose atorvastatin after stroke or transient ischemic attack.*N Engl J Med*. 355:549-59, 2006."

[53] "<http://en.wikipedia.org/wiki/Atorvastatin#Contraindications>."

[54] "Law M, Rudnicka AR. Statin Safety: a systemic review.*97*: 52-60, 2006."

[55] "Tolman KG. The liver and lovastatin. *Am J Cardiol*.89: 1374-1380, 2002."

[56] "Kasiske BL, Wanner C, O'Neill WC.An assessment of statin safety by nephrologists. *Am J Cardiol*.97: 82-85, 2006."

[57] "Brass LM, Alberts MJ, Sparks L. An assessment of statin safety by neurologists. *Am J Cardiol*. 97: 86-88, 2006."

[58] "Omar MA, Wilson JP. FDA adverse event reports on statin-associated rhabdomyolysis.*Ann Pharmacother*.36: 288-295, 2002."

[59] "Azie NE, Brater DC, Becker PA.The interaction of diltiazem with lovastatin and pravastatin.*Clin Pharmacol Ther*. 64: 369-377, 1998."

[60] "Mousa O,Brater DC, Sundblad KJ.The interaction of diltiazem with simvastatin.*Clin Pharmacol Ther*. 67:267-274, 2000."

[61] "Lewin JJ, Nappi JM, Taylor MH. Rhabdomyolysis with concurrent atorvastatin and diltiazem. *Ann Pharmacother.* 36:1546-1548, 2002."

[62] "Corsini A, Bellosta S, Baetta R. New insights into the pharmacodynamic and pharmacokinetic properties of statins. *Pharmacol Ther.* 84:413-428, 1999."

[63] "Liao JK, Laufs U. Pleiotropic effects of statins. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 45:89-118, 2005."

[64] "Davignon J. The pleiotropic effects of drugs affecting lipid metabolism. *Atherosclerosis XI.* Paris: Elsevier, 63-77, 1998."

[65] "Jones P, Kafonek S, Laurora I, Hunninghake D. Comparative dose efficacy study of atorvastatin versus simvastatin, pravastatin, lovastatin and fluvastatin in patients with hypercholesterolemia. *Am J Cardiol.* 81:582-587, 1998."

[66] "Bakker-Arkema RG, Davidson MH, Goldstein RJ. Efficacy and safety of a new HMG-CoA reductase inhibitor, atorvastatin, in patients with hypertriglyceridemia. *JAMA.* 275:128-133, 1996."

[67] "Jeserich M, Munzel T, Just H, Drexler H. Reduced plasma L-arginine in hypercholesterolaemia. *Lancet.* 339(8792):561, 1992."

[68] "Tedgui A, Mallat Z. Antiinflammatory mechanism in the vascular wall. *Circ Res.* 88:877-887, 2001."

[69] "Diaz MN, Frei B, Vita JA, Keaney JF, Jr. Antioxidants and atherosclerotic heart disease. *N Engl J Med.* 337(6):408-416, 1997."

[70] "Aviram M, Rosenblat M, Bisgailier CL, Newton RS. Atorvastatin and gemfibrozil metabolites, but not the parent drugs, are potent antioxidants against lipoprotein oxidation. *Atherosclerosis.* 138(2):271-280, 1998."

[71] "Libby P. Molecular bases of the acute coronary syndromes. *Circulation.* 91:2844-2850, 1995."

[72] "Vaughan CJ, Gotto AM Jr, Basson CT. The evolving role of statins in the management of atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol.* 35:1-10, 2000."

[73] "Weitz-Schmidt G, Welzenbach K, Brinkmann V, Kamata T, Kallen J, Bruns C, Cottens S, Takada Y, Hommel U. Statins selectively inhibit leukocyte function antigen-1 by binding to a novel regulatory integrin site. *Nat Med.* 7:68, 2001."

[74] "Fukumoto Y, Libby P, Rabkin E. Statins alter smooth muscle cell accumulation and collagen content in established atheroma of watanabe heritable hyperlipidemic rabbits. *Circulation.* 103: 993-999, 2001."

[75] "Almong Y. Statins, inflammation, and sepsis: hypothesis. *Chest.* 124:740-743, 2003."

[76] "Weitz-Schmidt G, Welzenbach K, Brinkmann V. Statins selectively inhibit leukocyte function antigen-1 by binding to a novel regulatory integrin site. *Nat Med.*7:687-92,2001."

[77] "Dulak J, Jozkovicz A. Anti-angiogenic and anti-inflammatory effects of statins: relevance to anti-cancer therapy. *Curr Cancer Drug Targets.*5:579-594,2005."

[78] "D'Amico G. Statins and renal diseases: from primary prevention to renal replacement therapy. *J Am Soc Nephrol.*17:148-152,2006."

[79] "Haag MD, Hofman A, Koudstaal PJ, Stricker BH, Breteler MM. Statins are associated with a reduced risk of Alzheimer disease regardless of lipophilicity. *The Rotterdam Study. J Neurol Neurosurg Psychiatry.*80:13-17,2009."

[80] "Moghadasian MH, Frohlich JJ. Statins and bones. *Canadian Med As Jour.*164(6):803-805,2001."

[81] "Wang PS, Solomon DH, Mogun H, Avorn J. HMG-CoA reductase inhibitors and the risk of hip fractures in elderly patients. *JAMA.*283:3211-3216, 2000."

[82] "Oxlund H, Dalstra M, Andreassen TT. Statin given perorally to adult rats increases cancellous bone mass and compressive strength. *Calcif Tissue Int.*69(5):299-304,2001."

[83] "Tikiz C, Unlu Z, Tikiz H, Ay K, Angin A, Onur E. The effect of simvastatin on serum cytokine levels and bone metabolism in postmenopausal subjects: Negative correlation between TNF-alpha and anabolic bone parameters. *J Bone Miner Metab.*22(4):365-371,2004."

[84] "Cruz AC, Gruber BL. Statins and osteoporosis: Can these lipid lowering drugs also bolster bones. *Cleve Clin J Med.*69(4):277-88,2002."

[85] "Zhang FL, Casey PJ. Protein prenylation: molecular mechanism and functional consequences. *Annu Rev Biochem.*65:241-269,1996."

[86] "Van Beek E, Pieterman E, Cohen L, Lowik C. Farnesyl pyrophosphate synthase is the molecular target of nitrogen-containing bisphosphonates. *Biochem Biophys Res Commun.*264:108-111,1999."

[87] "Garret IR, Mundy GR, Gutierrez G. Statins and bone formation. *Current Pharmaceutical design.* 7(8):715-736, 2001."

[88] "Alberts AW, Chen J, Kuron G. Mevinolin: a highly potent competitive inhibitor of hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase and a cholesterol-lowering agent. *Proc Natl Acad Sci USA.*77:3957-3961,1980."

[89] "Garret R, Mundy G, Harris S, Chan J. Stimulation of bone formation in vitro and in rodents by statins. *Science.* 286:1946-1949, 1999."

- [90] "Watanabe S, Takeuchi Y, Nakano T. Effects of 1-year treatment with fluvastatin or pravastatin on bone. *The American J Medic.* 110:584-587,2001."
- [91] "Wong RW, Rabie AB. Early healing pattern of statin-induced osteogenesis. *Br J Oral Maxillofac Surg.*43(1):46-50, 2005."
- [92] "İlker Ö. Statinlerin pleiotropik etkileri ve diş hekimliği. *J Dental Sci.* 18(1):51-8, 2012."
- [93] "Stockburger D. Ozon-theraple-grundlagen und tecknik der ozonbehandlung. München, Foitzick, 2002."
- [94] "Bocci V. Scientific and medical aspects of ozone theraphy. State of the art. *Arch Med Res.* 37: 425-435,2006."
- [95] "Margolis HC, Moreno EC, Murphy BJ. Importance of high pKa acids in cariogenic potential of plaque. *J Dent Res.* 64:786-792, 1985."
- [96] "Virtej A, MacKenzie CR, Raab WH, Pfeffer K, Barthel CR. Determination of the performance of various root canal disinfection methods after in situ carriage. *J Endod.* 33: 926-929, 2007."
- [97] "Azarpazhooh A, Limeback H, Lawrence HP, Fillery ED. Evaluating the effect of an ozone delivery system on the reversal of dentin hypersensitivity: a randomized, double-blinded clinical trial. *J Endod.* 35:1-9, 2009."
- [98] "Dahnhardt JE, Gygax M, Martignoni B, Suter P, Lussi A. Treating sensitive cervical areas with ozone: a prospective controlled clinical trial. *Am J Dent.* 21:74-76, 2008."
- [99] "Nagayoshi M, Fukuizumi T, Kitamura C, Yano J, Terashita M, Nishihara T. Efficacy of ozone on survival and permeability of oral microorganisms. *Oral Microbiol Immunol.*19: 240-246, 2004."
- [100] "Kshitish D, Laxman VK. The use of ozonated water and 0,2% chlorhexidine in the treatment of periodontitis patients: a clinical and microbiological study. *Indian J Dent Res.*21:341-348, 2010."
- [101] "Huth KC, Jacob FM, Saugel B, Cappello C, Paschos E, Hollweck R, Hickel R, Brand K. Effect of ozone on oral cells compared with established antimicrobials. *Eur J Oral Sci.* 114: 435-440,2006."
- [102] "Agapov VS, Shulakov VV, Fomchenkov NA. Ozone therapy of chronic mandibular osteomyelitis. *Stomatologiya(Mosk.)* 80:14-17,2001."
- [103] "Steinhart H, Schulz S, Mutters R. Evaluation of ozonated oxygen in an experimental animal model of osteomyelitis as a further treatment option for skull-base osteomyelitis. *Eur Arch Otorhinolaryngol.*256:153-157,1999."

[104] “Bocci V. Does ozone therapy normalize the cellular redox balance? *Med Hypotheses*.46:150-154, 1996.”

[105] “Bocci V. Ozone as Janus:this controversial gas can be either toxic or medically useful.*Mediators of Inflammation*.13:3-11, 2004.”

[106] “Clavo B, Catala L, Perez JL, Rodriguez V, Robaina F. Ozone therapy on cerebral blood flow: a preliminary report. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. 1:315-319,2004.”

[107] “Vescovi P, Nammour S. Bisphosphonate-related Osteonecrosis of the Jaw(BRONJ) therapy. A critical review.*Minerva Stomatol*.59:181-2003, 2010.”

[108] “Bocci V,Borrelli E, Travagli V, Zanardi I.The ozone paradox:ozone is a strong oxidant as well as a medical drug.*Med Res Rev*.29:646-682.2009.”

[109] “Bocci V. Is it true that ozone is always toxic?The end of a dogma.*Toxicol Appl Pharmacol*.216:493-504, 2006.”

[110] “Matsumura K, Hyon SH, Nakajima N, Iwata H, Watazu A, Tsutsumi S. Surface modification of polyethylene-co-vinyl alcohol hydroxyapatite immobilization and control of periodontal ligament cells differentiation. *Biomaterials*. 25:4817 - 4824, 2004.”

[111] “Nogales CG, Ferrari PH, Kantorovich EO, Legw-Marques J. Ozone therapy in medicine and dentistry. *J Contemp Dental Pract*.9:1-9, 2008.”

[112] “Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. NIH Publication No. 85-23. Revised 1985.”

[113] “Chiapasco M, Casentini P, Zaniboni M. Bone augmentation procedures in implant dentistry.*Int J Oral Maxillofac Implants*.24: 237-59, 2009.”

[114] “Retzeppi M, Donos N. Guided Bone Regeneration: biological principle and therapeutic applications.*Clin Oral Implants Res*. 21(6): 567-76, 2010.”

[115] “ten Dijke P. Bone morphogenetic protein signal transduction in bone.*Curr Med Res Opin*.22:7-11, 2006.”

[116] “Ismail FA. Design and in vitro evaluation of polymeric formulae of simvastatin for local bone induction.*Drug Dev Ind Pharm*. 32(10):1199-206,2006.”

[117] “Kugimiya F, Kawaguchi H, Chung UI. BMP and bone formation.*Clin Calcium*.14(1):173-9, 2004.”

[118] “Ozec I, Kilic E, Gumus C, Goze F.Effect of local simvastatin application on mandibular defects.*J Craniofac Surg*.18:546-50, 2007.”

[119] “Maeda T, Kawane T, Horiuchi N. Statins augment vascular endothelial growth factor expression in osteoblastic cells via inhibition of protein prenylation. *Endocrinology*; 144:681-92, 2003.”

[120] “Havsa T. Ooferektomili sıçanlarda simvastatinin, kemik, karaciger ve böbrek fonksiyonlarına etkisinin incelenmesi. Marmara Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 2002.”

[121] “Tai IC, Fu YC, Wang CK, Chang JK, Ho ML. Local delivery of controlled-release simvastatin/PLGA/HAp microspheres enhances bone repair. *Int J Nanome*.8:3895-905,2013.”

[122] “Jacobson RH, Wang P, Glueck CJ. Myositis and rhabdomyolysis associated with concurrent use of simvastatin and nefazodone. *JAMA*.277:296-7, 1997.”

[123] “Ho ML, Chen YH, Liao HJ, Chen CH, Hung SH, Lee MJ, et al. Simvastatin increases osteoblasts and osteogenic proteins in ovariectomized rats. *Eur J Clin Invest*.39:296-303, 2009.”

[124] “Oxlund H, Andreassen TT. Simvastatin treatment partially prevents ovariectomy-induced bone loss while increasing cortical bone formation. *Bone*. 34:609-18,2004.”

[125] “Mousavil G, Mohajeri D. Assessment of Pravastatin effects on healing of bone defect in rats. *Life Sci J*. 10:1206–9, 2013.”

[126] “Maritz FJ, Conradie MM, Hulley PA, Gopal R, Hough S. Effect of statins on bone mineral density and bone histomorphometry in rodents. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* .21:1636–41,2001.”

[127] “Stechow DV, Fish S, Yahalom D, Bab I, Chorev M, Müller R, Alexander JM. Does simvastatin stimulate bone formation in vivo?. *BMC Musculoskeletal Disorders*, 4(8): 1-10, 2003.”

[128] “Banu J, Kalu DN. Effects of cerivastatin parathyroid hormone on the lumbar vertebra of aging male Sprague-Dawley rats. *Bone*, 31: 173-9, 2002.”

[129] “Yaturu S, Alferos MG, Deprisco C, Tynes J, Wade S: Statins and bone mineral density. [www.abstractsonline.com/viewer/SearchResults.asp](http://www.abstractsonline.com/viewer/SearchResults.asp), 2001.”

[130] “Rejnmark L, Buus NH, Vestergaard P, Andreasen F, Larsen ML, Mosekilde L. Statin decrease bone turnover in postmenopausal women: A cross-sectional study. *Eur J Clin Invest*, 32(8): 581-9, 2002.”

[131] “Thylin MR, McConnell JC, Schmid MJ, Reckling RR, Ojha J, Bhattacharyya I, et al. Effects of simvastatin gels on murine calvarial bone. *J Periodontol*, 73(10): 1141-8, 2002.”



[132] “Wong RW, Rabie AB. Statin collagen grafts used to repair defects in the parietal bone of rabbits. *Br J Oral Maxillofac Surg*, 41(4): 244-8, 2003.”

[133] “Stein D, Lee Y, Schmid M.J, Killpack B, Genrich M.A, Narayana N, Marx D.B, Cullen D.M, Reinhardt R.A. Local Simvastatin Effects on Mandibular Bone Growth and Inflammation. *J Periodontol*, 76(11): 1861–1870, 2005.”

[134] “Gutierrez GE, Lalka D, Garrett IR, et al. Transdermal application of lovastatin to rats causes profound increases in bone formation and plasma concentrations. *Osteoporos Int* 2006;17:1033-1042.”

[135] “Nevins M, Kirker-Head C, Nevins M et al. Bone formation in the goat maxillary sinus induced by absorbable collagen sponge implants impregnated with recombinant human bone morphogenetic protein-2. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1996; 16: 9–19.”

[136] “Li ST. Collagen as a delivery vehicle for bone morphogenetic protein (BMP). *Trans Orthop Res Soc* 1996; 21: 647.”

[137] “Boyne PJ, Marx RE, Nevins M et al. A feasibility study evaluating rhBMP-2/absorbable collagen sponge for maxillary sinus floor augmentation. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1997; 17: 11–25.”

[138] “Bouxsein ML, Turek TJ, Blake CA et al. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 accelerates healing in a rabbit ulnar osteotomy model. *J Bone Joint Surg* 2001; 83: 1219–1230.”

[139] “Nyan M, Sato D, Oda M, Machida T, Kobayashi H, Nakamura T, Kasugai S. Bone formation with the combination of simvastatin and calcium sulfate in critical-sized rat calvarial defect. *J Pharmacol Sci*.104(4):384-6, 2007.”

[140] “Nyan M, Sato D, Oda M, Machida T, Ohya K, Kasugai S. Effects of the combination with alpha-tricalcium phosphate and simvastatin on bone regeneration. *Clin Oral Implant Res*. 20(3):280-7, 2009.”

[141] “Ayukawa Y, Yasukawa E, Moriyama Y, Ogino Y, Wada H, Atsuta I, Koyano K. Local application of statin promotes bone repair through the suppression of osteoclasts and the enhancement of osteoblasts at bone-healing sites in rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral*.”

[142] “Du Z, Chen J, Yan F, Xiao Y. Effects of simvastatin on bone healing around titanium implants in osteoporotic rats. *Clin Oral Implants Res*. Feb;20(2):145-50, 2009.”

[143] “Rojbani H, Nyan M, Ohya K, Kasugai S. Evaluation of the osteoconductivity of  $\alpha$ -tricalcium phosphate,  $\beta$ -tricalcium phosphate, and hydroxyapatite combined with or without simvastatin in rat calvarial defect. *J Biomed Mater Res A*. Sep 15:98(4):488-98, 2011.”

[144] “Calixto JC,Lima CE,Frederico L,Lima RP,Anbinder AL. The influence of local administration of simvastatin in calvarial bone healing in rats. J Craniomaxillofac Surg. Apr;39(3):215-20,2011.”

[145] “Allon I,Anavi Y,Allon DM.Topical simvastatin improves the pro-angiogenic and pro-osteogenic properties of bioglass putty in the calvaria critical-size model.J Oral Implantol. Jun;40(3):251-8, 2014.”

[146] “Ezirganlı Ş, Polat S, Barış E, Tatar İ, Çelik HH. Comparative investigation of the effects of different materials used with a titanium barrier on new bone formation. HH. Clin Oral Implants Res, 24(3): 312-9, 2013.”

[147] “Fu YC, Wang YH, Chen CH, Wang GJ,Ho ML. Combination of calcium sulphate and simvastatin-controlled release microspheres enhances bone repair in critical-sized rat calvarial bone defects.Int J Nanomedicine. Dec 1;10:7231-40, 2015.”

[148] “Amir Azarpazhooh , Hardy Limeback. The Application Of Ozone İn Dentistry: A Systematic Review Of Literature. Journal Of Dentistry.36: 104–116,2008.”

[149] “Carlos Goes Nogales, Patricia Helena Ferari, Efraim Olszewer Kantorovich, Jose Luiz Lage-Marques. Ozone Therapy in Medicine and Dentistry. The Journal of Contemporary Dental Practice. 9: 4, May 1, 2008.”

[150] “Bocci VA. Scientific and medical aspects of ozone therapy. State of the art. Arch Med Res 2006;37:425–435.”

[151] “Gerspach IH, Vadaszan J, Deronjic I, Gass C, Meyer J, Dard M, Waltimo T, Stübinger S, Mauth C. Influence of gaseous ozone in peri-implantitis: bactericidal efficacy and cellular response.An in vitro study using titanium and zirconia. C Oral Inves.16:4.104.”

[152] “Ozdemir H, Toker H, Balcı H, Ozer H. Effect of ozone therapy on autogenous bone graft healing in calvarial defects: a histologic and histometric study in rats. J Periodont Res; 48: 722–726, 2013.”

[153] “Kazancioglu HO, Ezirganli S, Aydin MS. Effect of laser and ozone therapies on bone healing in the calvarial defects.J of Craniofac Surg. 24;6.2141-2146, 2013.”

[154] “Buyuk SK, Ramoglu SI, Sonmez MF. The effect of different concentration of topical ozone administration on bone formation in orthopedically expanded suture in rats.Eur J Orthod.Jul 1.pii: cjvo45.”

[155] “Sohn JY, Park JC, Um YJ, Jung UW, Kim CS, Cho KS, Choi SH. Spontaneous healing capacity of rabbit cranial defects of various sizes. J Periodontal Implant Sci. 2010 Aug;40(4):180-7. doi: 10.5051/jpis.2010.40.4.180.”

[156] “Anbinder AL, Junqueira JC, Mancini MNG, Balducci I, Rocha RF, Carvalho YR. Influence of simvastatin on bone regeneration of tibial defects and blood cholesterol level in rats. Braz Dent Journal, 17(4): 267-73, 2006.”

[157] “Dupoirieux L, Pourquoiier D, Picot MC, Neves M. Comparative study of three different membranes for guided bone regeneration of rat cranial defects. Int J Oral Maxillofac Surg 2001;30:58–62.”

[158] “Ivanovski S, Hamlet S, Retzepi M, Wall I, Donos N. Transcriptional profiling of ‘guided bone regeneration’ in a critical- size calvarial defect. Clin Oral Implants Res 2011;22:382–389.”



## Ek 1: ETİK KURUL ONAY BELGESİ



T.C. YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ, DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU  
(YÜDHEK)

### ETİK KURUL KARARI

Toplantı Tarihi	Karar No	İlgi	Proje Yürütücüsü
02.12.2014	433	17.11.2014 Tarihli Yazı	Yrd. Doç. Dr. Ediz DENİZ

'Kritik Boyutlu Rat Calvarium Defektlerinde Lokal Simvastatin ve Ozon Uygulamasının Kemik Yapımı Üzerine Etkinliğinin Karşılaştırılması' adlı bilimsel çalışma etik kurulumuzda görüşülmüş olup, çalışmanın etik kurallara uygun olduğuna oy birliğiyle karar verilmiştir.

Etik Onay Geçerlilik Süresi: 1 Yıl

GÖREVİ	ADI SOYADI	İMZA
Başkan	Prof. Dr. M. Ece GENÇ	
Başkan Yardımcısı	Prof. Dr. Erdem YEŞİLADA	
Raportör	Prof. Dr. Işıl Aksan KURNAZ	
Üye	Prof. Dr. Bayram YILMAZ	
Üye	Prof. Dr. Başar ATALAY	
Üye	Yard.Doç.Dr.Soner DOĞAN	
Üye	Yard. Doç. Dr. Ediz DENİZ	KATILMADI
Üye	Doç. Dr. C. Narter YEŞİLDAĞLAR	KATILMADI
Üye	Sumru KIRAZCI	

## 7. ÖZGEÇMİŞ

18 Eylül 1987 tarihi Isparta doğumlu olan Hakan Gülşen, ilköğretimini Ülkü İlköğretim Okulu'nda, liseyi Isparta Anadolu Lisesi'nde bitirmiş olup, 2005 yılında Yeditepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'ne girmiştir. 2011 yılında diş hekimliği fakültesinden mezun olup, aynı fakültede Ağız,Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı'nda doktora eğitimine devam etmiştir.

