

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

**ATORVASTATİNİN DENEYSEL PERİODONTİTİS OLUŞUM
SÜRECİNDE VE PERİODONTİTİS OLUŞTUKTAN
SONRAKİ DÖNEMDE PERİODONSIYUM ÜZERİNE
ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Umut BALLI

**Samsun
Haziran-2012**

T.C
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

**ATORVASTATİNİN DENEYSEL PERİODONTİTİS OLUŞUM
SÜRECİNDE VE PERİODONTİTİS OLUŞTUKTAN
SONRAKİ DÖNEMDE PERİODONSİYUM ÜZERİNE
ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Umut BALLI

Danışman: Doç. Dr. Gonca Çayır KELEŞ

**Samsun
Haziran-2012**

T.C
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Bu çalışma jürimiz tarafından Periodontoloji Programı'nda Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof.Dr. Feriha ÇAĞLAYAN

Hacettepe Üniversitesi, Ankara

Üye: Doç.Dr. Gonca Çayır KELEŞ (Danışman)

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun

Üye: Doç.Dr. Tuğrul KIRTILOĞLU

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun

Üye: Yrd.Doç.Dr. Bülent AYAS

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun

Üye: Yrd.Doç.Dr. Murat MERİÇ

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun

Tezin Adı: Atorvastatinin Deneysel Periodontitis Oluşum Sürecinde ve Periodontitis Oluştuktan Sonraki Dönemde Periodonsiyum Üzerine Etkisinin İncelenmesi

Tezi Teslim Eden: Umut BALLI

Tez Savunma Sınav Tarihi: 26.06.2012

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Gonca Çayır KELEŞ

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurul'unca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Süleyman KAPLAN
Enstitü müdürü

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince bilgi ve tecrübesiyle bana her zaman yol gösterip destekleyen, tezimin her aşamasında büyük özveri ile emeğini ve yardımını esirgemeyen, her koşulda yanımda olduğunu bildiğim ve öğrencisi olmaktan daima gurur duyacağım, danışman hocam Sayın Doç.Dr.Gonca Çayır KELEŞ'e,

Eğitimim süresince ve tez çalışmam boyunca destek ve yardımlarından dolayı hocam Sayın Prof.Dr. Gökhan AÇIKGÖZ'e,

Eğitimim süresince bilgi, tecrübe ve klinik deneyimlerinden yararlandığım, destek, ilgi ve yardımlarını esirgemeyen hocam Sayın Doç.Dr. Burcu ÖZKAN ÇETİNKAYA'ya,

Lisans ve doktora eğitimim boyunca beni bilgi ve tecrübeleriyle aydınlatan ve her zaman destekleyen hocam Sayın Prof.Dr. Feriha ÇAĞLAYAN'a

Tezimin histomorfometrik incelemelerinin gerçekleştirilmesindeki katkılarından dolayı Sayın Yrd.Doç.Dr. Bülent AYAS'a ve Araştırma Görevlisi Züleyha ERİŞGİN'e,

Tezimin immünohistokimyasal incelemelerinin gerçekleştirilmesindeki katkılarından dolayı Sayın Doç.Dr. Neşe LORTLAR ÜNLÜ'ye

Verilerimin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde göstermiş olduğu yardımlardan dolayı Sayın Doç.Dr. Sevgi CANBAZ'a ve Prof.Dr. Mehmet ÇETİNKAYA'ya

Çalışmalarımın yürütülmesinde bana destek olan ve yardımlarını esirgemeyen tüm Periodontoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyelerine, Asistanlarına ve çalışanlarına

Tez çalışmam boyunca gösterdikleri hassasiyet ve yardımlardan dolayı Dt. Uğur MERCAN'a ve Dt. Akif TÜRER'e

Tüm hayatım boyunca olduğu gibi doktora eğitimim süresince de sonsuz sevgilerini ve özverilerini bir an bile eksik etmeden, maddi ve manevi destekleriyle bana her zaman güç veren canım aileme

EN İÇTEN TEŞEKKÜRLERİMLE...

ÖZET**ATORVASTATİNİN DENEYSEL PERİODONTİTİS OLUŞUM SÜRECİNDE
VE PERİODONTİTİS OLUŞTUKTAN SONRAKİ DÖNEMDE
PERİODONSIYUM ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ****Umut BALLI, Doktora Tezi****Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun, Haziran 2012**

Bu çalışmanın amacı, sistemik ve lokal olarak uygulanan atorvastatinin periodontal hastalık oluşum sürecinde ve periodontitis oluşuktan sonraki dönemde mikrobiyal dental biofilm varlığı ve yokluğunda periodonsiyum üzerine olan etkilerinin histomorfometrik analizle incelenmesi ve immünohistokimyasal olarak VEBF ve MMP-9 immünreaktivitesinin değerlendirilmesiydi.

Çalışmada 110 adet erkek Wistar sıçan kullanıldı. Kontrol grubu haricindeki tüm sıçanların 1. molar dişlerine ligatür yerleştirilerek deneysel periodontitis oluşturuldu. Deneysel periodontitis oluşturulan sıçanlarda bir gruba herhangi bir işlem uygulanmazken, diğer gruplara 3 farklı dönemde sistemik ve lokal olarak atorvastatin ve salin uygulandı. Deney periyodu sonunda kurban edilen sıçanlarda histomorfometrik analizle alveol kemiği alanı, alveol kemiği rezorpsiyonu, ataşman kaybı ve immünohistokimyasal analizle VEBF ve MMP-9 immünreaktivitesi değerlendirildi.

Her üç farklı dönemde de sistemik ve lokal uygulanan atorvastatinin histomorfometrik ve immünohistokimyasal olarak periodontal dokular üzerinde olumlu etkisi olduğu görüldü. Sistemik ve lokal atorvastatin uygulamaları karşılaştırıldığında, alveol kemiği alanı ve alveol kemiği rezorpsiyonu bulguları açısından lokal atorvastatin uygulamasının daha iyi sonuç verdiği tespit edildi.

Çalışmanın sınırlar dahilinde hiperkolesterolemi tedavisinde kullanılan statinlerin periodontal hastalık tedavisinde lokal olarak uygulanabileceği sonucuna varılmıştır.

ABSTRACT
DETERMINATION OF THE ROLE OF ATORVASTATIN ON
PERIODONTIUM DURING AND AFTER THE EXPERIMENTAL
PERIODONTITIS FORMATION

Umut BALLI, Phd Thesis

University of Ondokuz Mayıs, Samsun, June 2012

The aim of this study was to examine the role of systemically and locally applied atorvastatin on periodontium using histomorphometric and immunohistochemical analysis during and after the experimental periodontitis formation with/without the presence of microbial dental biofilm.

110 male Wistar rats were used in this study. Silk ligatures were placed around first molars in rats except the rats in the control group. In experimental periodontitis groups, systemic and local atorvastatin, and saline were administered in three different periods to all rats except rats in experimental periodontitis group (n: 10). Histomorphometric analysis which included area of alveolar bone, alveolar bone resorption and attachment loss, and immunohistochemical analysis which included the immunoreactivity of VEGF and MMP-9 were performed after the rats were sacrificed at the end of the experimental procedure.

Systemically and locally applied atorvastatin showed beneficial effect on periodontium in all three different periods. Locally applied atorvastatin shows better results on periodontium with regard to the findings of area of alveolar bone and alveolar bone resorption.

In conclusion, statins which is used for hypercholesterolemia treatment can also be used as a local agent for periodontal therapy.

SİMGE ve KISALTMALAR

MDB	: Mikrobiyal Dental Biofilm
MMP	: Matriks Metalloproteinaz
VEBF	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
LPS	: Lipopolisakkarit
IL-1	: İnterlökin-1
TNF	: Tümör Nekrozis Faktör
PGE ₂	: Prostaglandin E ₂
HMG-CoA	: 3-Hidroksi-3-Metilglutaril-Koenzim A
DDL	: Düşük Dansiteli Lipoprotein
TGF	: Transforme Edici Büyüme Faktörü
BMP	: Kemik Morfogenetik Proteinler
Runx2	: Runt-Related Transcription Factor 2
Cbfa1	: Core-Binding Factor-a 1
GTPaz	: Guanozin Trifosfataz
PLGA	: Poli (Laktik-Glikolik Asit)
CRP	: C-Reaktif Protein
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
COX-2	: Siklooksijenaz-2
SRP	: Kök Yüzeyi Düzleştirmesi
MSS	: Mine-Sement Sınırı
AKK	: Alveol Kemiği Kreti
BAP	: Kemik Alkalen Fosfataz
OCL	: Osteokalsin
CTX	: Karboksiterminal Telopektid
VPF	: Vasküler Permeabilite Faktörü
PLGF	: Plasental Büyüme Faktörü
DOS	: Dişeti Oluğu Sıvısı
TIMP	: Metalloproteinazların Doku İnhibitörleri
HE	: Hematoksilen-Eosin
PBS	: Fosfatla Tamponlanmış Salin Solüsyonu

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
TÜRKÇE ÖZET	iv
İNGİLİZCE ÖZET	v
SİMGE ve KISALTMALAR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Statinler	6
2.1.1. Statinlerin Kemik Dokusu Üzerine Etkisi	10
2.1.2. Statinlerin Kemik Ogmentasyonu Üzerine Etkisi	14
2.1.3. Statinlerin Matriks Metalloproteinaz Üzerine Etkisi	16
2.1.4. Statinlerin Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü Üzerine Etkisi	17
2.1.5. Statinler ve Periodontal Hastalık İlişkisi Üzerine Deneysel Yaklaşımlar	18
2.1.6. Statinler ve Periodontal Hastalık İlişkisi Üzerine Klinik ve Epidemiyolojik Yaklaşımlar	19
2.1.7. Statinlerin Yan Etkileri	21
2.2. Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü	21
2.3. Matriks Metalloproteinazlar	24
3. MATERYAL ve METOT	28
3.1. Deney Protokolü	28
3.2. Deney grupları	28
3.3. Histomorfometrik İnceleme	31
3.4. İmmünohistokimyasal İnceleme	32
3.5. İstatistiksel İnceleme	34
4. BULGULAR	35
4.1. Klinik Bulgular	35
4.2. Histomorfometrik Bulgular	36
4.2.1. Alveol kemiği alanı bulguları	36
4.2.2. Alveol kemiği rezorpsiyonu bulguları	40

4.2.3. Ataşman kaybı bulguları	43
4.2.4. VEBF immünreaktivitesi bulguları	44
4.2.5. MMP-9 immünreaktivitesi bulguları	48
5. TARTIŞMA	52
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	61
7. KAYNAKLAR	63
8. EKLER	76
8.1. EK 1	76
8.2. EK 2	77
9. ÖZGEÇMİŞ	78

1. GİRİŞ

Periodontitis; spesifik mikroorganizma veya spesifik mikroorganizma gruplarının neden olduğu, ilerleyen periodontal ligament ve alveol kemiği yıkımıyla birlikte periodontal cep oluşumu, dişeti çekilmesi veya her ikisinin birlikte görüldüğü diş destek dokularının kronik inflamatuvar bir hastalığı olarak tanımlanmaktadır (Newman ve ark., 2007). Primer etyolojik faktör olarak mikrobiyal dental biofilm (MDB)'in yer aldığı periodontal hastalık patogenezinde birçok faktör rol oynamaktadır. Bu faktörler konak savunma sistemini etkileyerek periodontitisin karakteristik özelliği olan doku yıkımına neden olurlar (Newman ve ark., 2007).

Son yıllarda plazma lipid seviyesi ve periodontal hastalık arasındaki ilişki dikkati çekmiş ve araştırmacılar tarafından hiperkolesterolemi tedavisinde kullanılan ilaçların periodontal hastalık üzerindeki etkileri incelenmeye başlanmıştır. Yapılan çalışmalarda lipid seviyesi ile periodontal sağlık durumu arasında negatif bir korelasyon olduğu, ayrıca artmış düşük dansiteli lipoprotein seviyesinin derin periodontal cep varlığı, artmış klinik ataşman kaybı, sondalamada kanama varlığı ve gingival indeks değeri ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Fentoğlu ve ark., 2009; Awartani ve Atassi, 2010; Meisel ve ark., 2011; Sangwan ve ark., 2012). Hiperlipidemi teşhisi konmuş kronik periodontitisli hastalarda yapılan çalışmalarda ise, uygun yapılan periodontal tedavi sonrasında plazma lipid seviyesinde anlamlı düzeyde azalma olduğu açıklanmıştır (Öz ve ark., 2007; Pejic ve ark., 2011).

3-hidroksi-3-metilglutaril-koenzim A redüktaz enzimini inhibe ederek kan kolesterol seviyesini düşüren statinler kardiovasküler hastalıkların tedavisinde yaygın şekilde kullanılan ilaçlar haline gelmiştir (Calabrò ve Yeh, 2005). Statinlerin kolesterol metabolizması üzerine etkilerinin yanında antiinflamatuvar, antioksidan, immünmodülatör, kemik metabolizmasına anabolik etki, tümör hücrelerinin gelişimini ve metastazını engelleme gibi birçok pleiotropik özelliğinin de bulunduğu bildirilmiştir (Stancu ve Sima, 2001; Horiuchi ve Maeda, 2006; Garrett ve ark., 2001; McFarlane ve ark., 2002). Statinlerin kemik morfogenetik protein-2 salınımını ve kemik oluşumunu arttırdığı ilk kez Mundy ve ark. (1999) tarafından gösterilmiştir. Literatürde statinlerin kemik metabolizması üzerine etkilerinin değerlendirildiği çalışmalarda çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. Maritz ve ark. (2001) tarafından yapılan deneysel çalışmada, statinlerin

kemik mineral yoğunluğunu azalttığı ve simvastatinin ovaryektomi nedeniyle oluşan kemik kaybını engellemede etkisiz olduğu açıklanmıştır. Buna karşıt olarak, Oxlund ve Andreassen (2004) tarafından yapılan bir çalışmada simvastatin uygulamasının periosteal kemik yüzeyindeki kortikal kemik oluşumunda artışa neden olduğu ve ovaryektomiye bağlı oluşan kemik kaybını önlemede etkili olduğu açıklanmıştır. Du ve ark. (2008) ise simvastatin uygulamasının kansellöz kemikte kemik yoğunluğu ve kemik alanını arttırdığını, fakat aynı etkinin kortikal kemikte görülmediğini rapor etmişlerdir.

DeneySEL periodontitis modelinde statinlerin etkinliğinin değerlendirildiği sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır ve bu çalışmalarda da çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. Simvastatin uygulanan ovaryektomi yapılmış ratlarda, sadece ovaryektomi yapılan pozitif kontrol grubuna göre ligatürle oluşturulmuş alveol kemiği kaybının daha az olduğu fakat bu farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirtilmiştir (Vaziri ve ark., 2007). Bu bulguların tersine, ligatür ile indüklenmiş alveol kemiği kaybının simvastatin ve atorvastatin uygulamaları ile azaltıldığı ve geri döndürülebilir olduğu da açıklanmıştır (Seto ve ark., 2008; Goes ve ark., 2010).

Statinler ile yapılan klinik ve epidemiyolojik çalışmalarda da sonuçlar çelişkilidir. Simvastatinin lokal olarak uygulandığı bir çalışmada simvastatin uygulanan grupta kontrol grubuna göre daha az sulkus kanama indeksi skoru ve sondalanabilir cep derinliği ile radyografik olarak kemik içi defektlerde daha fazla kemik dolumu ve klinik ataşman seviyesinde kazanç gösterilmiş (Pradeep ve Thorat, 2010) iken; atorvastatinin sistemik olarak uygulandığı bir çalışmada, kontrol grubu ile kıyaslandığında atorvastatin grubunda sadece mobilite ve alveol kemiği kreti ve mine-sement sınırı arası mesafedeki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş, ancak sondalanabilir cep derinliği, dişeti çekilmesi, ataşman kaybı, sondalamada kanama, diş kaybı ve plak düzeyi açısından iki grup arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır (Fajardo ve ark., 2010). Cunha-Cruz ve ark. (2007) tarafından yapılan epidemiyolojik çalışmada statin kullanan hastalarda anlamlı bir şekilde diş kaybının daha az görüldüğü bildirilmiştir. 12631 kronik periodontitisli birey arasında yapılan başka bir epidemiyolojik çalışmada, statin kullanımı ile diş kaybı arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (Saver ve ark., 2007).

Yapılan klinik çalışmalarda tedavi amacıyla kullanılan statinlerin etkinliğini değiştirebilecek birçok faktörün bulunduğu ve bu faktörlerin kontrol altına alınamamasından dolayı çelişkili sonuçların elde edilebildiği belirtilmiştir. Klinik çalışmalarda periodontal hastalığın oluşum döneminin saptanamaması, MDB varlığı ve yokluğu durumunun bireylerde standardize edilememesi ve periodontal hastalık oluştuktan sonraki dönemde tedavi amacıyla kullanılan statinin etkinliğinin aynı koşullarda değerlendirilebilmesi sağlanamayacağından, bu araştırma deneysel bir çalışma olarak planlandı. Sıçanlar; küçük, ucuz ve kolay elde edilebilir olmaları nedeniyle deneysel çalışmalarda sıklıkla tercih edilen türlerdir. Ayrıca sıçanlarda genetik yatkınlık, yaş, cinsiyet, doz ve ilacın uygulanma yolları gibi bazı önemli değişkenler kontrol altına alınabilmektedir. Bu nedenlerden dolayı çalışmamızda deney hayvanı olarak sıçanlar kullanıldı (Nassar ve ark., 2008).

Matriks metalloproteinaz-9 (MMP-9); kollajen IV, jelatin, elastin ve laminin gibi hücreler arası matriksin temel elemanlarının yıkımında aktif rol oynayan bir enzimdir. Literatürde periodontal hastalığı bulunan bireylerde sağlıklı kontrol grubuna göre MMP-9 seviyesinin artmış olduğu ve uygun yapılan periodontal tedavi sonrasında MMP-9 seviyesinin anlamlı bir şekilde azaldığı belirtilmiştir (Mäkelä ve ark., 1994; Soell ve ark., 2002; Pozo ve ark., 2005; Marcaccini ve ark., 2009; Marcaccini ve ark. 2010).

Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEBF); trombosit kaynaklı büyüme faktörleri süperailisinin önemli bir üyesi olan, anjiyogenezisi düzenleyen, mikrovasküler geçirgenliği arttıran, endotelial hücre büyümesi ve farklılaşmasını stimüle eden, apoptozisini engelleyerek hücre devamlılığını sağlayan, proteolitik enzimlerin ekspresyonunu, endotelial hücrelerin ve monositlerin migrasyonunu indükleyen, osteoblastların farklılaşmasını ve proliferasyonunu uyaran anjiyogenik bir medyatördür. Bu etkilerinden dolayı hem sağlıklı hem de patolojik birçok durumlarda aktif rol alan bir büyüme faktörüdür (Kim ve ark. 1993; Folkman 1995; Ferrara ve Davis-Smyth, 1997; Neufeld ve ark., 1999; Ortega ve ark., 1999; Hoeben ve ark., 2004). Periodontal hastalığı bulunan bireylerle periodontal açıdan sağlıklı bireylerin karşılaştırıldığı klinik çalışmada, VEBF ekspresyonunun hem periodontal dokunun remodelasyonu hem de doku yıkımıyla ilişkili olabileceği gösterilmiştir (Keleş ve ark. 2010). Aynı araştırıcı grubu tarafından yapılan deneysel çalışmada, VEBF

ekspresyonunun periodontal hastalığın yıkım döneminden ziyade, iyileşme dönemiyle ilişkili olduğu bildirilmiştir (Çetinkaya ve ark. 2007).

Statin grubu ilaçlar hiperkolesterolemi tedavisi gören hastalarda sistemik olarak kullanıldığından, deneysel çalışmamızda atorvastatinin periodonsiyum üzerine etkisini araştırmak amacıyla sistemik olarak uygulanması planlandı. Ayrıca, lokal bir hastalık olan periodontal hastalığın tedavisinde atorvastatinin klinik kullanımını açısından etkinliğini değerlendirmek amacıyla lokal olarak da uygulandı.

Bu deneysel çalışmanın amacı, sistemik ve lokal olarak uygulanan atorvastatinin periodontal hastalık oluşum sürecinde ve periodontitis oluştuktan sonraki dönemde mikrobiyal dental biofilm varlığı ve yokluğunda periodonsiyum üzerine olan etkilerinin histomorfometrik analizle incelenmesi ve immünohistokimyasal olarak VEBF ve MMP-9 immünreaktivitesinin değerlendirilmesidir.

2. GENEL BİLGİLER

Periodonsiyum; dişeti, periodontal ligament, kök yüzeyini kaplayan sement ve alveol kemiğinden oluşan dokular bütünüdür. Bu dokularda meydana gelen hastalıklar periodontal hastalık olarak isimlendirilir (Lindhe ve ark., 2008). Periodontal hastalık, spesifik mikroorganizma veya mikroorganizma gruplarının neden olduğu aktif yıkım ve remisyon dönemleri gösteren, dişin vaskularize destek dokularında kronik inflamasyon ve yıkım ile karakterize multifaktöryel bir hastalıktır (Goodson ve ark., 1982; Booth ve ark., 1998). Dünya Sağlık Örgütü tarafından periodontal hastalıklar tüm toplumlarda görülen ve oldukça yaygın olan önemli bir hastalık grubu olarak tanımlanmaktadır (Petersen, 2003). Periodontal hastalık patogenezinde mikrobiyal dental biofilm (MDB) primer etyolojik faktör olarak rol oynamaktadır. Bununla birlikte lokal, sistemik, çevresel ve genetik birçok faktörün de hastalığın etyolojisinde yer aldığı bilinmektedir (Newman ve ark., 2007). Risk, bir bireyin belirli bir süre içerisinde spesifik bir hastalığa yakalanma olasılığıdır. Bu olasılığı arttıran çevresel, davranışsal ve biyolojik faktörler “risk faktörleri” olarak bilinmektedir. Periodontal hastalık için bu faktörler; sigara kullanımı, diabet, patojen bakteriler ve mikrobiyal diş eklentileridir (Newman ve ark., 2007).

Periodontitisin karakteristik özelliği doku yıkımıdır. Mikroorganizmalar ve ürünleri tarafından konak dokuda yıkım iki yolla gerçekleştirilebilir. Mikroorganizmalar ve ürünlerinin dokuya geçişi ile bakteriyel enzim ve metabolik artıklarının dokuda nekroza ve hücre ölümüne neden olduğu yol, direkt; mikroorganizma ve mikrobiyal enzimlerin kemotaktik ajan olarak nötrofiller gibi konak inflamatuvar hücrelerini uyarak katabolik mekanizma aktivasyonuna neden olduğu yol, indirekt yol olarak tanımlanmaktadır (The American Academy of Periodontology, 1999). MDB içerisinde bulunan periodontopatojen bakterilerin endotoksin [lipopolisakkarit, (LPS)], lökotoksin, proteaz, kollajenaz, kondroitin sülfataz, asit fosfataz, fosfolipaz A, hidrojen sülfid, amonyak, yağ asitleri gibi virülans faktörleri konak ile etkileşime girerek periodontal dokularda yıkımı ve inflamatuvar cevabı başlatır (Socransky ve Haffajee, 1992). Bu etkileşimle periodontal dokularda histopatolojik değişiklikler meydana gelmektedir. Periodontal vaskülaritede meydana gelen değişikliklerle damarlarda vazodilatasyon ve permeabilite artışı ortaya çıkar. LPS, interlökin-1 (IL-1) ve tümör nekrozis faktör (TNF)

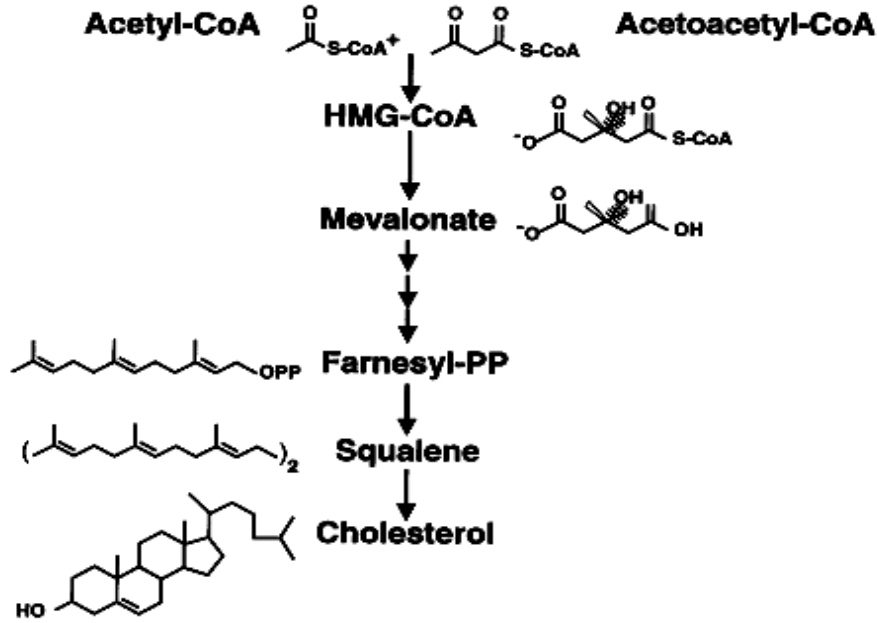
tarafından uyarılan endotelial hücrelerden; inflamatuvar hücre adezyon molekülü-1, -2 ve endotelial lökosit adezyon molekülü-1 gibi lökosit adezyonunu sağlayan moleküllerin salınımı artmaktadır. Ayrıca makrofaj-türevi nötrofil kemotaktik faktör, direkt ve indirekt yolla aktive olan kompleman sisteminin bir ürünü olan C5_a, lökotrien B₄ ve bakteri kaynaklı olan formil peptid gibi kemokinler dokudan dişeti oluşuna doğru nötrofil göçüne neden olurlar. Nötrofiller mikroorganizma ve ürünlerine karşı oluşan savunma mekanizmasında önemli rol oynayan fagositik hücrelerdir (Champagne ve ark., 2003; Genco, 1992). Periodontal açıdan sağlıklı yetişkinlerde 30 saniye içinde oral kaviteye çoğunluğu nötrofil olan 266000 lökosit migrasyonu gerçekleştiği ve bunun hastalık durumunda arttığı belirtilmiştir (Listgarten, 1986; Raeste ve ark., 1997; Champagne ve ark., 2003). Hastalığın ilerlemesi ile nötrofiller dişeti oluşu içerisinde artarken; makrofaj, lenfosit ve plazma hücreleri dokuda sayıca artmaya başlamaktadır. Bakteri kaynaklı olan LPS, makrofajları aktive ederek IL-1 β , TNF- α , MMP ve prostaglandin E₂ (PGE₂) üretimini indüklemektedir. Erken dönemde mikrobiyal saldırı engellenemez ise IL-1 β ve TNF- α ile aktive olan fibroblastlardan da MMP ve PGE₂ sentezi indüklenerek saldırı kontrol altına alınmaya çalışılmaktadır (Page ve ark., 1997). MMP ve PGE₂ sentezi ile bağ dokusu ve alveol kemiğinde katabolik metabolizma oluşur, böylece periodontal doku yıkımının önemli bir kısmını oluşturan konak savunmasının hem koruyucu hem de yıkıcı özelliği ortaya çıkmış olur (Birkedal-Hansen, 1993; Offenbacher, 1996).

2.1. STATİNLER

Günümüzde tüm dünyada sıklıkla kullanılan statinler, kolesterol sentezinde hız kısıtlayıcı basamağı oluşturan 3-hidroksi-3-metilglutaril-koenzim A (HMG-CoA) redüktaz enzimini inhibe ederek plazma kolesterol seviyesini düşüren, kardiyovasküler morbidite ve mortalitede ciddi azalma sağlayan ilaçlardır (Calabrò ve Yeh, 2005). HMG-CoA redüktaz, HMG-CoA'yı mevalonat'a dönüştürür ve bu kataliz kolesterol biosentezinin hız kısıtlayıcı basamağını oluşturur (Istvan, 2003) [Şekil 1].

1970'li yıllarda kolesterol metabolizması hakkındaki bilgilerin artmasıyla, plazma kolesterol sentezini bloke edebilecek bir ilaç üzerinde çalışılmaya başlanmıştır (Endo, 2004). 1976 yılında Penicilim citrinum adlı mantar türünden izole edilen ve

mevastatin (ML-236B) ismi verilen maddenin, HMG-CoA redüktazı inhibe ettiği gözlemlenmiştir (Endo, 2004).



Şekil 1. Mevalonat yolu (Istvan, 2003'den alıntıdır.)

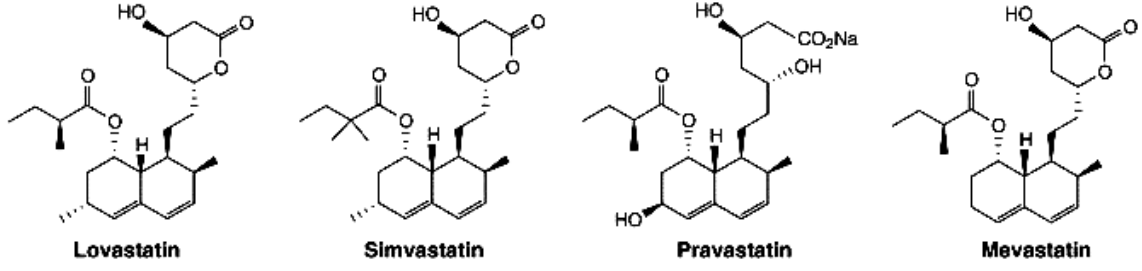
1979 yılında ise *Aspergillus terreus*'dan izole edilen ve mevastatine göre HMG-CoA redüktazı inhibe etmede daha etkili olduğu gösterilen mevinoлин (lovastatin) bulunmuş ve patenti alınarak 1987 yılında Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi onayı olarak piyasaya sürülmüştür (Endo, 2004). Daha sonraki yıllarda mevastatin ve lovastatin temel alınarak diğer statinler üretilmiştir.

Üç temel uygulamadan yararlanılarak;

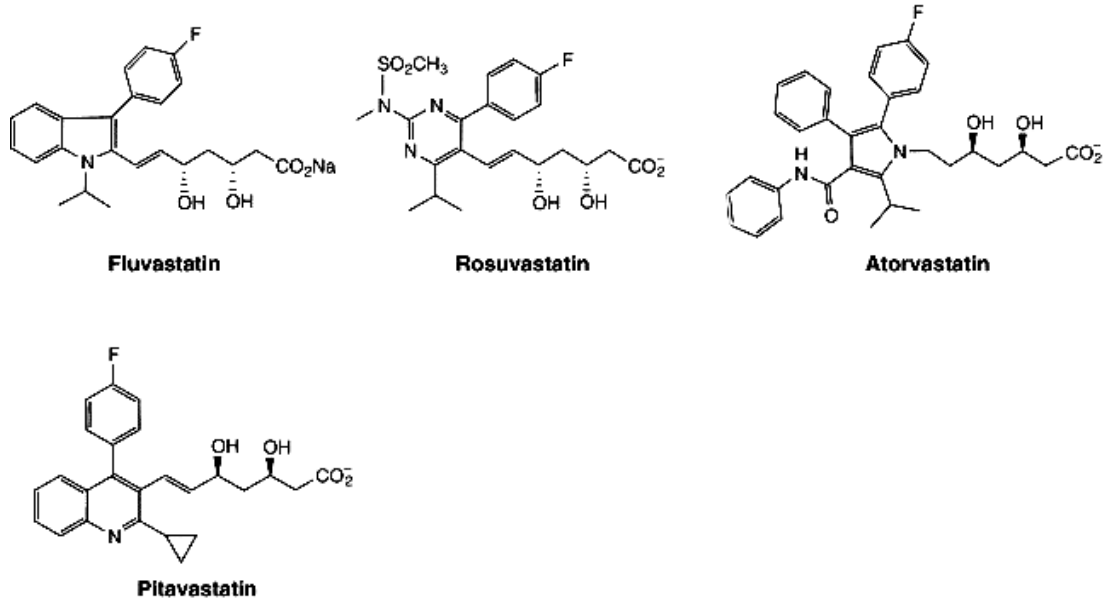
1. Mantar ürünlerinin kimyasal değişimi sonucu simvastatin,
2. Mantar bileşiklerinin mikrobiyal değişimi sonucu pravastatin,
3. Fluvastatin, atorvastatin, cerivastatin, rosuvastatin ve pitavastatin gibi sentetik statin bileşikleri üretilmiştir (Endo, 2004; Kajinami ve ark., 2003; Jacobson, 2006) [Şekil 2].

Fakat cerivastatinin bildirilen ciddi yan etkilerinden dolayı (rabdomiyoliz, çizgili kas hücrelerinde hasar) 2001 yılında kullanımı yasaklanmıştır (Jacobson, 2006).

DOĞAL STATİNLER



SENTETİK STATİNLER



Şekil 2. Statinlerin kimyasal yapısı (Weitz-Schmidt, 2002'den alındıdır.)

Statinler, hepatositleri hedef alır ve HMG-CoA redüktaz enziminin aktif bölgesine geri dönüşebilir şekilde bağlanırlar. Bu bağlanmayı içerdikleri HMG benzeri zincir ile sağlarlar. HMG benzeri zincir, HMG-CoA redüktaz enzimi için yalancı bir substrat olup normal substrat ile yarışarak enzimin aktif bölgesine bağlanmakta ve inhibisyonuna neden olmaktadır (Istvan, 2003; Stancu ve Sima, 2001). Mevalonat yolunun bloke olmasıyla Asetil CoA'dan kolesterol sentezi gerçekleşmemekte ve sonucunda kolesterol sentezi azalmaktadır (Istvan, 2003). Kolesterol sentezinin azalması; karaciğerde düşük dansiteli lipoprotein (DDL) reseptörlerinin artmasına, bu reseptörler de DDL'yi karaciğer hücresine alarak dolaşımdaki kolesterol miktarının azalmasına neden olmaktadır (Istvan, 2003; Maron ve ark., 2000). Sonuç olarak statinler

hem hücre içi sentezi azaltıp, hem de dolaşımdaki DDL'nin hepatosit hücrelerine alınmasını sağlayarak etkilerini göstermektedir. Statinler HMG benzeri zincir taşımalarına rağmen, farklı ve karmaşık bağlanma şekilleri ile önemli farklılıklar gösterir (McTaggart, 2003). Bileşiklerin farmakolojik özelliklerindeki farklılıklar; (1) HMG-CoA redüktaz enziminin aktif parçasına olan afinite, (2) karaciğer ve karaciğer dışı dokulara girme oranı, (3) sistemik dolaşımda bulunabilmesi, (4) metabolik transformasyon ve eliminasyon yolu ve biçimi gibi etki farklılıklarına neden olmaktadır (McTaggart, 2003). Yapılan *in vivo* bir çalışmada kısa dönem lovastatin uygulamasının sirkülasyondaki kolesterol seviyesinde azalmaya neden olmadığı, ancak hepatik HMG-CoA redüktaz aktivitesinde anlamlı bir azalma sağladığı gösterilmiştir (Diomedea ve ark., 2001).

Farmakolojik olarak ideal bir statinin;

- Enzimin aktif bölgesine yüksek afinitesinin bulunması,
- Karaciğer dışı hücrelerle kıyaslandığında karaciğer hücreleri için belirgin selektivitesinin olması,
- Düşük sistemik dozda aktif inhibitör etkinlik gösterebilmesi,
- Göreceli olarak uzun süre etkinliğinin bulunması gereklidir (McTaggart, 2003).

Statinlerin ayrıca pleiotropik etkileri de bulunmaktadır. Bunlar;

- Koroner arter hastalıklarında azalma
- Ateroskleroziste azalma
- Trombosit agregasyonu ve trombüs birikiminde azalma
- Anjiogeneziste artma
- β -amiloid peptit birikiminde azalma (Alzheimer hastalığı ile ilişkili)
- İnflamasyonda azalma (antiinflamatuvar özellik)
- Hücre proliferasyonunda azalma (antiproliferatif özellik)
- T-lenfosit aktivasyonunda azalma (immünomodülatör özellik)
- Kemik oluşumunda artma (kemikte anabolik özellik)
- Antioksidan etkinlik
- Tümör hücrelerinin gelişimini ve metastazını engelleme
- Nefropati gelişiminde azalmadır (Stancu ve Sima, 2001; Horiuchi ve Maeda, 2006; Garrett ve ark., 2001; McFarlane ve ark., 2002).

2.1.1. Statinlerin Kemik Dokusu Üzerine Etkisi

Beyin, kalp, böbrek, diş, deri, testis ve gözleri içeren embriyolojik gelişim döneminde kritik rol oynayan transforme edici büyüme faktörü- β [transforming growth factor, (TGF)- β] ailesinin bir üyesi olan kemik morfogenetik proteinlerin [bone morphogenetic protein, (BMP)] (Reddi, 1997), osteojenik farklılaşmada önemli düzenleyici oldukları bildirilmiştir (Stone, 1997). Simvastatinin, en güçlü osteoindüktif faktör olduğu bilinen BMP-2 mRNA ekspresyonunu ve böylece kemik oluşumunu arttırdığı ilk kez Mundy ve ark.'nın (1999) yaptıkları bir çalışmada gösterilmiştir. Statinlerin kemik üzerine olan anabolik etkisini iki yolla gerçekleştirdiği düşünülmektedir. Bunlar, direkt olarak BMP aktivasyonunun arttırılması ve osteoklast sayısının azaltılmasıyla kemik yıkımının inhibisyonudur (Edwards ve Spector, 2002; Staal ve ark.,2003; Alam ve ark., 2009). Runt-related transcription factor 2/core-binding factor-a 1 (Runx2/Cbfa1); osteoblast-spesifik transkripsiyon faktörü olup, osteoblast farklılaşmasında düzenleyici olarak rol oynamaktadır (Ducy ve ark., 1997; Banerjee ve ark., 2001). Lovastatin ile yapılan bir çalışmada, kemik iliği mezenkimal hücre kültüründe uygulanan lovastatinin Runx2/Cbfa1 ekspresyonunu arttırdığı, böylece osteoblast farklılaşmasını arttırarak osteonekroz ve osteoporoz için terapötik bir ajan olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (Li ve ark., 2003). Bir başka açıdan mevalonat yolunun kolesterol harici diğer ürünlerinin, guanozin trifosfataz (GTPaz)'ın bazı türleri olduğu ve bu GTPaz'ların hem osteoklast aktivasyonunda hem de BMP-2 sentezinin inhibisyonunda önemli rol oynadıkları bildirilmiştir. Statinlerin mevalonat yolunu inhibe etmesiyle BMP-2 sentezinin inhibisyonunu engellediği ve böylece kemik kütlesini arttırabileceği gösterilmiştir (Rogers, 2000).

Ovaryektomi yapılan sıçanların tibialarından elde edilen kemik iliği kültüründe yapılan çalışmada, lovastatinin doza bağlı olarak GTPaz'ın modifiye ve aktive olmasını sınırlandırmasıyla osteoklast sayısını azalttığı gösterilmiştir (Grasser ve ark. 2003). Sıçan kalvaria hücrelerinde yapılan *in vitro* çalışmada; simvastatinin alkalen fosfataz aktivitesini yüksek seviyede tutabilmesinden dolayı hücre fonksiyonlarını arttırdığı ve simvastatin uygulanmayan gruba göre daha fazla kemik nodülü oluşturduğu gösterilmiştir (Seto ve ark., 2008). Simvastatinin periodontal ligament hücreleri üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada 24 saat sonunda doza bağlı olarak hücre

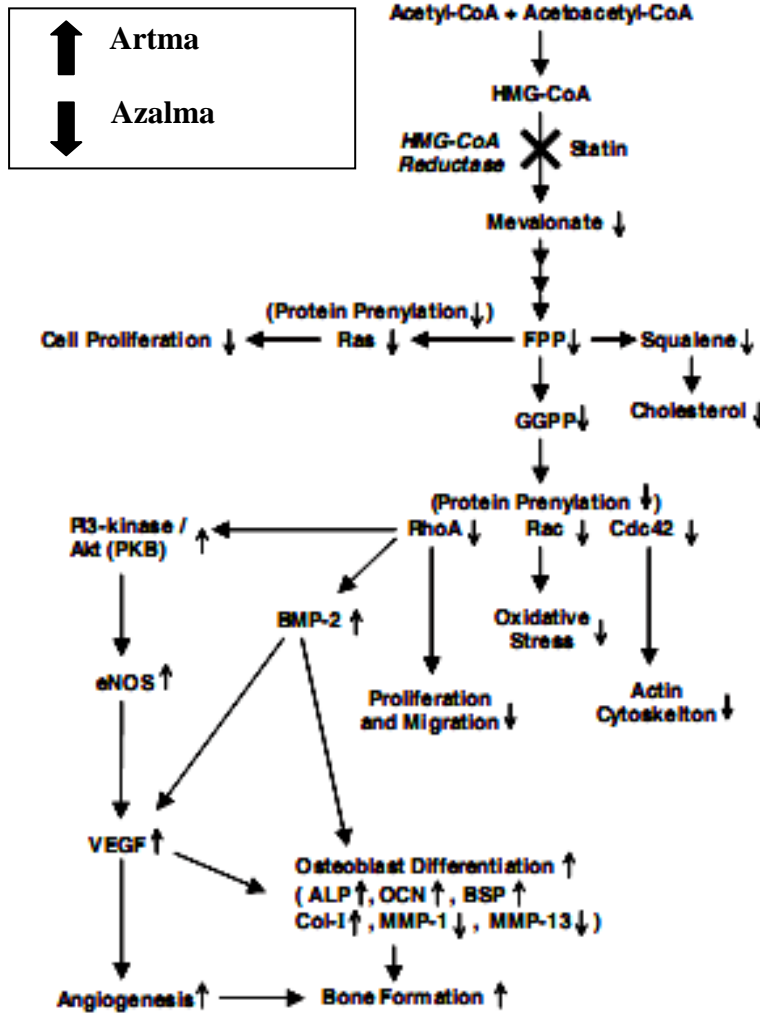
proliferasyonunun arttığı, ancak 72 saat sonunda simvastatinin herhangi bir etkisinin görülmediği rapor edilmiştir. Sonuç olarak, proliferasyon üzerine simvastatin etkisinin, hücre kültürünün erken periodu ile sınırlı olduğu bildirilmiştir (Yazawa ve ark., 2005).

Sıçanlar üzerinde yapılan deneysel çalışmada, statinlerin kemik mineral yoğunluğunu azalttığı, yüksek doz simvastatinin (20 mg/kg) kemik histomorfometri ile yapılan değerlendirmede kemik formasyonu ve rezorpsiyonunu arttırdığı, düşük doz simvastatinin kemik formasyonunu azaltıp rezorpsiyonu arttırdığı yani etkisinin doza bağlı olduğu ve simvastatinin ovaryektomi nedeniyle oluşan kemik kaybını engellemede etkisiz olduğu açıklanmıştır (Maritz ve ark., 2001). Buna karşıt olarak, simvastatinin günlük 10 mg/kg dozda 3 ay boyunca gastrik gavaj yoluyla uygulandığı ovaryektomi yapılmayan sıçanlarda kansellöz kemiğin sıkışma direncinin %24 ve kansellöz kemik hacminin de %23 oranında arttığı bildirilmiştir (Oxlund ve ark., 2001). Aynı şekilde simvastatinin günlük 40 mg/kg dozda (günde iki defa) 3 ay boyunca gavaj yoluyla uygulandığı ovaryektomi yapılan sıçanlarda periosteal kemik yüzeyindeki kortikal kemik oluşumunda artış olduğu ve kontrol grubuna göre simvastatin uygulanan grupta azalmış osteoklastik aktivite ile daha düşük miktarda kansellöz kemik kaybının görüldüğü bildirilmiştir. Sonuçta, Maritz ve ark.'nın (2001) bulgularından farklı olarak simvastatin uygulamasının ovaryektomiye bağlı oluşan kemik kaybını önlemede etkili olduğu açıklanmıştır (Oxlund ve Andreassen, 2004).

Simvastatinin kemik kırıkları üzerine etkisinin değerlendirildiği deneysel çalışmalarda, diyet ile alınan (120 mg/kg günlük dozda) ve farelerin femur kemiklerinde oluşturulan kırık bölgelerine lokal olarak uygulanan (0,1 mg/kg) simvastatinin kemik kırığının iyileşmesine olumlu etkilerinin bulunduğu, 21. günde histolojik olarak kırığın iyileştiği ve mekanik olarak farklılığın ortadan kalktığı, ayrıca kemiğin biyomekanik kuvvetinin arttığı gösterilmiştir (Skoglund ve ark., 2002; Skoglung ve Aspenberg, 2007).

Statin kullanan hastaların kırık riski açısından değerlendirildiği epidemiyolojik çalışmalarda ise çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. Meier ve ark. (2000) tarafından; 50 yaş ve üzeri kemik kırığı bulunan 3940 birey ile, kemik kırığı bulunmayan 23379 bireyin karşılaştırıldığı çalışmalarında, statin kullanan bireylerde kırık riskinin kullanmayan bireylere göre daha düşük olduğu bildirilmiştir. Bu bulguların aksine, van Staa ve ark.'nın (2001) çalışmalarında 81800 kemik kırığı bulunan ve 81800 kemik

kırığı bulunmayan birey karşılaştırılmış ve statin kullanımı ile kemik kırığı riski açısından herhangi bir ilişki bulunmadığı rapor edilmiştir. Statinlerin kemik metabolizması üzerine etkileri Şekil 3'te gösterildi.



Şekil 3. Statinlerin kemik metabolizması üzerine etkilerinin şematik gösterimi (Horiuchi ve Maeda, 2006'den alınmıştır.)

Ayukawa ve ark. (2004) tarafından tibialarına çift taraflı olarak titanyum implant yerleştirilen sıçanlara 30 gün boyunca günlük 10 mg/kg dozda simvastatin intraperitoneal olarak uygulanmıştır. 30 gün sonunda perfüze edilen sıçanlarda titanyum implant çevresindeki kemik yoğunluğu ve kemik-titanyum teması histolojik olarak incelenmiş ve simvastatin grubunda kemik temas oranı ve kemik yoğunluğu, kontrol grubuna göre daha yüksek değerlerde bulunmuştur. Çalışma sonuçlarına göre,

simvastatinin titanyum implant etrafında osteogenezisi arttırdığı ve böylece osteointegrasyonu kuvvetlendirdiği ileri sürülmüştür. Ayrıca simvastatin uygulanan grupta medüller kanalda daha kalın miktarda trabeküler kemik olduğu saptanmıştır (Ayukawa ve ark., 2004). Aynı araştırmacı grubu tarafından farklı dozlarda simvastatinin (0, 0,125, 1, 5, 10 mg/kg) etkilerinin değerlendirildiği başka bir çalışmada; 5 ve 10 mg/kg dozlarda uygulanan simvastatinin trabeküler kemik yoğunluğu ve kemik-titanyum temasını arttırdığı, buna rağmen tüm gruplarda kortikal kemik oranında fark görülmediği bildirilmiştir (Ayukawa ve ark., 2009).

Çift taraflı sıçan tibialarına yerleştirilen implantlara propilen glikol aljinat yardımı ile lokal olarak 3 farklı dozda (3, 15, 75 µg), 1 ve 2 hafta boyunca fluvastatinin uygulandığı deneysel bir çalışmada, push-out testi ile implant fiksasyon kuvveti ve histomorfometrik analiz ile kemik-implant teması ve implantın çevre dokusundaki kemik hacmi değerlendirilmiştir (Moriyama ve ark., 2008). Birinci hafta sonunda sakrifiye edilen sıçanlarda kemik-implant teması açısından gruplar arasında bir fark bulunmazken, yüksek doz fluvastatin uygulanan grupta sadece implant uygulanan gruba göre artmış kemik hacmi ve implant fiksasyon kuvveti gözlenmiştir. İkinci hafta sonuçlarında, yüksek doz fluvastatin uygulanan grupta statin uygulanmayan gruba göre daha yüksek oranda kemik-implant teması ve kemik hacmi saptanmıştır. Tüm fluvastatin uygulanan gruplarda ise statin uygulanmayan gruplara göre yüksek push-out değeri ve implant fiksasyon kuvveti bulunmuştur (Moriyama ve ark., 2008). Ayrıca Du ve ark. (2008) tarafından ovariyektomi yapılan sıçanların tibialarına yerleştirilen titanyum implantların çevre kemik dokusundaki iyileşmenin incelendiği çalışmalarında, sadece ovariyektomi yapılan gruba göre simvastatin uygulanan sıçanlarda kortikal kemiğe nazaran kansellöz kemikte kemik yoğunluğu, kemik alanı ve kemik-titanyum teması açısından istatistiksel olarak anlamlı artış saptanmıştır. Çalışma sonuçlarına göre, simvastatinin osteoporotik sıçanlarda titanyum implantın osteointegrasyonunu arttırdığı gösterilmiştir.

2.1.2. Statinlerin Kemik Ogmentasyonu Üzerine Etkisi

Statinlerin kemik ogmentasyonu üzerine etkileri ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Simvastatinin çekim boşluğundaki etkisinin değerlendirildiği deneysel bir çalışmada, sıçanların sağ kesici dişleri 3 gün boyunca günde bir defa dişeti hizasından kesilmiş ve 3. uygulama sonunda diş çekilmiştir. Çekim boşluğuna simvastatin tek başına, kollajen içerisinde ve kalsiyum sülfat ile birlikte uygulanmış ve sıçanlar 4 hafta sonra sakrifiye edilmiştir. Yapılan radyografik ve histolojik inceleme sonucunda kalsiyum sülfat ile birlikte simvastatin uygulanan grupta alveol kemiği kalınlığının önemli ölçüde arttığı saptanmıştır. Dondurulmuş kurutulmuş sığır kollajeni içerisinde uygulanan ve tek başına uygulanan simvastatin gruplarında farklı etki gözlenmiştir. Sonuç olarak simvastatinin taşıyıcıya bağlı olarak çekim boşluğunda kemik ogmentasyonu için kullanılabilir olduğu belirtilmiştir (Sato ve ark., 2005). Köpeklerde split-mouth şekilde oluşturulan dehisens defektlerinde çenenin bir tarafına hidroksiapatit-kollajen graft ve rezorbe olabilen membran 10 mg simvastatin ile uygulanmış, diğer tarafına ise simvastatin uygulanmamıştır. Cerrahi işlemden 1 hafta sonra ilk gruba subperiosteal olarak 0,5 mg/kg dozda simvastatin 3 hafta boyunca uygulanmıştır. Çalışma sonucunda periosteal bölgeye lokal olarak uygulanan simvastatinin yeni kemik oluşumunu indüklediği belirtilmiştir (Rutledge ve ark., 2011). Sağ kesici dişleri çekilen sıçanlarda yapılan bir çalışmada, çekim boşluğuna poli (laktik-glikolik asit) kopolimeri (PLGA) ve simvastatin+PLGA uygulanmıştır. 1, 2, 4, 8 ve 12 hafta sonunda sakrifiye edilen sıçanlarda yapılan radyografik ve histolojik değerlendirmede lokal simvastatin uygulamasının, çekim boşluğunda yeni kemik oluşumunu arttırdığı ve çekim sonrası alveol kemiği yüksekliğinin korunmasında etkili olduğu saptanmıştır (Wu ve ark., 2008).

Fare kalvaryumunda yapılan deneysel bir çalışmada, metilselülöz jel ve polilaktik membran ile uygulanan tek doz yüksek miktarda simvastatinin (2,2 mg) özellikle membran ile birlikte uygulandığında kalvaryal kemikte yeni kemik oluşumunu indüklediği ve kemik kalınlığında artışa neden olduğu gösterilmiştir (Thylin ve ark., 2002). Ayrıca simvastatinin jel ile uygulandığı grupta hafif yumuşak doku inflamasyonu görüldüğü, bunun da yeni kemik oluşumuyla ilişkili olduğu ve inflamasyonun görülmediği deneklerin dahil edilmediği yeni bir değerlendirmede kemik oluşumunda

artışın daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Stein ve ark. (2005) tarafından yapılan çalışmada metilselülöz jel ve polilaktik asit membran ile karıştırılan 0.1, 0.5, 1, 1.5, 2.2 mg simvastatin, tek doz olarak sıçan mandibulalarının lateral yüzeyine uygulanmıştır. Klinik inflamasyon ve kemik gelişimi açısından yapılan değerlendirmede 0.5 mg simvastatin dozunun hafif düzeyde inflamasyon oluşturarak kemik gelişimini stimüle ettiği, dozun düşürülmesiyle inflamasyonun azaldığı fakat kemik oluşumu üzerine herhangi bir etkisinin görülmediği açıklanmış ve klinik olarak kabul edilebilir dozun 0.5 mg olduğu ileri sürülmüştür. Sıçan mandibulalarında yapılan *in vivo* çalışmada, lokal uygulanan 0.5 mg simvastatin jelin, minimal yumuşak doku inflamasyonu oluşturarak yeni kemik oluşumunda akümülatif bir etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Lee ve ark., 2008).

Sıçan mandibulalarının angulus bölgelerine açılan 3 mm çapında 23 kemik defektinde simvastatinin etkinliği incelenmiştir. Kemik defektlerinin 9 tanesi simvastatin ve jelatin sünger ile 8 tanesi sadece jelatin sünger (aktif kontrol) ile doldurulmuş ve 6 tanesi boş (pasif kontrol) bırakılmıştır. 14 gün sonra sakrifiye edilen sıçanlarda yapılan radyografik incelemede simvastatin grubunun pasif kontrole göre %240, aktif kontrole göre %190 oranında daha fazla defekt dansite değerine sahip olduğu; histolojik incelemede ise simvastatin grubunda oluşan yeni kemik miktarının kontrol gruplarına göre daha yüksek olduğu saptanmıştır (Özeç ve ark. 2007). 9 tavşanın parietal kemiklerinde oluşturulan toplam 15 adet 10x5 mm tam kalınlık kemik defektleri 3 gruba ayrılmış; taşıyıcı olarak rezorbe olabilen kollajen süngerin kullanıldığı 5 defekte simvastatin, 5 defekte sadece rezorbe olabilen kollajen sünger uygulanmış ve kalan 5 defekte hiçbir işlem uygulanmamıştır. 14 gün sonra sakrifiye edilen tavşanlarda yapılan histolojik incelemede hiçbir işlem uygulanmayan grupta yeni kemik oluşumunun gözlenmediği, sadece kollajen membran uygulanan gruba göre simvastatin uygulanan grupta yeni kemik oluşumunun %308 oranında daha fazla olduğu ve simvastatinin rezorbe olabilen taşıyıcılar ile kullanıldığında osteoindüktif etki gösterdiği açıklanmıştır (Wong ve Rabie, 2003). Aynı araştırmacı grubu tarafından yapılan 2 ayrı çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir (Wong ve Rabie, 2005a; 2005b). Çalışma sonuçlarına göre simvastatin uygulanan grupta uygulamadan sonraki 3. günde, VEBF salındığı, 4. günde BMP-2 salındığı, 5. günde Cbfa1 salındığı ve aynı zamanda yeni kemik oluşumunun görüldüğü bildirilmiştir. Kollajen membran

uygulanan grupta ise uygulamadan sonraki 4. günde VEBF salındığı ve 6. günde yeni kemik oluşumunun görüldüğü, fakat bu yeni kemiğin simvastatin uygulanan grupta 5. günde oluşan yeni kemiğe göre zayıf ve çok az miktarda olduğu belirtilmiştir (Wong ve Rabie, 2005a; 2005b). Ayrıca kollajen membran ile birlikte uygulanan simvastatin grubunda görülen yeni kemik yapısının demineralize kemik matriksi uygulamasından sonra elde edilen kemik yapısıyla histolojik olarak benzer olduğu saptanmıştır (Wong ve Rabie, 2005b).

2.1.3. Statinlerin Matriks Metalloproteinaz Üzerine Etkisi

Atorvastatin ve rosuvastatin ile yapılan bir çalışmada, bu statinlerin TNF- α düzeyinde anlamlı bir değişiklik yapmadığı, ancak total MMP-9 seviyesinde sırasıyla %28 ve %31 ve C-reaktif protein (CRP) seviyesinde sırasıyla %24 ve %40 oranlarında azalmaya neden oldukları gösterilmiştir (Qu ve ark., 2009). Koroner arter hastalığı bulunan 32 bireye 14 hafta boyunca 20 mg/gün dozda uygulanan simvastatinin serum CRP seviyesini %46; plazma TNF- α seviyesini %14; total plazma MMP-9 seviyesini %24; MMP-9 aktivitesini %18 oranında azalttığı belirtilmiştir (Koh ve ark., 2002). İnsan epitel hücrelerinde yapılan kültür çalışmasında, simvastatinin Rac prenilasyonunu engellemesiyle IL-6 ve IL-8 gibi IL-1 α 'ya bağlı inflamatuvar sitokinlerin seviyesinde azalmaya neden olduğu belirtilmiştir (Sakoda ve ark., 2006). Nagashima ve ark. (2002) tarafından yapılan çalışmada, cerivastatinin abdominal aortik anevrizma duvarında nötrofil ve makrofaj aktivasyonunu durdurarak MMP-9 üretimini baskıladığı saptanmıştır. İnsan monosit hücrelerinde yapılan *in vitro* bir çalışmada, simvastatinin monosit kemoatraktan protein-1 yoluyla hücrelerin kemotaksisini engellediği ve LPS ile indüklenen MMP-9 sekresyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (Wong ve ark., 2001). İnsan ve fare makrofaj hücrelerinde yapılan *in vitro* bir çalışmada, MMP-9 aktivitesinin düşük doz fluvastatin uygulamasıyla (0,1 μ mol/L) %20, yüksek doz fluvastatin uygulamasıyla (50 μ mol/L) %45 oranında azaldığı; inkübasyon esnasında MMP-9 salınımının ise 5 μ mol/L dozda %25, 50 μ mol/L dozda %50 oranında azaldığı açıklanmıştır (Bellosta ve ark., 1998). Ayrıca simvastatinin doza ve zamana bağlı olarak osteoblast ve fibrosarkom hücrelerinde MMP-9 aktivitesini baskıladığı belirtilmiştir (Thunyakitpisal ve Chaisuparat, 2004).

2.1.4. Statinlerin Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü Üzerine Etkisi

Kültüre edilmiş osteoblastlarla yapılan *in vitro* bir çalışmada statinlerin VEBF gen ekspresyonunu önemli şekilde arttırdığı, ayrıca VEBF sinyal yolunu inhibe eden VEBF reseptör 2 kinaz inhibitörünün, statin ile tedavi edilen kültüre osteoblastlarda engellendiği gösterilmiştir (Maeda ve ark. 2003). Koroner arter hastası 14 erkekte yapılan *in vivo* ve *in vitro* bir çalışmada, atorvastatinin VEBF seviyesinde azalmaya neden olduğu rapor edilmiştir. Bu azalma 3 şekilde gösterilmiştir. Bunlar; (1) koroner arter hastası bireylerde 2 aylık atorvastatin tedavisinden sonra plazma VEBF seviyesinde azalma, (2) atorvastatin tedavisinden önce plazma örneği alınmış hastaların, tedavi sonrasında alınan plazma örneklerine göre VEBF seviyesinin insan koroner arter düz kas hücrelerinde (HCASMC) anlamlı bir şekilde yüksek çıkması, (3) atorvastatinin HCASMC’de VEBF sentezini azaltması olarak belirtilmiştir (Alber ve ark., 2002). Simvastatin ile yapılan *in vivo* ve *in vitro* bir çalışmada, düz kas hücrelerinde p44/p42 mitojen-aktive protein kinaz yoluyla VEBF salınımının arttığı, ayrıca sıçanlara 3 gün boyunca oral yoldan 2 ve 20 mg/kg dozda uygulanan simvastatinin plazma VEBF seviyesinde anlamlı düzeyde artış sağladığı bildirilmiştir (Takenaka ve ark., 2003).

Atorvastatin ile yapılan *in vivo* ve *in vitro* bir çalışmada, küçük hücreli dışı akciğer kanser hücrelerinden VEBF salınımı için reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretiminin artması gerektiği ve atorvastatinin ROS üretimini durdurarak VEBF salınımını, böylece anjiyogenezisi azalttığı gösterilmiştir. Çalışmanın *in vivo* kısmında, farelere A549 hücrelerinin enjekte edilmesiyle tümör dokusunun (80-100 mm³) oluşumu sağlanmış ve 10 mg/kg dozda 10 gün boyunca atorvastatin uygulanmıştır. Çalışmanın *in vitro* kısmının bulgularıyla uyumlu olarak tümör dokusundan VEBF salınımının azaldığı ve atorvastatinin küçük hücreli dışı akciğer kanser tedavisinde kullanılabileceği açıklanmıştır (Chen ve ark., 2012). Benzer şekilde atorvastatinin VEBF salınımını azalttığı, ayrıca siklooksijenaz-2 (COX-2) ve TNF- α seviyelerinde de azalmaya neden olduğu saptanmıştır (Araújo ve ark., 2010; Sharma ve ark., 2010). Serebral arterin tıkanması ile beyin dokusunda iskemi oluşturulan sıçanlarda 3 mg/kg dozda 7 gün boyunca uygulanan atorvastatinin VEBF salınımını arttırdığı ve felç sonrası oluşan nöral fonksiyonlardaki kaybın tekrar kazanılmasında kullanılabileceği bildirilmiştir (Chen ve ark., 2006). Farelerin diyetlerine 8 hafta boyunca 50 mg/kg

dozda eklenen atorvastatinin VEBF üretimini arttırdığı saptanmıştır (Vecerova ve ark., 2012).

2.1.5. Statinler ve Periodontal Hastalık İlişkisi Üzerine Deneysel Yaklaşımlar

Lokal olarak uygulanan simvastatinin kafa kemikleri, ligatürle oluşturulmuş alveol kemiği rezorpsiyonu ve ataşman kaybı üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada, simvastatin uygulanan gruplarda (0,05 ml hacminde 10^{-6} M, 3×10^{-7} M, 10^{-7} M) kontrol gruplarına göre histolojik olarak daha az kemik kaybı gözlenmiş fakat bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Ayrıca ataşman kaybı açısından değerlendirildiğinde, simvastatin uygulanan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken, 10^{-6} M doz uygulanan simvastatinin grubunda kontrol gruplarına oranla daha az ataşman kaybı gözlenmiştir (Vaziri ve ark., 2007).

Köpeklerde yapılan deneysel bir çalışmada, cerrahi olarak oluşturulmuş kemik içi ve furkasyon defektlerine 3 haftada boyunca hafta bir kez lokal simvastatin uygulanmış ve son ilaç uygulamasından 2 ay sonra yapılan histomorfometrik analiz sonucunda yeni sement oluşumunun gözlenmediği ve simvastatin uygulamasının kemik içi ve furkasyon defektlerinin tedavisinde uygun olmadığı bildirilmiştir (Morris ve ark., 2008). Seto ve ark. (2008) tarafından sıçanların ikinci molar dişlerinde ligatürle deneysel periodontitis oluşturulduktan sonra ligatür çıkartılmış ve dişin bukkal yüzeyine subperiosteal olarak haftada 2 defa 70 gün boyunca 0,2 mg simvastatin uygulanmıştır. Yapılan radyografik değerlendirmede total kemik kaybının %46 oranında geri kazanıldığı, histolojik değerlendirmede ise sadece alveol kemiğinde değil, periodontal ligament ve bağ dokusunda da iyileşme olduğu bildirilmiştir. Sıçanların ikinci molar dişlerine ligatür bağlanmasından 30 dakika önce uygulanmaya başlanan ve 11 gün boyunca oral yoldan günlük 1, 3, 9 mg/kg dozlarda uygulanan atorvastatinin etkilerinin radyografik ve makroskobik görüntüler ile yapılan değerlendirilmesinde, alveol kemiği kaybını %47 oranında azalttığı ve kemik dansitesini %48 oranında arttırdığı gösterilmiştir (Goes ve ark., 2010). Nassar ve ark. (2009) tarafından sıçanlarda siklosporin ve ligatür ile indüklenen alveol kemiği kaybının tedavisinde simvastatinin etkinliğinin değerlendirildiği çalışmada, siklosporin sonucu oluşan alveol kemiği kaybının simvastatin uygulaması ile engellenebildiği, ayrıca IL-1 β ve PGE₂ üretiminde

azalma olduğu açıklanmıştır. Lovastatin ile antiinflamatuvar ilaç olduğu bilinen indometazinin karşılaştırıldığı bir çalışmada statinin indometazine eşit derecede antiinflamatuvar etki gösterdiği, ayrıca pravastatin ve simvastatinin de lovastatine benzer ölçülerde antiinflamatuvar etkisi olduğu saptanmıştır (Diomedea ve ark. 2001).

2.1.6. Statinler ve Periodontal Hastalık İlişkisi Üzerine Klinik ve Epidemiyolojik Yaklaşımlar

Kronik periodontitisli 60 hasta üzerinde yapılan klinik bir çalışmada, hastalar sadece diştaşı temizliği ve kök yüzeyi düzleştirilmesi (SRP) yapılan grup ve SRP'ye ek olarak dişeti oluğu içerisinde 1,2 mg lokal simvastatin uygulanan grup olarak 2'ye ayrılmıştır. 1., 2., 4., ve 6. aylarda sulkus kanama indeks skoru, sondalanabilir cep derinliği, klinik ataşman seviyesi ve 6. ayda radyografik olarak var olan kemik içi defektler kaydedilmiştir. SRP'ye ek olarak dişeti oluğu içerisinde 1,2 mg lokal simvastatin uygulanan grupta 6 ay sonunda kontrol grubuna göre daha az sulkus kanama indeks skoru ve sondalanabilir cep derinliği ile radyografik olarak kemik içi defektlerde daha fazla kemik dolumu ve klinik ataşman seviyesinde kazanç gösterilmiştir (Pradeep ve Thorat, 2010). 38 kronik periodontitisli birey arasında yapılan klinik bir çalışmada, hastalar sistemik olarak 20 mg atorvastatin uygulanan ve plasebo uygulanan grup olarak 2'ye ayrılmıştır. Gruplara ayrılmadan önce tüm hastalara SRP uygulanmıştır. Çalışma başlangıcında ve 3. ayda klinik olarak yapılan periodontal değerlendirmede dişlerdeki mobilite, sondalanabilir cep derinliği, dişeti çekilmesi, ataşman kaybı, sondalamada kanama, diş kaybı ve plak düzeyi (her iki haftada bir) kaydedilmiştir. Ayrıca radyografik olarak mine-sement sınırı ile alveol kemiği kreti (MSS-AKK), alveol kemiği yoğunluğu ve kansellöz kemik mineral yoğunluğu değerlendirilmiştir. Çalışma sonunda kontrol grubu ile kıyaslandığında atorvastatin grubunda sadece mobilite ve MSS-AKK arası mesafedeki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Diğer parametreler açısından periodontal değerlendirmede iki grup arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (Fajardo ve ark., 2010).

20 hiperlipidemi teşhisi konmuş kronik periodontitisli hasta ile yapılan klinik bir çalışmada, periodontal tedavi uygulanmadan atorvastatin kullanımı ile 3 ay sonunda plak, gingival ve sondalamada kanama indeks değerleri ile serum lipid seviyesinde

istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gösterilmiştir (Fentoğlu ve ark., 2010). Simvastatinin IL-6, TNF- α , kemik alkalin fosfataz (BAP), osteokalsin (OCL) ve kollajen I karboksiterminal telopeptid (CTX) üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, 3 aylık simvastatin tedavisi sonucunda BAP ve OCL seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülürken, CTX seviyesinde anlamlı bir değişiklik olmadığı saptanmıştır. Ayrıca simvastatinin TNF- α seviyesinde anlamlı bir azalmaya neden olduğu, ancak IL-6 seviyesinde benzer bir azalmanın görülmediği rapor edilmiştir (Tıkız ve ark., 2004)

Statin grubu ilaçların periodonsiyum üzerine etkileri ve sonuçlarının değerlendirildiği epidemiyolojik çalışmalar da mevcuttur. 40-65 yaşlarında 1021 kronik periodontitisli bireyin 7,1 yıl izlendiği bir çalışmada, düzenli olarak statin kullanan hastalarda anlamlı bir şekilde diş kaybının daha az görüldüğü bildirilmiştir (Cunha-Cruz ve ark., 2007). 12631 kronik periodontitisli birey arasında yapılan epidemiyolojik bir çalışmada, statin kullanımı ile diş kaybı arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Ancak araştırmacılar bu sonucu, hastaların tütün kullanımının kontrol edilememesine, sistemik durumlarındaki değişmeye, buna bağlı olarak kullanılan ilaçlara ve çalışma süresinde hastaların bazılarında kullanılan statin dozunun değiştirilmesine bağlamışlardır (Saver ve ark., 2007). 40 yaş ve üzeri kronik periodontitis teşhisi konmuş 100 bireyde lokal simvastatin uygulamasının yapıldığı ve yapılmadığı grupların karşılaştırıldığı bir çalışmada, simvastatin uygulanan grupta periodontal inflamasyon belirtilerinin uygulanmayan gruba göre daha az görüldüğü rapor edilmiştir (Lindy ve ark., 2008). 40-69 yaşlarında, sigara kullanmayan, diabetes mellitus ve romatoid artrit gibi hastalıkları bulunmayan, 4 mm ve üzeri sondalanabilir cep derinliği olan 2032 periodontitisli bireyde yapılan başka bir epidemiyolojik çalışmada, periodontal infeksiyonun görülmesi ve yaygınlığı ile statin kullanımı arasında negatif bir ilişki bulunmuştur. Bu yararlı etkilerin sadece mikrobiyal dental biofilm ve gingival kanaması olan hastalarda görüldüğü, mikrobiyal dental biofilm ve gingival kanama görülmeyen hastalarda statinlerin derin periodontal cep varlığı ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Saxlin ve ark., 2009).

2.1.7. Statinlerin Yan Etkileri

Statinler genellikle iyi tolere edilebilen ilaçlardır. Statinlerle ilgili en sık karşılaşılan yan etkilerin hepatotoksisite ve miyopati olduğu bildirilmiştir. Statine bağlı karaciğer bozukluğunun ilerlemesinin nadir görüldüğü ve asemptomatik transaminaz yüksekliği ile genellikle hafif şiddette seyrettiği bildirilmiştir. Transaminaz yüksekliğinin dozun düşürülmesi ile genellikle geri dönüşümlü olduğu da belirtilmiştir (Stancu ve Sima, 2001). Aynı şekilde çizgili kas hücrelerindeki ağrı ve zayıflığın yüksek kreatin kinaz seviyesi ile ilişkili olduğu ve ilaç alımının durdurulması ile semptomların gerilediği açıklanmıştır (Stancu ve Sima, 2001; Maron ve ark., 2000).

2.2. VASKÜLER ENDOTELYAL BÜYÜME FAKTÖRÜ

1983 yılında Senger ve ark. tarafından kobaylarda damar geçirgenliğini arttıran bir protein ayrıştırılarak bu proteine vasküler permeabilite faktörü (VPF) ismi verilmiştir. 1989 yılında Ferrara ve Henzel tarafından sığır hipofiz foliküler hücrelerinden elde edilmiş endotelial hücreye özgü bir mitojen bulunarak, bu protein VEBF olarak isimlendirilmiştir. VEBF ve VPF iki ayrı yapı olarak düşünülürken, Connolly ve ark. (1989) tarafından aynı protein oldukları gösterilmiştir.

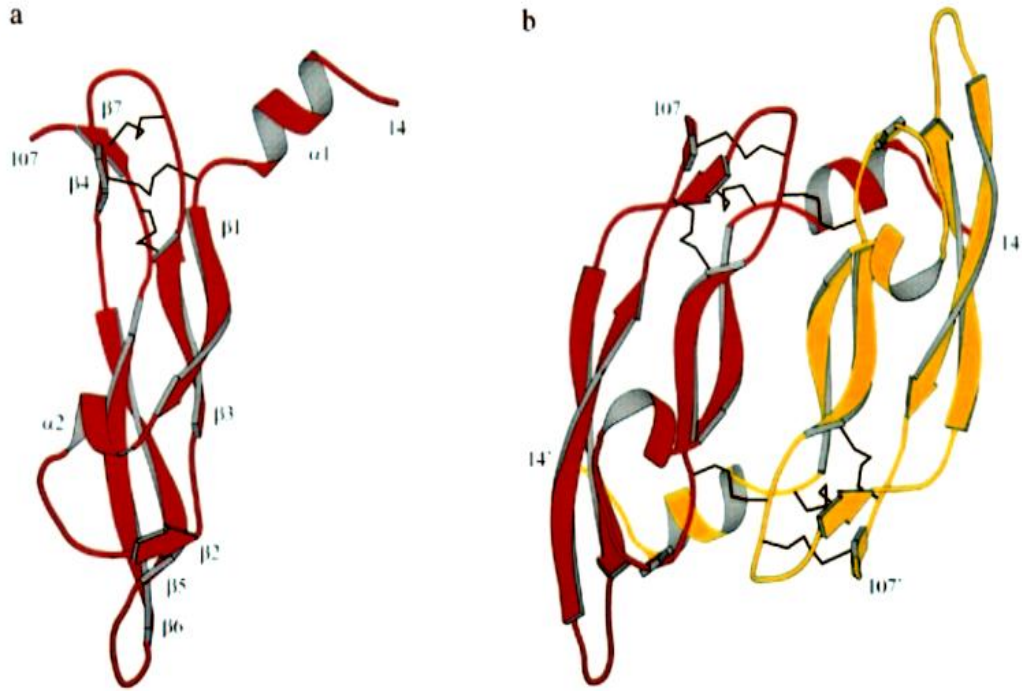
VEBF, hem sağlıklı hem de patolojik durumlarda birçok hücreden ekspresyon edilen ve özellikle endotelial hücreler için özgül etkilere sahip olan multifonksiyonel bir büyüme faktörüdür. VEBF; anjiyogenezis ve lenfanjiyogenezisi düzenleyen, mikrovasküler geçirgenliği arttıran, endotelial hücre büyümesi ve farklılaşmasını stimüle eden, apoptozisini engelleyerek hücre devamlılığını sağlayan, proteolitik enzimlerin ekspresyonunu, endotelial hücrelerin ve monositlerin migrasyonunu indükleyen, osteoblastların farklılaşmasını ve proliferasyonunu uyaran anjiyogenik bir medyatördür. Bu özellikleriyle menstural siklus, hamilelik, yara iyileşmesi gibi fizyolojik ve diabetes mellitus, romatoid artirit, kanser gibi patolojik olaylarda önemli rol oynamaktadır (Kim ve ark. 1993; Folkman 1995; Ferrara ve Davis-Smyth, 1997).

VEBF'nin vasküler permeabiliteyi ve anjiyogenezisi arttırmasına bağlı olarak, yıkım ve iyileşme dönemlerindeki etkisini gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Periodontal hastalığı bulunan bireylerle periodontal açıdan sağlıklı bireylerin

karşılaştırıldığı klinik çalışmada, VEBF ekspresyonunun hem periodontal dokunun remodelasyonu hem de doku yıkımıyla ilişkili olabileceği gösterilmiştir (Keleş ve ark. 2010). Aynı araştırmacı grubu tarafından yapılan deneysel çalışmada, VEBF ekspresyonunun periodontal hastalığın yıkım döneminden ziyade, iyileşme dönemiyle ilişkili olduğu bildirilmiştir (Çetinkaya ve ark. 2007).

VEBF'nin hem anjiyogenik bir faktör, hem de permeabiliteyi arttıran bir glikoprotein olduğu tespit edilmiştir (Keck ve ark., 1989; Gospodarowicz ve ark., 1989; Ferrara ve Davis-Smyth, 1997). VEBF'nin endotelial hücreler için kemotaktik olduğu ve mitojenik aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Yeni kan damarı oluşumu için aktif anjiyogenetik faktörler, endotelial hücrelerden MMP bağımlı yol ile MMP'nin ve plazminojen bağımlı yol ile proteolitik yıkımda gerekli olan plazminojen aktivatörlerinin salınmasına neden olmaktadır. Böylece damarların bazal membranları yıkılmakta ve endotelial hücreler doku içerisine ilerleyerek yeni damar oluşumu sağlamaktadır (Hyder ve ark., 1996; Ferrara ve Davis-Smyth, 1997; Rousseau ve ark., 1997). VEBF'nin fibroblast, osteoblast, makrofaj, nötrofil, düz kas hücreleri ve T lenfositlerini içeren bir çok hücre tipinden salgılandığı ve bir çok büyüme faktörü ve sitokin tarafından ekspresyonunun düzenlendiği gösterilmiştir (Tokuda ve ark., 2001; Li ve ark., 1995; Brogi ve ark., 1994; Ito ve ark., 2007; Pertovaara ve ark., 1994; McLaren ve ark., 1996; Taichman ve ark., 1997; Webb ve ark., 1998; Namiki ve ark., 1995; Freeman ve ark., 1995).

Trombosit kaynaklı büyüme faktörleri süperailisinin önemli bir üyesi olan VEBF, heparin-bağlayan glikoprotein yapıda olup, özellikle vasküler endotelial hücreler için özgül etkilere sahiptir. VEBF'nin bütün alt grupları aynı homolog domain içermektedir. Kor bölgesinde sistin düğüm motifi bulunduran VEBF, anti paralel β -tabakaları olarak organize olmuş monomerlerin iki adet disülfid bağı ile birleşerek oluşturdukları dimerik yapıdan meydana gelmektedir (Neufeld ve ark., 1999; Ortega ve ark., 1999; Hoeben ve ark., 2004) [Şekil 4].



Şekil 4. (a)VEBF monomeri, (b) 2 disülfid bağıyla birleşmiş VEBF monomerlerinin oluşturduğu temsili VEBF molekülü (Hoeben ve ark., 2004'ten alıntıdır.)

VEBF'nin günümüze kadar tanımlanmış olan 7 alt grubu bulunmaktadır. Bunlar VEBF-A, VEBF-B, VEBF-C, VEBF-D, VEBF-E, VEBF-F ve plasental büyüme faktörü (PLGF)'dür. Human-VEBF olarak da bilinen VEBF-A, ailenin predominant formudur (Bren, 2007).

VEBF-A: Human VEBF olarak da bilinen VEBF-A, 34-45 kDA molekül ağırlığına sahip disülfid bağlarıyla birleşmiş dimerik bir glikoproteindir. Bilinen en güçlü pro-angiogenik proteindir. VEBF-A geni kromozom 6p21.3 bölgesinde kodlanmıştır. VEBF-A geni 8 eksondan oluşur ve bugüne kadar bilinen 7 izoformu vardır. Bu izoformlar VEBF₁₂₁, VEBF₁₄₅, VEBF₁₄₈, VEBF₁₆₅, VEBF₁₈₃, VEBF₁₈₉ ve VEBF₂₀₆ aminoasitli formlarıdır (Tischer ve ark., 1991; Poltorak ve ark.,1997; Neufeld ve ark., 1999; Hoeben ve ark., 2004). İzoformların reseptör bağlama kapasiteleri farklı olmasının yanında çözünebilirlikleri de farklıdır (Hoeben ve ark., 2004). VEBF₁₆₅, VEBF-A'nın en fazla bulunan izoformudur ve zayıf asidik bir polipeptid olan VEBF₁₂₁ hariç bütün izoformlar heparine bağlanmaktadır. Tüm izoformların bir sinyal dizisi olmasına rağmen sadece VEBF₁₂₁, VEBF₁₄₅, VEBF₁₆₅ salgılandıklarında kolaylıkla difüze olabilir. Heparini güçlü bir şekilde bağlayabilen VEBF₁₈₉ ve VEBF₂₀₆,

salgılandığı halde ekstrasellüler matrikste kalırlar ve kolayca tespit edilemezler (Zachary, 1998).

14 kronik periodontitisli, 6 generalize agresif periodontitisli ve 7 periodontal açıdan sağlıklı bireyden alınan 27 dişeti örneğinde yapılan histolojik ve immünohistokimyasal analiz sonucunda özellikle agresif periodontitis grubunda olmak üzere tüm periodontitisli bireylerde kontrol grubuna göre VEBF düzeyinin yüksek seviyelerde bulunduğu rapor edilmiştir (Artese ve ark., 2010). Kronik periodontitisi bulunan 280 bireyde yapılan bir çalışmada, periodontal açıdan sağlıklı bireylere göre periodontitisli bireylerde MMP-1, MMP-3, MMP-9, COX-2 ve VEBF seviyelerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artmış olduğu belirtilmiştir (Loo ve ark., 2011). Pradeep ve ark. (2011) tarafından yapılan bir çalışmada, yaş ve cinsiyet açısından uyumlu 30 birey sağlıklı, plağa bağlı gingivitisli ve kronik periodontitisli olmak üzere 3 gruba ayrılmıştır. Deneklerden alınan serum ve dişeti oluğu sıvısı (DOS) örneklerinde yapılan ELISA analizinde VEBF seviyesinin periodontitis grubunda en yüksek ve sağlıklı grupta en düşük olduğu bildirilmiştir. Ayrıca kronik periodontitisi bulunan bireylerden cerrahi olmayan periodontal tedaviden 6-8 hafta sonra alınan serum ve DOS örneklerinde VEBF seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma olduğu saptanmıştır.

2.3. MATRİKS METALLOPROTEİNAZLAR

Mikroorganizmaların dokuya geçişi ile sitotoksik etkileri bulunan bakteriyel enzim ve metabolik artıklar periodontal dokularda pek çok biyolojik olayı başlatmaktadır. Mikroorganizma ve ürünlerinin, vücut savunma sisteminin kapasitesini aşması durumunda periodontal dokularda yıkım meydana gelmektedir. Direkt veya indirekt doku yıkımında pek çok biyokimyasal molekül rol oynamaktadır. İndirekt yolla gerçekleşen yıkımda konak hücrelerinden salınan enzimler, periodontal hastalık sürecinde hücreler arası yapıda yıkıma neden olmaktadır. Bu enzimler içerisinde MMP'ler önemli bir grubu oluşturmaktadır.

MMP'ler, hücreler arası matriks protein bileşenlerini yıkabilen ve sinyal proteinlerini parçalayan Zn^{++} ve Ca^{++} 'a bağımlı proteolitik endopeptidaz ailesi üyesidir

(Smith ve ark., 2002). Şekil 5'te MMP tipleri gösterildi. MMP'ler; monosit/makrofajlar, lenfositler, nötrofiller, fibroblastlar, epitel, endotel hücreleri, osteoblastlar gibi birçok hücreden eksprese edilirler (Birkedal-Hansen ve ark., 1993; Nagase ve Woessner, 1999; Galis ve Khatri, 2002). Organizmada fizyolojik olayların sürdürülmesinde ve hücreler arası yapının dengesinin korunmasında, MMP aktivitesi ile MMP'lerin doku inhibitörleri (Tissue Inhibitor of Metalloproteinases, TIMP) arasında denge olması gerekmektedir (Lambert ve ark. 2004). MMP'ler ve TIMP'lar normal dokularda düşük düzeyde eksprese edilirler ve birçok biyolojik süreçte rol oynarlar. Bunlar arasında kemik dokunun yenilenmesi, yara iyileşmesi, inflamasyon, apoptozis, immün cevap gelişimi sayılabilir (Nagase ve Woessner, 1999). MMP ekspresyonu, çeşitli fizyolojik ve patolojik koşullarda gelişen dokunun yeniden modellenmesi sırasında değişir (Beaudeau ve ark., 2004). Bu sırada MMP'lerin üretimi TIMP'ların üretimini aşabilir. MMP'ler ve TIMP'lar arasındaki denge MMP aktivitesi lehine bozulduğunda; periodontal dokuların hücrelerarası matriksinin kontrolsüz olarak yıkılmasına neden olmaktadır (Nagase ve Woessner 1999). Bu bulguyu destekler şekilde, periodontitisli bireylerden alınan dişeti ve DOS örneklerinde MMP-1, 2, 3 ve 9 seviyelerinin sağlıklı deneklere göre anlamlı düzeyde artmış olduğu, TIMP-1 ve 2 seviyelerinin anlamlı düzeyde azalmış olduğu ve cerrahi periodontal tedavi sonrası tüm MMP'lerde anlamlı bir azalmanın olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca periodontitisli bireylerden alınan örneklerde aktif MMP-9 seviyesinin diğer MMP'lere göre daha yüksek oranda bulunduğu saptanmıştır (Soell ve ark., 2002). Mäkelä ve ark. (1994) tarafından yapılan bir çalışmada, periodontitisli bireylerden alınan DOS örneklerinde MMP-9 seviyesinin sağlıklı deneklere göre artmış düzeyde bulunduğu ve faz I periodontal tedavi sonrası bu enzim seviyesinde azalma görüldüğü açıklanmıştır. Benzer şekilde kronik periodontitisli bireylerin DOS örneklerinde MMP-8 ve MMP-9 seviyelerinin kontrol grubuna göre artmış düzeyde bulunduğu rapor edilmiştir. Ayrıca uygun yapılan periodontal tedavi sonucunda her iki grupta da MMP-8 ve MMP-9 seviyesinde anlamlı bir azalma olduğu belirtilmiştir (Marcaccini ve ark. 2010). Kronik periodontitisi bulunan 13 birey ile periodontal açıdan sağlıklı 11 bireyden alınan DOS örneklerinde MMP-9 seviyesinin periodontitisli bireylerde artış gösterdiği bildirilmiştir (Poza ve ark., 2005).

MMP TİPLERİ VE SUBSTRATLARI

MMP	ALTERNATİF İSİM	ECM SUBSTRATLARI	MATRİKS DIŞI SUBSTRATLAR
MMP-1	Kollajenaz-1	Kollajen I/II/III/VII/X/XI, Jelatin, Fibronektin, Laminin, Vitronektin	Perlekan, IGFBP-2/3, α 1-AC, ProTNF- α , α 2-MG, α 1-PI
MMP-2	Jelatinaz A	Kollajen I/III/IV/V/VII/X/XI, Jelatin, Elastin, Fibronektin, Laminin, Vitronektin	IGFBP-3/5, TGF- β , TGF- β 2, IL-1 β , MCP-3, α 1-AC, TNF- α , α 1-PI
MMP-3	Stromelisin-1	Kollajen III/IV/V/VII/IX/X/XI, Jelatin, Elastin, Fibronektin, Laminin, Vitronektin	Perlekan, IGFBP-3, HB-EGF, IL-1 β , α 1-AC, TNF- α , α 2-MG, α 1-PI, Plazminojen
MMP-7	Matrilisin	Kollajen I/IV, Jelatin, Elastin, Fibronektin, Laminin, Vitronektin	B ₄ integrin, HB-EGF, TNF- α , α 1-PI, Plazminojen
MMP-8	Kollajenaz-2	Kollajen I/II/III, Agrekan	α 2-MG, α 1-PI
MMP-9	Jelatinaz B	Kollajen IV/V/XI/XIV, Jelatin, Elastin, Laminin, Vitronektin, Agrekan	TGF- β 2, IL-1 β , α 1-AC, TNF- α , α 2-MG, α 1-PI, IL-2Ra, Plazminojen
MMP-10	Stromelisin-2	Kollajen III/IV/V, Jelatin, Elastin, Fibronektin, Laminin, Agrekan	Tanımlanmamıştır
MMP-11	Stromelisin-3	Tanımlanmamıştır	IGFBP-1, α 2-MG, α 1-PI
MMP-12	Metalloelastaz	Kollajen I/IV, Jelatin, Elastin, Fibronektin, Laminin, Vitronektin, Agrekan, Entaktin	α 2-MG, α 1-PI, Plazminojen
MMP-13	Kollajenez-3	Kollajen I/II/III/VI/IX/X/XIV, Jelatin, Fibronektin, Agrekan	α 2-MG
MMP-14	MT1-MMP	Kollajen I/II/III, Jelatin, Fibronektin, Laminin, Vitronektin, Agrekan, Entaktin	CD44, α 2-MG, α 1-PI, Transglutaminaz
MMP-15	MT2-MMP	Fibronektin, Laminin, Tenaksin, Agrekan, Entaktin	Transglutaminaz

MMP-16	MT3-MMP	Kollajen III, Fibronektin, Jelatin	Transglutaminaz
MMP-17	MT4-MMP	Jelatin	TNF- α , α 2-MG
MMP-18	Kollajenez-4	Kollajen I	Tanımlanmamıştır
MMP-19	RASI	Kollajen I/IV, Fibronektin, Jelatin, Tenaksin, Laminin, Agrekan, Entaktin, COMP	Tanımlanmamıştır
MMP-20	Enamelisin	Kollajen XVIII, Agrekan, Amelogenin, COMP	Tanımlanmamıştır
MMP-21	XMMP	Tanımlanmamıştır	Tanımlanmamıştır
MMP-22	CMMP	Jelatin	Tanımlanmamıştır
MMP-23	CA-MMP	Tanımlanmamıştır	Tanımlanmamıştır
MMP-24	MT5-MMP	Kollajen I, Jelatin, Fibronektin, Laminin	Tanımlanmamıştır
MMP-25	MT6-MMP	Kollajen IV, Jelatin, Fibronektin	Tanımlanmamıştır
MMP-26	Matrilisin-2, Endometaz	Kollajen IV, Jelatin, Fibronektin	α 1-PI
MMP-27	-	Tanımlanmamıştır	Tanımlanmamıştır
MMP-28	Epilisin	Tanımlanmamıştır	Tanımlanmamıştır

Şekil 5. MMP tipleri ve substratları [ECM= hücreler arası matris, COMP= Kartilaj oligomerik matris protein, IGFBP= İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlanma proteini, TGF- β = Transforme edici büyüme faktör- β , HB-EGF= Heparin bağlayan epidermal büyüme faktörü, IL= İnterlökin, α 1-AC= α 1-anti-kimotripsin, TNF- α = Tümör nekrozis faktör- α , α 2-MG= α 2-makroglobülin, α 1-PI= α 1-proteinaz inhibitörü, MCP= Monosit kemoatraktan protein (Lynch ve Matrisian, 2002'den alıntıdır.)]

Statin grubu ilaçlar hiperkolesterolemi tedavisi gören hastalarda sistemik olarak kullanıldığından, deneysel çalışmamızda atorvastatinin periodonsiyum üzerine etkisini araştırmak amacıyla sistemik olarak uygulanması planlandı. Ayrıca, lokal bir hastalık olan periodontal hastalığın tedavisinde atorvastatinin klinik kullanımını açısından etkinliğini değerlendirmek amacıyla lokal olarak da uygulandı.

Bu deneysel çalışmanın amacı, sistemik ve lokal olarak uygulanan atorvastatinin periodontal hastalık oluşum sürecinde ve periodontitis oluşuktan sonraki dönemde mikrobiyal dental biofilm varlığı ve yokluğunda periodonsiyum üzerine olan etkilerinin histomorfometrik analizle incelenmesi ve immünohistokimyasal olarak VEBF ve MMP-9 immünreaktivitesinin değerlendirilmesidir.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Deney Protokolü

Bu deneysel araştırma, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Yerel Hayvan Etik Kurulu tarafından 31.05.2010 tarihinde 2010/23 numarası ile onaylandı. Laboratuvar çalışmalarında hayvan bakımı ve kullanımı için uluslararası etik kurallara uyuldu.

Çalışmamız Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezinde yürütüldü. Çalışmada 110 adet erkek Wistar sıçan kullanıldı. Deney hayvanları 8-10 haftalık, ağırlıkları 180-200 g arasında değişen, sistemik olarak sağlıklı ve daha önce herhangi bir araştırmada kullanılmamış sıçanlar arasından seçildi. Sıçanlar; $22\pm 1^{\circ}\text{C}$ sıcaklık ve %50 nem oranında, 12 saat aydınlık-12 saat karanlık bir ortamda, her bir plastik kafese tek sıçan yerleştirilerek muhafaza edildi ve standart sıçan yemi verilerek beslenme şartları eşit olacak şekilde ayarlandı.

3.2. Deney grupları

Deneysel çalışmanın ilk aşamasında, 110 adet (180-200 g) erkek Wistar sıçan rastgele 11 eşit gruba ayrıldı. Kontrol grubu dışındaki tüm sıçanlarda (100 sıçan) deneysel periodontitis oluşturuldu. Deneysel periodontitis oluşturulacak sıçanlarda, öncelikle 75-100 mg/kg ketamin-HCl'nin intraperitoneal yolla verilmesiyle sistemik anestezi sağlandı. Daha sonra sıçanların sağ ve sol mandibular 1. molar dişlerine 3/0 steril ipek ligatür bağlanıp, 40 gün boyunca bu pozisyonda bırakıldı [Şekil 6]. Böylece mikrobiyal dental biofilm birikiminin ve inflamasyonun indüklenmesiyle deneysel periodontitis oluşturuldu (Keles ve ark. 2005). 40 günlük deneysel periodontitis oluşturma periyodu sonunda yapılan klinik ve radyografik inceleme sonucu, periodontitisli sıçanlarda sağlıklı sıçanlarla kıyaslandığında belirgin alveol kemiği rezorpsiyonu ve ataşman kaybı varlığı izlendi.

Deneysel çalışmanın ikinci aşamasında deneysel periodontitis oluşturulan 100 sıçan, her grupta 10 tane olacak şekilde rastgele 10 gruba ayrıldı. Bu gruplar 3 farklı dönemde (deneysel periodontitis oluşum sürecinde, deneysel periodontitis oluşumunu takiben ligatürün çıkartılıp mikrobiyal dental biofilm birikiminin elimine edildiği ve 40

günlük deneysel periodontitis oluşum sürecini takiben ligatür çıkartılmaksızın mikrobiyal dental biofilm birikiminin devam ettiği dönemlerde), sistemik (oral yolla) ve lokal olarak (ilacın 1. molar bölgesine subperiosteal olarak enjekte edilmesi) atorvastatin¹ uygulanacak şekilde oluşturuldu. Lokal olarak atorvastatin uygulanan grubun kontrolü, karşıt çeneye salin uygulanması ile yapıldı. Sistemik olarak salin uygulanan grup, sistemik olarak atorvastatin uygulanan grubun kontrolü olarak kullanıldı. Gruplardan biri herhangi bir işlem uygulanmayarak sağlıklı kontrol grubu olarak değerlendirildi.

Atorvastatin salin solüsyonunda çözüldükten sonra sistemik ve lokal olarak uygulandı (Vaziri ve ark., 2007; Goes ve ark., 2010). 5 mg/kg doz atorvastatin, 0,5 ml salin solüsyonu içerisinde çözülerek özel hazırlanmış yuvarlak uçlu, eğimli, metal besleme iğnesi (feeding needle) yardımıyla oral yolla uygulandı (Goes ve ark., 2010). 0,1 mg/kg doz atorvastatin, 0,05 ml salin solüsyonu içerisinde çözülerek 1. molar diş bölgesine subperiosteal olarak enjekte edildi (Vaziri ve ark., 2007). Sistemik ve lokal olarak uygulanan atorvastatin-salin çözeltisi, öncesinde vortex² cihazı kullanılarak karıştırılıp homojenize edildi.

Deney grupları aşağıdaki gibi oluşturuldu:

1.grup: Hiçbir işlem uygulanmayan sağlıklı kontrol grubu (negatif kontrol)

2.grup: Deneysel periodontitis grubu

3.grup: Deneysel periodontitis oluşum sürecinde (40 gün) oral yolla 5 mg/kg atorvastatin uygulanan grup

4.grup: Deneysel periodontitis oluşum sürecinde (40 gün) oral yolla salin uygulanan grup

5.grup: Deneysel periodontitis oluşum sürecinde (40 gün) sağ alt çene 1. molar diş bölgesine lokal olarak 0,1 mg/kg atorvastatin uygulanan grup

6.grup: Deneysel periodontitis oluşum sürecinde (40 gün) sol alt çene 1. molar diş bölgesine lokal salin uygulanan grup

7.grup: Deneysel periodontitis oluşturulduktan sonra ligatürü çıkartılan ve 40 gün süreyle oral yolla 5 mg/kg atorvastatin uygulanan grup

¹ Sanovel İlaç San. ve Tic. A.Ş., İstanbul

² VELP Scientifica ZX3, İtalya

8.grup: Deneysel periodontitis oluşturulduktan sonra ligatürü çıkartılan ve 40 gün süreyle oral yolla salin uygulanan grup

9.grup: Deneysel periodontitis oluşturulduktan sonra ligatürü çıkartılan ve 40 gün süreyle sağ alt çene 1. molar diş bölgesine lokal olarak 0,1 mg/kg atorvastatin uygulanan grup

10.grup: Deneysel periodontitis oluşturulduktan sonra ligatürü çıkartılan ve 40 gün süreyle sol alt çene 1. molar diş bölgesine lokal salin uygulanan grup

11.grup: Deneysel periodontitis oluşturulduktan sonra ligatürü çıkartılmayan ve 40 gün süreyle oral yolla 5 mg/kg atorvastatin uygulanan grup

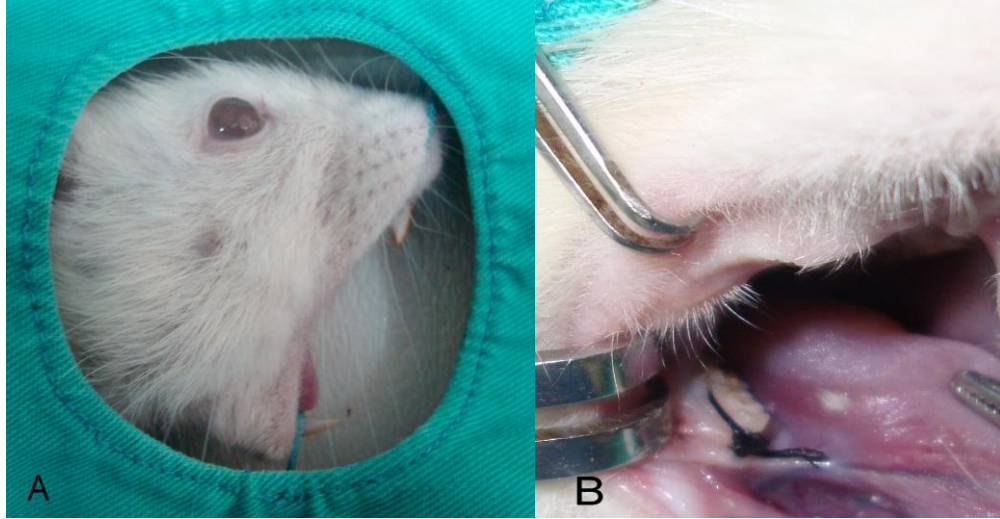
12.grup: Deneysel periodontitis oluşturulduktan sonra ligatürü çıkartılmayan ve 40 gün süreyle oral yolla salin uygulanan grup

13.grup: Deneysel periodontitis oluşturulduktan sonra ligatürü çıkartılmayan ve 40 gün süreyle sağ alt çene 1. molar diş bölgesine lokal olarak 0,1 mg/kg atorvastatin uygulanan grup

14.grup: Deneysel periodontitis oluşturulduktan sonra ligatürü çıkartılmayan ve 40 gün süreyle sol alt çene 1. molar diş bölgesine lokal salin uygulanan grup

Deneye başlamadan önce ve deney periyodu boyunca her hafta sıçanların ağırlıkları ölçüldü ve kaydedildi. Her ölçümden sonra hayvanların değişen ağırlıklarına göre hassas tartı³ kullanılarak ilacın doz ayarlaması yapıldı. İlaçlar her gün aynı saatte uygulandı. Deney periyodu sonunda sıçanlar dekapitasyon metodu ile sakrifiye edildi.

³ Precisa XB 220A, Dietikon, İsviçre



Şekil 6. Deneysel periodontitis oluşturabilmek amacıyla uygulanan ligatür yerleştirme işlemi
A. Ligatür yerleştirmeden önce sıçanın pozisyonlandırılması
B. Yerleştirilen ligatürün pozisyonu

3.3. Histomorfometrik İnceleme

Sakrifikasyon sonrasında, histomorfometrik ve immünohistokimyasal incelemeler için mandibula kemikleri, 48 saat süreyle %10'luk formalin solüsyonunda bekletildi. Daha sonra örnekler %8'lik formik asitte 14 gün boyunca dekalsifiye edildi. Dekalsifiye işleminin ardından örnekler 12 saat boyunca yıkandı ve rutin histolojik takip işlemlerine geçildi. Takip işlemlerinin ardından dokular parafine gömülerek rotary mikrotom⁴ ile mezio-distal yönde 1. molar dişten itibaren 5µm kalınlığında kesitler alındı. Sistematik rastgele örnekleme ile her 40. kesit alınarak hematoksilen-eosin (HE) ile boyandı. Bu örnekleme yöntemi ile her bir örnekten 10-12 kesit elde edildi. Histolojik takip sonrası elde edilen mezio-distal kesitlerde 1. molar dişlerin periodontal dokularında meydana gelen değişiklikleri göstermek için her örnekten 3 farklı kesitte histometrik ölçümler yapıldı ve bu ölçümlerin aritmetik ortalaması alınarak değerlendirildi. Ölçümler, örnek kesit görüntülerinin mikroskoba⁵ yerleştirilmiş renkli kamera⁶ sayesinde monitöre aktarılmasıyla gerçekleştirildi. Kesitlerin 4x büyütmesinde;

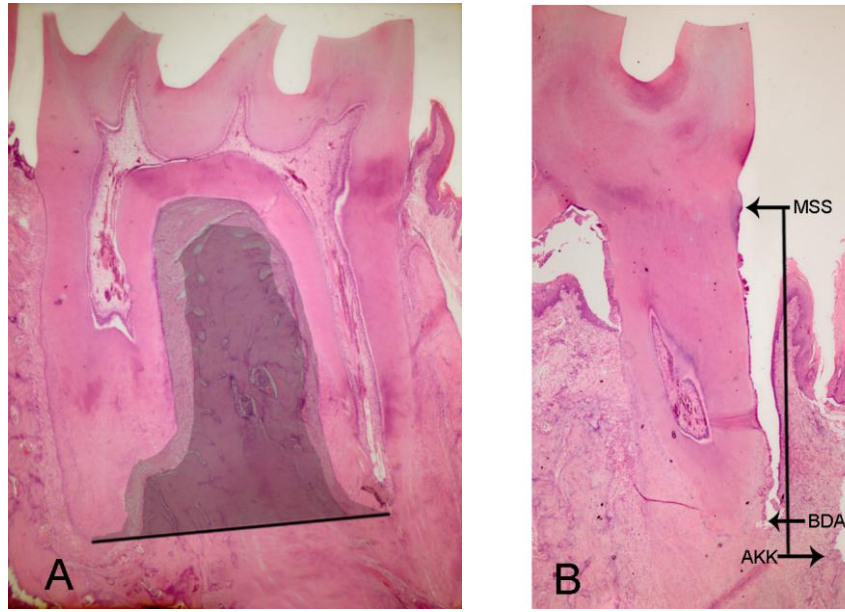
⁴ Leira Mycosystems GmbH, Wetzlar, Almanya

⁵ Olympus BX50, Japonya

⁶ Olympus DP26, Almanya

1. molar dişlerde alveol kemiği alanı, alveol kemiği rezorpsiyonu ve ataşman kaybı değerlendirildi.

Alveol kemiği alanı, furkasyon bölgesinde var olan alveol kemiği alanının toplam furkasyon alanına oranı olarak hesaplandı (Yan ve ark., 2010). Alveol kemiği rezorpsiyonu, 1. molar dişin mezial ve distal bölgelerinde mine-sement sınırı ile alveol kreti arasındaki mesafe ölçülerek belirlendi (Keleş ve ark., 2005). Ataşman kaybı, 1. molar dişin mezial ve distal bölgelerinde mine-sement sınırı ile bağ dokusu ataşmanının sement üzerindeki en kronal noktası arasındaki mesafe olarak ölçüldü (Çetinkaya ve ark., 2007) [Şekil 7].



Şekil 7. Histomorfometrik analiz için referans alınan bölgeler

A. Alveol kemiği alanının hesaplanması (Furkasyon alanı: Açık ve koyu boyalı alanların toplamı, Alveol kemiği alanı: Koyu boyalı alan)

B. Alveol kemiği rezorpsiyonu ve ataşman kaybının lineer olarak ölçülmesi (MSS: Mine-sement sınırı, BDA: Bağ dokusu ataşmanı, AKK: Alveol kemiği kreti)

3.4. İmmünohistokimyasal İnceleme

Her bir doku örneğinden rutin histolojik işlemler için alınan kesitlerin yanında, immünohistokimyasal işlemler için 5µm kalınlığında 2-3 adet kesit pozitif şarjlı lamlara alındı. İmmünohistokimyasal değerlendirmenin yapılabilmesi amacıyla, deparafinizasyon için kesitler bir gece 37 °C ve ertesi gün 1 saat 60 °C olacak şekilde etüvde bekletilerek, 2x15 dakika ksilol'e etkin bırakıldı. Dehidrate edilmesi amacıyla dokular 10'ar dakika

olacak şekilde sırasıyla %100, %96 ve %80' lik alkol serilerinden geçirildi. Dehidrate edilen dokular alkolden arındırılmak için 2x5 dakika boyunca distile sudan geçirildikten sonra, "pap pen"⁷ ile kesit üzerindeki dokuların etrafı çizildi.

Deparafinizasyon ve dehidratasyonu sağlanan kesitlere 15 dakika süreyle hidrojen peroksit uygulandı ve lamlar 3x3 dakika fosfatla tamponlanmış salin (PBS) (pH: 7,4) ile yıkandıktan sonra endojen peroksidaz aktivitesi bloke edildi. Daha sonra, özgün olmayan bağlanmaların engellenmesi amacıyla; VEBF ve MMP-9 primer antikoları için blok solüsyonu⁸ 10 dakika süreyle uygulandı. Bloklama aşamasının ardından kesitler, VEBF⁹ ve MMP-9¹⁰ primer antikolarına etkin bırakılarak 60 dakika bekletildi. Lamlar 60 dakikanın ardından 3x3 dakika PBS ile yıkandıktan sonra "broad spectrum sekonder antikor"¹¹ 10 dakika süreyle uygulanarak, primer antikora bağlanması sağlandı. Son olarak lamlar; 3x3 dakika PBS ile yıkanarak, HRP-streptavidin kompleksi¹² ile işaretlendi. Kromojen olarak 3-amino-9-etil karbazol¹³ uygulanarak gözle görülebilen immün reaksiyonun açığa çıkması sağlandı. Zemin boyamasında; Mayer'in Hematoksileni¹⁴ kullanıldı ve lamlar Ultramount¹⁵ ile kapatıldı. Kesitler Leica DM 4000 kamera ataşmanlı¹⁶ bilgisayar destekli görüntüleme sisteminde, Leica Q Vin 3 programında değerlendirildi ve fotoğraflandı.

VEBF ve MMP-9'un immünohistokimyasal boyanma yoğunluğuna göre periodontal ligamentte VEBF ve MMP-9 immünoaktivitesi değerlendirildi. VEBF+ ve MMP-9+ boyanan hücrelerin, boyanma yoğunlukları 0 (boyanma yok), 1 (zayıf fakat belirlenebilir), 2 (belirgin), 3 (oldukça yoğun) olarak skorlandı. Hücrelerin belirtilen kategorideki yoğunluklarının yüzdesi ilgili yoğunluk kategorisiyle çarpılarak HSCORE hesaplaması yapıldı (Tanrıover ve ark., 2005). Bunun için her bir kesitteki 10 ayrı

⁷ Super PAP Pen, PN IM3580, Becman Coulter Company, Fransa

⁸ Large Volume Anti-Polyvalent HRP Kit, Lot: PHL110922, Thermo Scientific, Fremont, ABD

⁹ VEGF Ab-1, RB-222-P, Lot: 222P1105J, Neomarkers, Thermo Scientific, Fremont, ABD

¹⁰ MMP-9, Ab-5, Mouse Antibody, Neomarkers, Thermo Scientific, Fremont, ABD

¹¹ Large Volume Anti-Polyvalent HRP Kit, Lot: PHL110922, Thermo Scientific, Fremont, ABD

¹² Large Volume Anti-Polyvalent HRP Kit, Lot: PHL110922, Thermo Scientific, Fremont, ABD

¹³ Ultravision Detection System Large Volume AEC Substrate System, Lot: HA21264, Thermo Scientific, Fremont, ABD

¹⁴ Cat:TA-125-MH, Lot: AMH70809, Lab Vision, Fremont, ABD

¹⁵ Cat: TA-125-UG, Lot: VM13518, Lab Vision, Fremont, ABD

¹⁶ DFC280 Plus Camera, Leica, Weetlar, Almanya

alanda 100x'lük objektif büyütmesinde, her yoğunluk kategorisi için hücrelerin yüzdesi ayrı ayrı belirlendi ve ortalamaları alındı. HSCORE şu formüle göre hesaplandı: $HSCORE = \sum P_i (i+1)$. \bar{I} ; hücrelerin boyanma yoğunluk skorunu ve P_i ; ilgili yoğunluk skoruna ait hücrelerin yüzdesini temsil etmektedir.

3.5. İstatistiksel İnceleme

%95 güven sınırı ve %80 power için örnek sayısı her grup için 10 sıçan olarak belirlendi. Verilerin değerlendirilmesi için SPSS 15.0 Paket Veri Programı¹⁷ kullanıldı. Veriler Kolmogorov-Smirnov testi ile normal dağılıma uygunluk yönünden araştırıldı. Normal dağılıma uyduğu tespit edilen verilerin değerlendirilmesinde parametrik testler kullanıldı. Dönem içi karşılaştırmalarda Student's t testi kullanıldı. Gruplar arası karşılaştırmalarda Tek Yönlü Varyans Analizi (One-way ANOVA) ve Post Hoc Tukey testleri kullanıldı.

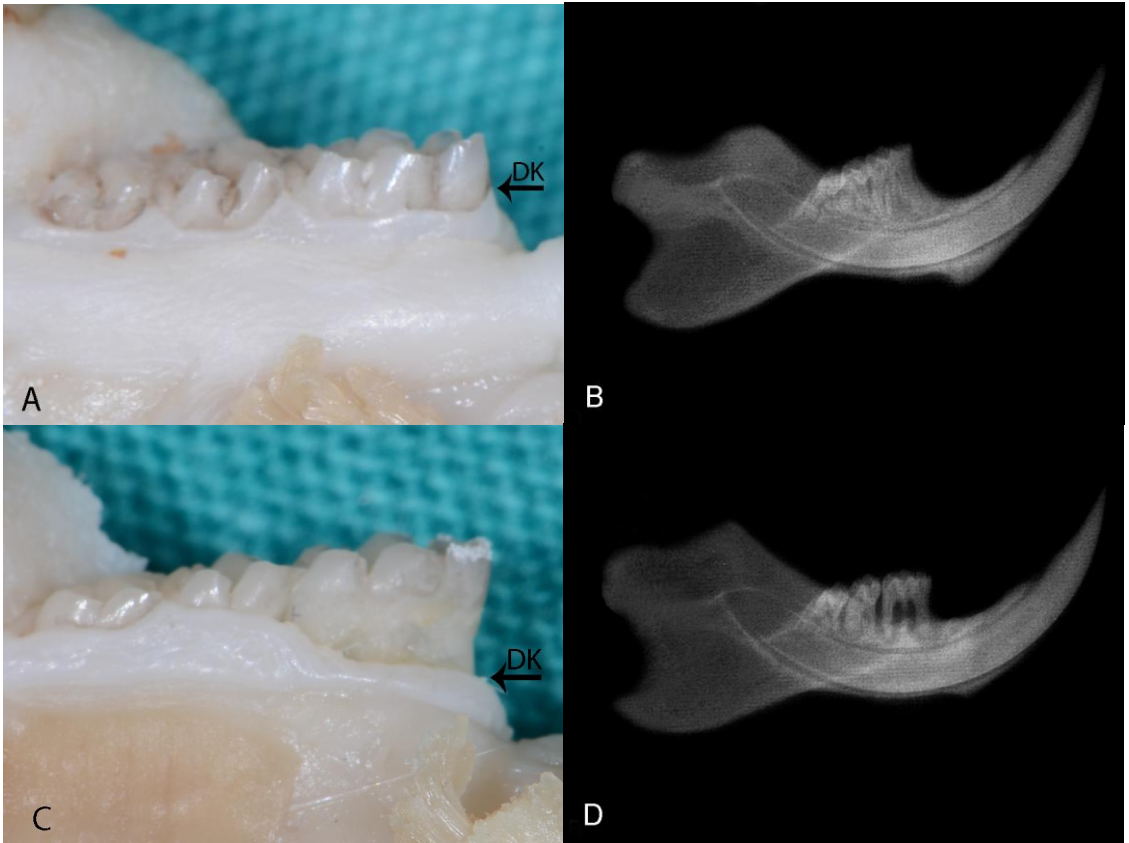
¹⁷ SPSS 15.0 Software Package Programme Inc., Chicago, Illinois, ABD

4. BULGULAR

4.1. Klinik Bulgular

Uygulanan deneysel işlemlerin bütün deney hayvanları tarafından iyi tolere edildiği; deneysel periodontitis oluşturulması, lokal ve sistemik ilaç uygulamaları sonrasında herhangi bir komplikasyon oluşmadığı görüldü.

40 günlük deneysel periodontitis oluşturma periyodu sonunda yapılan klinik ve radyografik inceleme sonucu, periodontitisli sıçanlarda sağlıklı sıçanlarla kıyaslandığında belirgin alveol kemiği rezorpsiyonu ve ataşman kaybı varlığı izlendi. (Şekil 8).



Şekil 8. Sağlıklı ve periodontitisli periodonsiyumun klinik ve radyografik görüntüsü
(DK: Dişeti kenarı)

- A. Sağlıklı periodonsiyumun klinik görüntüsü
- B. Sağlıklı periodonsiyumun radyografik görüntüsü
- C. Deneysel periodontitisli periodonsiyumun klinik görüntüsü
- D. Deneysel periodontitisli periodonsiyumun radyografik görüntüsü

4.2. Histomorfometrik Bulgular

4.2.1. Alveol kemiği alanı bulguları

Furkasyon bölgelerinde var olan alveol kemiği alanının toplam furkasyon bölgesi alanına oranı olarak hesaplanan alveol kemiği alanı (%) bulguları Tablo 1’de verildi [Şekil 9, 10].

Sağlıklı kontrol grubuyla (1. grup) kıyaslandığında, 40 günlük periodontitis grubunda (2. grup) alveol kemiği alanında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görüldü ($P=0,000$).

Atorvastatinin deneysel periodontitis oluşum sürecindeki etkisini saptamak için oluşturulan gruplarda, sistemik (3. grup) ve lokal (5. grup) olarak atorvastatin uygulandığında alveol kemiği alanının deneysel periodontitis grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak fazla olduğu saptandı ($P=0,000$). Sistemik olarak atorvastatin uygulanan grup ile sistemik olarak salın uygulanan grubun (4. grup) ve lokal olarak atorvastatin uygulanan grup ile lokal olarak salın uygulanan grubun (6. grup) karşılaştırılmasında atorvastatin uygulanan gruplarda salın uygulanan gruplara göre daha fazla alveol kemiği alanı olduğu belirlendi ($P=0,000$). Bu dönemde sistemik ve lokal atorvastatin uygulanan gruplar karşılaştırıldığında, lokal atorvastatin uygulanan 5. grup lehine alveol kemiği alanının istatistiksel anlamlı daha fazla olduğu belirlendi ($P=0,010$).

40 günlük deneysel periodontitis oluşturma sürecini takiben ligatürün çıkartılmasıyla mikrobiyal dental biofilm birikiminin kontrol edildiği ve bu dönemde atorvastatinin etkisinin değerlendirildiği gruplarda, sistemik olarak atorvastatin uygulanan grup (7. grup) ile sistemik olarak salın uygulanan grubun (8. grup) ve lokal olarak atorvastatin uygulanan grup (9. grup) ile lokal olarak salın uygulanan grubun (10. grup) karşılaştırılmasında atorvastatin uygulanan gruplarda salın uygulanan gruplara göre daha fazla alveol kemiği alanının olduğu saptandı ($P=0,000$). Bu dönemde sistemik ve lokal atorvastatin uygulanan gruplar karşılaştırıldığında lokal uygulanan 9. grup lehine alveol kemiği alanının istatistiksel anlamlı olarak fazla olduğu belirlendi ($P=0,001$).

40 günlük deneysel periodontitis oluşturma sürecini takiben ligatür çıkartılmaksızın mikrobiyal dental biofilm birikiminin devam ettiği dönemde atorvastatinin etkinliğini değerlendirdiğimiz gruplarda, sistemik olarak atorvastatin

Tablo 1. Deney gruplarının furkasyon bölgelerinde histomorfometrik olarak hesaplanan alveol kemiği alanı (%)

GRUPLAR	ALVEOL KEMİĞİ ALANI
1. Grup	75,27±1,39 ^a
2. Grup	39,95±0,46 ^a
3. Grup	49,61±3,01 ^b
4. Grup	40,33±1,40 ^c
5. Grup	52,5±1,22 ^{bcd}
6. Grup	39,03±1,25 ^d
7. Grup	55,57±1,35
8. Grup	43,69±1,19 ^e
9. Grup	57,92±1,24 ^{ef}
10. Grup	41,88±1,60 ^f
11. Grup	29,05±1,66
12. Grup	22,47±1,83 ^g
13. Grup	32,38±1,02 ^{gh}
14. Grup	23,25±1,53 ^h

Veriler ortalama ± standart sapma olarak verildi. P<0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

^a Gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık var (P=0,000)

^b 2. gruba göre istatistiksel anlamlı farklılık var (P=0,000)

^c 3. gruba göre istatistiksel anlamlı farklılık var (P<0,05)

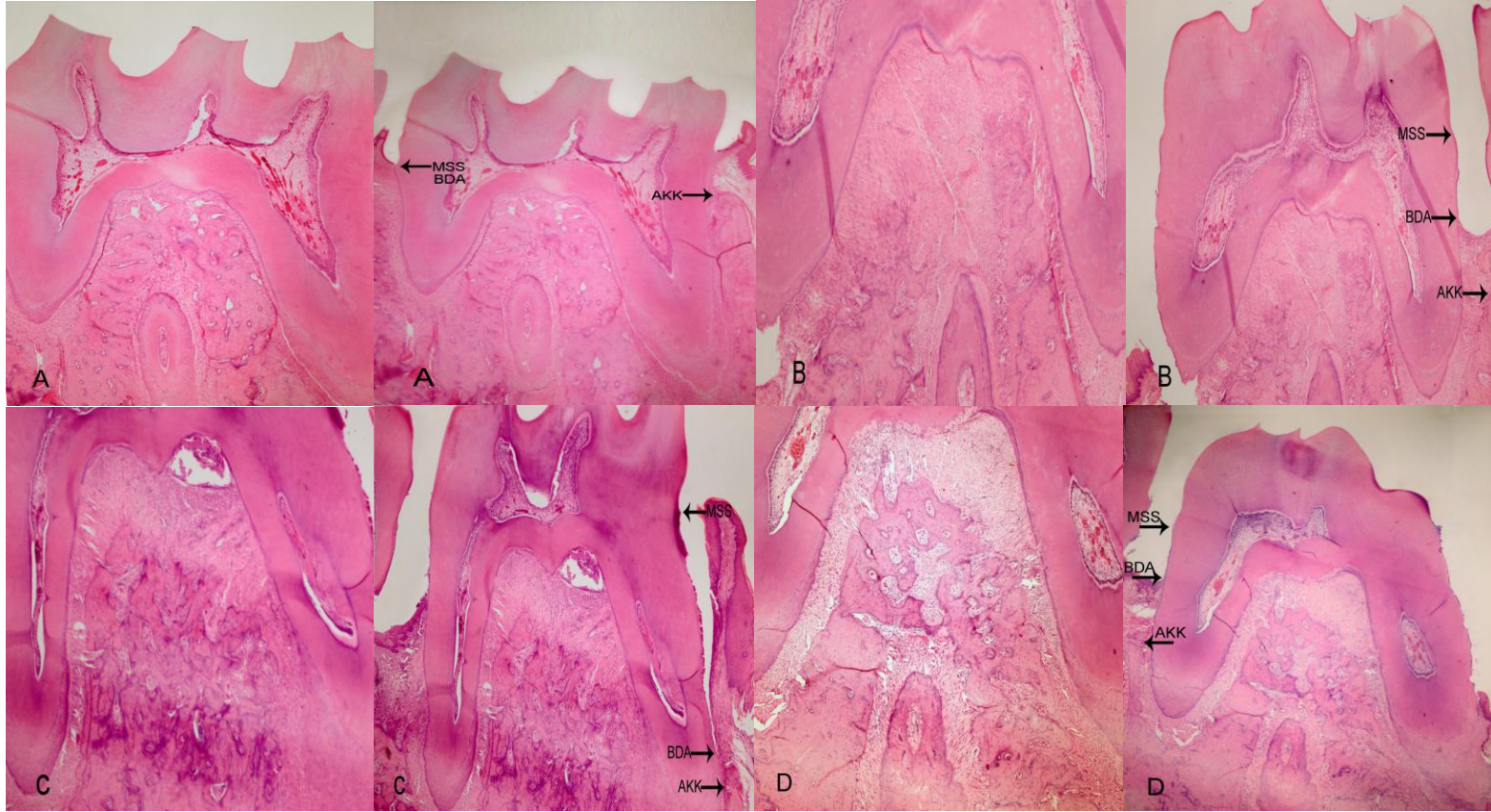
^d Gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık var (P=0,000)

^e 7. gruba göre istatistiksel anlamlı farklılık var (P<0,01)

^f Gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık var (P=0,000)

^g 11. gruba göre istatistiksel anlamlı farklılık var (P=0,000)

^h Gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık var (P=0,000)



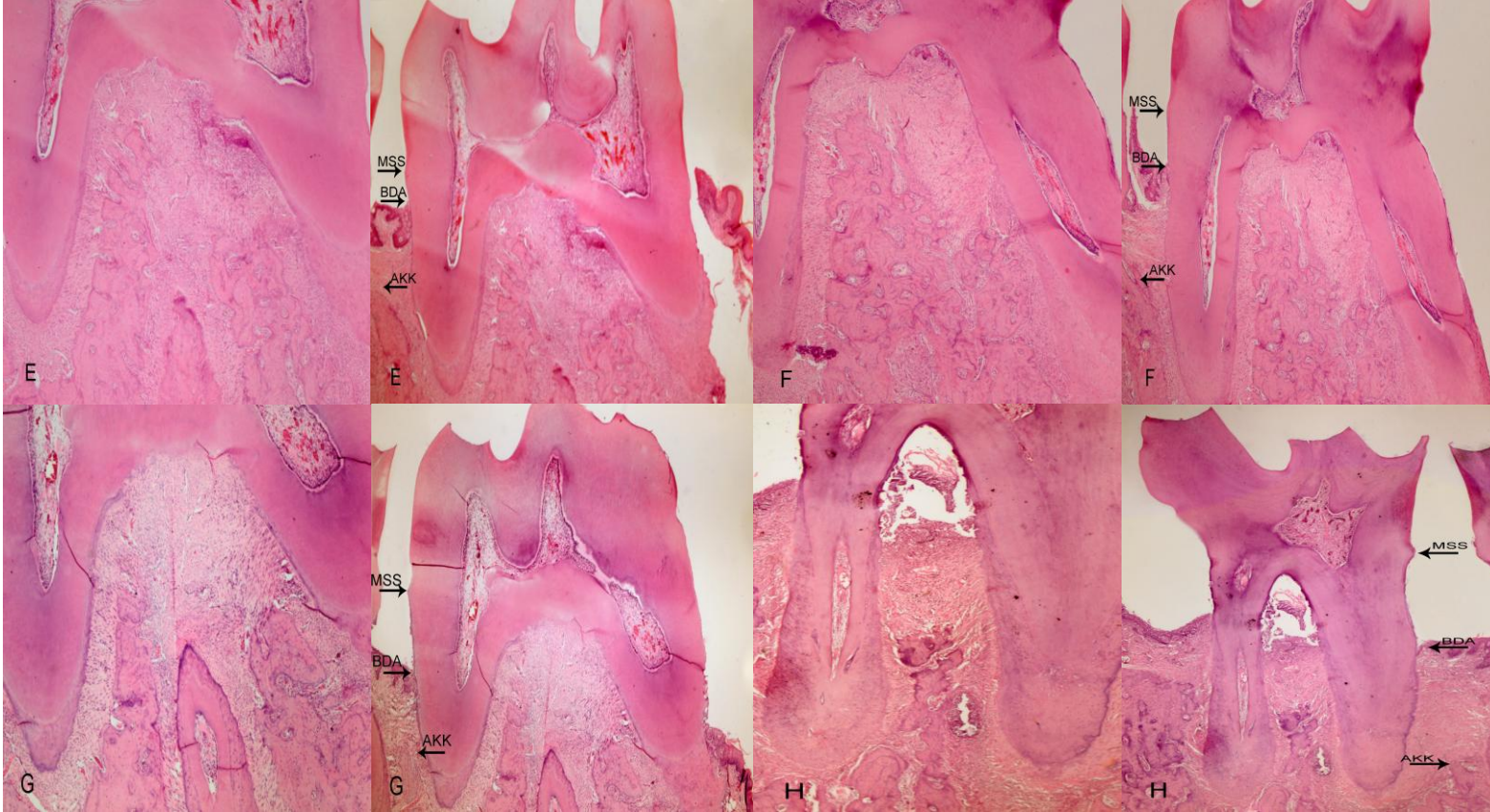
Şekil 9. Meziodistal yönde alınan kesitlerde 1. molar dişe ait furkasyon bölgesi (Magnifikasyon 10x) ve 1. molar diş+periodontal dokularının (Magnifikasyon 4x) histolojik görüntüsü (MSS: Mine-sement sınırı, BDA: Bağ dokusu ataşmanı, AKK: Alveol kemiği kreti)

A. Sağlıklı kontrol grubu (1. grup)

B. Deneysel periodontitis grubu (2. grup)

C. Deneysel periodontitis oluşum sürecinde sistemik olarak atorvastatin uygulanan grup (3. grup)

D. Deneysel periodontitis oluşum sürecinde lokal olarak atorvastatin uygulanan grup (5. grup)



Şekil 10. Meziodistal yönde alınan kesitlerde 1. molar dişe ait furkasyon bölgesi (Magnifikasyon 10x) ve 1. molar diş+periodontal dokularının (Magnifikasyon 4x) histolojik görüntüsü (MSS: Mine-sement sınırı, BDA: Bağ dokusu ataşmanı, AKK: Alveol kemiği kreti)

E. Deneysel periodontitis oluştuğundan sonra ligatürü çıkartılan ve sistemik olarak atorvastatin uygulanan grup (7. grup)

F. Deneysel periodontitis oluştuğundan sonra ligatürü çıkartılan ve lokal olarak atorvastatin uygulanan grup (9. grup)

G. Deneysel periodontitis oluştuğundan sonra ligatürü çıkartılmayan ve sistemik olarak atorvastatin uygulanan grup (11. grup)

H. Deneysel periodontitis oluştuğundan sonra ligatürü çıkartılmayan ve lokal olarak atorvastatin uygulanan grup (13. grup)

uygulanan grup (11. grup) ile sistemik olarak salin uygulanan grubun (12. grup) ve lokal olarak atorvastatin uygulanan grup (13. grup) ile lokal olarak salin uygulanan grubun (14. grup) karşılaştırılmasında, atorvastatin uygulanan gruplarda salin uygulanan gruplara göre daha fazla alveol kemiği alanının olduğu saptandı ($P=0,000$). Bu dönemde sistemik ve lokal atorvastatin uygulanan gruplar karşılaştırıldığında lokal uygulanan 13. grup lehine alveol kemiği alanının istatistiksel anlamlı olarak fazla olduğu belirlendi ($P=0,000$).

Sistemik ve lokal atorvastatin uygulanan gruplarda, kendi kontrol gruplarıyla karşılaştırılarak alveol kemiği alanı kazancı yüzde olarak hesaplandı. Alveol kemiği alanı kazancı açısından deneysel periodontitis oluşum sürecinde, deneysel periodontitis oluşumunu takiben ligatürün çıkartılıp mikrobiyal dental biofilm birikiminin elimine edildiği ve 40 günlük deneysel periodontitis oluşum sürecini takiben ligatür çıkartılmaksızın mikrobiyal dental biofilm birikiminin devam ettiği üç farklı dönemde, sistemik atorvastatin uygulanan 3., 7. ve 11. gruplar arasında ve lokal atorvastatin uygulanan 5., 9. ve 13. gruplar arasında alveol kemiği alanı kazancı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($P>0,05$) [Tablo 4].

4.2.2. Alveol kemiği rezorpsiyonu bulguları

Deney gruplarında histomorfometrik olarak ölçülen lineer alveol kemiği rezorpsiyonu (μm) verileri Tablo 2’de verildi [Şekil 9, 10].

Sağlıklı kontrol grubuyla (1. grup) kıyaslandığında, 40 günlük periodontitis grubunda (2. grup) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde alveol kemiği rezorpsiyonu olduğu görüldü ($P=0,000$).

Atorvastatinin deneysel periodontitis oluşum sürecindeki etkisini saptamak için oluşturulan gruplarda, sistemik (3. grup) ve lokal (5. grup) olarak atorvastatin uygulandığında alveol kemiği rezorpsiyonun deneysel periodontitis grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak daha az olduğu saptandı ($P=0,000$). Sistemik olarak atorvastatin uygulanan grup ile sistemik olarak salin uygulanan grubun (4. grup) ve lokal olarak atorvastatin uygulanan grup ile lokal olarak salin uygulanan grubun (6. grup) karşılaştırılmasında atorvastatin uygulanan gruplarda salin uygulanan gruplara

göre daha az alveol kemiği rezorpsiyonu olduğu saptandı (P=0,000). Bu dönemde sistemik ve lokal atorvastatin uygulanan gruplar karşılaştırıldığında, lokal atorvastatin uygulanan 5. grup lehine alveol kemiği rezorpsiyonunun istatistiksel anlamlı daha az olduğu belirlendi (P=0,000).

40 günlük deneysel periodontitis oluşturma sürecini takiben ligatürün çıkartılmasıyla mikrobiyal dental biofilm birikiminin kontrol edildiği ve bu dönemde atorvastatinin etkisinin değerlendirildiği gruplarda, sistemik olarak atorvastatin uygulanan grup (7. grup) ile sistemik olarak salin uygulanan grubun (8. grup) ve lokal olarak atorvastatin uygulanan grup (9. grup) ile lokal olarak salin uygulanan grubun (10. grup) karşılaştırılmasında atorvastatin uygulanan gruplarda salin uygulanan gruplara göre daha az alveol kemiği rezorpsiyonu olduğu saptandı (P=0,000). Bu dönemde sistemik ve lokal olarak atorvastatin uygulanan gruplar karşılaştırıldığında lokal uygulanan 9. grup lehine alveol kemiği rezorpsiyonunun istatistiksel anlamlı olarak az olduğu belirlendi (P=0,001).

40 günlük deneysel periodontitis oluşturma sürecini takiben ligatür çıkartılmaksızın mikrobiyal dental biofilm birikiminin devam ettiği dönemde atorvastatinin etkinliğini değerlendirdiğimiz gruplarda, sistemik olarak atorvastatin uygulanan grup (11. grup) ile sistemik olarak salin uygulanan grubun (12. grup) ve lokal olarak atorvastatin uygulanan grup (13. grup) ile lokal olarak salin uygulanan grubun (14. grup) karşılaştırılmasında, atorvastatin uygulanan gruplarda salin uygulanan gruplara göre daha az alveol kemiği rezorpsiyonu olduğu belirlendi (P=0,000). Sistemik ve lokal olarak atorvastatin uygulanan gruplar karşılaştırıldığında lokal uygulanan 13. grup lehine alveol kemiği rezorpsiyonunun istatistiksel anlamlı olarak az olduğu belirlendi (P=0,000).

Sistemik ve lokal atorvastatin uygulanan gruplarda, kendi kontrol gruplarıyla karşılaştırılarak alveol kemiği rezorpsiyonunda azalma yüzde olarak hesaplandı. Alveol kemiği rezorpsiyonundaki azalma açısından deneysel periodontitis oluşum sürecinde, deneysel periodontitis oluşumunu takiben ligatürün çıkartılıp mikrobiyal dental biofilm birikiminin elimine edildiği ve 40 günlük deneysel periodontitis oluşum sürecini takiben ligatür çıkartılmaksızın mikrobiyal dental biofilm birikiminin devam ettiği üç farklı dönemde, sistemik atorvastatin uygulanan 3., 7. ve 11. gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık bulunduğu ve 7. gruptaki azalmanın en yüksek, 11. gruptaki azalmanın

Tablo 2. Deney gruplarında histomorfometrik olarak ölçülen alveol kemiği rezorpsiyonu ve ataşman kaybı (μm)

GRUPLAR	ALVEOL KEMİĞİ REZORPSİYONU	ATAŞMAN KAYBI
1. Grup	623,72 \pm 26,49 ^a	292,20 \pm 43,88 ^a
2. Grup	1540,32 \pm 14,32 ^a	1149,83 \pm 62,62 ^a
3. Grup	1245,55 \pm 19,46 ^b	872,70 \pm 121,51 ^b
4. Grup	1542,12 \pm 16,01 ^c	1151,83 \pm 33,76 ^c
5. Grup	1177,77 \pm 18,71 ^{bcd}	803,20 \pm 51,59 ^{bd}
6. Grup	1509,48 \pm 26,83 ^d	1122,67 \pm 79,87 ^d
7. Grup	1044,02 \pm 20,21	607,87 \pm 86,10
8. Grup	1363,80 \pm 26,34 ^e	956,43 \pm 122,52 ^e
9. Grup	1003,30 \pm 24,96 ^{ef}	623,23 \pm 45,68 ^f
10. Grup	1417,00 \pm 35,68 ^f	1104,67 \pm 103,39 ^f
11. Grup	1719,23 \pm 28,93	1312,73 \pm 24,54
12. Grup	1968,10 \pm 51,2 ^g	1471,07 \pm 45,61 ^g
13. Grup	1675,90 \pm 31,72 ^{gh}	1272,07 \pm 44,73 ^{gh}
14. Grup	1945,38 \pm 39,89 ^h	1465,23 \pm 47,53 ^h

Veriler ortalama \pm standart sapma olarak verildi. $P < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi

^a Gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık var ($P=0,000$)

^b 2. gruba göre istatistiksel anlamlı farklılık var ($P=0,000$)

^c 3. gruba göre istatistiksel anlamlı farklılık var ($P=0,000$)

^d Gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık var ($P=0,000$)

^e 7. gruba göre istatistiksel anlamlı farklılık var ($P < 0,01$)

^f Gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık var ($P=0,000$)

^g 11. gruba göre istatistiksel anlamlı farklılık var ($P < 0,05$)

^h Gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık var ($P=0,000$)

en düşük olduğu belirlendi ($P=0,000$). Bu dönemlerde lokal atorvastatin uygulanan 5., 9. ve 13. gruplar arasında alveol kemiği rezorpsiyonunda azalma açısından istatistiksel anlamlı farklılık bulunduğu ve 9. gruptaki azalmanın en yüksek, 13. gruptaki azalmanın en düşük olduğu belirlendi ($P=0,000$) [Tablo 4].

4.2.3. Ataşman kaybı bulguları

Deney gruplarında histomorfometrik olarak ölçülen ataşman kaybı (μm) verileri Tablo 2’de verildi [Şekil 9, 10].

Sağlıklı kontrol grubuyla (1. grup) kıyaslandığında, 40 günlük periodontitis grubunda (2. grup) ataşman kaybının istatistiksel olarak anlamlı düzeyde var olduğu görüldü ($P=0,000$).

Atorvastatinin deneysel periodontitis oluşum sürecindeki etkisini saptamak için oluşturulan gruplarda, sistemik (3. grup) ve lokal (5. grup) olarak atorvastatin uygulandığında ataşman kaybının deneysel periodontitis grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak daha az olduğu belirlendi ($P=0,000$). Sistemik olarak atorvastatin uygulanan grup ile sistemik olarak salin uygulanan grubun (4. grup) ve lokal olarak atorvastatin uygulanan grup ile lokal olarak salin uygulanan grubun (6. grup) karşılaştırılmasında atorvastatin uygulanan gruplarda salin uygulanan gruplara göre ataşman kaybının istatistiksel anlamlı olarak daha az olduğu belirlendi ($P=0,000$). Bu dönemde sistemik ve lokal atorvastatin uygulanan gruplarda ataşman kaybı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($P>0,05$).

40 günlük deneysel periodontitis oluşturma sürecini takiben ligatürün çıkartılmasıyla mikrobiyal dental biofilm birikiminin kontrol edildiği ve bu dönemde atorvastatinin etkisinin değerlendirildiği gruplarda, sistemik olarak atorvastatin uygulanan grup (7. grup) ile sistemik olarak salin uygulanan grubun (8. grup) ve lokal olarak atorvastatin uygulanan grup (9. grup) ile lokal olarak salin uygulanan grubun (10. grup) karşılaştırılmasında atorvastatin uygulanan gruplarda salin uygulanan gruplara göre ataşman kaybının istatistiksel anlamlı olarak daha az olduğu belirlendi ($P=0,000$). Bu dönemde sistemik ve lokal olarak atorvastatin uygulanan gruplar karşılaştırıldığında ataşman kaybı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($P>0,05$).

40 günlük deneysel periodontitis oluşturma sürecini takiben ligatür çıkartılmaksızın mikrobiyal dental biofilm birikiminin devam ettiği dönemde atorvastatinin etkinliğini değerlendirdiğimiz gruplarda, sistemik olarak atorvastatin uygulanan grup ile sistemik olarak salın uygulanan grubun (12. grup) ve lokal olarak atorvastatin uygulanan grup ile lokal olarak salın uygulanan grubun (14. grup) karşılaştırılmasında, atorvastatin uygulanan gruplarda salın uygulanan gruplara göre daha az ataşman kaybı olduğu belirlendi ($P=0,000$). Bu dönemde sistemik (11. grup) ve lokal (13. grup) olarak atorvastatin uygulanan gruplar karşılaştırıldığında lokal uygulanan 13. grup lehine ataşman kaybının istatistiksel anlamlı olarak az olduğu belirlendi ($P=0,025$).

Sistemik ve lokal atorvastatin uygulanan gruplarda, kendi kontrol gruplarıyla karşılaştırılarak ataşman kaybında azalma yüzde olarak hesaplandı. Ataşman kaybındaki azalma açısından deneysel periodontitis oluşum sürecinde, deneysel periodontitis oluşumunu takiben ligatürün çıkartılıp mikrobiyal dental biofilm birikiminin elimine edildiği ve 40 günlük deneysel periodontitis oluşum sürecini takiben ligatür çıkartılmaksızın mikrobiyal dental biofilm birikiminin devam ettiği üç farklı dönemde, sistemik atorvastatin uygulanan 3., 7. ve 11. gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık bulunduğu ve 7. gruptaki azalmanın en yüksek, 11. gruptaki azalmanın en düşük olduğu belirlendi ($P<0,05$). Bu dönemlerde lokal atorvastatin uygulanan 5., 9. ve 13. gruplar arasında ataşman kaybındaki azalma açısından istatistiksel anlamlı farklılık bulunduğu ve 9. gruptaki azalmanın en yüksek, 13. gruptaki azalmanın en düşük olduğu belirlendi ($P<0,05$) [Tablo 4].

4.2.4. VEBF immünreaktivitesi bulguları

Deney gruplarının VEBF HSCORE değerleri (%) Tablo 3’de verildi [Şekil 11].

Sağlıklı kontrol grubuyla (1. grup) kıyaslandığında, 40 günlük periodontitis grubunda (2. grup) VEBF immünreaktivitesinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığı görüldü ($P=0,000$).

Atorvastatinin deneysel periodontitis oluşum sürecindeki etkisini saptamak için oluşturulan gruplarda, sistemik (3. grup) ve lokal (5. grup) olarak atorvastatin uygulandığında VEBF immünreaktivitesinin deneysel periodontitis grubuna göre

istatistiksel anlamlı olarak fazla olduğu saptandı ($P=0,000$). Sistemik olarak atorvastatin uygulanan grup ile sistemik olarak salin uygulanan grubun (4. grup) ve lokal olarak atorvastatin uygulanan grup ile lokal olarak salin uygulanan grubun (6. grup) karşılaştırılmasında atorvastatin uygulanan gruplarda salin uygulanan gruplara göre VEBF immünreaktivitesinin istatistiksel anlamlı olarak fazla olduğu saptandı ($P=0,000$). Bu dönemde sistemik ve lokal atorvastatin uygulanan gruplar karşılaştırıldığında, lokal atorvastatin uygulanan 5. grupta VEBF immünreaktivitesinin istatistiksel anlamlı fazla olduğu belirlendi ($P=0,000$).

40 günlük deneysel periodontitis oluşturma sürecini takiben ligatürün çıkartılmasıyla mikrobiyal dental biofilm birikiminin kontrol edildiği ve bu dönemde atorvastatinin etkisinin değerlendirildiği gruplarda, sistemik olarak atorvastatin uygulanan grup (7. grup) ile sistemik olarak salin uygulanan grubun (8. grup) ve lokal olarak atorvastatin uygulanan grup (9. grup) ile lokal olarak salin uygulanan grubun (10. grup) karşılaştırılmasında atorvastatin uygulanan gruplarda salin uygulanan gruplara göre daha fazla VEBF immünreaktivitesinin olduğu belirlendi ($P=0,000$). Bu dönemde sistemik ve lokal olarak atorvastatin uygulanan gruplar karşılaştırıldığında sistemik uygulanan 7. grupta VEBF immünreaktivitesinin istatistiksel anlamlı olarak daha fazla olduğu belirlendi ($P=0,000$).

40 günlük deneysel periodontitis oluşturma sürecini takiben ligatür çıkartılmaksızın mikrobiyal dental biofilm birikiminin devam ettiği dönemde atorvastatinin etkinliğini değerlendirdiğimiz gruplarda, sistemik olarak atorvastatin uygulanan grup (11. grup) ile sistemik olarak salin uygulanan grubun (12. grup) ve lokal olarak atorvastatin uygulanan grup (13. grup) ile lokal olarak salin uygulanan grubun (14. grup) karşılaştırılmasında, atorvastatin uygulanan gruplarda salin uygulanan gruplara göre daha fazla VEBF immünreaktivitesi olduğu belirlendi ($P=0,000$). Bu dönemde sistemik ve lokal olarak atorvastatin uygulanan gruplar karşılaştırıldığında VEBF immünreaktivitesi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($P>0,05$).

Tablo 3. Deney gruplarının VEBF ve MMP-9 HSCORE değerleri (%)

GRUPLAR	VEBF immünreaktivitesi	MMP-9 immünreaktivitesi
1. Grup	108,87±1,46 ^a	100,52±2,10 ^a
2. Grup	112,28±1,25 ^a	213,15±1,63 ^a
3. Grup	123,33±1,12 ^b	150,41±2,31 ^b
4. Grup	113,37±1,65 ^c	215,28±1,73 ^c
5. Grup	137,39±0,77 ^{bcd}	151,52±2,67 ^{bd}
6. Grup	131,44±0,88 ^d	176,28±1,80 ^d
7. Grup	150,70±1,78	121,26±2,09
8. Grup	120,31±2,02 ^e	156,23±1,62 ^e
9. Grup	144,07±1,46 ^{ef}	105,68±2,09 ^{ef}
10. Grup	134,06±1,52 ^f	109,28±1,37 ^f
11. Grup	128,93±0,93	170,65±1,85
12. Grup	116,13±1,50 ^g	230,69±2,12 ^g
13. Grup	128,72±0,94 ^h	172,70±1,67 ^{gh}
14. Grup	126,23±0,82 ^h	196,44±2,08 ^h

Veriler ortalama ± standart sapma olarak verildi. P<0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi

^a Gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık var (P=0,000)

^b 2. gruba göre istatistiksel anlamlı farklılık var (P=0,000)

^c 3. gruba göre istatistiksel anlamlı farklılık var (P=0,000)

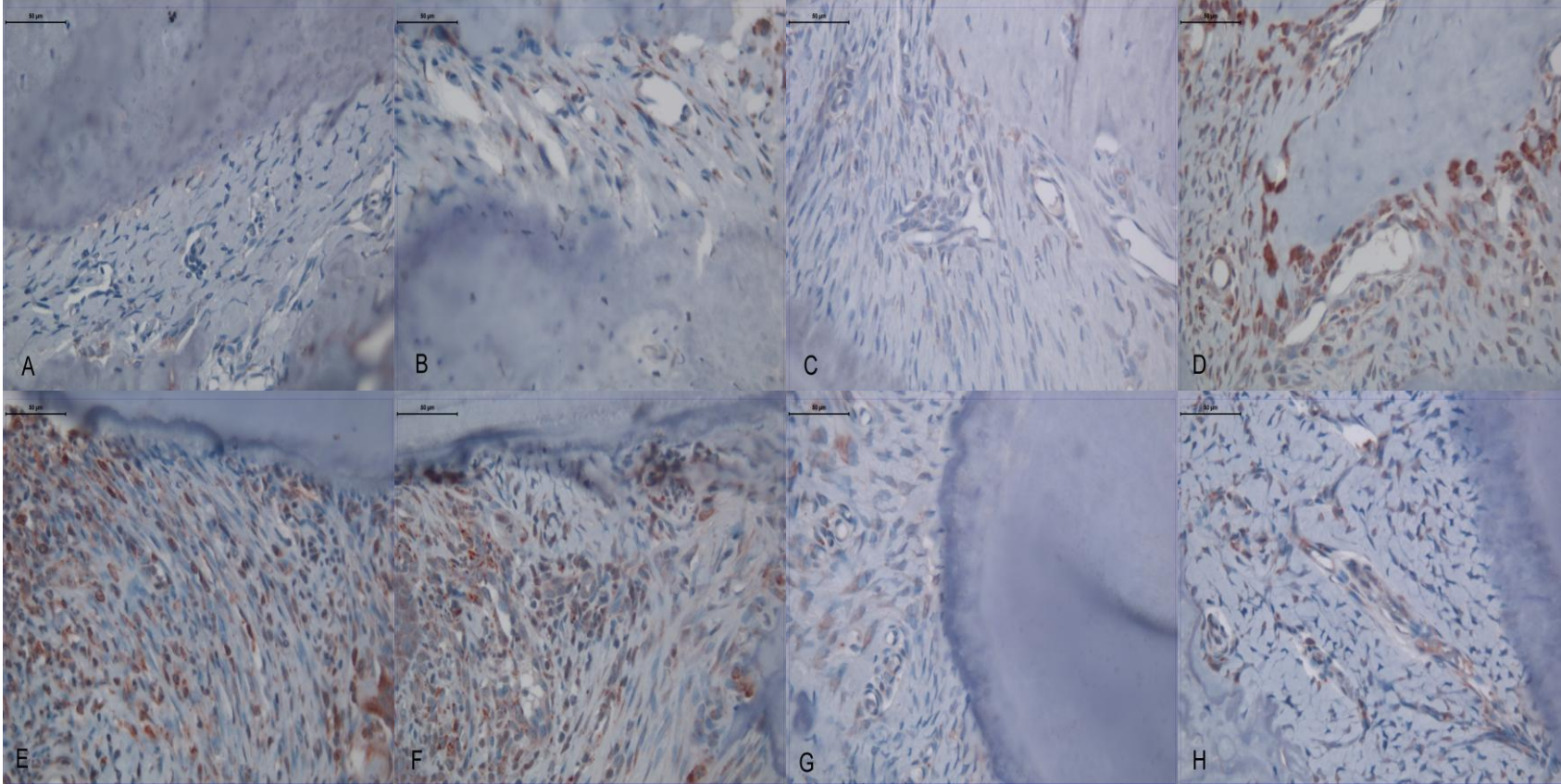
^d Gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık var (P=0,000)

^e 7. gruba göre istatistiksel anlamlı farklılık var (P=0,000)

^f Gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık var (P=0,000)

^g 11. gruba göre istatistiksel anlamlı farklılık var (P<0,05)

^h Gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık var (P=0,000)



Şekil 11. Periodontal ligament alanına ait histolojik kesitlerde VEBF pozitif hücreler

A. Sağlıklı kontrol grubu (1. grup), **B.** Deneysel periodontitis grubu (2. grup), **C.** Deneysel periodontitis oluşum sürecinde sistemik olarak atorvastatin uygulanan grup (3. grup), **D.** Deneysel periodontitis oluşum sürecinde lokal olarak atorvastatin uygulanan grup (5. grup), **E.** Deneysel periodontitis oluştuğundan sonra ligatürü çıkartılan ve sistemik olarak atorvastatin uygulanan grup (7. grup), **F.** Deneysel periodontitis oluştuğundan sonra ligatürü çıkartılan ve lokal olarak atorvastatin uygulanan grup (9. grup), **G.** Deneysel periodontitis oluştuğundan sonra ligatürü çıkartılmayan ve sistemik olarak atorvastatin uygulanan grup (11. grup), **H.** Deneysel periodontitis oluştuğundan sonra ligatürü çıkartılmayan ve lokal olarak atorvastatin uygulanan grup (13. grup)

Sistemik ve lokal atorvastatin uygulanan gruplarda, kendi kontrol gruplarıyla karşılaştırılarak VEBF immünreaktivitesindeki değişim yüzde olarak hesaplandı. VEBF immünreaktivitesindeki değişim açısından deneysel periodontitis oluşum sürecinde, deneysel periodontitis oluşumunu takiben ligatürün çıkartılıp mikrobiyal dental biofilm birikiminin elimine edildiği ve 40 günlük deneysel periodontitis oluşum sürecini takiben ligatür çıkartılmaksızın mikrobiyal dental biofilm birikiminin devam ettiği üç farklı dönemde, sistemik atorvastatin uygulanan 3., 7. ve 11. gruplar arasında 7. grup ile 3. grup, 7. grup ile 11. grup arasındaki VEBF immünreaktivite değişiminin 7. grupta istatistiksel anlamlı fazla bulunduğu belirlendi (P=0,000). Bu dönemlerde lokal atorvastatin uygulanan 5., 9. ve 13. gruplar arasında VEBF immünreaktivitesindeki değişim açısından istatistiksel anlamlı farklılık bulunduğu ve 9. gruptaki VEBF immünreaktivite değişiminin en yüksek, 13. gruptaki değişimin en düşük olduğu belirlendi (P=0,000) [Tablo 4].

4.2.5. MMP-9 immünreaktivitesi bulguları

Deney gruplarının MMP-9 HSCORE değerleri (%) Tablo 3’de verildi [Şekil 12].

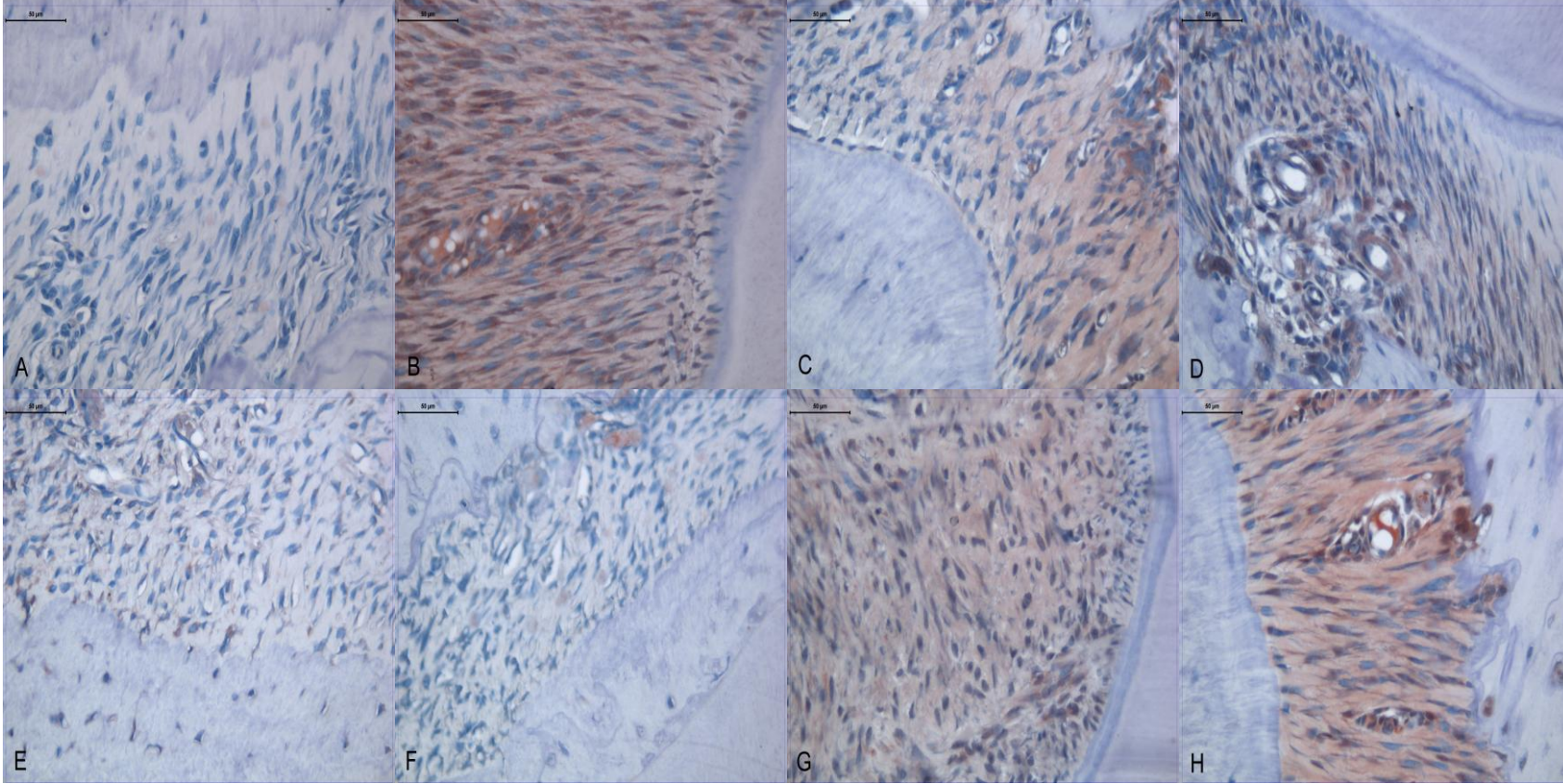
Sağlıklı kontrol grubuyla (1. grup) kıyaslandığında, 40 günlük periodontitis grubunda (2. grup) MMP-9 immünreaktivitesinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığı görüldü (P=0,000).

Atorvastatinin deneysel periodontitis oluşum sürecindeki etkisini saptamak için oluşturulan gruplarda, sistemik (3. grup) ve lokal (5. grup) olarak atorvastatin uygulandığında MMP-9 immünreaktivitesinin deneysel periodontitis grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak az olduğu saptandı (P=0,000). Sistemik olarak atorvastatin uygulanan grup ile sistemik olarak salin uygulanan grubun (4. grup) ve lokal olarak atorvastatin uygulanan grup ile lokal olarak salin uygulanan grubun (6. grup) karşılaştırılmasında atorvastatin uygulanan gruplarda salin uygulanan gruplara göre MMP-9 immünreaktivitesinin istatistiksel anlamlı olarak az olduğu saptandı (P=0,000). Bu dönemde sistemik ve lokal atorvastatin uygulanan gruplar karşılaştırıldığında MMP-9 immünreaktivitesi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (P>0,05).

40 günlük deneysel periodontitis oluşturma sürecini takiben ligatürün çıkartılmasıyla mikrobiyal dental biofilm birikiminin kontrol edildiği ve bu dönemde atorvastatinin etkisinin değerlendirildiği gruplarda, sistemik olarak atorvastatin uygulanan grup (7. grup) ile sistemik olarak salin uygulanan grubun (8. grup) ve lokal olarak atorvastatin uygulanan grup (9. grup) ile lokal olarak salin uygulanan grubun (10. grup) karşılaştırılmasında atorvastatin uygulanan gruplarda salin uygulanan gruplara göre daha az MMP-9 immünreaktivitesinin olduğu belirlendi (P=0,000). Bu dönemde sistemik ve lokal olarak atorvastatin uygulanan gruplar karşılaştırıldığında lokal atorvastatin uygulanan 9. grupta MMP-9 immünreaktivitesinin istatistiksel anlamlı olarak az olduğu belirlendi (P=0,000).

40 günlük deneysel periodontitis oluşturma sürecini takiben ligatür çıkartılmaksızın mikrobiyal dental biofilm birikiminin devam ettiği dönemde atorvastatinin etkinliğini değerlendirdiğimiz gruplarda, sistemik olarak atorvastatin uygulanan grup (11. grup) ile sistemik olarak salin uygulanan grubun (12. grup) ve lokal olarak atorvastatin uygulanan grup (13. grup) ile lokal olarak salin uygulanan grubun (14. grup) karşılaştırılmasında, atorvastatin uygulanan gruplarda salin uygulanan gruplara göre istatistiksel anlamlı daha az MMP-9 immünreaktivitesi olduğu belirlendi (P=0,000). Bu dönemde sistemik ve lokal olarak atorvastatin uygulanan gruplar karşılaştırıldığında sistemik atorvastatin uygulanan 11. grupta MMP-9 immünreaktivitesinin istatistiksel anlamlı olarak az olduğu belirlendi (P=0,018).

Sistemik ve lokal atorvastatin uygulanan gruplarda, kendi kontrol gruplarıyla karşılaştırılarak MMP-9 immünreaktivitesindeki değişim yüzde olarak hesaplandı. MMP-9 immünreaktivitesindeki değişim açısından deneysel periodontitis oluşum sürecinde, deneysel periodontitis oluşumunu takiben ligatürü çıkartıp mikrobiyal dental biofilm birikiminin elimine edildiği ve 40 günlük deneysel periodontitis oluşum sürecini takiben ligatür çıkartılmaksızın mikrobiyal dental biofilm birikiminin devam ettiği üç farklı dönemde, sistemik atorvastatin uygulanan 3., 7. ve 11. gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık bulunduğu ve 3. gruptaki değişimin en yüksek, 7. gruptaki değişimin en düşük olduğu belirlendi (P=0,000). Bu dönemlerde lokal atorvastatin uygulanan 5., 9. ve 13. gruplar arasında MMP-9 immünreaktivitesindeki değişim açısından 9. grup ve 5. grup, 9. grup ve 13. grup arasındaki farkın istatistiksel anlamlı olduğu belirlendi (P=0,000) [Tablo 4].



Şekil 12. Periodontal ligament alanına ait histolojik kesitlerde MMP-9 pozitif hücreler

A. Sağlıklı kontrol grubu (1. grup), **B.** Deneysel periodontitis grubu (2. grup), **C.** Deneysel periodontitis oluşum sürecinde sistemik olarak atorvastatin uygulanan grup (3. grup), **D.** Deneysel periodontitis oluşum sürecinde lokal olarak atorvastatin uygulanan grup (5. grup), **E.** Deneysel periodontitis oluşuktan sonra ligatürü çıkartılan ve sistemik olarak atorvastatin uygulanan grup (7. grup), **F.** Deneysel periodontitis oluşuktan sonra ligatürü çıkartılan ve lokal olarak atorvastatin uygulanan grup (9. grup), **G.** Deneysel periodontitis oluşuktan sonra ligatürü çıkartılmayan ve sistemik olarak atorvastatin uygulanan grup (11. grup), **H.** Deneysel periodontitis oluşuktan sonra ligatürü çıkartılmayan ve lokal olarak atorvastatin uygulanan grup (13. grup)

Tablo 4. Tüm parametrelerde sistemik ve lokal atorvastatin uygulanan grupların kendi kontrol gruplarıyla karşılaştırılarak hesaplanan değişimleri (%)

GRUPLAR	ALVEOL KEMİĞİ ALANI KAZANCI	ALVEOL KEMİĞİ REZORPSİYONUNDA AZALMA	ATAŞMAN KAYBINDA AZALMA	VEGF İMMÜNREAKTİVİTESİ DEĞİŞİMİ	MMP-9 İMMÜNREAKTİVİTESİ DEĞİŞİMİ
3. Grup	23,06±7,09 ^a	19,22±1,77 ^{af}	24,27±10,08 ^{ac}	8,80±1,72 ^{ac}	30,13±0,80 ^{ag}
5. Grup	35,30±5,42 ^a	21,95±1,83 ^{ag}	28,13±6,74 ^{bc}	4,53±0,96 ^{ag}	14,04±1,66 ^{ac}
7. Grup	27,26±3,51 ^b	23,44±1,32 ^{bf}	35,53±11,81 ^{ad}	25,29±2,66 ^b	22,38±1,54 ^{bg}
9. Grup	38,43±5,22 ^b	26,46±2,51 ^{bg}	36,22±9,78 ^{bd}	7,48±1,57 ^{bg}	3,45±2,74 ^b
11. Grup	30,15±14,33 ^c	12,59±2,59 ^{cf}	10,65±4,01 ^{ae}	11,04±1,58 ^{cf}	26,02±1,14 ^{fg}
13. Grup	39,70±8,39 ^c	13,82±2,25 ^{cg}	13,10±4,18 ^{be}	1,97±0,71 ^{fg}	12,08±0,78 ^{cf}

Veriler ortalama ± standart sapma olarak verildi. P<0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

^a Gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık var (P<0,05)

^b Gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık var (P<0,05)

^c Gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık yok (P>0,05)

^d Gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık yok (P>0,05)

^e Gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık yok (P>0,05)

^f Gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık var (P<0,05)

^g Gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık var (P<0,05)

5. TARTIŞMA

Kronik inflamatuvar bir hastalık olan periodontitisin karakteristik özelliği periodontal dokularda meydana gelen yıkımdır (Newman ve ark., 2007). Periodontoloji literatüründe doku yıkımının azaltılabilmesi ve kaybedilen dokuların geri kazanılabilmesi için birçok farklı materyal ve ilaç uygulamaları denenmiştir (Trombelli, 2005; Kalsi ve ark. 2011). Bu uygulamalar ile periodontal tedavi sonrası daha iyi sonuçların elde edildiği bildirilmesine rağmen, doku kaybının tamamen geri kazanılamadığı görülmektedir.

Günümüzde sıklıkla kullanılan statinler kolesterol sentezinde hız kısıtlayıcı basamağı oluşturan HMG-CoA redüktaz enzimini inhibe ederek plazma kolesterol seviyesini düşüren ilaçlardır (Calabrò ve Yeh, 2005). Son yıllarda plazma lipid seviyesi ve periodontal hastalık arasındaki ilişki dikkati çekmiş ve araştırmacılar tarafından hiperkolesterolemi tedavisinde kullanılan ilaçların periodontal hastalık üzerindeki etkileri incelenmeye başlanmıştır. Yapılan çalışmalarda lipid seviyesi ile periodontal sağlık durumu arasında negatif bir korelasyon olduğu, ayrıca artmış düşük dansiteli lipoprotein seviyesinin periodontal hastalığı değerlendirmede kullanılan indeks değerlerinde yükselmeye neden olduğu belirtilmiştir (Fentoğlu ve ark., 2009; Awartani ve Atassi, 2010; Meisel ve ark., 2011; Sangwan ve ark., 2012). Statinlerin kolesterol metabolizması üzerine etkilerinin yanında antiinflamatuvar, antioksidan, kemik metabolizmasına anabolik etki ve immünmodülatör gibi birçok pleiotropik özelliğinin de bulunduğu bildirilmiştir (Mundy ve ark., 1999; Stancu ve Sima, 2001; Horiuchi ve Maeda, 2006; Garrett ve ark., 2001; McFarlane ve ark., 2002). Buradan hareketle bu çalışmada lokal ve sistemik olarak uygulanan atorvastatinin periodontitis oluşum sürecinde ve bu süreci takiben MDB birikiminin kontrol edildiği ve MDB birikiminin devam ettiği dönemlerde sistemik ve lokal olarak uygulanan atorvastatinin periodontal dokular üzerindeki etkinliğinin incelenmesi amaçlandı.

Atorvastatin 13-16 saat yarılanma ömrü, plazma lipid seviyesini düşürmedeki etkinliği ve nadir görülen yan etkileri nedeniyle hiperkolesterolemi tedavisi gören hastalarda sıklıkla tercih edilen bir statin haline gelmiştir (Lennernäs, 2003; Nicholls ve ark., 2010). Yapılan literatür incelemesinde insanlarda önerilen sistemik terapötik dozun 10-80 mg/kg olduğu ve bu dozun sıçanlarda 5-18 mg/kg doza eşit olduğu bildirilmiştir (Zhang ve ark., 2005). Ayrıca Skoglund ve Aspenberg (2007) tarafından günlük olarak

0,1 mg/kg dozda uygulanan lokal statinin kemik kırığı iyileşmesine olumlu etkilerinin bulunduğu, 21. günde histolojik olarak kırığın iyileştiği ve mekanik olarak farklılığın ortadan kalktığı rapor edilmiştir. Bu bilgiler ışığında, bu çalışmada atorvastatin sistemik olarak 5 mg/kg ve lokal olarak 0,1 mg/kg dozda uygulandı.

Yapılan klinik çalışmalarda tedavi amacıyla kullanılan statinlerin etkinliğini değiştirebilecek birçok faktörün bulunduğu ve bu faktörlerin kontrol altına alınamamasından dolayı çelişkili sonuçların elde edilebildiği belirtilmiştir. Nitekim Saver ve ark. (2007) tarafından 12631 bireyde yapılan epidemiyolojik çalışmada, statin kullanımı ile diş kaybı arasında anlamlı bir ilişki bulunamaması; hastaların bütün kullanımının kontrol edilememesine, sistemik durumlarındaki değişmeye, buna bağlı olarak kullanılan ilaçlara ve çalışma süresinde hastaların bazılarında kullanılan statin dozunun değiştirilmesine bağlanmıştır. Klinik çalışmalarda periodontal hastalığın oluşum döneminin saptanamaması, mikrobiyal dental biofilm varlığı ve yokluğu durumunun bireylerde standardize edilememesi ve periodontal hastalık oluştuktan sonraki dönemde tedavi amacıyla kullanılan statinin etkinliğinin aynı koşullarda değerlendirilebilmesi sağlanamayacağından, bu araştırma deneysel bir çalışma olarak planlandı.

İnsan ve sıçanların molar diş bölgelerindeki periodontal dokuların (oral epitel, sulkuler epitel, birleşim epiteli, periodontal ligament, alveol kemiği, hücreli ve hücretsiz sement) organizasyon ve yapısal açıdan benzerlik gösterdiği bildirilmiştir. Bununla birlikte sıçanlarda oluşturulan deneysel periodontitisin insanlarda görülen periodontal hastalıklar ile klinik ve histolojik olarak benzer bulgular gösterdiği de belirlenmiştir (Klausen, 1991). Sıçanlar; küçük, ucuz ve kolay elde edilebilir olmaları nedeniyle deneysel çalışmalarda sıklıkla tercih edilen türlerdir. Ayrıca sıçanlarda genetik yatkınlık, yaş, cinsiyet, doz ve ilacın uygulanma yolları gibi bazı önemli değişkenler kontrol altına alınabilmektedir (Nassar ve ark., 2008). Bu bilgiler ışığında bu çalışmada deney hayvanı olarak erkek Wistar sıçanlar (8-10 haftalık ve vücut ağırlıkları 180-200 g) kullanıldı.

Sıçanlarda deneysel periodontitis modelinin oluşturulmasında tekrarlanabilir ve bölgede travma oluşturmayan bir teknik kullanılması gerektiği belirtilmiştir. Bu teknikler arasında en sık kullanılanları bölgeye endotoksin enjeksiyonu ve dişlerin ligatürlenmesidir (Klausen, 1991; Struillou ve ark., 2010). Endotoksin enjeksiyonunun

ligatür yerleştirme işlemine göre bölgede ek bir travma oluşturduğu bildirilmiştir (Klausen, 1991). Periodontal hastalığın oluşum döneminde, periodontal hastalık oluşuktan sonraki dönemde etyolojik faktörlerin elimine edildiği ve edilmediği vakalarda atorvastatinin etkinliğinin değerlendirilebilmesi için bu çalışmada en uygun teknik olarak 3/0 ipek sütür kullanılarak dişlere ligatür yerleştirilmesi tercih edildi.

Bu deneysel çalışmada histomorfometrik analiz ile 1. molar dişlerin furkasyon bölgesinde var olan alveol kemiği alanı ve 1. molar dişlerin mezial ve distalinde alveol kemiği rezorpsiyonu ve ataşman kaybı değerlendirildi. Yeni tedavi yöntemlerinin değerlendirilmesi ya da tedavi yöntemlerinin karşılaştırılmasında klinik ve radyografik değerlendirmelerin yeterli olmayacağı ve blok kesitlerde yapılacak histolojik analizlerin gerekli olduğu açıklanmıştır (Reddy ve Jeffcoat, 1999). Bu çalışmada histomorfometrik analiz, blok kesitler üzerinde anatomik yapılarca belirlenen referans noktaları içinde yapıldı. Ayrıca, immünohistokimyasal olarak periodontal ligamentte VEBF ve MMP-9 immünreaktivitesi HSCORE kullanılarak belirlendi. Doku yapısının korunması ve antijenin lokalize edilebilmesi, hücresel ve moleküler düzeyde bilgi veren immünohistokimyasal tekniğin avantajlarını oluşturmaktadır. Kolay uygulanabilir bir metot olan immünohistokimyasal analiz, aynı zamanda çok pahalı değildir (King ve ark., 1997; Meert ve ark., 2002).

Bu araştırmada deneysel periodontitis oluşum sürecinde sistemik olarak atorvastatin uygulanan 3. grupta sistemik olarak salin uygulanan kendi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında furkasyon bölgesindeki alveol kemiği alanının %23,1 oranında arttığı ve lokal olarak atorvastatin uygulanan 5. grupta lokal olarak salin uygulanan kendi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında %35,3 oranında arttığı görüldü. Sistemik ve lokal atorvastatin uygulanan gruplar karşılaştırıldığında, lokal atorvastatin uygulanan 5. grupta alveol kemiği alanının daha fazla olduğu saptandı. Aynı dönemde 3. ve 5. gruplarda salin uygulanan kendi kontrol gruplarına göre sırasıyla alveol kemiği rezorpsiyonunun %19,2 ve %22 oranında azaldığı, ayrıca sistemik ve lokal atorvastatin uygulanan grupların karşılaştırılmasında 5. grup lehine alveol kemiği rezorpsiyonun daha az olduğu belirlendi. Lokal olarak uygulanan simvastatinin kafa kemikleri ve ligatürle oluşturulmuş alveol kemiği rezorpsiyonu üzerine etkilerinin incelendiği deneysel bir çalışmada 7 farklı grup oluşturulmuştur. İlk 3 gruba ligatür bağlanarak periodontitis oluşturulmuş, ovaryektomi işlemi yapılmış ve farklı dozlarda (0,05 ml

hacminde 10^{-6} M, 3×10^{-7} M, 10^{-7} M) subperiosteal olarak simvastatin uygulanmıştır. 4. gruba ligatür bağlanarak periodontitis oluşturulmuş, ovariyektomi işlemi yapılmış ve salin uygulanmıştır. 5. gruba ligatür bağlanıp, ovariyektomi işlemi yapılırken; 6. gruba sadece ligatür bağlanarak periodontitis oluşturulmuştur. Son grupta ise, ovarium bölgesi cerrahi olarak açılıp herhangi bir işlem uygulanmadan geri kapatılmıştır. Kemik yoğunluğu değerlendirilirken sıçan kafa kemiklerinden radyografiler alınıp, belirlenen 4 nokta dijital dansitometre ile incelenmiş ve ölçümlerin ortalaması alınarak karşılaştırma yapılmıştır. Kafa kemikleri kemik yoğunluğu açısından değerlendirildiğinde, 6. ve 7. gruplarda radyografik olarak daha az kemik yoğunluğu gözlenirken, diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Alveol kemiği kaybı açısından değerlendirildiğinde ise, ilk 3 grupta 5. ve 6. gruba oranla histolojik olarak daha az kemik kaybı gözlenmiş fakat bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Vaziri ve ark., 2007). Sıçanların ikinci molar dişlerine ligatür bağlanmasından 30 dakika önce uygulanmaya başlanan ve 11 gün boyunca oral yoldan günlük 1, 3, 9 mg/kg dozlarda atorvastatin uygulanan bir çalışmada, 1 ve 3 mg/kg dozda uygulanan atorvastatin gruplarında anlamlı fark gözlenmezken; 9 mg/kg doz uygulanan atorvastatin grubunda alveol kemiği kaybının %47 oranında azaldığı rapor edilmiştir (Goes ve ark., 2010).

Bu çalışmada 40 günlük deneysel periodontitis oluşturma sürecini takiben ligatürün çıkartılmasıyla mikrobiyal dental biofilm birikiminin kontrol edildiği dönemde sistemik olarak atorvastatin uygulanan 7. grupta sistemik olarak salin uygulanan kendi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında alveol kemiği alanının %27,3 oranında arttığı, lokal olarak atorvastatin uygulanan 9. grupta lokal olarak salin uygulanan kendi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında %38,4 oranında arttığı belirlendi. Sistemik ve lokal atorvastatin uygulanan gruplar karşılaştırıldığında lokal uygulanan 9. grupta alveol kemiği alanının daha fazla olduğu belirlendi. Aynı dönemde 7. ve 9. gruplarda salin uygulanan kendi kontrol gruplarına göre alveol kemiği rezorpsiyonunun sırasıyla %23,4 ve %26,5 oranında azaldığı, ayrıca sistemik ve lokal atorvastatin uygulanan grupların karşılaştırılmasında 9. grup lehine alveol kemiği rezorpsiyonunun daha az olduğu belirlendi. Seto ve ark. (2008) tarafından sıçanların üst çene ikinci molar dişlerinde ligatürle deneysel periodontitis oluşturulduktan sonra ligatür çıkartılmış ve dişin bukkal yüzeyine subperiosteal olarak haftada 2 defa 70 gün boyunca 0,2 mg

simvastatin uygulanmıştır. Yapılan radyografik değerlendirmede total kemik kaybının %46 oranında geri kazanıldığı, histolojik değerlendirmede ise sadece alveol kemiğinde değil, periodontal ligament ve bağ dokusunda da iyileşme olduğu bildirilmiştir.

DeneySEL periodontitis oluşturma sürecini takiben ligatür çıkartılmaksızın mikrobiyal dental biofilm birikiminin devam ettiği dönemde atorvastatinin etkili olup olmadığını saptamayı amaçladığımız sistemik olarak atorvastatin uygulanan 11. grupta sistemik olarak salın uygulanan kendi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında alveol kemiği alanının %30 oranında arttığı ve lokal olarak atorvastatin uygulanan 13. grupta lokal olarak salın uygulanan kendi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında %39 oranında arttığı görüldü. Aynı dönemde 11. ve 13. gruplarda salın uygulanan kendi kontrol gruplarına göre sırasıyla alveol kemiği rezorpsiyonunun %12 ve %13 oranında azaldığı ayrıca sistemik ve lokal atorvastatin uygulanan grupların karşılaştırılmasında 13. grup lehine alveol kemiği rezorpsiyonun daha az olduğu belirlendi. Araştırabildiğimiz ölçüde mikrobiyal dental biofilm varlığında statinlerin etkisini değerlendiren klinik bir çalışmada periodontal tedavi ve oral hijyen eğitimi uygulanmaksızın 3 aylık sistemik statin tedavisi uygulanan kronik periodontitisli bireylerde plak indeksi, gingival indeks ve sondalamada kanama indeksi skorlarında azalma saptanırken, sondalanabilir cep derinliği ve klinik ataşman seviyesinde herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir (Fentoğlu ve ark., 2011).

Bu araştırmada atorvastatin uygulanan tüm gruplar ve tüm dönemler değerlendirildiğinde lokal olarak uygulanan atorvastatinin furkasyon bölgesindeki alveol kemiği alanı kazancı ve alveol kemiği rezorpsiyonunun engellenmesi açısından sistemik uygulamalara göre daha etkili olduğu görüldü. Bu araştırma bulgularıyla benzer şekilde Gutierrez ve ark. (2006) tarafından sıçanlar üzerinde yapılan çalışmada topikal olarak uygulanan statinlerin kemik oluşumu açısından sistemik uygulamalara göre daha etkili olduğu belirtilmiştir.

Çalışmamızda deneySEL periodontitis oluşum sürecinde sistemik olarak atorvastatin uygulanan 3. grupta sistemik olarak salın uygulanan kendi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında ataşman kaybının %24,3 oranında azaldığı ve lokal olarak atorvastatin uygulanan 5. grupta lokal olarak salın uygulanan kendi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında %28,1 oranında azaldığı görüldü. Aynı dönemde sistemik ve lokal atorvastatin uygulanan gruplar karşılaştırıldığında ise gruplar arasında fark olmadığı

saptandı. Bu bulgularla benzer şekilde lokal olarak uygulanan simvastatinin ligatürle oluşturulmuş deneysel periodontitis modelinde ataşman kaybı üzerine etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada, 3 farklı dozda uygulanan (10^{-6} M, 3×10^{-7} M, 10^{-7} M) simvastatin grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken, sadece 10^{-6} M simvastatin uygulanan grupta kontrol gruplarına göre kıyasla daha az ataşman kaybı gözlenmiştir (Vaziri ve ark., 2007). 40 günlük deneysel periodontitis oluşturma sürecini takiben ligatürün çıkartılmasıyla mikrobiyal dental biofilm birikiminin kontrol edildiği dönemde salin uygulanan kendi kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında sistemik olarak atorvastatin uygulanan 7. grupta ataşman kaybının %35,5 oranında azaldığı ve lokal olarak atorvastatin uygulanan 9. grupta ise %36,2 oranında azaldığı belirlendi. Ayrıca aynı dönemde sistemik ve lokal atorvastatin uygulanan gruplar karşılaştırıldığında ise gruplar arasında fark olmadığı saptandı. 40 günlük deneysel periodontitis oluşturma sürecini takiben ligatür çıkartılmaksızın mikrobiyal dental biofilm birikiminin devam ettiği dönemde salin uygulanan kendi kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında sistemik olarak atorvastatin uygulanan 11. grupta ataşman kaybının %10,7 oranında azaldığı ve lokal olarak atorvastatin uygulanan 13. grupta %13,1 oranında azaldığı görüldü. Aynı dönemde sistemik ve lokal atorvastatin uygulanan grupların karşılaştırılmasında 13. grup lehine ataşman kaybının daha az olduğu belirlendi. Bu araştırmada atorvastatin uygulanan tüm gruplar ve tüm dönemler karşılaştırıldığında, deneysel periodontitis oluşumunu takiben mikrobiyal dental biofilm birikiminin devam ettiği dönem dışındaki dönemlerde ataşman kaybı açısından lokal ve sistemik atorvastatin uygulanan gruplar arasında herhangi bir fark bulunmazken, mikrobiyal dental biofilm birikimi olan dönemde lokal atorvastatin uygulamasının ataşman kaybında daha fazla azalmaya yol açtığı belirlendi.

Kronik periodontitisli 60 hasta üzerinde yapılan klinik bir çalışmada, hastalar sadece SRP yapılan grup ve SRP'ye ek olarak dişeti oluğu içerisine 1,2 mg lokal simvastatin uygulanan grup olarak 2'ye ayrılmıştır. 1., 2., 4., ve 6. aylarda sulkus kanama indeks skoru, sondalanabilir cep derinliği, klinik ataşman seviyesi ve 6. ayda radyografik olarak var olan kemik içi defektler kaydedilmiştir. SRP'ye ek olarak dişeti oluğu içerisine 1,2 mg lokal simvastatin uygulanan grupta 6 ay sonunda kontrol grubuna göre daha az sulkus kanama indeks skoru ve sondalanabilir cep derinliği ile radyografik

olarak kemik içi defektlerde daha fazla kemik dolumu ve klinik ataşman seviyesinde kazanç gösterilmiştir (Pradeep ve Thorat, 2010).

38 kronik periodontitisli birey arasında yapılan klinik bir çalışmada, hastalar sistemik olarak 20 mg atorvastatin uygulanan ve plasebo uygulanan grup olarak 2'ye ayrılmıştır. Gruplara ayrılmadan önce tüm hastalara SRP uygulanmıştır. Çalışma başlangıcında ve 3. ayda klinik olarak yapılan periodontal değerlendirmede dişlerdeki mobilite, sondalanabilir cep derinliği, dişeti çekilmesi, ataşman kaybı, sondalamada kanama, diş kaybı ve plak düzeyi (her iki haftada bir) kaydedilmiştir. Ayrıca radyografik olarak MSS-AKK, alveol kemiği yoğunluğu ve kansellöz kemik mineral yoğunluğu değerlendirilmiştir. Çalışma sonunda kontrol grubu ile kıyaslandığında atorvastatin grubunda sadece mobilite ve MSS-AKK arası mesafedeki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Ataşman kaybı da dahil diğer parametreler açısından periodontal değerlendirmede iki grup arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (Fajardo ve ark., 2010).

Bu araştırmada deneysel periodontitis oluşum sürecinde sistemik olarak atorvastatin uygulanan 3. grupta sistemik olarak salın uygulanan kendi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında VEBF immünreaktivitesinin %8,8 oranında arttığı ve lokal olarak atorvastatin uygulanan 5. grupta lokal olarak salın uygulanan kendi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında ise %4,5 oranında arttığı görüldü. Sistemik ve lokal atorvastatin uygulanan gruplar karşılaştırıldığında, lokal atorvastatin uygulanan 5. grupta VEBF immünreaktivitesinin daha fazla olduğu saptandı. 40 günlük deneysel periodontitis oluşturma sürecini takiben ligatürün çıkartılmasıyla mikrobiyal dental biofilm birikiminin kontrol edildiği dönemde sistemik olarak atorvastatin uygulanan 7. grupta sistemik olarak salın uygulanan kendi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında VEBF immünreaktivitesinin %25,3 oranında arttığı, lokal olarak atorvastatin uygulanan 9. grupta lokal olarak salın uygulanan kendi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında %7,5 oranında arttığı belirlendi. Sistemik ve lokal atorvastatin uygulanan gruplar karşılaştırıldığında lokal uygulanan 9. grupta VEBF immünreaktivitesinin daha az olduğu belirlendi. 40 günlük deneysel periodontitis oluşturma sürecini takiben ligatür çıkartılmaksızın mikrobiyal dental biofilm birikiminin devam ettiği dönemde sistemik olarak atorvastatin uygulanan 11. grupta sistemik olarak salın uygulanan kendi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında VEBF immünreaktivitesinin %11 oranında arttığı ve lokal

olarak atorvastatin uygulanan 13. grupta lokal olarak salin uygulanan kendi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında %2 oranında arttığı görüldü. Periodontal ligament VEBF immünreaktivite bulgularımız, VEBF sentezinin atorvastatin uygulaması sonrası periodontal iyileşme döneminde arttığını ve VEBF'nin doku iyileşmesinde de rol alan bir medyatör olduğunu göstermektedir. Bu bulgu VEBF ekspresyonunun periodontal hastalığın yıkım döneminden ziyade, iyileşme dönemiyle ilişkili olduğunu bildirdiğimiz deneysel çalışmamızın sonuçları ile uyumludur (Çetinkaya ve ark., 2007). Histomorfometri bulgularımız ile birlikte değerlendirildiğinde periodontal iyileşme ile uyumlu olarak VEBF immünreaktivitesinin arttığı gözlenmiş olup, bu bulgu Pradeep ve ark. (2011) tarafından bildirilen faz I periodontal tedavi sonrası VEBF'nin azaldığı sonucuyla uyumsuzdur.

Bu araştırmada deneysel periodontitis oluşum sürecinde sistemik olarak atorvastatin uygulanan 3. grupta sistemik olarak salin uygulanan kendi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında MMP-9 immünreaktivitesinin %30,1 oranında azaldığı ve lokal olarak atorvastatin uygulanan 5. grup lokal olarak salin uygulanan kendi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında %14 oranında azaldığı görüldü. Sistemik ve lokal olarak atorvastatin uygulanan gruplar karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı bir fark saptanmadı. 40 günlük deneysel periodontitis oluşturma sürecini takiben ligatürün çıkartılmasıyla mikrobiyal dental biofilm birikiminin kontrol edildiği dönemde sistemik olarak atorvastatin uygulanan 7. grupta sistemik olarak salin uygulanan kendi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında MMP-9 immünreaktivitesinin %22,4 oranında azaldığı, lokal olarak atorvastatin uygulanan 9. grupta lokal olarak salin uygulanan kendi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında %3,5 oranında azaldığı belirlendi. Sistemik ve lokal olarak atorvastatin uygulanan gruplar karşılaştırıldığında lokal uygulanan 9. grupta MMP-9 immünreaktivitesinin daha az olduğu belirlendi. 40 günlük deneysel periodontitis oluşturma sürecini takiben ligatür çıkartılmaksızın mikrobiyal dental biofilm birikiminin devam ettiği dönemde sistemik olarak atorvastatin uygulanan 11. grupta sistemik olarak salin uygulanan kendi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında MMP-9 immünreaktivitesinin %26 oranında azaldığı ve lokal olarak atorvastatin uygulanan 13. grupta lokal olarak salin uygulanan kendi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında %12,1 oranında azaldığı görüldü. Sistemik ve lokal olarak atorvastatin uygulanan gruplar

karşılaştırıldığında lokal atorvastatin uygulanan 13. grupta MMP-9 immünreaktivitesinin daha fazla olduğu belirlendi.

Periodontal ligamentte değerlendirilen MMP-9 immünreaktivite bulgularımız atorvastatin uygulaması sonrası periodontal iyileşme döneminde MMP-9 immünreaktivitesinin azaldığını göstermekte olup, bu bulgu Marcaccini ve ark. (2010) tarafından bildirilen kronik periodontitisli bireylerde periodontal tedaviyi takiben MMP-9 seviyesinde azalma olduğu sonucuyla uyumludur.

Statin grubu ilaçların periodontal hastalık üzerindeki etkisini değerlendiren çalışmalarda VEBF ve MMP-9'un değerlendirildiği ulaşılabildiğimiz ölçüde herhangi bir araştırma bulunmamaktadır.

Çalışmamız hiperkolesterolemi tedavisinde sıklıkla kullanılan atorvastatinin; periodontal hastalık oluşum sürecinde, periodontal hastalık oluşumunu takiben mikrobiyal dental biofilm birikiminin kontrol edildiği ve mikrobiyal dental biofilm birikiminin devam ettiği dönemlerde periodontal dokular üzerine olan etkisini inceleyen ilk çalışmadır. Bu dönemleri oluşturmamızdaki amaç; statin kullanan bireylerde mikrobiyal dental biofilm birikimi ile periodontal hastalığın oluşup oluşmayacağını, periodontal hastalığı bulunan ve statin kullanan bireylerde uygulanacak periodontal tedavinin statinlerin etkinliğini artırıp arttırmayacağını ve periodontal tedavi uygulanmadığında, yani mikrobiyal dental biofilm birikimi kontrol edilmediğinde statinlerin periodontal dokular üzerinde olumlu etkisinin olup olmayacağını saptanmasıydı.

Her üç farklı dönemde de sistemik ve lokal uygulanan atorvastatinin histomorfometrik ve immünohistokimyasal olarak periodontal dokular üzerinde olumlu etkisi olduğu görüldü. Sistemik ve lokal uygulanan atorvastatinin ikinci dönemde, yani periodontal tedavi uygulanması ve oral hijyen sağlanması durumunda periodontal sağlık üzerine olumlu etkisinin en fazla olduğu saptandı.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sistemik ve lokal olarak uygulanan atorvastatinin periodontal hastalık oluşum sürecinde ve periodontitis oluştuktan sonraki dönemde mikrobiyal dental biofilm varlığı ve yokluğunda periodonsiyum üzerine olan etkilerinin histomorfometrik analizle incelendiği ve immünohistokimyasal olarak VEBF ve MMP-9 immünreaktivitesinin değerlendirildiği bu çalışmada;

1. Her dönemde sistemik ve lokal atorvastatin uygulanan gruplarda, sistemik ve lokal salin uygulanan kendi kontrol gruplarıyla karşılaştırılarak yapılan histomorfometrik değerlendirmede; alveol kemiği alanında kazanç, VEBF immünreaktivitesinde artma; alveol kemiği rezorpsiyonu, ataşman kaybı ve MMP immünreaktivitesinde azalma olduğu tespit edildi.

2. Dönem içi (her üç dönemde) yapılan histomorfometrik değerlendirmede, lokal olarak atorvastatin uygulanan gruplarda (5., 9. ve 13. grup) sistemik olarak atorvastatin uygulanan gruplara (3., 7. ve 11. grup) göre furkasyon bölgesinde istatistiksel anlamlı daha fazla alveol kemiği alanı bulunduğu ve daha az alveol kemiği rezorpsiyonu olduğu saptandı.

3. Sistemik ve lokal atorvastatin uygulanan gruplarda salin uygulanan kendi kontrol gruplarıyla karşılaştırılarak hesaplanan alveol kemiği alanı kazancı açısından üç dönemde sistemik atorvastatin uygulanan 3., 7. ve 11. gruplar arasında ve lokal atorvastatin uygulanan 5., 9. ve 13. gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.

4. Sistemik ve lokal atorvastatin uygulanan gruplarda salin uygulanan kendi kontrol gruplarıyla karşılaştırılarak hesaplanan alveol kemiği rezorpsiyonu ve ataşman kaybında azalmanın, üç dönemde değerlendirildiğinde sistemik atorvastatin uygulanan gruplardan 7. grupta ve lokal atorvastatin uygulanan gruplardan 9. grupta en yüksek olduğu belirlendi.

5. Sistemik ve lokal atorvastatin uygulanan gruplarda salin uygulanan kendi kontrol gruplarıyla karşılaştırılarak hesaplanan periodontal ligamentte VEBF immünreaktivite değişiminin üç dönemde, alveol kemiği rezorpsiyonu ve ataşman kaybı bulgularıyla uyumlu olacak şekilde; sistemik atorvastatin uygulanan gruplardan 7. grupta en yüksek olduğu belirlendi.

6. Üç dönemde de lokal ve sistemik olarak atorvastatin uygulandığında histomorfometrik bulgularla uyumlu olarak periodontal ligament VEBF immünreaktivitesinde artış ve periodontal ligament MMP-9 immünreaktivitesinde azalma olduğu tespit edildi.

7. Bu çalışmanın bulguları VEBF sentezinin atorvastatin uygulanması sonrası periodontal iyileşme döneminde arttığını ve VEBF'nin doku iyileşmesinde rol alan bir medyatör olduğunu göstermektedir.

8. Her üç farklı dönemde de sistemik ve lokal uygulanan atorvastatinin histomorfometrik ve immünhistokimyasal olarak periodontal dokular üzerinde olumlu etkisi olduğu görüldü.

9. Sistemik ve lokal uygulanan atorvastatinin ikinci dönemde, yani periodontal tedavi uygulanması ve oral hijyen sağlanması durumunda periodontal sağlık üzerine olumlu etkisinin en fazla olduğu saptandı.

10. Sistemik ve lokal atorvastatin uygulamaları karşılaştırıldığında, alveol kemiği alanı ve alveol kemiği rezorpsiyonu bulguları açısından lokal atorvastatin uygulamasının daha iyi sonuç verdiği tespit edildi.

11. Hiperkolesterolemi tedavisinde kullanılan statinlerin periodontal hastalık tedavisinde lokal olarak kullanılabileceği ve bu konuda yapılacak yeni çalışmalara gereksinim olduğu düşüncesindeyiz.

7. KAYNAKLAR

- Alam S, Ueki K, Nakagawa K, Marukawa K, Hashiba Y, Yamamoto E, Sakulsak N, Iseki S. Statin-induced bone morphogenetic protein (BMP) 2 expression during bone regeneration: an immunohistochemical study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009;107(1):22-29.
- Alber HF, Dulak J, Frick M, Dichtl W, Schwarzbacher SP, Pachinger O, Weidinger F. Atorvastatin Decreases Vascular Endothelial Growth Factor in Patients With Coronary Artery Disease. *J Am Coll Cardiol.* 2002;39(12):1951–1955.
- Araújo FA, Rocha MA, Mendes JB, Andrade SP. Atorvastatin inhibits inflammatory angiogenesis in mice through down regulation of VEGF, TNF-alpha and TGF-beta1. *Biomed Pharmacother.* 2010;64(1):29-34.
- Artese L, Piattelli A, de Gouveia Cardoso LA, Ferrari DS, Onuma T, Piccirilli M, Favari M, Perrotti V, Simion M, Shibli JA. Immunoeexpression of angiogenesis, nitric oxide synthase, and proliferation markers in gingival samples of patients with aggressive and chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2010;81(5):718-726.
- Awartani F, Atassi F. Evaluation of periodontal status in subjects with hyperlipidemia. *J Contemp Dent Pract.* 2010;11(2):3-40.
- Ayukawa Y, Ogino Y, Moriyama Y, Atsuta I, Jinno Y, Kihara M, Tsukiyama Y, Koyano K. Simvastatin enhances bone formation around titanium implants in rat tibiae. *J Oral Rehabil.* 2010;37(2):123-130.
- Ayukawa Y, Okamura A, Koyano K. Simvastatin promotes osteogenesis around titanium implants A histological and histometrical study in rats. *Clin Oral Impl Res.* 2004;15(3):346–350.
- Banerjee C, Javed A, Choi JY, Green J, Rosen V, van Wijnen AJ, Stein JL, Lian JB, Stein GS. Differential regulation of the two principal Runx2/Cbfa1 n-terminal isoforms in response to bone morphogenetic protein-2 during development of the osteoblast phenotype. *Endocrinology.* 2001;142(9):4026-4039.
- Beaudeau JL, Giral P, Bruckert E, Foglietti MJ, Chapman MJ. Matrix metalloproteinases, inflammation and atherosclerosis: Therapeutic perspectives. *Clin Chem Lab Med.* 2004;42(2):121-131.
- Bellosta S, Via D, Canavesi M, Pfister P, Fumagalli R, Paoletti R, Bernini F. HMG-CoA reductase inhibitors reduce MMP-9 secretion by macrophages. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1998;18(11):1671-1678.
- Birkedal-Hansen H. Role of cytokines and inflammatory mediators in tissue destruction. *J Periodontal Res.* 1993;28(6):500-510.

- Birkedal-Hansen H. Role of matrix metalloproteinases in human periodontal diseases. *J Periodontol.* 1993;64(5):474-484.
- Booth V, Young S, Cruchley A, Taichman NS, Paleolog E. Vascular endothelial growth factor in human periodontal disease. *J Periodontal Res.* 1998;33(8):491-499.
- Bren EC. VEGF in Biological Control. *J Cell Biochem.* 2007;102(6):1358-1367.
- Broggi E, Wu T, Namiki A, Isner JM. Indirect angiogenic cytokines upregulate VEGF and bFGF gene expression in vascular smooth muscle cells, whereas hypoxia upregulates VEGF expression only. *Circulation.* 1994;90(2):649-652.
- Calabrò P, Yeh ET. The pleiotropic effects of statins. *Curr Opin Cardiol.* 2005;20(6):541-546.
- Cetinkaya BO, Keles GC, Ayas B, Sakallioğlu EE, Acikgoz G. The expression of vascular endothelial growth factor in a rat model at destruction and healing stages of periodontal disease. *J Periodontol.* 2007;78(6): 1129-1135.
- Champagne CM, Buchanan W, Reddy MS, Preisser JS, Beck JD, Offenbacher S. Potential for gingival crevice fluid measures as predictors of risk for periodontal diseases. *Periodontol 2000.* 2003;31:167-180.
- Chen J, Liu B, Yuan J, Yang J, Zhang J, An Y, Tie L, Pan Y, Li X. Atorvastatin reduces vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in human non-small cell lung carcinomas (NSCLCs) via inhibition of reactive oxygen species (ROS) production. *Mol Oncol.* 2012;6(1):62-72.
- Chen J, Zacharek A, Li A, Zhang C, Ding J, Roberts C, Lu M, Kapke A, Chopp M. Vascular endothelial growth factor mediates atorvastatin-induced mammalian achaete-scute homologue-1 gene expression and neuronal differentiation after stroke in retired breeder rats. *Neuroscience.* 2006;141(2):737-744.
- Connolly DT, Olander JV, Heuvelman D, Nelson R, Monsell R, Siegel N, Haymore BL, Leimgruber R, Feder J. Human vascular permeability factor. Isolation from U937 cells. *J Biol Chem.* 1989;264(33):20017-20024.
- Cunha-Cruz J, Saver B, Maupome G, Hujoel PP. Statin use and tooth loss in chronic periodontitis patients. *J Periodontol.* 2006;77(6):1061-1066.
- Diomedede L, Albani D, Sottocorno M, Donati MB, Bianchi M, Fruscella P, Salmon M. In Vivo Anti-Inflammatory Effect of Statins Is Mediated by Nonsterol Mevalonate Products. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21(8):1327-1332.
- Du Z, Chen J, Yan F, Xiao Y. Effects of Simvastatin on bone healing around titanium implants in osteoporotic rats. *Clin Oral Implants Res.* 2009;20(2):145-150.

- Ducy P, Zhang R, Geoffroy V, Ridall AL, Karsenty G. Osf2/Cbfa1: a transcriptional activator of osteoblast differentiation. *Cell*. 1997;89(5):747-754.
- Edwards CJ, Spector TD. Statins as modulators of bone formation. *Arthritis Res*. 2002;4(3):151-153.
- Endo A. The origin of the statins. *Atheroscler Suppl*. 2004;5(3):125-130.
- Fajardo ME, Rocha ML, Sánchez-Marin FJ, Espinosa-Chávez EJ. Effect of atorvastatin on chronic periodontitis: a randomized pilot study. *J Clin Periodontol*. 2010;37(11):1016-1022.
- Fentoğlu O, Oz G, Taşdelen P, Uskun E, Aykaç Y, Bozkurt FY. Periodontal status in subjects with hyperlipidemia. *J Periodontol*. 2009;80(2):267-273.
- Fentoğlu O, Sözen T, Oz SG, Kale B, Sönmez Y, Tonguç MO, Gürkan CA, Aykaç Y, Kirzioğlu FY. Short-term effects of periodontal therapy as an adjunct to anti-lipemic treatment. *Oral Dis*. 2010;16(7):648-654.
- Ferrara N. Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress. *Endocr Rev*. 2004;25(4):581-611.
- Ferrara N, Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocr Rev*. 1997;18(1):4-25.
- Folkman J. Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease. *Nat Med*. 1995;1(1):27-31.
- Freeman, MR, Schneck, FX, Gagnon, ML, Corless C, Soker S, Niknejad K, Peoples GE, Klagsbrun M. Peripheral blood T lymphocytes and lymphocytes infiltrating human cancers express vascular endothelial growth factor: a potential role for T cells in angiogenesis. *Cancer Res*. 1995;55(18):4140-4145.
- Galis ZS, Khatir JJ. Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis: The good, the bad, and the ugly. *Circ Res*. 2002;90(3):251-262.
- Garrett IR, Gutierrez G, Mundy GR. Statins and bone formation. *Curr Pharm Des*. 2001;7(8):715-736.
- Genco RJ. Host responses in periodontal diseases: current concepts. *J Periodontol*. 1992;63(4):338-355.
- Goes P, Lima AP, Melo IM, Rêgo RO, Lima V. Effect of Atorvastatin in radiographic density on alveolar bone loss in wistar rats. *Braz Dent J*. 2010;21(3):193-198.
- Goodson JM, Tanner AC, Haffajee AD, Sornberger GC, Socransky SS. Patterns of progression and regression of advanced destructive periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 1982;9(6):472-481.

- Gospodarowicz D, Abraham JA, Schilling J. Isolation and characterization of a vascular endothelial cell mitogen produced by pituitary-derived folliculo stellate cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1989;86(19):7311–7315.
- Grasser WA, Baumann AP, Petras SF, Harwood HJ Jr, Devalaraja R, Renkiewicz R, Baragi V, Thompson DD, Paraklar VM. Regulation of osteoclast differentiation by statins. *J Musculoskelet Neuronal Interact*. 2003;3(1):53-62.
- Gutierrez GE, Lalka D, Garrett IR, Rossini G, Mundy GR. Transdermal application of lovastatin to rats causes profound increases in bone formation and plasma concentrations. *Osteoporos Int*. 2006;17(7):1033-42.
- Hoeben A, Landuyt B, Highley MS, Wildiers H, Van Oosterom AT, De Bruijn EA. Vascular endothelial growth factor and angiogenesis. *Pharmacol Rev*. 2004;56(4):549-580.
- Horiuchi N, Maeda T. Statins and bone metabolism. *Oral Diseases* 2006;12(2):85–101.
- Hyder SM, Stancel GM, Chiappetta C, Murthy L, Boettger-Tong HL, Makela S. Uterine expression of vascular endothelial growth factor is increased by estradiol and tamoxifen. *Cancer Res*. 1996;56(17):3954-3960.
- Istvan E. Statin inhibition of HMG-CoA reductase: a 3-dimensional view. *Atheroscler Suppl*. 2003;4(1):3-8.
- Ito TK, Ishii G, Chiba H, Ochiai A. The VEBF angiogenic switch of fibroblasts is regulated by MMP-7 from cancer cells. *Oncogene*. 2007;6(51):7194-7203.
- Jacobson TA. Statin safety: lessons from new drug applications for marketed statins. *Am J Cardiol*. 2006;97(8A):44-51.
- Kajinami K, Takekoshi N, Saito Y. Pitavastatin: efficacy and safety profiles of a novel synthetic HMG-CoA reductase inhibitor. *Cardiovasc Drug Rev*. 2003;21(3):199-215.
- Kalsi R, Vandana KL, Prakash S. Effect of local drug delivery in chronic periodontitis patients: A meta-analysis. *J Indian Soc Periodontol*. 2011;15(4):304-9.
- Keck PJ, Hauser SD, Krivi G, Sanzo K, Warren T, Feder J, Connolly DT. Vascular permeability factor, an endothelial cell mitogen related to PDGF. *Science*. 1989;246(4935):1309–1312.
- Keles GC, Acikgoz G, Ayas B, Sakallioğlu E, Firatlı E. Determination of systemically & locally induced periodontal defects in rats. *Indian J Med Res*. 2005;121(3):176-84.

- Keles GC, Cetinkaya BO, Eroglu C, Simsek SB, Kahraman H. Vascular endothelial growth factor expression levels of gingiva in gingivitis and periodontitis patients with/without diabetes mellitus. *Inflamm Res*. 2010;59(7):543-549.
- King G, Payne S, Walker F, Murray GI. A highly sensitive detection method for immunohistochemistry using biotinylated tyramine. *J Pathol*. 1997;183(2):237-41.
- Kim KJ, Li B, Winer J, Armanini M, Gillett N, Philips HS, Ferrara N. Inhibition of vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis suppresses tumour growth in vivo. *Nature*. 1993;362(6423): 841-844.
- Klausen B. Microbiological and immunological aspects of experimental periodontal disease in rats: a review article. *J Periodontol*. 1991;62(1):59-73.
- Koh KK, Son JW, Ahn JY, Jin DK, Kim HS, Choi YM, Kim DS, Jeong EM, Park GS, Choi IS, Shin EK. Comparative effects of diet and statin on NO bioactivity and matrix metalloproteinases in hypercholesterolemic patients with coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002;22(9):19-23.
- Lambert E, Dasse E, Haye B, Petitfrere E. TIMPs as multifacial proteins. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2004; 49(3):187-198.
- 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*. 2008;29(12):1940-1949.
- Lennernäs H. Clinical pharmacokinetics of atorvastatin. *Clin Pharmacokinet*. 2003;42(13):1141-60.
- Li J, Perrella MA, Tsai JC, Yet SF, Hsieh CM, Yoshizumi M, Patterson C, Endege WO, Zhou F, Lee ME. Induction of vascular endothelial growth factor gene expression by interleukin-1 in rat aortic smoothmuscle cells. *J Biol Chem* 1995;270(1):308–312.
- Li X, Cui Q, Kao C, Wang GJ, Balian G. Lovastatin inhibits adipogenic and stimulates osteogenic differentiation by suppressing PPAR γ 2 and increasing Cbfa1/Runx2 expression in bone marrow mesenchymal cell cultures. *Bone*. 2003;33(4):652-659.
- Lindhe J, Karring T, Araujo M. The anatomy of periodontal tissues. In: Lindhe J, Lang NP, Karring T, editors. *Clinical periodontology and implant dentistry*. 5th Ed., Munksgaard; a Blackwell Publishing company. 2008; 3-49.
- Lindy O, Suomalainen K, Mäkelä M, Lindy S. Statin use is associated with fewer periodontal lesions: A retrospective study. *BMC Oral Health*. 2008;8:16.
- Listgarten MA. Pathogenesis of periodontitis. *J Clin Periodontol*. 1986;13(5):418-430.

- Loo WT, Wang M, Jin LJ, Cheung MN, Li GR. Association of matrix metalloproteinase (MMP-1, MMP-3 and MMP-9) and cyclooxygenase-2 gene polymorphisms and their proteins with chronic periodontitis. *Arch Oral Biol.* 2011;56(10):1081-1090.
- Lynch CC, Matrisian LM. Matrix metalloproteinases in tumor-host cell communication. *Differentiation.* 2002;70(9-10):561-573.
- Maeda T, Kawane T, Horouchi N. Statins Augment Vascular Endothelial Growth Factor Expression in Osteoblastic Cells via Inhibition of Protein Prenylation. *Endocrinology.* 2003;144(2):681-692.
- Mäkelä M, Salo T, Uitto VJ, Larjava H. Matrix metalloproteinases (MMP-2 and MMP-9) of the oral cavity: cellular origin and relationship to periodontal status. *J Dent Res.* 1994;73(8):1397-1406.
- Marcaccini AM, Meschiari CA, Zuardi LR, de Sousa TS, Taba M, Teofilo JM, Jacob-Ferreira ALB, Tanus-Santos JE, Novaes AB, Gerlach RF. Gingival crevicular fluid levels of MMP-8, MMP-9, TIMP-2, and MPO decrease after periodontal therapy. *J Clin Periodontol.* 2010;37(2):180-190.
- Marcaccini AM, Novaes AB Jr, Meschiari CA, Souza SL, Palioto DB, Sorgi CA, Faccioli LH, Tanus-Santos JE, Gerlach RF. Circulating matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) and MMP-9 are increased in chronic periodontal disease and decrease after non-surgical periodontal therapy. *Clin Chim Acta.* 2009;409(1-2):117-122.
- 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 Bio.* 2001;21(10):1636-1641.
- Maron DJ, Fazio S, Linton MF. Current perspectives on statins. *Circulation.* 2000;101(2): 207-213.
- McFarlane SI, Muniyappa R, Francisco R, Sowers JR. Pleiotropic effects of statins: Lipid reduction and beyond. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87(4):1451-1458.
- McLaren J, Prentice A, Charnock-Jones DS, Millican SA, Muller KH, Sharkey AM, Smith SK. Vascular endothelial growth factor is produced by peritoneal fluid macrophages in endometriosis and is regulated by ovarian steroids. *J Clin Invest.* 1996;98(2):482-489.
- McTaggart F. Comparative pharmacology of rosuvastatin. *Atherosclerosis Suppl.* 2003;4(1):9-14.
- Meert AP, Martin B, Delmotte P, Berghmans T, Lafitte JJ, Mascaux C, Paesmans M, Steels E, Verdebout JM, Sculier JP. The role of EGF-R expression on patient

- survival in lung cancer: a systematic review with meta-analysis. *Eur Respir J*. 2002;20(4):975-81.
- Meier CR, Schlienger RG, Kraenzlin ME, Schlegel B, Jick H. HMG-CoA reductase inhibitors and the risk of fractures. *JAMA*. 2000;283(24):3205-3210.
- Meisel P, Kohlmann T, Wallaschofski H, Kroemer HK, Kocher T. Cholesterol, C-Reactive Protein, and Periodontitis: HMG-CoA-Reductase Inhibitors (Statins) as Effect Modifiers. *ISRN Dent*. 2011;2011:125168.
- Moriyama Y, Ayukawa Y, Ogino Y, Atsuta I, Koyano K. Topical application of statin affects bone healing around implants. *Clin Oral Impl Res*. 2008;19(6):600–605.
- Morris MS, Lee Y, Lavin MT, Giannini PJ, Schmid MJ, Marx DB, Reinhardt RA. Injectable Simvastatin in Periodontal Defects and Alveolar Ridges: Pilot Studies. *J Periodontol*. 2008;79(8):1465-1473.
- Mundy G, Garrett R, Harris S, Chan J, Chen D, Rossini G, Boyce B, Zhao M, Gutierrez G. Stimulation of bone formation in vitro and in rodents by statins. *Science* 1999;286(5446):1946-1949.
- Nagase H, Woessner JF Jr. Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem*. 1999;274(31):21491-21494.
- Nagashima H, Aoka Y, Sakomura Y, Sakuta A, Aomi S, Ishizuka N, Hagiwara N, Kawana M, Kasanuki H. A 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitor, cerivastatin, suppresses production of matrix metalloproteinase-9 in human abdominal aortic aneurysm wall. *J Vasc Surg*. 2002;36(1):158-163.
- Namiki A, Brogi E, Kearney M, Kim EA, Wu T, Couffignal T, Varticovski L, Isner JM. Hypoxia induces vascular endothelial growth factor in cultured human endothelial cells. *J Biol Chem*. 1995;270(52):31189-31195.
- Nassar CA, Nassar PO, Andia DC, Guimarães MR, Spolidorio LC. The effects of up to 240 days of tacrolimus therapy on the gingival tissues of rats--a morphological evaluation. *Oral Dis*. 2008;14(1):67-72.
- Nassar PO, Nassar CA, Guimarães MR, Aquino SG, Andia DC, Muscara MN, Spolidorio DM, Rossa C Jr, Spolidorio LC. Simvastatin therapy in cyclosporine A-induced alveolar bone loss in rats. *J Periodontal Res*. 2009;44(4):479-488.
- Neufeld G, Cohen T, Gengrinovitch S, Poltorak Z. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors. *FASEB J*. 1999;13(1):9–22.
- Newman MG, Takei H, Klokkevold PR, Carranza FA. Carranza's Clinical Periodontology Middle East and Africa Edition. 10th Ed., Philadelphia, W.B. Saunders Company. 2007;99-208.

- Nicholls SJ, Brandrup-Wognsen G, Palmer M, Barter PJ. Meta-analysis of comparative efficacy of increasing dose of Atorvastatin versus Rosuvastatin versus Simvastatin on lowering levels of atherogenic lipids (from VOYAGER). *Am J Cardiol.* 2010;105(1):69-76.
- Offenbacher S. Periodontal diseases: pathogenesis. *Ann Periodontol.* 1996;1(1):821-878.
- Ortega N, Hutchings H, Plouet J. Signal relays in the VEBF system. *Front Biosci* 1999;1(4):141-152.
- Oxlund H, Andreassen TT. Simvastatin treatment partially prevents ovariectomy-induced bone loss while increasing cortical bone formation. *Bone.* 2004;34(4):609-618.
- Oxlund H, Dalstra M, Andreassen TT. Statin given perorally to adult rats increases cancellous bone mass and compressive strength. *Calcif Tissue Int.* 2001;69(5):299-304.
- Oz SG, Fentoglu O, Kilicarslan A, Guven GS, Tanrtover MD, Aykac Y, Sozen T. Beneficial effects of periodontal treatment on metabolic control of hypercholesterolemia. *South Med J.* 2007;100(7):686-691.
- Ozeç I, Kiliç E, Gümüş C, Göze F. Effect of local simvastatin application on mandibular defects. *J Craniofac Surg.* 2007;18(3):546-550.
- Page RC, Offenbacher S, Schroeder HE, Seymour GJ, Kornman KS. Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. *Periodontol 2000.* 1997;14:216-248.
- Pejčić A, Kesic L, Brkic Z, Pesic Z, Mirkovic D. Effect of periodontal treatment on lipoproteins levels in plasma in patients with periodontitis. *South Med J.* 2011;104(8):547-52.
- Pertovaara L, Kaipainen A, Mustonen T, Orpana A, Ferrara N, Saksela O, Alitalo K. Vascular endothelial growth factor is induced in response to transforming growth factor-beta in fibroblastic and epithelial cells. *J Biol Chem.* 1994;269(9):6271-6274.
- Petersen PE. The World Oral Health Report 2003: Continuous improvement of oral health in the 21st century - The approach of the WHO Global Oral Health Programme. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2003;31(1):3-24.
- Poltorak Z, Cohen T, Sivan R, Kandelis Y, Spira G, Vlodaysky I, Keshet E, Neufeld G. VEBF145, a secreted vascular endothelial growth factor isoform that binds to extracellular matrix. *J Biol Chem.* 1997;272(11):7151-7158.

- Pozo P, Valenzuela MA, Melej C, Zaldívar M, Puente J, Martínez B, Gamonal J. Longitudinal analysis of metalloproteinases, tissue inhibitors of metalloproteinases and clinical parameters in gingival crevicular fluid from periodontitis-affected patients. *J Periodontal Res.* 2005;40(3):199-207.
- Pradeep AR, Prapulla DV, Sharma A, Sujatha PB. Gingival crevicular fluid and serum vascular endothelial growth factor: their relationship in periodontal health, disease and after treatment. *Cytokine.* 2011;54(2):200-204.
- Pradeep AR, Thorat MS. Clinical Effect of Subgingivally Delivered Simvastatin in the Treatment of Patients With Chronic Periodontitis: A Randomized Clinical Trial. *J Periodontol.* 2010;81(2):214-222.
- Qu H, Xiao Y, Jiang G, Wang Z, Zhang Y, Zhang M. Effect of Atorvastatin Versus Rosuvastatin on Levels of Serum Lipids, Inflammatory Markers and Adiponectin in Patients with Hypercholesterolemia. *Pharm Res.* 2009;26(4):958-964.
- Raeste AM, Tapanila T, Tupakka R. Leukocyte migration into the healthy dentulous mouth. A study in children, adolescents and adults. *J Periodontal Res.* 1977;12(6):444-449.
- Reddi AH. Bone morphogenetic proteins: an unconventional approach to isolation of first mammalian morphogens. *Cytokine and Growth Factor Rev.* 1997;8(1):11-20.
- Reddy MS, Jeffcoat MK. Methods of assessing periodontal regeneration. *Periodontol* 2000. 1999;19:87-103.
- Rogers MJ. Statins: lower lipids and better bones? *Nat Med.* 2000;6(1):21-23.
- Rousseau S, Houle F, Landry J, Huot J. p38 MAP kinase activation by vascular endothelial growth factor mediates actin reorganization and cell migration in human endothelial cells. *Oncogene.* 1997;15(18):2169-77.
- Rutledge J, Schieber MD, Chamberlain JM, Byarlay M, Killeen AC, Giannini PJ, Marx DB, Reinhardt RA. Simvastatin application to augment facial jaw bone in a dog model: pilot study. *J Periodontol.* 2011;82(4):597-605.
- Sakoda K, Yamamoto M, Negishi Y, Liao JK, Node K, Izumi Y. Simvastatin Decreases IL-6 and IL-8 Production in Epithelial Cells. *J Dent Res.* 2006;85(6):520-523.
- Sangwan A, Tewari S, Singh H, Sharma RK, Narula SC. Periodontal Status and Hyperlipidemia: Statin Users vs. Non-Users. *J Periodontol.* 2012. [Basım aşamasında]

- Sato D, Nishimura K, Ishioka T, Kondo H, Kuroda S, Kasugai S. Local application of simvastatin to rat incisor socket: carrier-dependent effect on bone augmentation. *J Oral Tissue Eng.* 2005;2:76–80.
- Saver BG, Hujoel PP, Cunha-Cruz J, Maupomé G. Are statins associated with decreased tooth loss in chronic periodontitis? *J Clin Periodontol.* 2007;34(3):214-9.
- Saxlin T, Suominen-Taipale L, Knuuttila M, Alha P, Ylöstalo P. Dual effect of statin medication on the periodontium. *J Clin Periodontol.* 2009;36(12):997-1003.
- Senger DR, Galli SJ, Dvorak AM, Perruzzi CA, Harvey VS, Dvorak HF. Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid. *Science.* 1983;219(4587):983-985.
- Seto H, Ohba H, Tokunaga K, Hama H, Horibe M, Nagata T. Topical administration of simvastatin recovers alveolar bone loss in rats. *J Periodont Res.* 2008;43(3):261–267.
- Sharma I, Dhawan V, Mahajan N, Saha SC, Dhaliwal LK. In vitro effects of atorvastatin on lipopolysaccharide-induced gene expression in endometriotic stromal cells. *Fertil Steril.* 2010;94(5):1639-46.
- Skoglund B, Aspenberg P. Locally applied Simvastatin improves fracture healing in mice. *BMC Musculoskelet Disord.* 2007;27(8):98.
- Skoglund B, Forslund C, Aspenberg P. Simvastatin improves fracture healing in mice. *J Bone Miner Res.* 2002;17(11):2004-2008.
- Smith MF, Ricke WA, Bakke LJ, Dow MPD, Smith GW. Ovarian Tissue Remodeling: Role of Matrix Metalloproteinases and Their Inhibitors. *Mol Cell Endocrinol.* 2002;191(1):45-56.
- Socransky SS, Haffajee AD. The bacterial etiology of destructive periodontal disease: current concepts. *J Periodontol.* 1992;63(4):322-331.
- Soell M, Elkaim R, Tenenbaum H. Cathepsin C, matrix metalloproteinases, and their tissue inhibitors in gingiva and gingival crevicular fluid from periodontitis-affected patients. *J Dent Res.* 2002;81(3):174-178.
- Staal A, Frith JC, French MH, Swartz J, Gungör T, Harrity TW, Tamasi J, Rogers MJ, Feyen JH. The ability of statins to inhibit bone resorption is directly related to their inhibitory effect on HMG-CoA reductase activity. *J Bone Miner Res.* 2003;18(1):88–96.
- Stancu C, Sima A. Statins: mechanism of action and effects. *J Cell Mol Med.* 2001;5(4):378-387.

- Stein D, Lee Y, Schmid MJ, Killpack B, Genrich MA, Narayana N, Marx DB, Cullen DM, Reinhardt RA. Local simvastatin effects on mandibular bone growth and inflammation. *J Periodontol.* 2005;76(11):1861-1870.
- Stone CA. A molecular approach to bone regeneration. *Br J Plast Surg.* 1997;50(5):369-373.
- Struillou X, Boutigny H, Soueidan A, Layrolle P. Experimental animal models in periodontology: a review. *Open Dent J.* 2010;4:37-47.
- Taichman NS, Young S, Cruchley AT, Taylor P, Paleolog E. Human neutrophils secrete vascular endothelial growth factor. *J Leukoc Biol.* 1997;62(3): 397-400.
- Takenaka M, Hirade K, Tanabe K, Akamatsu S, Dohi S, Matsuno H, Kozawa O. Simvastatin stimulates VEGF release via p44/p42 MAP kinase in vascular smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003;301(1):198-203.
- Tanriover G, Demir N, Pestereli E, Demir R, Kayisli UA. PTEN-mediated Akt activation in human neocortex during prenatal development. *Histochem Cell Biol.* 2005;123(4-5):393-406.
- The American Academy of Periodontology. The Pathogenesis of Periodontal Diseases. *J Periodontol* 1999;70(4):457-470.
- Thunyakitpisal PD, Chaisuparat R. Simvastatin, an HMG-CoA reductase inhibitor, reduced the expression of matrix metalloproteinase-9 (Gelatinase B) in osteoblastic cells and HT1080 fibrosarcoma cells. *J Pharmacol Sci.* 2004;94(4):403-409.
- Thylin MR, McConnell JC, Schmid MJ, Reckling RR, Ojha J, Bhattacharyya I, Marx DB, Reinhardt RA. Effects of simvastatin gels on murine calvarial bone. *J Periodontol.* 2002;73(10):1141-1148.
- Tikiz C, Unlü Z, Tikiz H, Ay K, Angin A, Onur E, Var A, Tüzün C. 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.* 2004;22(4):365-371.
- Tischer E, Mitchell R, Hartman T, Silva M, Gospodarowicz D, Fiddes JC, Abraham JA. The human gene for vascular endothelial growth factor. Multiple protein forms are encoded through alternative exon splicing. *J Biol Chem.* 1991;266(18):11947-11954.
- Tokuda H, Kozawa O, Miwa M, Uematsu T. p38 mitogen-activated protein (MAP) kinase but not p44/p42 MAP kinase is involved in prostaglandin E1-induced vascular endothelial growth factor synthesis in osteoblasts. *J Endocrinol* 2001;170(3):629-638.

- Trombelli L. Which reconstructive procedures are effective for treating the periodontal intraosseous defect? *Periodontol* 2000. 2005;37:88-105.
- van Staa TP, Wegman S, de Vries F, Leufkens B, Cooper C. Use of statins and risk of fractures. *JAMA*. 2001;285(14):1850-1885.
- Vaziri H, Naserhojjati-Roodsari R, Tahsili-Fahadan N, Khojasteh A, Mashhadi-Abbas F, Eslami B. ve Dehpour AR. Effect of Simvastatin Administration on Periodontitis-Associated Bone Loss in Ovariectomized Rats. *J Periodontol*. 2007;78(8):1561-1567.
- Vecerova L, Strasky Z, Rathouska J, Slanarova M, Brackova E, Micuda S, Nachtigal P. Activation of TGF- β receptors and Smad proteins by atorvastatin is related to reduced atherogenesis in ApoE/LDLR double knockout mice. *J Atheroscler Thromb*. 2012;19(2):115-126.
- Webb NJ, Myers CR, Watson CJ, Bottomley MJ, Brenchley PE. Activated human neutrophils express vascular endothelial growth factor (VEGF). *Cytokine*. 1998;10(4): 254-257.
- Weitz-Schmidt G. Statins as anti-inflammatory agents. *Trends Pharmacol Sci*. 2002;23(10):482-486.
- Wong B, Lumma WC, Smith AM, Sisko JT, Wright SD, Cai TQ. Statins suppress THP-1 cell migration and secretion of matrix metalloproteinase 9 by inhibiting geranylgeranylation. *J Leukoc Biol*. 2001;69(6):959-962.
- Wong RW, Rabie AB. Early healing pattern of statin-induced osteogenesis. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2005a;43(1):46-50.
- Wong RW, Rabie AB. Histologic and ultrastructural study on statin graft in rabbit skulls. *J Oral Maxillofac Surg*. 2005b;63(10):1515-1521.
- Wong RW, Rabie AB. Statin collagen grafts used to repair defects in the parietal bone of rabbits. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2003;41(4):244-248.
- Wu Z, Liu C, Zang G, Sun H. The effect of simvastatin on remodelling of the alveolar bone following tooth extraction. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2008;37(2):170-176.
- Yan XZ, Ge SH, Sun QF, Guo HM, Yang PS. A pilot study evaluating the effect of recombinant human bone morphogenetic protein-2 and recombinant human beta-nerve growth factor on the healing of Class III furcation defects in dogs. *J Periodontol*. 2010;81(9):1289-1298.
- Yazawa H, Zimmermann B, Asami Y, Bernimoulin JP. Simvastatin promotes cell metabolism, proliferation, and osteoblastic differentiation in human periodontal ligament cells. *J Periodontol*. 2005;76(2):295-302.

Zachary I. Vascular endothelial growth factor. *Int J Biochem Cell Biol.* 1998;30(11):1169-1174.

Zhang L, Zhang ZG, Ding GL, Jiang Q, Liu X, Meng H, Hozeska A, Zhang C, Li L, Morris D, Zhang RL, Lu M, Chopp M. vMultitargeted effects of statin-enhanced thrombolytic therapy for stroke with recombinant human tissue-type plasminogen activator in the rat. *Circulation.* 2005;112(22):3486-94.

EK 1



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
SAMSUN

Sayı : HADYEK/61

01/06/2010

Konu : Araştırma projeniz hk.

Doç. Dr. Gonca Çayır KELEŞ
Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı

2010/23 numaralı “ATORVASTATİNİN DENEYSEL PERİODONTİTİS OLUŞUM SÜRECİNDE VE PERİODONTİTİS OLUŞTUKTAN SONRAKİ DÖNEMDE PERİODONSİYUM ÜZERİNE ETKİSİNİN STEREOLOJİK, İMMÜNHİSTOKİMYASAL VE BİYOKİMYASAL OLARAK İNCELENMESİ ” konu başlıklı Projeniz; Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 31.05.2010 tarihli toplantısında görüşülmüş, Hayvan Hakları ve Deney Etiği açılarından uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.

Araştırmanın yürütüldüğü süreç içinde etik kurallar ve hayvan haklarına uygunluk yönünden sorumluluk araştırmacılar a ait olmak kaydıyla ve 6 aylık dönemler halinde Çalışma Raporu verilmesi şartıyla çalışmanıza başlamanız uygun görülmüştür.


Prof. Dr. Ferișat KOLBAKIR
HADYEK Başkan

EK 2



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Sayı : B.30.2.ODM.0.42.00.00/211-3283
Konu :

27.10.2010

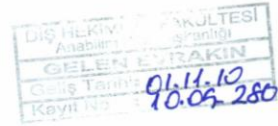
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞINA

Anabilim Dalınız doktora öğrencisi Dt.Umut BALLI'nın tez başlığı değişikliği ile ilgili teklif yazınız Enstitü Yönetim Kurulumuzun 26.10.2010 tarihli toplantısında görüşülerek, aşağıdaki gibi kabul edilmiştir. Bilgilerinizi rica ederim.


Prof.Dr.Süleyman KAPLAN
Müdür

Yeni Tez Başlığı:

“Atorvastatinin Deneysel Periodontitis Oluşum Sürecinde Ve Periodontitis Oluştuktan Sonraki Dönemde Periodonsiyum Üzerine Etkisinin İncelenmesi”



Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
55139 Kurupelit / SAMSUN
Tel.Direkt: 0 (362) 457 60 93 Fax: 0 (362) 457 60 93
e.mail: sagbilen@omu.edu.tr

ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında Adana'da doğdum. İlköğrenimimi 1995 yılında Adana Cebesoy İlkokulunda, orta öğrenimimi 1998 yılında Adana Gazi Ortaokulunda, lise öğrenimimi 2002 yılında Adana Ticaret Odası Anadolu Lisesinde tamamladım. Üniversite eğitimimi Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesinde 2007 yılında tamamladıktan sonra 2008 yılında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalında doktora eğitimine başladım. 2009 yılında Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalına Araştırma Görevlisi olarak atandım. Halen Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalında doktora eğitimime devam etmekteyim.

Yabancı dilim İngilizce'dir.

Araş.Gör.Dt. Umut BALLI

