

T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI



**ROSUVASTATİNİN DENEYSEL PERİODONTİTİS
MODELİNDE OKSİDATİF STRES VE ENFLAMATUVAR
PARAMETRELERE ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Memduha TÖZÜM BULUT

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. F. Yeşim KIRZIOĞLU

**Bu Tez Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinasyon Birimi tarafından 3424-D1-13 proje numarası ile desteklenmiştir
Tez. No: 111**

ISPARTA, 2014

KABUL VE ONAY

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğüne;

Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Periodontoloji Anabilim Dalı Doktora Programı** Çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 29/12/2014

Tez Danışmanı : Prof. Dr. F. Yeşim KIRZIOĞLU

SDÜ, Diş Hekimliği Fakültesi, Periodontoloji AD, Isparta.

Üye : Doç. Dr. Mine ÖZTÜRK TONGUÇ

SDÜ, Diş Hekimliği Fakültesi, Periodontoloji AD, Isparta.

Üye : Doç. Dr. Özlem FENTOĞLU

SDÜ, Diş Hekimliği Fakültesi, Periodontoloji AD, Isparta.

Üye : Yrd. Doç. Dr. Mehmet ÖZGÖZ

AÜ, Diş Hekimliği Fakültesi, Periodontoloji AD, Antalya.

Üye : Yrd. Doç. Dr. A. Cihangir UĞUZ

SDÜ, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri, Biyofizik AD, Isparta.

ONAY: Bu doktora tezi, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Nejdett ADANIR
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

BEYAN

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

Tezi Hazırlayan

Memduha TÖZÜM BULUT

Danışman

Prof. Dr. F. Yeşim KIRZIOĞLU

ÖNSÖZ

Doktora eğitimim boyunca mesleki açıdan gelişmemde büyük desteğini gördüğüm, tezimin hazırlanması aşamasında her türlü bilgi, tecrübe ve yardımlarını esirgemeyen, sayın hocam Prof. Dr. F. Yeşim KIRZIOĞLU'na;

Yaşamımın her alanında her zaman desteğini ve sevgisini gördüğüm, doktora eğitimim sırasında her türlü bilgi, tecrübe ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Özlem FENTOĞLU'na;

Periodontoloji eğitimim süresince verdikleri emekler nedeniyle, kürsümüzün saygıdeğer hocaları Prof. Dr. Zuhale YETKİN AY ve Doç. Dr. Mine ÖZTÜRK TONGUÇ'a;

Doktora eğitimim boyunca birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum Dt. Umut YİĞİT ve Dr. Gizem TORUMTAY CİN'e;

Biyokimyasal analiz aşamasındaki büyük yardımlarından dolayı Sayın Yrd. Doç. Dr. Süleyman ÖNAL'a;

Verilerin istatistiksel değerlendirmelerin yapılmasında yardımlarını esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Hikmet ORHAN'a;

Tez projeme maddi destek sağlayan Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi'ne (Proje No: 3424-D1-13);

Çalışmalarımın yürütülmesinde bana destek olan ve yardımlarını esirgemeyen tüm Periodontoloji Anabilim Dalı Asistanlarına ve çalışanlarına;

Tüm hayatım boyunca sonsuz sevgilerini ve özverilerini bir an bile eksik etmeden, maddi ve manevi destekleriyle bana her zaman güç veren Canım Annem ve Abim'e;

Her daim sevgi ve desteğini hep yanı başımda hissettiğim sevgili eşim Erman BULUT'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Memduha TÖZÜM BULUT
Isparta, 2014

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
KABUL VE ONAY	ii
BEYAN.....	iii
ÖNSÖZ.....	iv
İÇİNDEKİLER	v
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
RESİMLER DİZİNİ	xi
GRAFİKLER DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Statinler	4
2.1.1. Statinlerin Kolesterol Düşürücü Etkisi	5
2.1.2. Statinlerin Pleiotropik Etkileri	6
2.2. Serbest Radikaller.....	8
2.2.1. Reaktif Oksijen Türleri (Serbest Oksijen Radikalleri)	9
2.2.2. Reaktif Azot Türleri (Serbest Nitrojen Radikalleri)	11
2.2.3. Serbest Radikallerin Kaynakları	11
2.2.4. Serbest Radikallerin Biyolojik Mekanizmaya Etkileri	12
2.3. Antioksidan Savunma Sistemleri	13
2.3.1. Enzimatik Antioksidanlar	14
2.3.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	15
2.4. Periodontal Hastalık	16
2.4.1. Tanım ve Sınıflandırma	16
2.4.2. Periodontitis	18
2.4.3. Periodontitis Patogenezi	19
2.4.4. Periodontitis Patogenezinde Oksidatif Durum	20
2.4.5. Periodontal Hastalıkta Konak Modülasyon Tedavisi	24
2.4.6. Periodontal Hastalık ve Statin İlişkisi.....	25
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	29
3.1. Deney Hayvanı Seçimi	29

3.2. Deney Grupları	29
3.3. Deneysel Periodontitis Modeli	29
3.4. Rosuvastatin Uygulaması	30
3.5. Kan ve Doku Örneklerinin Alınması.....	31
3.6. Radyografik Değerlendirme	32
3.7. Histomorfometrik Değerlendirme	32
3.8. Histopatolojik Değerlendirme	32
3.9. Serum Oksidatif Stres ve Enflamatuvar Parametrelerin Değerlendirilmesi....	33
3.10. İstatistiksel Analiz	33
4. BULGULAR	35
4.1. Histopatolojik Bulgular	35
4.2. Histomorfometrik Bulgular	39
4.3. Biyokimyasal Sonuçlar.....	39
4.4. Korelasyonlar	41
5. TARTIŞMA	44
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	52
ÖZET.....	53
ABSTRACT	54
KAYNAKLAR	55
EKLER.....	72
Etik Kurul İzni.....	72
ÖZGEÇMİŞ.....	74

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

AKT	: Alveoler kret tepesi
CRP	: C reaktif protein
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DOS	: Dişeti oluğu sıvısı
eNOS	: Endotelyal NOS
GSH	: Glutasyon
GSH-Px	: Glutasyon peroksidaz
GSSG	: Okside glutasyon
HMG-KoA	: 3-hidroksi-3-metilglutaril-koenzim A
hs-CRP	: Yüksek duyarlı C reaktif protein
IL	: İnterlökin
iNOS	: İndüklenebilir NOS
KAT	: Katalaz
KMP	: Kemik morfojenik protein
KVH	: Kardiyovasküler hastalıklar
LDL	: Düşük yoğunluklu lipoprotein
LPS	: Lipopolisakkarit
MDA	: Malondialdehid
MMP	: Matriks metalloproteinaz
MPO	: Miyeloperoksidaz
MSS	: Mine sement sınırı
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
nNOS	: Nöral NOS
NO	: Nitrik oksit
NOS	: Nitrik oksit sentaz
PMNL	: Polimorfonükleer lökosit
RAT	: Reaktif azot türleri
ROT	: Reaktif oksijen türleri
SDÜ	: Süleyman Demirel Üniversitesi
SOD	: Süperoksit dismutaz

TBARS	: Tiyobarbitürik asit reaktif madde
TNF-α	: Tümör nekrozis faktör alfa
VLDL	: Çok düşük yoğunluklu lipoprotein

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Statinlerin pleiotropik etkileri	8
Tablo 2. Başlıca ROT ve RAT	9
Tablo 3. Antioksidan sistemlerin etki mekanizmalarına göre fonksiyonel sınıflaması	14
Tablo 4. Periodontal hastalık sınıflandırması	18
Tablo 5. Periodontal tedavide yaygın olarak kullanılan konak modifiye edici ajanlar.....	25
Tablo 6. Deney programı.....	31
Tablo 7. Kullanılan ticari kitler ve sensitivite değerleri	33
Tablo 8. Histopatolojik skorlamaya göre grupların istatistiksel karşılaştırılması [median değerler.....	36
Tablo 9. MSS ile AKT arasındaki mesafe ölçümleri	39
Tablo 10. Tüm çalışma gruplarında serum parametreleri	40
Tablo 11. Parametreler arasında istatistiksel anlamlı korelasyonlar	41

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Statinlerin kimyasal yapısı.....	5
Şekil 2. Mevalonat yolu	6
Şekil 3. Statinlerin pleiotropik etki mekanizmasının şematik gösterimi	7
Şekil 4. Periodontitis modeli.....	17
Şekil 5. Periodontal doku hasarında bazı mekanizmalar	21

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. A. Deneysel düzenek, B. Deneysel periodontitis oluşturulmasında ligatür yerleştirme işlemi	30
Resim 2. A. Oral gavaj iğnesi ve enjektörü, B. Rosuvastatin uygulaması	31
Resim 3. Sağlıklı ve periodontitis oluşmuş örneklerde klinik ve radyografik görüntüler	35
Resim 4. K grubundaki sağlıklı periodonsiyumunun histolojik görüntüsü..	37
Resim 5. R grubundaki sağlıklı periodonsiyumun histolojik görüntüsü	37
Resim 6. P grubundaki şiddetli periodontitis tablosu.	38
Resim 7. PR grubundaki hafif şiddetteki periodontitis tablosu...	38

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 1. Çalışma gruplarındaki serum MDA sonuçları.....	42
Grafik 2. Çalışma gruplarındaki serum NO sonuçları.	42
Grafik 3. Çalışma gruplarındaki serum SOD sonuçları.	42
Grafik 4. Çalışma gruplarındaki serum GSH-Px sonuçları.....	43
Grafik 5. Çalışma gruplarındaki serum GSH sonuçları.	43
Grafik 6. Çalışma gruplarındaki serum hs-CRP sonuçları.....	43

1. GİRİŞ

Periodontitis, etyolojisinde mikrobiyal dental plağın primer olarak rol oynadığı, gingivitisin ilerlemesi ile gelişen ve dişi destekleyen sert ve yumuşak dokularda yıkım ile karakterize, enflamatuvar bir hastalıktır (1-5). Periodontal dokularda kolonize olan bakteri ve virüslere karşı, sistemik dolaşımda immuno-enflamatuvar yanıt oluşur (6). Bu durum, hücresel ve humoral faktörleri içeren, çeşitli sitokinlerin, kemokinlerin ve büyüme faktörlerinin rol aldığı karmaşık bir etkileşimin sonucu olarak ortaya çıkar. Periodontisteki doku yıkımının büyük bir kısmı özellikle subgingival biyofilmde bulunan Gram (-) anaerob ve fakültatif bakterilere (7, 8) ve ürünlerine karşı oluşan konak cevabı ile ilişkilidir (9).

Son yıllarda, periodontal doku yıkımından reaktif oksijen türleri (ROT) ile antioksidan savunma sistemi ve proteolitik enzimler ile inhibitörleri arasındaki dengenin bozulması sorumlu tutulmaktadır. Periodontal hastalıklarda ROT üretiminin büyük kısmı nötrofiller ve monositler tarafından gerçekleştirilmesine rağmen (10), dişeti bağ dokusundaki fibroblastlar, osteoklastlar ve dişeti epitel hücrelerinin de ROT üretimine katkıda bulunduğu gösterilmiştir (10, 11). Alveoler kemik rezorpsiyonunda bu hücreler tarafından üretilen ROT'un direkt etkili olduğu rapor edilmiştir (12). Bununla birlikte, ROT'un kemik matriksini doğrudan parçalamak yerine osteoklastları aktive etmek sureti ile rezorpsiyon sürecinde rol aldığını ortaya koyan çalışmalar da mevcuttur (13).

ROT, serbest radikal zincir reaksiyonlarını başlatarak lipidler, proteinler, deoksiribonükleik asit ve karbonhidratlar gibi önemli hücre bileşenlerinde hasar meydana getirebilmektedir (14-17). Protein ve karbonhidrat yapılarına kıyasla lipidler radikal hasarına karşı daha hassastırlar (18-20). Periodontal hastalığı bulunan bireylerde periodontal açıdan sağlıklı bireylere kıyasla, ROT aktivitesine bağlı olarak, serum, salya, cep sıvısı ve dişeti örneklerinde lipid peroksidasyon son ürünü olan malondialdehid (MDA) düzeylerinin artışı rapor eden çalışmaların yanı sıra MDA seviyelerinin değişmediği de rapor edilmiştir (21-27). Önemli biyolojik fonksiyonları yerine getirmek üzere üretilen azot merkezli bir radikal olan nitrik oksit (NO) ve diğer reaktif azot türlerinin artışı doku yıkımına neden olur (28). Yapılan

çalışmalarda periodontitiste meydana gelen enflamatuvar değişikliklere ve periodontal patojenlere cevap olarak NO seviyesinin arttığı bildirilmiştir (29, 30).

Antioksidan savunma sistemleri, önemli hücre bileşenlerinin oksidasyonunun önlenmesi veya geciktirilmesinde görev almaktadırlar (17). Periodontitis varlığında serum, salya, dişeti ve dişeti oluğu sıvısı (DOS) örneklerinde süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon (GSH) ve katalaz gibi antioksidan enzimlerin seviyelerinde değişiklik meydana geldiği rapor edilmiştir (19, 24, 26, 31).

Statinler, 3-hidroksi-3-metilglutaril-koenzim A redüktaz enzimini inhibe ederek kan kolesterol seviyesini düşürürler ve son yıllarda kardiyovasküler hastalıklar (KVH)'ı önlemek amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadırlar (32-35). Statinlerin kolesterol metabolizması üzerine etkilerinin yanında antitrombotik, endotel stabilizasyonu, osteoblast farklılaşması, immunomodülasyon, oksidatif stresin ve sistemik enflamasyonun azalması gibi pleiotropik etkilerinin bulunduğu bildirilmektedir (36-39) Statinlerin antioksidan etkileri, KVH'nin yanı sıra oksidatif stres ile ilişkili diğer kronik hastalıklarda da klinik olarak katkı sağlamaktadır (40, 41). Günümüzde lipid peroksidasyonu ve oksidatif stres ile ilişkili ROT'taki artışın periodontal hastalıktaki doku yıkımında rol oynadığına dair kanıtların varlığı (10, 42) statin gibi antioksidanların periodontal tedavide kullanımını düşündürmüştür. Deneysel periodontitis modellerinde statinlerin alveolar kemik kaybını önleyici rolü gösterilmiştir (43-45). Statinlerin periodontitisin başlaması ve tedavisi üzerindeki etkileri ile ilgili yapılan klinik çalışmalarda statin kullanımının diş kaybında (46, 47) ve periodontal cep derinliğinde azalma, ataçman kazancı ve kemik içi defektlerinde dolum sağladığı rapor edilmiştir (48-50).

Enflamasyonun, oksidatif stresin bir göstergesi olduğu bilinmektedir. Adezyon molekülleri ve interlökin (IL) gibi enflamasyon mediyatörlerini oluşturan yollar, oksidatif stres tarafından indüklenmektedir. Yapılan çalışmalarda, periodontal hastalık varlığında artmış C reaktif protein (CRP) ve IL-6 gibi serum enflamatuvar belirteç seviyelerinin statin kullanımı ile azaldığı bildirilmiştir (51, 52).

Bu çalışmada, ratlarda deneysel periodontitis modelinde, sistemik rosuvastatin uygulamasında,

- a. Periodontal kemik yıkımının histomorfometrik olarak,
- b. Periodontal enflamasyon şiddetinin histopatolojik olarak,
- c. Serum MDA, NO, SOD, GSH ve GSH-Px konsantrasyonlarının ve
- d. Serumda yüksek duyarlı CRP (hs-CRP) konsantrasyonlarının değerlendirilmesi ve periodontal açıdan sağlıklı kontroller ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Statinler

1980’li yıllardan itibaren kullanıma girerek kardiyovasküler morbidite ve mortalitede ciddi azalma sağlayan statinler, günümüzde yüksek etkinlik ve düşük yan etki profilinden dolayı en çok kullanılan antilipidemik ilaçlardır (53, 54). Statinler, kolesterol sentezinin hız kısıtlayıcı basamağında 3-hidroksi-3-metilglutaril-koenzim A (HMG-KoA) redüktaz enziminin mevalonik asite dönüşümünü geri dönüşümlü olarak inhibe ederler ve bu durum karaciğerde kolesterol sentezini azaltır. Ayrıca düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL)’in karaciğerde reseptör aracılı endositozunu artırarak plazma LDL kolesterolünü düşürürler. Statinlerin, yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol yükseltici ve trigliserid düşürücü etkileri de bulunmaktadır (55, 56).

Statinler ilk olarak bir mantar olan *Penicillium citrinum*’dan izole edilmiş ve 1976’da Endo ve ark., (57) tarafından kolesterol sentezi inhibitörü olarak tanımlanmışlardır. Brown ve ark., (58) statinlerin HMG-KoA redüktaz enzimini inhibe ederek etki ettiğini ortaya çıkarmışlardır. İnsanda çalışılan ilk statin kompaktindir. Bu statin daha sonra mevastatin olarak adlandırılmıştır (59). Alberts ve ark., (60) *Aspergillus terreus*’tan izole edilen ve insanda kullanıma uygun bulunan ilk statin, lovastatini geliştirmişlerdir. Lovastatinin Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi tarafından kabul edilmesinin ardından bugüne kadar 7 statin daha geliştirilmiştir (61). Atorvastatinin 1997 yılında üretilmesinin ardından, 2003’te rosuvastatin ve 2009’da pitavastatin satışa sunulmuştur.

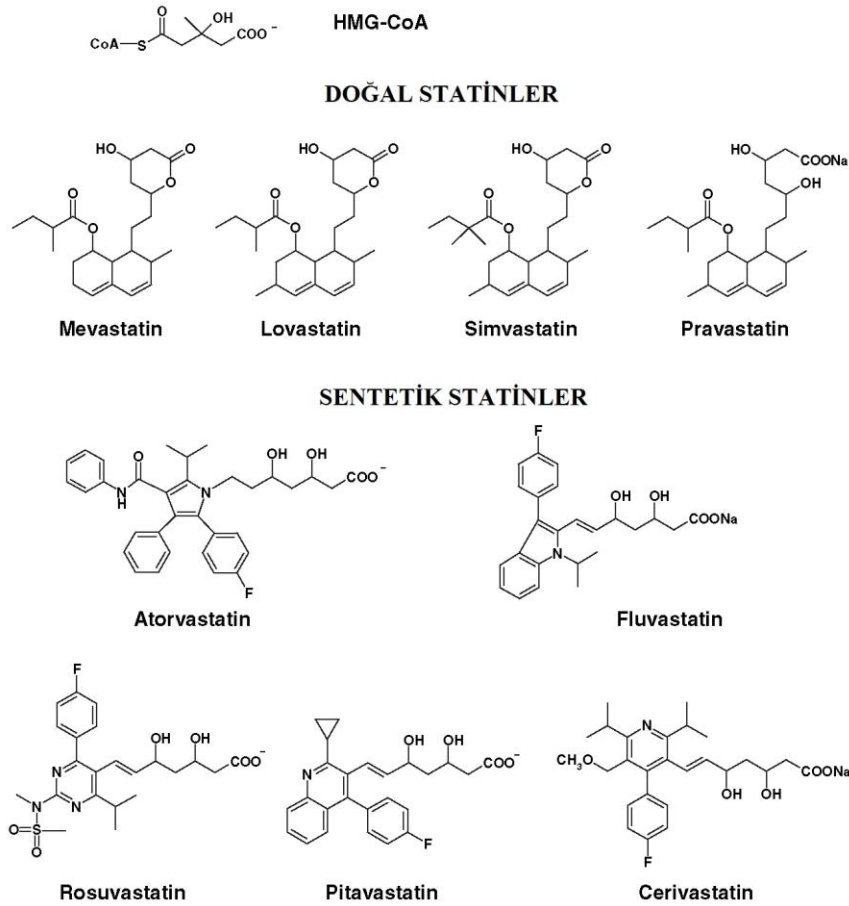
Statinler elde edilişlerine göre doğal ve sentetik olarak 2 gruba ayrılırlar:

1. Doğal statinler: Lovastatin, simvastatin, pravastatin
2. Sentetik statinler: Cerivastatin, fluvastatin, atorvastatin, rosuvastatin, pitavastatin (62).

Tüm statin moleküllerinin ortak noktası sahip oldukları HMG benzeri yapıya sahip olan dihidroksiheptenoik asit zinciridir ve bu zincir dışında kalan bölümleri önemli farklılıklar gösterir (56) (Şekil 1). Bu yapısal özellikler HMG-KoA redüktaz

enziminin aktif parçasına olan afinite, karaciğer ve karaciğer dışı dokulara girme oranı, sistemik dolaşımda bulunma oranı ve metabolik transformasyon/eliminasyon hız farklılıklarına neden olur. Bir statinin etkinliğinin yüksek olması için enzimin aktif kısmına olan afinitesinin yüksek olması, karaciğer hücreleri için selektivitesinin yüksek olması, sistemik dolaşıma geçme oranının düşük olması ve yarılanma ömrünün uzun olması gereklidir (63).

Lipofilik statinler (atorvastatin, fluvastatin, simvastatin, lovastatin ve pitavastatin) kolayca hücre membranını geçerek hücre içerisine girebilirken, hidrofilik statinler (rosuvastatin ve pravastatin) karaciğer hücresine girebilmek için özel taşıma mekanizmalarına ihtiyaç duymaktadırlar (54, 64).

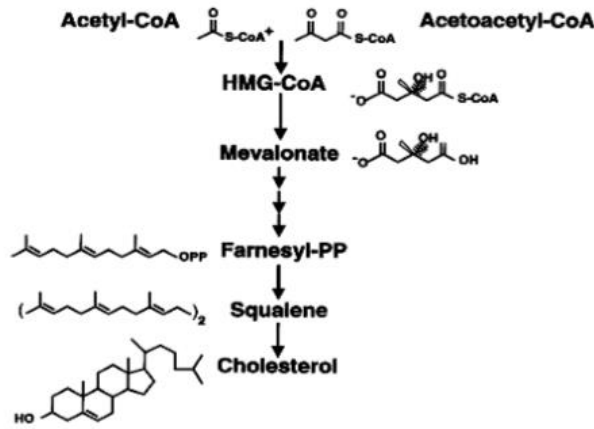


Şekil 1. Statinlerin kimyasal yapısı (Weitz-Schmidt, 2002'den alınmıştır) (65).

2.1.1. Statinlerin Kolesterol Düşürücü Etkisi

Bütün statinlerde yer alan HMG benzeri dihidroksiheptanoik asit zinciri, HMG-KoA redüktaz enzimi için yalancı bir substrattır. Enzimin aktif bölgesine

bağlanır ve kompetatif bir inhibisyona neden olur. Bu inhibisyon neticesinde Asetil CoA'dan mevalonik asit sentezi inhibe olur (Şekil 2). Hücre içinde sentezlenen kolesterolün azalması karaciğer hücre yüzeyinde bulunan LDL ve çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL) reseptörlerinin sayıca artıp aktifleşmesine neden olur. Bu reseptörler dolaşımda bulunan LDL ve VLDL'yi yakalayıp karaciğer hücresine alarak dolaşımdaki kolesterol miktarının azalmasına yol açarlar. Dolayısıyla statinlerin kolesterol düşürücü etkileri bir yandan hücre içi sentezi azaltıp, diğer yandan da dolaşımdaki LDL'nin hücre içine alınmasını sağlayarak gerçekleşir (56).

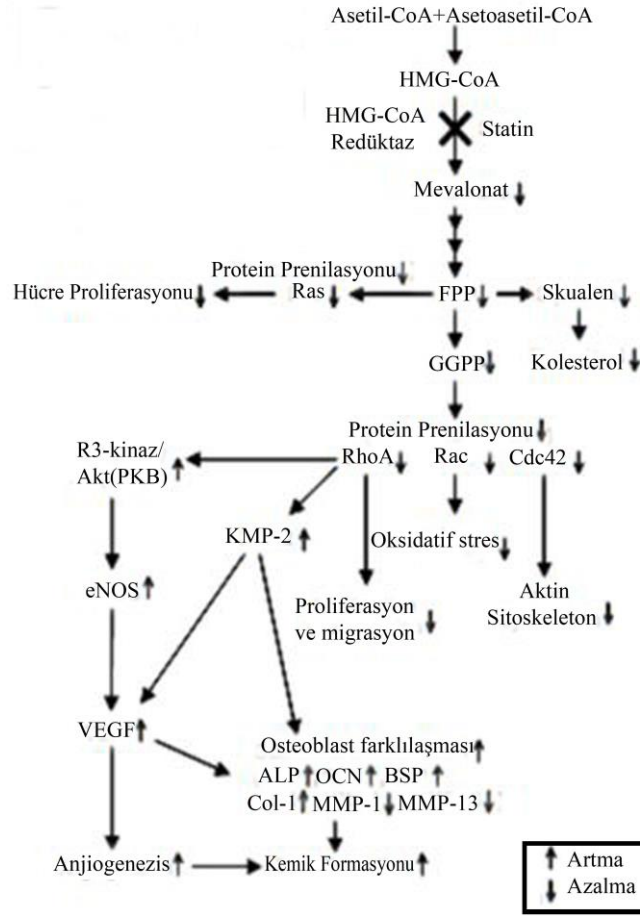


Şekil 2. Mevalonat yolu (Istvan 2003'ten alınmıştır) (56).

2.1.2. Statinlerin Pleiotropik Etkileri

KVH'ye bağlı ölüm oranların yüksek olması ve her geçen gün artan sayıda antihiperlipidemik ilaç kullanımı statinlerin kolesterol düşürücü etkilerinden başka etkilerini araştıran çalışmaların yapılmasına neden olmuştur (34, 66, 67). Statinlerin kardiyovasküler vakaları azalttığını gösteren randomize, plasebo kontrollü ilk klinik çalışma 1994 yılında yayınlanmıştır (68). 5 yıl süren 90.000'den fazla katılımcının yer aldığı 14 ayrı statin meta-analiz çalışması statin tedavisinin düşürülen her mmol/L LDL kolesterol seviyesi için kardiyovasküler vakaların insidansını yaklaşık %20 azalttığını göstermiştir (69). Statinlerin kardiyovasküler morbidite ve mortaliteyi azaltıcı etkileri lipid düşürücü etkiye bağlansa da, yapılmış olan bu çalışmaların alt grup analizlerinde lipid düşürücü etkilerinden bağımsız olan direkt kardiyoprotektif etkileri olduğu düşünülmektedir. Statinlerin bu etkilerine genel olarak pleiotropik etki denilmektedir. Statinlerin pleiotropik etkilerinin çoğu

mevalonat oluşumunun ve dolayısıyla mevalonat yolu boyunca oluşan izoprenoidler ve skualen üretiminin engellenmesi sonucunda ortaya çıkar (Şekil 3).



Şekil 3. Statinlerin pleiotropik etki mekanizmasının şematik gösterimi (Horiuchi ve Maeda, 2006'den alınmıştır) (70).

Bu protein grupları pek çok sinyal yolunda anahtar görevi görerek hücre yapısının bütünlüğü, proliferasyonu, adezyonu, hücre göçü ve apoptozis gibi hücresel işlevlerin kontrolünü sağlarlar (71). Literatürde statinlerin KVH'nin yanı sıra, sinir sistemi, solunum sistemi, immun sistem, iskelet sistemi ve kanser gibi hastalıklarda da olumlu etkileri rapor edilmiştir (72-74). Statinlerin bazı pleiotropik etkileri Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Statinlerin pleiotropik etkileri

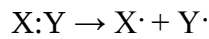
PLEİOTROPİK ETKİLER

- Koroner arter hastalıklarında azalma
 - Ateroskleroziste azalma
 - Trombosit agregasyonu ve trombüs birikiminde azalma
 - Anjiogeneziste artma
 - β -amiloid peptit birikiminde azalma (Alzheimer hastalığı ile ilişkili)
 - Enflamasyonda azalma (antienflamatuvar özellik)
 - Hücre proliferasyonunda azalma (antiproliferatif özellik)
 - T-lenfosit aktivasyonunda azalma (immunomodülatör özellik)
 - Kemik oluşumunda artma (kemikte anabolik özellik)
 - Antioksidan etkinlik
 - Tümör hücrelerinin gelişimini ve metastazını engelleme
 - Nefropati gelişiminde azalma
-

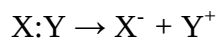
2.2. Serbest Radikaller

Anaerob şartlara adapte organizmalar dışında tüm canlıların enerji üretimi için oksijene ihtiyacı vardır. Oksijen kullanılırken oluşan bazı reaktif ürünlerin iyonize radyasyona benzer toksisiteye neden olabileceği ileri sürülmüştür (75). Serbest radikal olarak adlandırılan bu ürünler fizyolojik veya patolojik reaksiyonlar sırasında oluşabilen eşleşmemiş elektron içeren atom, atom grubu veya moleküllerdir (76). Eşleşmemiş elektron varlığı serbest radikallerde atomun üstüne konan koyu bir nokta ile gösterilmektedir ($R\cdot$). Serbest radikaller pozitif yüklü (katyon), negatif yüklü (anyon) veya elektriksel olarak nötral olabilirler. Bir serbest radikal başlıca 3 yolla oluşur (77):

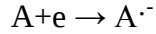
1. Kovalent bağ taşıyan normal bir molekülün homolitik yıkımı sonucu radikal oluşumuyla, (bölünme sonrası her bir parçada ortak elektronlardan biri kalır)



2. Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı ya da bir molekülün heterolitik olarak bölünmesiyle,



3. Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesiyle oluşabilir.



Tek bir elektron içereni bu nedenle stabil olmayan serbest radikaller gerekli elektronu alarak stabil duruma geçmek için diğer bileşiklerle hızla reaksiyona girerler. En yakındaki bileşikten elektronu alır. Bu reaksiyon, yaşayan hücre içerisinde zincirleme olarak devam eder ve hücrede bozulmalara neden olur (16, 78, 79).

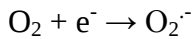
Serbest radikaller oksijen ve azot içeriklerine göre reaktif oksijen türleri (ROT) ve reaktif azot türleri (RAT) olarak gruplandırılırlar (Tablo 2).

Tablo 2. Başlıca ROT ve RAT

ROT		RAT	
Hidroksil $\cdot OH$	Peroksinitrit $ONOO^-$	Nitrik oksit $NO^{\cdot}$	Nitroksil $NO^{\cdot}$
Süperoksit $O_2^{\cdot -}$	Hipokloröz Asit $HOCl$	Nitröz oksit $N_2O^{\cdot}$	Nitril Klorür NO_2Cl
Peroksil $RO_2^{\cdot}$	Hidrojen Peroksit H_2O_2	Azot Dioksit $NO_2^{\cdot}$	Nitrotil Katyonu NO^+
Lipid Peroksil $LOO^{\cdot}$	Singlet Oksijen $^1O_2^{\cdot -}$	Peroksinitrit $ONOO^-$	Dinitrojen trioksit N_2O_3
Alkoksil RO	Ozon O_3	Peroksinitröz Asit $ONOOH$	Nitröz Asit HNO_2
Hidroperoksil HOO	Lipid Peroksit $LOOH$		

2.2.1. Reaktif Oksijen Türleri (Serbest Oksijen Radikalleri)

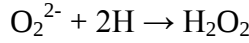
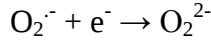
Süperoksit Radikali ($O_2^{\cdot -}$): Canlılarda oluştuğu belirlenen ilk radikal süperoksit anyon radikalidir (80). Tüm aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu süperoksit radikali meydana gelir (77).



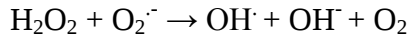
Süperoksit radikali aldığı elektronu başka bir elektron alıcıya vererek tekrar oksijene oksitlenebilir ve böylece bir redüktör olarak davranabilir. Süperoksit radikalleri oksidatif strese yol açabilen bir dizi reaksiyonları başlatabilir (81).

Hidrojen Peroksit Radikali (H_2O_2): Süperoksit radikalının bir elektron alması sonucu peroksit oluşur. Peroksit molekülü iki hidrojen atomu ile birleşerek hidrojen

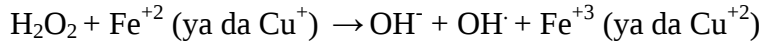
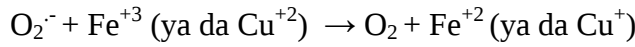
peroksit radikalini meydana getirir. Bu tepkime ya kendiliğinden ya da superoksit dismutaz (SOD)'ın katalizi ile gerçekleşir.



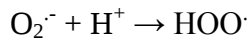
Hidroksil Radikali ($\cdot OH$): Hidrojen peroksit radikali, süperoksit ile reaksiyona girerek en reaktif ve zarar verici serbest radikal olan hidroksil radikalini oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir. Bu reaksiyona Haber- Weiss tepkimesi adı verilir.



Biyolojik sistemlerde hidroksil radikalının, bir geçiş elementinin, demir ya da bakır, katalizör olarak rol aldığı bir reaksiyon ile meydana geldiği düşünülmektedir (82). Buna göre +3 değerlikli demir iyonları önce süperoksit radikali tarafından +2 değerliğe indirgenmekte ve daha sonra da elektronlarını hidrojen peroksit aktararak $\cdot OH$ oluşmasına neden olmaktadır. Fe^{+2} , Cu^{+2} iyonları tarafından kataliziyle oluşan tepkime Fenton tepkimesi olarak adlandırılır.



Hidroperoksil Radikali ($HOO\cdot$): Superoksit radikali hidroperoksil radikale protonlanabilir. Süperoksitten daha reaktiftir (77, 83).



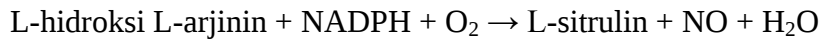
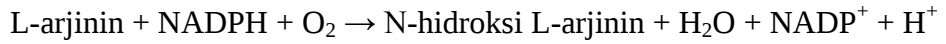
Tekil (Singlet) Oksijen (1O_2): Oksijenin uyarılmış şekline tekil (singlet) oksijen adı verilir. Enerji verilmek suretiyle meydana gelir ve oksijenin oldukça reaktif şekli olarak bilinmektedir. Yapısında eşleşmemiş elektronu bulunmaması nedeniyle serbest radikal olmadığı halde ROT arasında yer alan singlet oksijen, doymamış yağ asitleri ile doğrudan tepkimeye girerek peroksil radikalini oluşturmakta ve hidroksil radikali kadar etkin bir şekilde lipid peroksidasyonunu başlatabilmektedir (84, 85).

2.2.2. Reaktif Azot Türleri (Serbest Nitrojen Radikalleri)

RAT'lar nitrosonyum katyonu, nitroksil anyonu, nitrik oksit radikali (NO[•]), peroksinitrit (ONOO[•]) ve azot dioksit (NO^{2•}) gibi azot kaynaklı bileşiklerdir. Diğer radikallerden farklı olarak düşük dozlarda toksik değildirler. RAT'lar düz kas hücreleri, kardiyomyositler, trombositler, sinir ve jukstaglomerüler hücreler gibi birçok hücrenin fizyolojisinde önemli role sahiptir. ROT ile etkileşim sonucu pleiotropik özellikler gösterirler. Artmış RAT seviyeleri nitrosatif stres ile hücre hasarı ve ölümüne yol açar (86).

Düşük konsantrasyonlarda ortamda oksijen varlığında dahi stabilitesini koruyabilen NO, bilinen en düşük molekül ağırlıklı biyoaktif memeli hücresi ürünüdür. NO, birçok hücrede nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi yardımı ile L-arjininin terminal guanidin azot atomlarının ve oksijenin tepkimesi sonucu oluşur (87). NOS'un 3 formu vardır:

- Endotelyal NOS (eNOS) baskın olarak endotelyal hücrelerden;
- İndüklenebilir NOS (iNOS) makrofajlardan;
- Nöral NOS (nNOS) nöronlardan ve iskelet kaslarından üretilir.



2.2.3. Serbest Radikallerin Kaynakları

Serbest radikallerin kaynakları, endojen ve eksojen kaynaklar olmak üzere 2 gruba ayrılmaktadır. Serbest radikallerin eksojen kaynakları; ilaçlar (aminotriazol, asetaminofen, bleomisin, doksorubisin, hiperbarik oksijen, klonazin, klosapin, metilendioksimetamfetamin, nitrofurantoin, siprofloksasin, siklosporin, trisiklik antidepresanlar, troglitazon), metal iyonları (demir, bakır, kadmiyum, nikel, krom, civa) kirleticiler (asbest lifleri, mineral tozlar, ozon, karbon monoksit, NO, nitrojen dioksit, silika, bazı çözücüler, toksinler, hipoklorit, kükürt dioksit, yangın, PCB, parakuat, dikuat, plumbagin, juglone) ve radyasyondur (ultraviyole ışık, x-ray, gamma radyasyon) (88).

Serbest radikallerin endojen kaynakları; mitokondrial elektron taşıma sistemi, enzimatik reaksiyonlar, peroksizomlar, plazma membranları, oksidan enzimler, araşidonik asit yolu, küçük moleküllerin otooksidasyon reaksiyonları ve fagositik hücre aktiviteleridir (89, 90).

2.2.4. Serbest Radikallerin Biyolojik Mekanizmaya Etkileri

Serbest radikaller protein, deoksiribonükleik asit (DNA), karbonhidrat ve lipidler ile reaksiyona girerler (10).

2.2.4.1. Serbest Radikallerin Lipidlere Etkisi

Serbest radikallerin en önemli reaksiyonu lipid peroksidasyonudur. Lipid peroksidasyonu üç aşamada gerçekleşir:

- *Başlangıç Aşaması:* Bu aşamada çoklu doymamış yağ asitlerine RH veya oksijen köklerinin girmesiyle ya da molekülden çıkmasıyla, ortasında karbon atomu bulunan ($R\cdot$) lipid grupları meydana gelir.
- *Gelişme Aşaması:* Meydana gelen lipid grupları, moleküler oksijen ile birleşerek hızla peroksi ($ROO\cdot$) grubuna dönüşür. Reaksiyon devam ederek peroksi grubu hidroperoksi grubunu ($R-OO-H$) şekillendirir. Bu aşama bir zincir tepkimesi şeklinde devam eder.
- *Yıkımlama Aşaması:* Bu reaksiyonda, meydana gelen gruplar birbirleri ile tepkimeye girerek etkisiz ürünlere dönüşürler ya da antioksidan maddeler ile tepkime bitirilir (91).

Lipid peroksidasyon ürünleri lipid peroksitleri, tiyobarbitürik asit reaktif maddeler (TBARS, malondialdehid [MDA]), isoprostanlar (F2-isoprostan, F4-isoprostan), 4-hidroksinoneal, pentan, etan ve diğer uçucu hidrokarbonlardır (10). Lipid peroksidasyonun son ürünlerinden olan MDA biyomedikal araştırmalarda yüksek reaktivitesi ve toksisitesi ile oksidatif stresin belirlenmesinde oldukça güvenilir ve en popüler belirteçtir (92). MDA, yağ asidi oksidasyonunun spesifik veya kantitatif bir belirleyicisi olmamakla birlikte, lipid peroksidasyon derecesi ile önemli korelasyon göstermektedir (10).

2.2.4.2. Serbest Radikallerin DNA Etkisi

DNA, serbest radikallerden kolayca zarar görebilen önemli bir hedeftir. Oksidatif stresin, farklı mekanizmalar ile DNA üzerinde baz ve şeker modifikasyonları, tek ve çift zincir kırıkları, abazik bölgeler, DNA-protein çapraz bağlanması gibi mekanizmalarla hasara yol açtığı bilinmektedir. ROT DNA'da 20'den fazla oksidatif hasar ürününün oluşmasına yol açar (93). Bu hasara uğrayan bazlar arasında 8-hidroksi-2-deoksiguanozin oldukça duyarlı ve en sık karşılaşılan oksidatif DNA hasarı belirticidir (94).

2.2.4.3. Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkisi

Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerine de önemli etkileri vardır. Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksitler ve oksoaldehitler meydana gelir. Bunlar koroner kalp hastalığı, göz hastalıkları, kanser, hipertansiyon, romatoid artrit, yaşlılık ve diyabet gibi hastalıkların patolojik süreçlerinde önemli rol oynarlar (95, 96).

2.2.4.4. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkisi

Proteinler ve amino asitler lipidlerden daha az serbest radikal etkisine maruz kalırlar. Protein hasarı protein fonksiyon değişimi, sekonder radikallerin oluşumu, önemli proteaz inhibitörlerinin inaktivasyonu, immunolojik aktif ürünlerin oluşumu ve DNA tamir enzimlerinin hasarı olarak biyolojik homeostazı etkileyebilir. Protein oksidasyonunun stabil son ürünü olan karbonil, protein hasarının tespitinde en sık kullanılan belirleyicidir. Aldehidler, glikated proteinler ve akrolein de oksidatif hasarın ölçümünde kullanılırlar (10).

2.3. Antioksidan Savunma Sistemleri

Vücutta serbest radikallerin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği oksidatif hasarı önlemek için çeşitli mekanizmalar vardır. Bunlar; önleyici mekanizmalar, tamir mekanizmaları, fiziksel savunmalar ve antioksidan mekanizmalardır (79, 84).

Antioksidanlar, endojen ve ekzojen kaynaklı antioksidanlar olmak üzere başlıca iki ana gruba ayrılabilirler. Enzim yapısında olanlar ve enzim yapısında olmayanlar şeklinde de sınıflandırılabilir (97, 98). Antioksidan sistemlerin, etki mekanizmalarına göre sınıflaması ise Tablo 3’de gösterilmiştir (77).

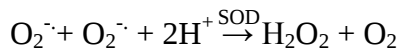
Tablo 3. Antioksidan sistemlerin etki mekanizmalarına göre fonksiyonel sınıflaması

DEFANS TİPİ	ETKİ MEKANİZMASI	MOLEKÜL
Önleyici antioksidanlar	Serbest radikal oluşumunu baskılar Şelasyon ile metalin uzaklaştırılması Aktif oksijenin yok edilmesi	Katalaz, glutatyon peroksidaz ve serum transferaz Transferrin, albumin Superoksit dismutaz, karotenoidler
Radikal süpürücü antioksidanlar	Zincir başlangıcını inhibe etmek için radikallerin uzaklaştırılması	Lipofilik: Vitamin A, vitamin E, karotenoidler, ubikinonlar Hidrofilik: Ürik asit, askorbik asit, albümin, bilirubin
Tamir ve yeni enzimler	Yıkımın tamiri ve membranların yeniden düzenlenmesi	DNA tamir enzimleri, proteaz, transferaz, lipaz

2.3.1. Enzimatik Antioksidanlar

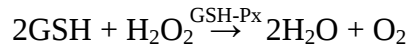
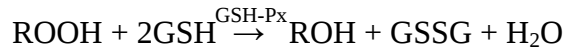
Enzimatik antioksidan enzimlerin başlıcaları superoksit dismutaz (SOD), Katalaz (KAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px)’dir.

Süperoksit Dismutaz (SOD): SOD, en etkin intrasellüler enzimatik antioksidanlardan biridir. Hidroksil radikalının moleküler oksijene ve daha az reaktif bir ürün olan hidrojen peroksit dismutasyonunu katalizler (77).

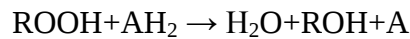
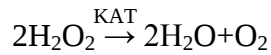


SOD’un insanda 3 formu bulunmaktadır: Sitozolda çinko-Bakır (Cu/Zn) SOD, mitokondride Manganez (Mn) SOD ve ekstrasellüler (EC) olarak EC-SOD. SOD, fagosite edilmiş bakterilerin intrasellüler öldürülmesinde de rol oynamaktadır. Bu nedenle SOD granülosit fonksiyonu için çok önemlidir. Lenfositlerde de SOD fazla miktarda bulunmaktadır (99). SOD, insan periodontal ligament hücrelerinde de lokalizedir ve aşırı süperoksit salınımına karşı gingival fibroblastlarda önemli bir savunma mekanizması olarak yer alır (100).

Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px): Memelilerde 5 adet GSH-Px izoenzimi bulunmaktadır: GSH-Px1, GSH-Px2, GSH-Px3, GSH-Px4 ve GSH-Px5. Bu enzim, hidrojen peroksit ve lipid peroksitlerini, GSH kullanarak redüksiyon yoluyla uzaklaştırır ve sitozolik hasara karşı etkin bir mekanizma sağlar. Tetramerik yapıda olup 4 selenyum atomu içeren sitozolik bir enzimdir. Ancak kapasitesi sınırlıdır. Enzim aktivitesi, pentoz fosfat yolunda üretilen nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH)'a bağımlıdır. Düşük konsantrasyonlardaki hidrojen peroksit, öncelikle GSH-Px tarafından temizlenir. Bu enzim, redükte glutasyon (GSH)'un okside GSH'a çevrildiği ortamda hidrojen peroksiti yüksek spesifite ile detoksifiye etmektedir. Redükte GSH'ın, okside glutasyon (GSSG) haline dönüştüğü reaksiyonda GSH-Px enzimiyle hidrojen peroksit, suya indirgenmiş olur. Sonraki aşamada GSH redüktaz enziminin katalizlediği reaksiyon ile NADPH harcanarak, GSSG redükte hale dönüştürülmektedir (101).



Katalaz (KAT): KAT, peroksizomlarda ve sitozolde bulunur, yapısında hem molekülü içerir ve hidrojen peroksiti su ve moleküler oksijene parçalayarak ortamdan uzaklaştırır (77, 101).



2.3.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

Glutasyon (GSH): Sistein içeren bir tripeptit olan GSH, in vivo sentezlenebilen ve ince bağırsaktan emilebilen bir antioksidandır. Peroksidazlar için substrat olan GSH, antioksidan etkili C ve E vitaminleri üzerinde de orta düzeyde koruyucu etkiye sahiptir. Ökaryotik hücrelerde GSH'un yaklaşık %90'ı sitozolda, %10'u mitokondride ve çok az bir kısmı da endoplazmik retikulumda bulunur. GSH oksidasyonu, apoptozis sürecinin erken dönemdeki belirtisidir ve metabolik sinyal görevi görebilir. DNA sentezi ve hasarlı parçalarının onarılmasında etkin olan GSH, aminoasit transportu, peroksit metabolizması, iskelet-kas bütünlüğü ve birçok enzim

aktivitesinin düzenlenmesinden sorumludur ve eksikliği hücre ölümüne yol açar (77, 102).

GSH, GSH-Px enzimi katalizörlüğünde, hidrojen peroksiti ve organik peroksitlerle reaksiyona girerek antioksidan etki oluşturur ve hidrojen peroksiti alyuvarlardan uzaklaştırır. Hücre proteinlerini indirgemiş şekilde tutan disülfid-sülfidril değişimi tepkimelerinde de etkilidir. GSSG, GSH redüktaz tarafından sürekli GSH'ye indirgenir ve böylece GSH miktarının istenilen düzeyde olması sağlanır (78, 103).

Askorbik Asit (C vitamini): Askorbik asit, fagositozda oksidatif parçalanma ürünlerinin zararlı etkilerine karşı koruyucu olan plazmadaki tek endojen antioksidandır. Askorbik asit, superoksit ve peroksit radikallerini süpürücü antioksidandır ve nükleer faktör kappa B üzerine etki ederek proenflamatuvar gen ekspresyonunu azaltır (104).

Karotenoidler: Karotenoidler zincir kıran bir antioksidan olarak etki ederek peroksit ve tekli oksijen radikallerinin oluşumunu önlerler. Karotenoidlerin en önemlileri; beta karoteinoid, lutein, likopen ve zeoksantindir (10).

Vitamin E (α -Tokoferol): Doğada bulunan, yağda çözünen, en etkili ve önemli bir antioksidan olan vitamin E, ROT'un ataklarına karşı hücre membranında bulunan ve membranın yapısı, bütünlüğü ve fonksiyonu için önemli olan doymamış yağ asitlerini korur (10, 105).

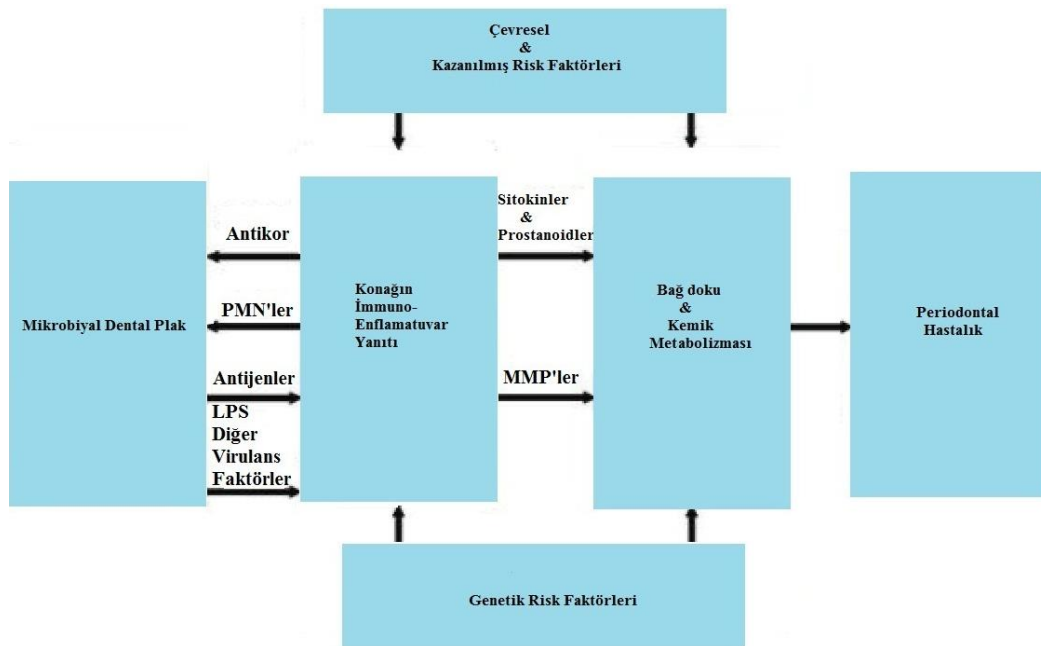
Bunların dışında sistein, polifenoller, seruloplazmin, albumin, ürik asit, bilirubin, melatonin, magnezyum, transferrin ve laktoferrin gibi birçok antioksidan vardır (77, 106).

2.4. Periodontal Hastalık

2.4.1. Tanım ve Sınıflandırma

Periodontal hastalık, mikrobiyal dental plaktaki spesifik mikroorganizmalar ve mikroorganizmaların ürünlerine karşı, destek bağ ve kemik dokuda enflamatuvar cevap oluşumuyla karakterize, enfeksiyöz ve multifaktöriyel bir hastalıktır (107). Periodontal hastalıklar, Dünya Sağlık Örgütü tarafından tüm toplumlarda görülen ve

oldukça yaygın olan önemli bir hastalık grubu olarak tanımlanmaktadır (108). Periodontal hastalık, gingivitis ve ardından gelişen periodontitisi ifade eder (107). Gingivitis, mikrobiyal dental plaktaki spesifik mikroorganizma ve mikroorganizmaların ürünlerine karşı diş çevresi yumuşak dokularında enflamasyonla karakterize bir hastalıktır (109-111). Periodontitis ise dişi destekleyen periodontal ligament, alveoler kemik ve yumuşak dokularda enflamasyona bağlı yıkımla karakterizedir. Genetik, kazanılmış ve çevresel risk faktörleri, patojene karşı oluşan doku cevabını etkileyerek periodontal hastalığa yatkınlığı artırabilirler (112) (Şekil 4).



Şekil 4. Periodontitis modeli (Page ve Kornman 1976'dan modifiye edilmiştir) (113).

Armitage (114) tarafından rapor edilen ve günümüzde kabul gören periodontal hastalık sınıflandırılmasında 8 ana başlık bulunmaktadır. Bu sınıflandırmada periodontitisler: 'Kronik Periodontitis', 'Agresif Periodontitis' ve 'Sistemik hastalıkların bir bulgusu olarak ortaya çıkan periodontitis' olarak kategorize edilmektedir (Tablo 4).

Tablo 4. Periodontal hastalık sınıflandırması (114)

Gingival Hastalıklar
-Plağa bağlı gingival hastalıklar
-Plağa bağlı olmayan gingival hastalıklar
Kronik Periodontitis
-Lokalize
-Generalize
Agresif Periodontitis
-Lokalize
-Generalize
Sistemik Hastalıkların Bir Bulgusu Olarak Periodontitis
Nekrozitan Periodontal Hastalıklar
-Nekrozitan ülseratif gingivitis
-Nekrozitan ülseratif periodontitis
Periodonsiyum Apseleri
-Gingival apse
-Periodontal apse
-Perikoronar apse
Endodontik Lezyonlarla İlişkili Periodontitis
-Endodontik-periodontal lezyon
-Periodontal-endodontik lezyon
-Kombine lezyon
Gelişimsel ve Kazanılmış Deformiteler ve Durumlar
-Plağa bağlı dişeti hastalıklarını veya periodontitisi predispoze eden, lokalize, diş bağli faktörler
-Dişin çevresindeki mukogingival deformiteler ve durumlar
-Dişsiz alandaki mukogingival deformiteler ve durumlar
-Okluzal travma

2.4.2. Periodontitis

Gingivitis olarak başlayan periodontal hastalık tedavi edilmediği takdirde, mikrobiyal dental plaktaki periodontopatojenlerin kalitatif ve kantitatif olarak artması ve buna bağlı olarak konak savunma mekanizmalarında meydana gelen değişimler sonucu patolojik cep oluşumu, alveoler kemik yıkımı ve ataçman kaybı ile karakterize periodontitise ilerleyebilmektedir (115).

Kronik periodontitis, periodontitislerin en sık rastlanan tipidir. Her yaşta başlayabilir ancak en sık erişkinlerde tespit edilmektedir. Hastalığın sıklığı ve şiddeti yaşla birlikte artar. Yavaş ilerlemesi ile birlikte episodik olarak şiddetli yıkım

dönemleri gösterebilir. Periodontal dokulardaki yıkım miktarı dişin anatomik durumu, dental restorasyonlar gibi lokal faktörler, diyabet gibi sistemik faktörler veya sigara, stres gibi çevresel faktörler tarafından modifiye edilebilir (107, 116).

2.4.3. Periodontitis Patogenezi

Gingivitisten periodontitise geçişteki mekanizmalar günümüzde hala tam olarak tespit edilememiştir. Bununla birlikte her zaman periodontitis gelişiminden önce gingivitis gelişmesine rağmen, gingivitisten sonra her zaman periodontitise geçiş gözlenmez. Periodontal patogenezi basamakları, periodontitis gelişiminin değerlendirilmesinde ve periodontitislerin histopatolojik bulgularının karşılaştırılmasında önemlidir (117). Gingivitisin ve devamında periodontitisin gelişimi Page ve Schroeder (113) tarafından histopatolojik olarak başlangıç, erken, yerleşmiş ve ilerlemiş lezyon olmak üzere 4 başlıkta incelenmiştir:

Başlangıç Lezyon: Mikrobiyal dental plak birikimini takiben 2-4 gün içinde gelişir. Plağa karşı akut enflamatuvar cevap ile karakterizedir. Birleşim epiteli ve dişeti cebine polimorfonükleer lökosit (PMNL) göçü izlenir. Vasküler değişiklikler, epitelyal hücre değişiklikleri ve kolajen yıkımı gözlenir. Tüm bu değişiklikler PMNL'nin bölgeye kemotaksisi, oluşan bakteri ürünlerinin toksik etkisi, vazodilatasyon, bakteri ya da ürünlerine karşı oluşan karakteristik immün cevap ve kompleman sisteminin alternatif yolunun aktivasyonu sonucu gelişir. Bu aşama klinik olarak tespit edilmemesine rağmen, yaklaşık %5-10 oranında bir doku yıkımı meydana gelir

Erken Lezyon: Konak savunma mekanizmalarının enfeksiyonu ortadan kaldıramaması sonucu, mikrobiyal dental plak birikimini takiben 4-7 günde ortaya çıkar. Erken lezyon, lenfositlerin ve makrofajların artışı ile karakterizedir (117). Lenfositlerin yaklaşık %75'ini T lenfositleri oluşturur (118). Kapiller yapıda ve perivasküler alandaki nötrofil, makrofaj, plazma hücreleri ve mast hücre birikiminde artış meydana gelir. Kolajen yıkım miktarı ortalama %70 oranına ulaşır. Klinik olarak eritem ve sondalamada kanama görülebilir. Sonuç olarak klinik gingivitis tablosu ortaya çıkar.

Yerleşmiş Lezyon: Plak oluşumunu takiben 14. günden sonra gözlenen bu basamak kronik gingivitis olarak da adlandırılır. Bu aşamada kan damarları genişlemiş ve venöz dolaşım bozulmuştur. Kırmızı kan hücrelerinin damar dışına çıkışına bağlı olarak dişeti mavimsi kırmızı renkte görünür. Plazma hücrelerinin varlığı yerleşmiş lezyonun karakteristik özelliğidir. Birleşim epitelinin apikale proliferasyonu görülür. Bağ dokudaki kolajen lifler bozulmuştur ve plazma hücresi, nötrofil, lenfosit, monosit ve mast hücrelerinden oluşan infiltrat bu alanları doldurmuştur. Yerleşmiş lezyonda alveoler kemik yıkımı gözlenmez.

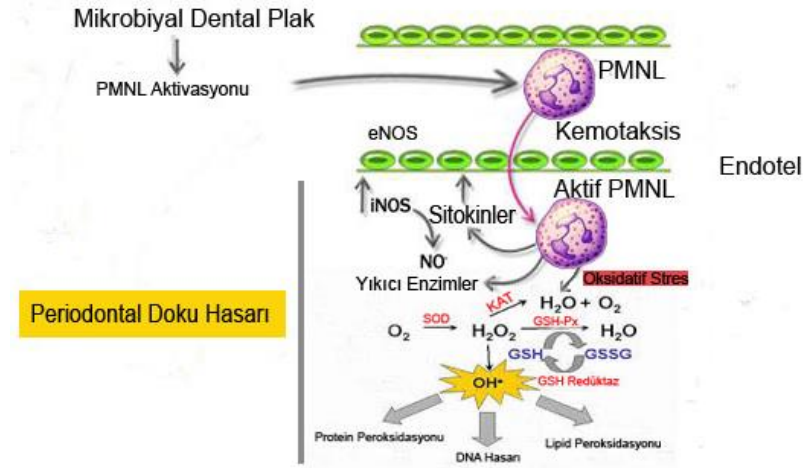
İlerlemiş Lezyon: Yerleşmiş lezyonun tüm karakteristik özelliklerini taşımakla beraber, alveoler kemik yıkımının da görüldüğü aşamadır. Bu lezyonda baskın hücre tipi plazma hücreleridir. Plazma hücresiyle beraber lenfosit ve makrofaj infiltrasyonu da devam eder. Alveoler kemik kaybı ve ataçman kaybı sonucunda periodontal cep formasyonu gözlenir. İlerlemiş lezyon periodontitis olarak da adlandırılır (117, 119-121).

2.4.4. Periodontitis Patogenezinde Oksidatif Durum

Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile ortadan kaldırılma hızı bir denge içerisinde. ROT ve antioksidan mekanizmalar arasındaki bu denge oksidatif denge olarak tanımlanır. Serbest radikallerin oluşum hızında artma ya da ortadan kaldırılma hızında bir azalma bu dengenin bozulmasına neden olur. Doku hasarıyla sonuçlanan bu durum oksidatif stres olarak tanımlanır (16, 42). Oksidatif stresin kronik obstrüktif akciğer hastalığı, romatoid artrit, kazanılmış immün yetmezlik sendromu, ateroskleroz ve periodontal hastalık gibi birçok hastalığın patogenezinde rol aldığı rapor edilmiştir (27, 122).

Son yıllarda, periodontal doku yıkımından, ROT ile proteolitik enzimler ve inhibitörleri ve antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin bozulmasının sorumlu olduğuna dair kanıtlar artmaktadır (Şekil 5). Periodontal hastalıklarda lokal ROT üretiminin büyük bir kısmı nötrofiller ve monositler tarafından gerçekleştirilmektedir (10). Yapılan çalışmalar, dişeti bağ dokusundaki fibroblastların, osteoklastların ve dişeti epitel hücrelerinin de lokal ROT üretimine katkıda bulunduğunu göstermiştir (10, 11). Osteoklastların rezorbe olan kemik yüzeyine komşu girintili kısımlarında ROT ürettikleri ve böylece ROT'un kemik

rezorpsiyonunda direkt rol aldığı bildirilmektedir (12, 123). ROT'un kemik matriksini doğrudan parçalamak yerine osteoklastları aktive ederek rezorpsiyon sürecinde rol aldığını ortaya koyan çalışmalar da mevcuttur (13).



Şekil 5. Periodontal doku hasarında bazı mekanizmalar

PMNL, enfeksiyon hastalıklarına karşı nonspesifik hücresel immün cevabın majör komponentidir. Nötrofiller ve monositler, oksijene bağımlı olmayan (enzimatik) ve oksijene bağımlı (enzimatik olmayan) mekanizmalarla antibakteriyel etkinlik gösterirler (124). Oksijenden bağımsız mekanizma nötrofillerin sitoplazmalarında bulunan azurofilik ve spesifik granüllerin içerdikleri özel proteazlar, antimikrobiyal peptit ve proteinler ile enzimler tarafından gerçekleştirilmektedir. Oksijene bağımlı mekanizma ise, non-mitokondrial oksidatif patlama ve artmış ROT üretimi ile ilişkili olup antimikrobiyal aktivitenin yanı sıra konak doku hasarına da neden olmaktadır (76).

Nötrofil plazma membranında normalde inaktif halde bulunan indirgenmiş NADPH oksidaz enzimi, fagositik hücrelerin solunum patlama reaksiyonunda kilit enzimidir (125). Bu enzim fagositik öldürme sırasında aktive olduğu zaman elektronlar NADPH'den oksijene transfer olurlar. Sonuçta oluşan superoksit radikali, spontan olarak veya SOD enzimi yoluyla hidrojen peroksit'e dönüşür ve KAT ve GSH-Px ile ortamdan uzaklaştırır (126). Fagozom içinde yoğun radikal birikimi şeklinde gerçekleşen solunum patlaması bakterisid etkilerde önemlidir, ancak konak hücrelerine de zarar vermektedir (10, 16). Oksijene bağımlı mekanizmada, nötrofillerin azurofilik granüllerinde bulunan ve fagozom içine salınan

miyeloperoksidaz (MPO) enzim aktivitesi de önemli bir role sahiptir. MPO seviyesindeki artış başta hipoklorik asit olmak üzere ROT üretiminin, oksidatif yıkımın ve doku hasarının arttığını göstermektedir (10, 127).

Periodontal hastalıkta PMNL sayısının ve aktivitesinin artması, serbest radikallerin salınımını arttırarak gingival dokularda, periodontal ligamentte ve alveoler kemikte oksidatif hasara yol açar (128, 129). Kronik Periodontitis ve Agresif Periodontitis hastalarında periodontal hastalıkla ilişkili opsonize bakteriler (*Fusobacterium nucleatum*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*) tarafından aktive edilen PMNL'nin ROT salınımını arttırdığı gösterilmiştir (130). Periodontal tedavi sonrası idame fazındaki hastalar üzerinde yapılan bir çalışmada plazma ROT düzeyleri incelenmiş, yaş, cinsiyet ve diş sayıları eşleştirildiğinde, plazma ROT değerinin yüksek olduğu bireylerde klinik ataçman kaybının istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazla olduğu rapor edilmiştir (131). Yapılan çalışmalarda sağlıklı kontrollere kıyasla periodontitisli bireylerde serum (19, 23), DOS (27, 132, 133), salya (27, 134), dişeti dokusu (23, 135) ve periapikal doku (136) örneklerinde MDA düzeylerinde artış olduğu ve MDA düzeylerinin periodontal yıkım şiddeti ile pozitif korelasyon gösterdiği ortaya konmuştur (25, 137).

Nitrik oksit biyolojik sistemlerde vazodilatasyon, programlı hücre ölümü ve sinir iletimi gibi önemli fonksiyonlara sahiptir (28). Son yıllarda periodontitis sonucu oluşan doku yıkımının patogeneğinde NO'nun önemi ve periodontitis varlığında NO seviyesinin arttığı vurgulanmaktadır (138-140). Osteoblastlar ve osteoklastlar, NO üretebilmelerinin yanı sıra NO'ya karşı yanıt da oluşturabilmektedirler. Kemikğin yeniden şekillendirilme süresince osteoblastların ürettiği NO hem osteoklastlar hem de osteoblastlar üzerinde etkili olmaktadır. Bu durum, NO'nun kemik metabolizmasında parakrin ve otokrin bir düzenleyici olduğunun kanıtıdır (141, 142). Yüksek konsantrasyondaki NO, osteoklast formasyonunu ve olgun osteoklastların aktivitesini baskılar, kemik rezorpsiyonunu inhibe eder (143). Ancak NO'nun düşük konsantrasyonları, osteoklast aktivitesinin düzenlenmesi için gerekli olabilir. NO ve serbest radikaller arasındaki ilişki, sitokinler ve/veya LPS'nin aktive ettiği makrofajlar tarafından yürütülmektedir. Superoksit ve hidrojen peroksit radikalleri gibi serbest radikaller osteoklastik kemik rezorbsiyonunu stimüle ettiğinden dolayı bu ilişki osteoklast fonksiyonu için anlamlı olabilir (144). Sitokin ve/veya LPS

tarafından indüklenen iNOS'un, osteoblastların büyüme ve farklılaşmasını inhibe ettiği bulunmuştur (145). Yüksek konsantrasyonlarda iNOS aynı zamanda apoptozisi indüklemektedir (146).

NO, periodontal doku yıkımında immunomodülatör, sitotoksik ve antibakteriyel etkilere sahiptir (147). Lipid radikallerle tepkimeye girmesi NO'ya antioksidan bir etki kazandırır. NO tarafından düzenlenen hidroksil radikal seviyesi nötrofiller ve makrofajların fagositik fonksiyonlarını etkiler. NO, *Porphyromonas gingivalis* indüklü alveoler kemik kaybında önemli bir mediyatördür (148). NO, genel olarak enflamatuvar mekanizmada pek çok basamakta düzenleyici konumundadır. Güçlü vazodilatör etkisi ile akut enflamatuvar reaksiyonda erken vasküler yanıtı düzenler. Non-spesifik immün yanıtta patojenlere karşı sitostatik-sitotoksik defans mekanizmalarından biridir (144). Enflamasyon süresince artmış NO'nun kemik kaybını arttırdığı ya da kemiği koruduğu yönünde farklı çalışmalar vardır (142, 149). Periodontitis varlığında NO seviyesinin arttığını (140, 150) ve azaldığını (151, 152) rapor eden farklı çalışma sonuçları bulunmaktadır.

Periodontal hastalık varlığında total oksidan kapasitesinin arttığı ve total antioksidan kapasitenin azaldığı rapor edilmiştir (137, 153, 154). Periodontitiste antioksidan enzim düzeylerini değerlendiren çalışmalarda çelişkili sonuçlar bulunmaktadır. Sobaniec ve Sobaniec-Lotowska (26), ligatür ile indüklenen periodontitis modelinde, serum antioksidan enzim düzeylerinin (SOD, GSH-Px ve GSH redüktaz) düştüğünü göstermişlerdir. Baltacıoğlu ve ark., (154) kronik periodontitisli bireylerin DOS ve serum SOD konsantrasyonlarının sağlıklı bireylere göre daha düşük olduğunu rapor etmişlerdir. Benzer şekilde Huang ve ark., (155) DOS GSH-Px aktivitesinin klinik ataçman kaybı ve periodontal cep derinliği ile negatif ilişkili olduğunu ve periodontal tedaviyi takiben GSH-Px aktivitesinin arttığını bildirmişlerdir. Bu sonuçlara karşılık, antioksidan enzimlerin periodontitiste arttığını gösteren çalışmalar da mevcuttur. Oktay ve ark., (31) deneysel periodontitis modelinde serum SOD, KAT ve GSH-Px seviyelerinin kontrole göre yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Wei ve ark., (24) kronik periodontitisli bireylerde serum, salya ve DOS örneklerinde SOD aktivitesinde artış ve periodontal tedaviyi takiben azalma rapor etmişlerdir. Giorgi ve ark., (156) gingivitisli dişeti örneklerinde sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında GSH seviyelerinin yükseldiğini rapor etmişlerdir.

Panjamurthy ve ark., (19) kronik periodontitisli bireylerde plazma örneklerinde SOD, KAT ve GSH-Px düzeylerinin arttığını, vitamin C, vitamin E ve GSH düzeylerinin ise azaldığını rapor etmişlerdir. Tüm bu sonuçlara karşın antioksidan enzim seviyelerinin periodontitiste değişmediğini de gösteren çalışmalar bulunmaktadır (157, 158).

Periodontitisli hastalarda, periodontal olarak sağlıklı bireylere göre oksidatif stres belirteçlerindeki artış ve antioksidan kapasitedeki düşüşün tespit edilmiş olması, periodontitis patogeneğinde ROT'un da önemli katkısı olduğunu düşündürmektedir (10, 25, 132). Hücreler, ROT'un neden olduğu oksidatif hasardan korunmak için antioksidan mekanizmalar bulundururlar. Periodontal doku yıkımında oksidatif stresin oluşmasının engellenmesiyle, periodontal doku yıkımının da engellenebileceği düşünülmektedir. Ancak böyle bir durumda patojenlere karşı savunma hattı da ortadan kaldırılmış olabilir ve daha fazla doku yıkımı gerçekleşebilir. Hem oksidatif stres oluşumunun engellenmesini hem de antioksidan savunma hattının devamının sağlanmasına imkan verebilecek antioksidan tedavi prosedürlerini oluşturabilmek periodontal tedavide başarının anahtarlarından biri gibi görünmektedir (159).

2.4.5. Periodontal Hastalıkta Konak Modülasyon Tedavisi

Mikrobiyal dental plak, periodontal hastalık gelişimi için primer etyolojik faktör olmasına rağmen, var olan plak miktarı periodontal hastalık şiddetinde ve seyrinde görülen bireysel farklılıkları açıklamakta yetersiz kalmaktadır (160). Klinik kanıtlar benzer miktarda plak birikimine sahip tüm bireylerin aynı konak cevabını vermediğini ortaya koymuştur. Bazı bireylerde az miktarda plak birikimine karşı orta ve ileri düzeyde periodontal doku kaybı gözlenirken, yoğun plak birikimine karşı minimal düzeyde periodontal doku kaybının gözlemlendiği bireyler de bulunmaktadır. Periodontal dokularda enflamatuvar mediatörler ile antienflamatuvar mediatör ve enzimler, prooksidanlar ile antioksidanlar genellikle denge içerisinde dirler. Mikrobiyal dental plağa uzun süreli maruz kalış konakta immuno-enflamatuvar cevap oluşturarak periodontal hastalığa yatkınlığı artırır (161, 162). Konak cevabındaki farklılıklar çevresel ve kazanılmış risk faktörlerinden dolayı enflamatuvar cevapta meydana gelen değişiklikler ile de olabilir (163). Konak-

bakteri etkileşimleri ve meydana gelen immuno-enflamatuvar cevap sonucu oluşan periodontal doku yıkımının engellenmesi için konak modülasyon tedavilerinin geliştirilmesi düşünülmüştür (164). Konak modülasyon tedavisinde konak cevabının koruyucu ve rejeneratif komponentlerinin arttırılması ve/veya yıkıcı yönünün azaltılması ya da modifiye edilerek periodonsiyumun stabilize edilmesi ve periodontal doku yıkımının azaltılması amaçlanmaktadır (162). Son yıllarda periodontal literatürde üzerinde yoğun çalışmaların yapıldığı konak modifiye edici ajanlar; non-steroidal antienflamatuvarlar, antiproteazlar, kemik koruyucular ve antioksidanlardır (162, 165) (Tablo 5).

Tablo 5. Periodontal tedavide yaygın olarak kullanılan konak modifiye edici ajanlar

KONAK MODÜLATÖRLERİ	AJANLAR	ETKİLERİ
Antiproteinazlar	Tetrasiklinler	MMP inhibisyonu
Antienflamatuvarlar	Non-steroidal antienflamatuvar, statinler, omega 3 yağ asitleri	Proenflamatuvar sitokin ve prostaglandin üretiminin engellenmesi
Kemik koruyucular	Bisfosfonatlar, teriparatid gibi antirezorptif ajanlar	Osteoklastların aktivasyonunun inhibisyonu
Antioksidanlar	Statinler, vitamin C, vitamin E, propolis, kafeik asit, karotenoidler	Oksidatif durumun iyileştirilmesi

2.4.6. Periodontal Hastalık ve Statin İlişkisi

Son yıllarda bozulmuş lipid metabolizması ve periodontal hastalık arasındaki ilişki dikkat çekmektedir ve hiperlipidemi tedavisinde kullanılan ilaçların periodonsiyum ve periodontal hastalık üzerindeki etkileri incelenmeye başlanmıştır. Statinlerin pleiotropik etkileri periodontal hastalıkta yarar sağlayabilir.

Statinler, üç farklı mekanizma ile periodonsiyum üzerine etki göstermektedirler. Lipid seviyelerini düşürücü etkileri periodontal parametrelerde dolaylı olarak iyileşmeye yol açmaktadır. Yapılan çalışmalarda lipid seviyesi ile periodontal sağlık durumu arasında negatif korelasyon olduğu, artmış LDL seviyesinin sondalamada kanama varlığı, yüksek gingival indeks değerleri, artmış periodontal cep derinliği ve klinik ataçman kaybı ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (51,

166, 167). Şiddetli periodontitis hastalarında periodontal tedavinin lipid seviyelerinde azalma ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (168, 169).

Statinlerin kolesterol düşürücü etkilerinden bağımsız olarak antioksidan, antienflamatuvar ve immunomodülatör yönleri ile pleiotropik etkileri bulunmaktadır (170). Ridker ve ark., (171, 172) yaptıkları bir çalışmada, serum LDL seviyeleri normal ancak serum CRP düzeyleri yüksek hastalarda statin kullanımı ile majör KVH sıklığında azalma olduğunu gözlemlemişlerdir. Benzer çalışmaların artmasıyla statinlerin antienflamatuvar etkileri belirlenmiş ve statin tedavisinin enflamasyonun bir göstergesi olan serum CRP değerlerini azalttığı ve bunu lipid düşürücü etkilerinden bağımsız olarak gerçekleştirdiği gösterilmiştir (173-175). Hiperkolesterolemik bireylerde diyet ve atorvastatin tedavisinin sadece diyet tedavisine göre proenflamatuvar sitokin (interlökin [IL]-1, IL-6 ve tümör nekrozis faktör alfa [TNF- α]) ve C reaktif protein (CRP) seviyelerini istatistiksel olarak anlamlı derecede azalttığı rapor edilmiştir (176). Atorvastatin ve rosuvastatin ile yapılan bir çalışmada, bu statinlerin TNF- α düzeyinde anlamlı bir değişiklik yapmadığı, ancak matriks metalloproteinaz (MMP)-9 seviyesinde sırasıyla %28 ve %31 ve CRP seviyesinde sırasıyla %24 ve %40 oranlarında azalmaya neden olduğu bildirilmiştir (177). Sakoda ve ark., (178) simvastatinin insan oral epitel hücreleri üzerinde IL-6 ve IL-8 seviyelerini düşürerek antienflamatuvar etki gösterebileceğini bildirmişlerdir. Atorvastatinin proenflamatuvar sitokin (TNF- α , IL-1 β ve IL-6), MMP-2 ve MMP-9 seviyelerini azalttığı (176, 179) ve IL-10 seviyesini arttırdığı (180) rapor edilmiştir. Nassar ve ark., (181) tarafından ratlarda siklosporin ve ligatür ile indüklenen deneysel periodontitis tedavisinde simvastatinin etkinliğinin değerlendirildiği bir çalışmada, simvastatin uygulaması ile siklosporin sonucu oluşan alveol kemik kaybının azaltılabileceği ve periodontal dokularda IL-1 β , prostaglandin E2 ve iNOS mRNA üretiminde azalma olduğu rapor edilmiştir.

Periodontal hastalık varlığında koenzim Q10, propolis, alfa lipoik asit ve vitamin C gibi antioksidan maddelerin alveoler kemik kaybı üzerine ve oksidatif duruma etkilerinin değerlendirildiği çalışmalar bulunmaktadır (182-184). Statinlerin antioksidan etkileri kapsamında periodontal hastalık varlığında oksidatif stres belirteçleri ve antioksidan enzimler üzerine etkilerinin değerlendirildiği az sayıda çalışma vardır (179, 185).

Fentoğlu ve ark., (185) sistemik sağlıklı, sadece diyet uygulayan hiperlipidemik ve statin kullanan hiperlipidemik bireylerde, salya GSH ve GSH-Px seviyeleri açısından gruplar arası anlamlı fark bulmazken, salya MDA seviyelerini statin kullanan periodontitisli hiperlipidemik bireylerde, diyetle kontrol edilen periodontitisli hiperlipidemik bireylere kıyasla daha yüksek bulmuşlardır. Aynı çalışmada salya SOD seviyesinin ise periodontal yönden sağlıklı hiperlipidemili bireylerde, periodontitisli hiperlipidemili bireylere kıyasla anlamlı düzeyde yüksek olduğu bildirilmiştir.

Deneyisel periodontitiste atorvastatinin etkinliğinin değerlendirildiği bir çalışmada, atorvastatin uygulanan grupta sadece ligatür uygulanan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha az alveoler kemik kaybı, daha düşük serum MPO ve MDA seviyeleri tespit edilmiştir. Atorvastatin uygulaması ile dişeti GSH seviyesinde artma olmasına rağmen, gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (179).

Statinlerin kemik metabolizması üzerinde de etkileri olabileceği bildirilmiştir. Deneyisel ve klinik çalışmalarda statinlerin kemik üzerindeki koruyucu etkisi, kemik rezorpsiyonunun inhibe edilmesi ve/veya kemik formasyonunun uyarılması ile olabilir. Mevalonat yolunun kolesterol harici gibi diğer ürünlerinin (izoprenoidler, farnesil difosfat ve geranil pirofosfat) inhibisyonu hem osteoklast aktivasyonunda hem de kemik morfojenik protein (KMP)-2 sentezinin inhibisyonunda önemli rol oynamaktadır (186-188). Hughes ve ark., (189) deneyisel osteoporoz modelinde, hidrofobik ve hidrofilik statin tedavilerinin osteblastik formasyondan ziyade osteoklastik rezorpsiyonun inhibisyonu sonucu olduğunu rapor etmişlerdir. Hiperlipidemi teşhisi yeni konmuş tip 2 diyabetli hastalarda yapılan prospektif bir çalışmada, 3 aylık rosuvastatin kullanımı ile serum osteokalsin seviyesi istatistiksel anlamlı artış göstermiş ve serum lipid seviyeleri ile kemik turnover belirteçlerinde ilişki rapor edilmiştir. Yapılan bu çalışmada rosuvastatinin kolesterol üzerine etkisinden bağımsız olarak osteoblast fonksiyonunu uyararak kemik formasyonu sağladığı bildirilmiştir (190). Hiperlipidemi nedeniyle oral statin tedavisi gören hastalarda statinlerin kemik mineral yoğunluğu üzerine pozitif etkisi olduğunu ve kırık riskini azalttığını rapor eden çalışmalar olmasına rağmen, statinlerin kemik mineral yoğunluğunun artmasında ya da kırıkların önlenmesinde bir rolü olmadığını

rapor eden çalışmalar da bulunmaktadır (191-194). Ratlar üzerinde yapılan deneysel bir çalışmada, simvastatinin yüksek dozda kemik formasyonunu ve rezorpsiyonunu arttırdığı, düşük dozda kemik formasyonunu azaltıp rezorpsiyonu arttırdığı, dolayısı ile etkisinin doza bağlı olduğu rapor edilmiştir (195). Deneysel periodontitiste atorvastatin uygulamasının alveol kemik kaybını %47 oranında azalttığı ve kemik yoğunluğunu %48 oranında arttırdığı gösterilmiştir (45).

Sistemik sağlıklı kronik periodontitisli bireyler üzerinde yapılan klinik çalışmalarda, diş taşı temizliği ve kök yüzeyi dzleştirmesine ek olarak sistemik veya lokal statin uygulamaları ile mobilitede ve cep derinliğinde azalma ile klinik ataçman seviyesinde kazanç ve radyografik olarak kemik içi defektlerde dolum bulunmuştur (49, 196). Köpeklerde yapılan deneysel bir çalışmada, cerrahi olarak oluşturulmuş kemik içi ve furkasyon defektlerine lokal simvastatin uygulaması kemik yüksekliğinde kayba neden olduğu rapor edilmiştir (197). Seto ve ark., (198) tarafından deneysel periodontitis oluşturulduktan sonra, ligatr çıkartılmasının ardından subperiosteal olarak uygulanan simvastatin total kemik kaybının %46 oranında geri kazanılmasına yol açmıştır.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanı Seçimi

Bu çalışma, Süleyman Demirel Üniversitesi (SDÜ) Deney Hayvanları Üretimi ve Araştırma Laboratuvarı, Diş Hekimliği Fakültesi Araştırma Laboratuvarı, Araştırma ve Uygulama Hastanesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı ve Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. SDÜ Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 08.01.2013 tarih ve 01 sayılı karar ile etik kurul izni alınarak yapılan çalışmamız, SDÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından 3424-D1-13 proje numarası ile desteklendi.

Çalışmamızda kullanılmak üzere ağırlıkları 180-220 gram arasında değişen, Wistar albino, genç erişkin, daha önce herhangi bir araştırmada kullanılmamış ve sistemik olarak herhangi bir hastalığı bulunmayan 40 adet erkek deney hayvanı (rat) seçildi. Tüm hayvanlar aynı şartlarda [standart nem (%50-60), ışık (12 saat gün ışığı/12 saat karanlık-sabah 7.00 ve 19.00), ısı (25° C)], rat yemi (Korkuteli Rat Yemi, Antalya) ve su ile *ad libitum* beslendi. Deneye başlamadan önce ve deney periyodu boyunca her hafta ratların ağırlıkları ölçülerek kaydedildi. Laboratuvar çalışmalarında hayvan bakımı ve kullanımı için uluslararası etik kurallara uyuldu.

3.2. Deney Grupları

40 adet rat rastgele yapılan seçimle 4 gruba ayrıldı:

Kontrol grubu (K) (10): Periodontal sağlıklı,

Rosuvastatin grubu (R) (10): Periodontal sağlıklı+Rosuvastatin,

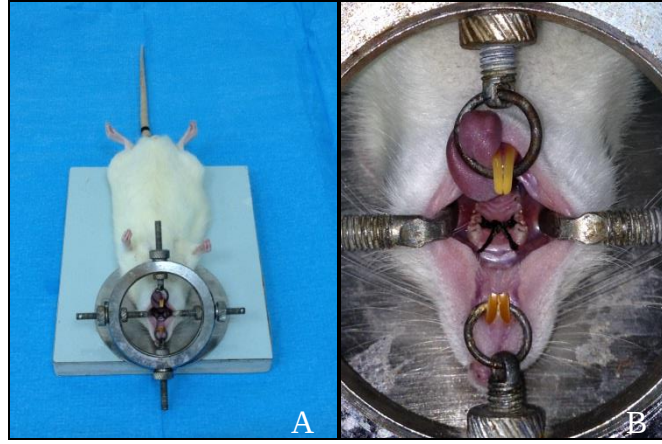
Periodontitis grubu (P) (10): Periodontitis,

Periodontitis+Rosuvastatin grubu (PR) (10): Periodontitis+Rosuvastatin.

3.3. Deneysel Periodontitis Modeli

Uygulama öncesi ratlar 0,3x13 mm'lik iğneye sahip insülin enjektörleri ile intraperitoneal enjeksiyon yöntemiyle 25 mg/kg ketamin hidroklorid (Ketalar,

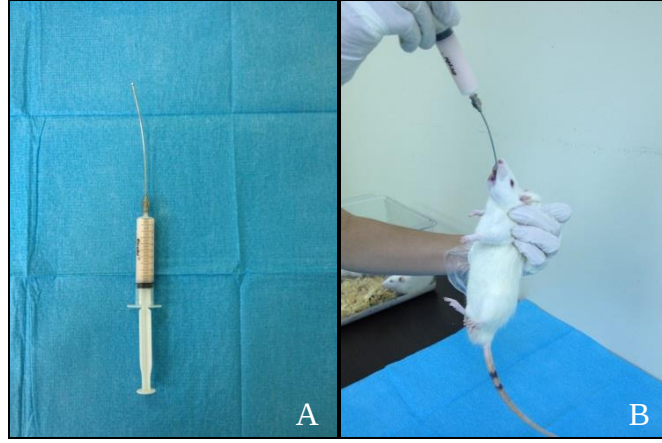
Lüleburgaz, İstanbul) ve 50 mg/kg ksilazin (Xylazinbio %2, Bioveta, Çek Cumhuriyeti) kombinasyonu ile genel anestezi altına alındı. Anestezi derinliği parmak kıştırma yöntemi ile kontrol edildi. Ratlar, anestezi altında periodontal sond (Williams periodontal sond, Hu-Friedy, Chicago, IL) ile periodontal cep derinliği ölçümü yapılarak periodontal sağlık açısından değerlendirildi (199). Ratların sağ ve sol üst ikinci molar dişlerinin dişeti kenarlarına 3.0 siyah ipek ligatür (Doğsan, İstanbul, Türkiye) yerleştirilerek palatinal bölgede düğümlendi (Resim 1). 14 günlük deneysel periodontitis indüklenme periyodu sonunda yapılan klinik değerlendirmede cep derinliğinin 0,5 mm ve üstü olduğu bölgelerde ve radyografik değerlendirmede alveol kemik kaybının izlendiği dişlerde periodontitisin indüklendiği kabul edildi (199).



Resim 1. A. Deneysel düzenek, B. Deneysel periodontitis oluşturulmasında ligatür yerleştirme işlemi

3.4. Rosuvastatin Uygulaması

Rosuvastatin (Crestor, Astra Zeneca, Türkiye) bir havan yardımı ile ezilerek su ile karıştırılıp vortex cihazında (Nüve NM 100, Türkiye) homojenize edildi. Rosuvastatin çözeltisi özel hazırlanmış yuvarlak uçlu, eğimli, metal besleme iğnesine sahip bir enjektör ile oral gavaj yoluyla uygulandı (Resim 2). Deneysel periodontitis indüklenmesinden 1 saat önce ve her gün aynı saatte R ve PR grubundaki ratlara 20 mg/kg/gün rosuvastatin, K ve P gruplarına ise aynı hacimde su verildi (200) (Tablo 6). Hayvanların haftalık değişen ağırlıklarına göre hassas tartı (AND, GF6000, Almanya) kullanılarak ilacın doz ayarlaması yapıldı.



Resim 2. A. Oral gavaj iğnesi ve enjektörü, **B.** Rosuvastatin uygulaması

Tablo 6. Deney programı

1. GÜN		
Deneyisel	periodontitis	Oral gavaj uygulamasından 1 saat sonra
indüklenmesinden 1 saat önce K ve P	genel anestezi altında periodontal cep	
gruplarına 20 mg/kg/gün çeşme suyu, R	ölçümü yapılması ve deneyel	
ve PR gruplarına 20 mg/kg/gün statin	periodontitis indüklenmesi	
uygulamasının başlanması		
7. GÜN		
Uygulanan ligatürlerin kontrol edilmesi		
15. GÜN		
Sakrifikasyon		
Serum ve maksilla örneklerinin alınması		

3.5. Kan ve Doku Örneklerinin Alınması

Ratlar, 15. günün sabahında intraperitoneal enjeksiyonla genel anestezi altına alındı. Yapılan abdominal kesi sonrası (eksanguinasyon) juguler venden 10 cc'lik enjektörlere tüm kan alınarak sakrifiye edildi (201,202). Eksanguinasyon sonrası elde edilen kan örnekleri 3000 devirde 10 dk santrifüj (Heraeus, Labofuge 300, USA) edilerek serumu ayrıldı. Ependorf tüplere bölünerek analiz gününe kadar -80°C'de (Sanyo Derin Dondurucu, Japonya) saklandı. Sakrifikasyonu takiben dekapitasyon yapıldı. Maksiller bölge izole edildi, sutura palatina mediadan ikiye ayrıldı. Sağ maksillada histomorfometrik, sol maksillada histopatolojik ve kandan elde edilen serum örneklerinde oksidatif stres ve enflamatuvar parametrelere yönelik değerlendirme yapıldı.

3.6. Radyografik Değerlendirme

Çalışmamızda periodontitis oluşumunun kontrolü amacıyla direkt dijital radyografi (Kodak, RVG 6000, Çin) yöntemi kullanıldı (203, 204). Radyografik görüntü elde edilirken sağ maksiller segmentler bir cerrahi tablanın tam ortasında, bukkal yüzeyleri kona bakacak ve paralel olacak şekilde yerleştirildi. Kon bukkal yüzeye dik şekilde maksillanın yaklaşık 10 cm uzağında konumlandırıldı ve görüntü elde edildi. Cihazın zaman, akım (mA) ve güç (kVp) değerleri görüntüdeki en uygun netliği oluşturmak amacıyla değiştirildi.

3.7. Histomorfometrik Değerlendirme

Analiz için dişeti dokusu diseke edildikten sonra sağ maxilla örnekleri 24 saat boyunca % 3'lük hidrojen peroksitte (Merkez Hidrojen Peroksit, Türkiye) bekletildi (201). Mine sement sınırı (MSS)'nı belirlemek için %1'lik metilen mavisi (Gül Biyoloji, Ankara, Türkiye) ile bir dakika boyunca boyandı. Alveoler kemik seviyesi, MSS ile alveoler kret tepesi (AKT) arasında bukkal alanda üç noktada mm olarak ölçüldü (205). Bu ölçümlerin aritmetik ortalaması alındı. Her bir ölçüm, örneklerin mikroskoba (Leica S4E Stereomikroskop, Almanya) yerleştirilmiş dijital fotoğraf makinası (Leica D-LUX 3, Almanya) sayesinde monitöre aktarılmasıyla gerçekleştirildi (4X). Ölçümler bilgisayar ortamında Image J (1.46r, USA) programı ile standardize şekilde değerlendirildi.

3.8. Histopatolojik Değerlendirme

Sol maksilla örnekleri %10'luk formaldehit solüsyonunda değerlendirme gününe kadar saklandı. 1 hafta boyunca dekalsifikasyon solüsyonunda bekletildi, daha sonra ayrı ayrı takip kasetlerine konuldu. Akarsu altında 1 saat yıkandı ve doku takip cihazına yerleştirildi. %70 alkolden başlayarak %80, %96, %100 alkollerden geçirilerek dehidrate edilen dokular metil benzoatta 2 gün süreyle bekletildi. İki farklı ksilol solüsyonundan geçirilen örneklerle sıcak parafin uygulaması yapıldı. Dokular parafine gömülerek blokajları sağlandı. Bloklardan rotary mikrotomda 5 mikron kalınlığında kesitler alındı ve hematoksilin-eozin boyaması uygulandı.

Periodontitisin histopatolojik değerlendirmesinde damarlaşma, enflamatuvar hücre infiltrasyonları, dejenerasyon ve nekrozlar göz önüne alındı. Enflamatuvar hücre infiltrasyonları 40X büyütme altında değerlendirildi. Değerlendirmelerde Tanomaru ve ark., (206) ve Tanomaru-Filho ve ark.,'ın (207) skorlamalarının modifikasyonu ile değerlendirildi. Histopatolojik lezyon skorlaması řu şekilde yapılmıştır:

0 = Gingival epitel sağlam, infiltrasyon yok, damarlanma yok;

1= Gingival epitelde erozyon, <10 hücre infiltrasyonu, hafif damarlanma;

2= Gingival epitelde ülser, 11-20 hücre infiltrasyonu, damarlanmada artma;

3= Gingival epitelde şiddetli ülser, >20 hücre infiltrasyonu, yoğun damarlanma.

3.9. Serum Oksidatif Stres ve Enflamatuvar Parametrelerin Değerlendirilmesi

Serum örneklerinde MDA, NO, SOD, GSH-Px, GSH ve yüksek duyarlı (hs)-CRP konsantrasyonları ticari enzim bağlı immunosorbent assay kitleri (East Biopharm, Hangzhou, Çin) ile değerlendirildi. Kullanılan kitler ve sensitivite değerleri Tablo 7'de belirtilmiştir.

Tablo 7. Kullanılan ticari kitler ve sensitivite değerleri

Kullanılan Ticari Kitler	Sensitivite Değerleri
MDA	0,01nmol/ml
NO	1,02 µmol/L
SOD	0,016 ng/ml
GSH-Px	2,21 U/ml
GSH	0,05 ng/ml
hs-CRP	5,02 ng/L

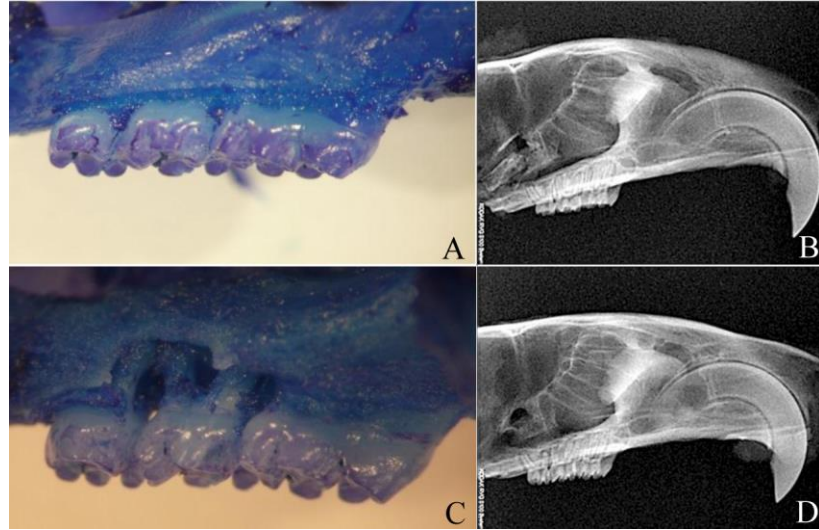
3.10. İstatistiksel Analiz

İstatistikler, Windows'a uyumlu istatistik programı (SPSS Inc. SPSS for Windows, Version 11.00, Chicago, 2007) ile yapıldı. Grupların dağılımları non-parametrik bir test olan Kolmogorov-Smirnov Testi ile değerlendirildi ve tüm parametrelerin dağılımının normal olduğu görüldü. Grupların karşılaştırılmasında parametrik testlerden one-way ANOVA testi ve post hoc testlerden LSD kullanıldı.

Parametreler arası doğrusal ilişkilerin değerlendirilmesinde Pearson korelasyon analizi kullanıldı. Histolojik skorların ikili karşılaştırılmasında gruplar arasındaki farklılıkların önemli olup olmadığını belirlemek için non-parametrik Kruskal-Wallis testi, farklılığın hangi gruplar arasında olduğunu göstermek için ise Mann-Whitney *U* testi kullanıldı. Değerler aritmetik ortalama $\pm$ standart hata olarak verildi ve istatistiksel anlamlılık için $p < 0,05$ olan değerler anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Gerçekleştirilen deneysel işlemlerin tüm deney hayvanları tarafından iyi tolere edildiği; genel anestezi uygulaması, deneysel periodontitis oluşturulması ve oral gavaj uygulamaları sırasında ve sonrasında herhangi bir komplikasyon gelişmediği görüldü. Histolojik inceleme öncesi hazırlık safhasında K grubundan 1 adet ratın dokuları morfolojik inceleme yapılamayacak şekilde zarar gördüğü için, bu rata ait serum örnekleri de değerlendirme dışı bırakıldı. Çalışma başlangıç ve bitişinde yapılan kilo ölçümlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0,05$). 14 günlük deneysel periodontitis oluşturma periyodu sonunda periodontitis gruplarında (P ve PR) yer alan tüm örneklerde alveoler kemik kaybı olduğu yapılan klinik değerlendirme ve alınan digital radyografiler ile doğrulanmıştır. Resim 3'te dijital fotoğraf makinesi ve radyografi ile kayıt altına alınan sağlıklı alveoler kemik morfolojisi ve periodontitis oluşturulmuş alveoler kemik morfolojisi izlenmektedir.



Resim 3. Sağlıklı ve periodontitis olmuş örneklerde klinik ve radyografik görüntüler

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

4.1. Histopatolojik Bulgular

Ligatürün yerleştirildiği birinci ve ikinci molar dişler arasındaki bölgede yapılan histopatolojik değerlendirmede K ve R gruplarında gingival dokular ve

submukoza normal görünümdeydi, enflamatuvar herhangi bir bulgu saptanmadı (Resim 4 ve 5). Periodontitis oluşturulan gruplarda (P ve PR gruplarında) değişik şiddetlerde enflamatuvar reaksiyon saptandı ve periodontitisin şekillenmiş olduğu gözlemlendi (Resim 6 ve 7). Gruplara ait histopatoloji skorları Tablo 8’de verilmiştir. P grubunda kontrol gruplarına (K ve R) göre enflamatuvar hücre infiltrasyonunda ve alveoler kemik yıkımında artış, periodontal ligament kolajen fibrillerinde dejenerasyon, sement rezorpsiyonu izlendi ve histopatolojik analiz skoru 2 olarak belirlendi. PR grubunda ise P grubuna göre alveoler kemiğin ve sementin korunduğu, enflamatuvar hücre sayısında azalma, periodontal ligament kolajen fibrillerinde parsiyel korunma izlendi ve histopatolojik analiz skoru 1,1 olarak belirlendi. PR grubu P grubu ile karşılaştırıldığında histopatolojik analiz skorlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p<0,05$).

Tablo 8. Histopatolojik skorlamaya göre grupların istatistiksel karşılaştırılması [median değerler (1. çeyrek-3. çeyrek)]

Gruplar	Skor
K (n=9)	0 (0-0)
R (n=10)	0 (0-0)
P (n=10)	2 (1,75-3) ^{*†}
PR (n=10)	1,1 (1-2) ^{*†‡}

K: Kontrol; R: Rosuvastatin grubu; P: Periodontitis grubu; PR: Periodontitis+Rosuvastatin grubu.

^{*}Kontrol grubu ile istatistiksel olarak anlamlı farklılık;

[†]R grubu ile istatistiksel olarak anlamlı farklılık;

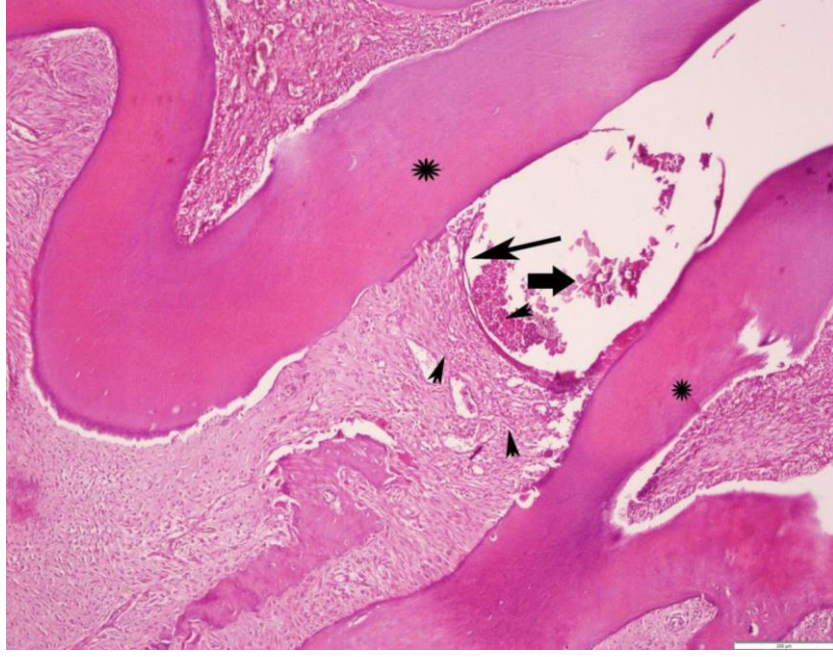
[‡]P grubu ile istatistiksel olarak anlamlı farklılık. $p<0,05$.



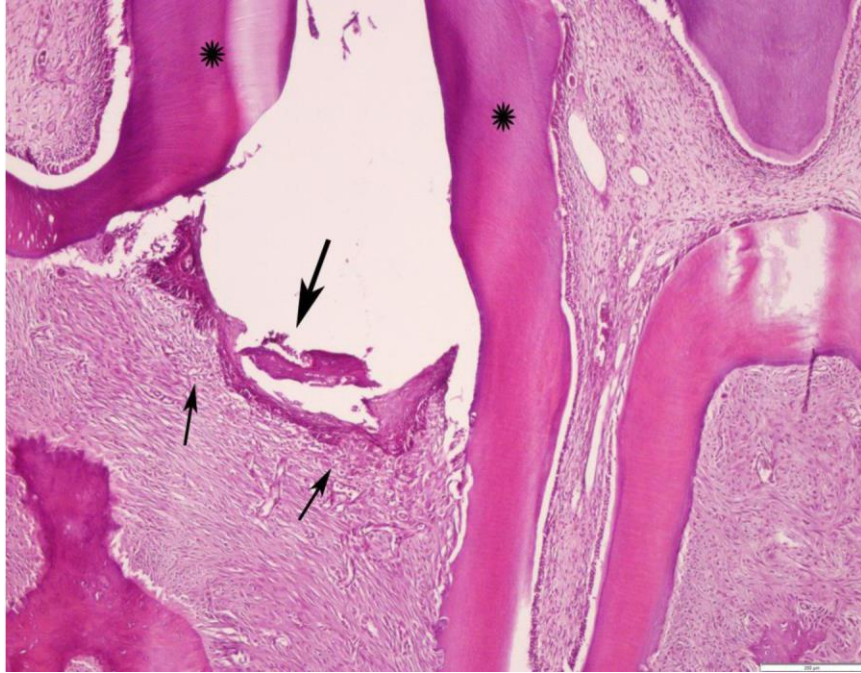
Resim 4. K grubundaki sağlıklı periodonsiyumunun histolojik görüntüsü. Periodontal doku (ok) ve dişler (yıldızlar), hematoksilen eozin, skala bar= 200 µm.



Resim 5. R grubundaki sağlıklı periodonsiyumunun histolojik görüntüsü. Periodontal doku (kalın ok) ve dişler (yıldızlar), hematoksilen eozin, skala bar= 200 µm.



Resim 6. P grubundaki şiddetli periodontitis tablosu. Epitel doku tamamen dökülmüş, submukozada şiddetli enflamatuvar reaksiyon (ok başları), periodontal doku (ince ok), ligatür (kalın ok) ve dişler (yıldızlar), hematoksilen eozin, skala bar= 200 μ m.



Resim 7. PR grubundaki hafif şiddetteki periodontitis tablosu. Epitel dokuda hafif incelme ve orta şiddette enflamatuvar hücre reaksiyonu (ince oklar) şekillenmiş, periodontal doku (kalın ok) ve dişler (yıldızlar), hematoksilen eozin, skala bar= 200 μ m.

4.2. Histomorfometrik Bulgular

Histomorfometrik değerlendirme de tüm gruplara ait MSS ile AKT arasındaki mesafe ölçüm değerleri (mm) Tablo 9’da gösterilmiştir. Yapılan değerlendirmede K ve R gruplarında herhangi bir alveoler kemik rezorpsiyonu gözlenmedi. K ve R gruplarıyla karşılaştırıldığında, P ve PR gruplarında MSS ile AKT arasındaki mesafede istatistiksel olarak anlamlı bir artış görüldü ($p<0,001$). Sistemik olarak rosuvastatin uygulanan deneysel periodontitis grubunda (PR) alveoler kemik kaybının deneysel periodontitis grubuna (P) göre istatistiksel anlamlı düşük olduğu saptandı ($p<0,05$).

Tablo 9. MSS ile AKT arasındaki mesafe ölçümleri

Gruplar	n	Ortalama (mm) $\pm$ Standart Hata	Ortalama İçin 95% Güven Aralığı		En Düşük	En Yüksek	p
			Alt Sınır	Üst Sınır			
K	9	0,09 $\pm$ 0,01	0,06	0,13	0,03	0,17	0,001
R	10	0,08 $\pm$ 0,01	0,06	0,10	0,04	0,13	
P	10	0,82 $\pm$ 0,05 ^{*†}	0,71	0,93	0,52	1,07	
PR	10	0,70 $\pm$ 0,07 ^{*†‡}	0,54	0,85	0,37	1,03	

K: Kontrol; R: Rosuvastatin grubu; P: Periodontitis grubu; PR: Periodontitis+Rosuvastatin grubu.

* K grubu ile istatistiksel olarak anlamlı farklılık ($p<0,001$);

† R grubu ile istatistiksel olarak anlamlı farklılık ($p<0,001$);

‡ P grubu ile istatistiksel olarak anlamlı farklılık ($p<0,05$).

4.3. Biyokimyasal Sonuçlar

Çalışmamızda yer alan 4 gruba ait serum örneklerinde MDA, NO, GSH, SOD, GSH-Px ve hs-CRP konsantrasyonları Tablo 10’da gösterilmiştir.

MDA konsantrasyonunun P grubunda en yüksek ($2,02 \pm 0,10$), R grubunda ise en düşük ($1,56 \pm 0,12$) değerde olduğu belirlendi. Gruplar arası karşılaştırmalarda, K ve P grupları arasında ($p<0,05$) ve R grubu ile P grubu arasında ($p<0,01$) PR grubu arasında ($p<0,05$) istatistiksel anlamlı fark belirlendi. MDA konsantrasyonunda K grubu ile PR grubu arasında istatistiksel anlamlı düzeyde fark bulunmadı ($p>0,05$) (Grafik 1).

Tablo 10. Tüm çalışma gruplarında serum parametreleri

			Ortalama İçin 95%					
			Ortalama ±	Güven Aralığı		En	En	
n			Standart Hata	Alt	Üst	Düşük	Yüksek	p
				Sınır	Sınır			
MDA (nmol/ml)	K	9	1,70±0,09	1,49	1,90	1,34	2,26	0,013
	R	10	1,56±0,12	1,29	1,83	0,92	2,33	
	P	10	2,02±0,10 ^{*†}	1,80	2,24	1,41	2,44	
	PR	10	1,84±0,08 [†]	1,66	2,03	1,41	2,25	
NO (µmol/L)	K	9	19,12±0,98	16,85	21,39	11,43	21,56	0,001
	R	10	38,59±6,55 [*]	23,77	53,41	14,29	79,98	
	P	10	36,44±3,06 [*]	29,52	43,37	17,79	47,83	
	PR	10	50,47±4,39 ^{*†‡}	40,53	60,40	38,35	83,38	
SOD (ng/ml)	K	9	0,60±0,02	0,56	0,67	0,53	0,74	0,317
	R	10	0,58±0,02	0,53	0,64	0,49	0,75	
	P	10	0,66±0,03	0,58	0,74	0,54	0,85	
	PR	10	0,65±0,04	0,56	0,75	0,44	0,90	
GSH (ng/ml)	K	9	4,32±0,35	3,52	5,12	2,75	6,13	0,034
	R	10	5,90±1,06	3,50	8,29	1,84	11,13	
	P	10	6,65±0,59 [*]	5,31	7,99	4,08	9,85	
	PR	10	7,08±0,31 [*]	6,39	7,77	5,78	8,63	
GSH-Px (U/ml)	K	9	193,08±15,15	158,14	228,01	132,30	286,20	0,624
	R	10	172,29±9,60	150,57	194,01	107,50	203,70	
	P	10	188,24±12,40	160,18	216,30	126,00	245,90	
	PR	10	182,72±8,70	163,03	202,41	135,00	247,10	
hs-CRP (ng/L)	K	9	305,23±25,61	246,17	364,28	146,90	407,10	0,487
	R	10	295,19±12,94	265,92	324,45	240,70	360,10	
	P	10	342,97±30,07	274,94	411,00	118,80	440,90	
	PR	10	326,6±23,25	274,02	379,22	145,30	388,10	

K: Kontrol; R: Rosuvastatin grubu; P: Periodontitis grubu; PR: Periodontitis+Rosuvastatin grubu.

^{*} K grubu ile istatistiksel olarak anlamlı farklılık;

[†] R grubu ile istatistiksel olarak anlamlı farklılık;

[‡] P grubu ile istatistiksel olarak anlamlı farklılık (p<0,05).

NO konsantrasyonu gruplar arası karşılaştırıldığında, K grubu ile diğer 3 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark tespit edildi (p<0,05). NO konsantrasyonunda PR grubunda K, R ve P gruplarına göre P grubunda K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış fark tespit edildi (p<0,05) (Grafik 2).

SOD ve GSH-Px enzim konsantrasyonlarında gruplar arası karşılaştırmalarda gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı düzeyde olmadığı tespit edildi (p>0,05) (Grafik 3 ve 4).

GSH konsantrasyonu P ve PR gruplarında K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek tespit edildi (sırasıyla, $p<0,05$; $p<0,01$). PR grubunda P grubuna göre daha yüksek GSH konsantrasyonu tespit edilmesine rağmen fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$) (Grafik 5).

Gruplar arası karşılaştırmalarda hs-CRP konsantrasyonunda gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı düzeyde olmadığı tespit edildi ($p>0,05$) (Grafik 6).

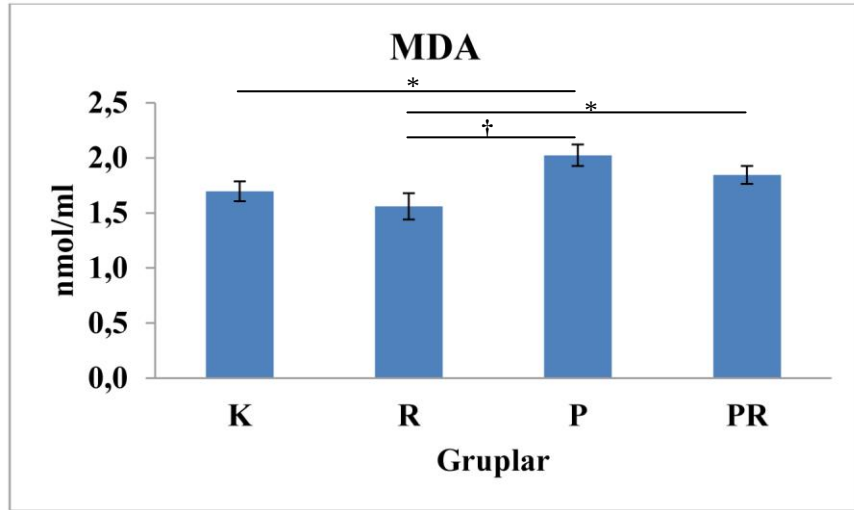
4.4. Korelasyonlar

Tüm parametreler arası Pearson korelasyon analiz sonuçları Tablo 11’de gösterilmiştir.

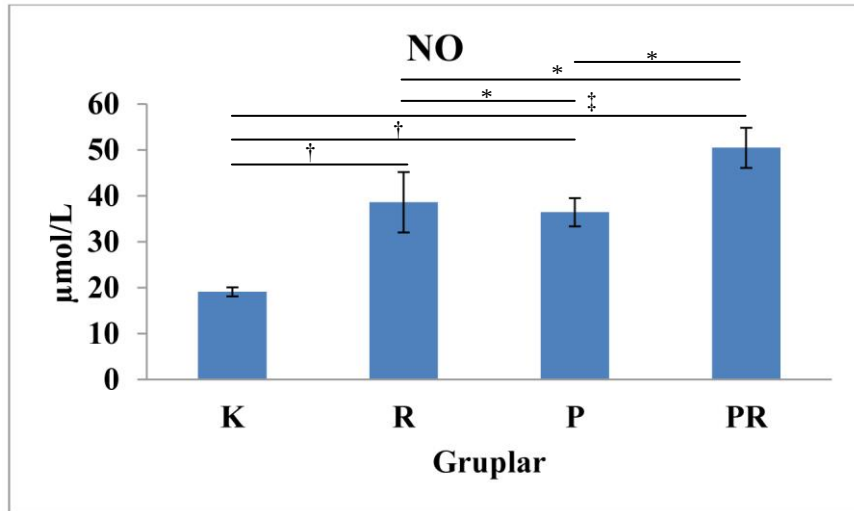
Tablo 11. Parametreler arasında istatistiksel anlamlı korelasyonlar

Parametreler	r	p
MDA - Alveoler kemik kaybı	0,523 [‡]	0,001
NO - Alveoler kemik kaybı	0,370 [†]	0,010
NO - GSH	0,300*	0,032
SOD - GSH-Px	0,363*	0,011
SOD - Alveoler kemik kaybı	0,272*	0,047
GSH - hs-CRP	0,306*	0,029
GSH - Alveoler kemik kaybı	0,371 [†]	0,010

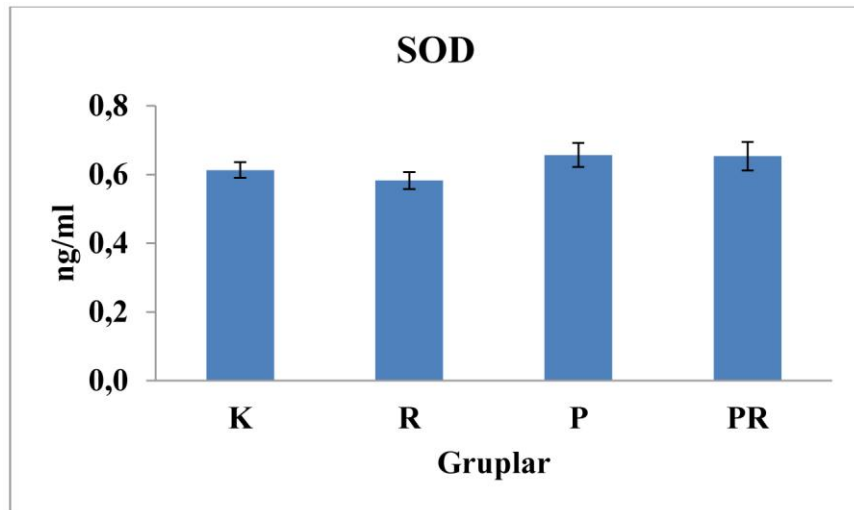
* $p<0,05$; [†] $p<0,01$; [‡] $p<0,001$.



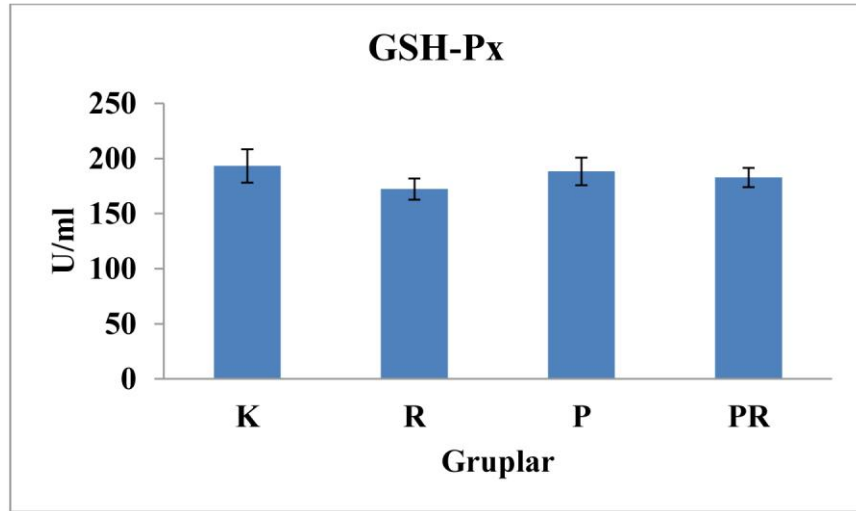
Grafik 1. Çalışma gruplarındaki serum MDA sonuçları. *p<0,05; †p<0,01.



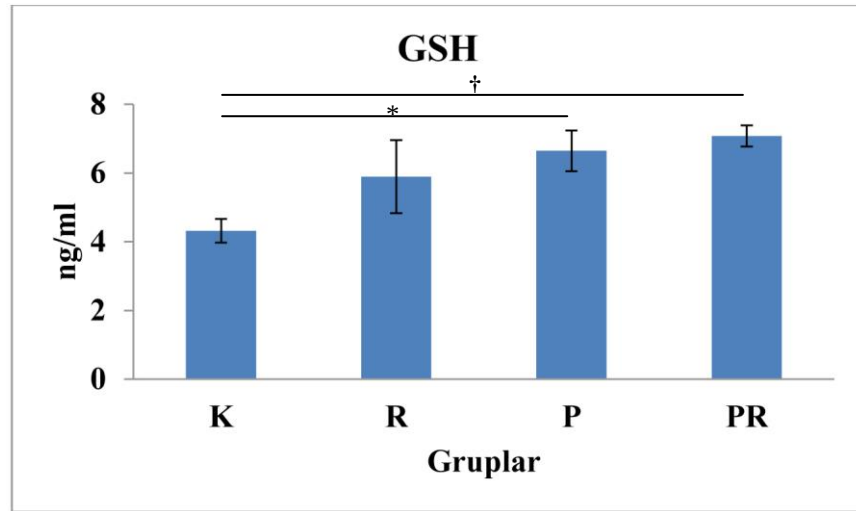
Grafik 2. Çalışma gruplarındaki serum NO sonuçları. *p<0,05; †p<0,01; ‡p<0,001.



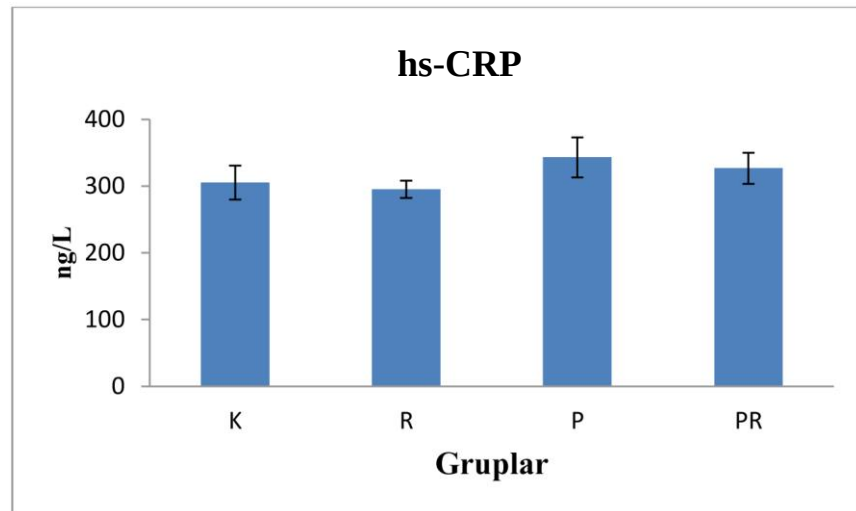
Grafik 3. Çalışma gruplarındaki serum SOD sonuçları



Grafik 4. Çalışma gruplarındaki serum GSH-Px sonuçları



Grafik 5. Çalışma gruplarındaki serum GSH sonuçları *p<0,05; †p<0,01.



Grafik 6. Çalışma gruplarındaki serum hs-CRP sonuçları

5. TARTIŞMA

Periodontitis, periodontal ligament, dişeti bağ dokusu, sement ve alveoler kemikte meydana gelen yıkım ile karakterize enflamatuvar bir hastalıktır (161, 208). Periodontal doku yıkımında mikrobiyal dental plak primer etiyolojik faktör olmasına rağmen, doku yıkımının büyük çoğunluğu konak savunma sistemi ve periodontal patojenler arasındaki dengenin konak aleyhine bozulması sonucu meydana gelir (9, 160). Yapılan birçok çalışmada periodontal doku yıkımının başlamasında ve periodontal redoks dengesinde meydana gelen lokal ve sistemik değişikliklerde ROT'un rolü üzerinde durulmakta (19, 25, 209) ve prooksidan ve antioksidan sistem arasındaki dengesizliğin, ileri oksidatif hasara ve periodontal doku yıkımına neden olduğu bildirilmektedir (210). Literatürde periodontal doku yıkımının önlenmesi ve/veya azaltılabilmesi ve kaybedilen dokuların geri kazanılabilmesi için farklı birçok teknik denenmiştir (211, 212). Bu uygulamalar ile periodontal tedavide başarılı sonuçlar bildirilmesine rağmen, doku kaybının tamamen geri kazanılabildiği bir yöntem henüz rapor edilmemiştir. Konak modülatör ajanların kullanımı ile konak cevabının koruyucu ve rejeneratif komponentlerinin arttırılması ve/veya yıkıcı yönünün azaltılması ya da modifiye edilerek periodonsiyumun stabilize edilmesi ve periodontal doku yıkımının azaltılması amaçlanmaktadır (162).

Son yıllarda, hiperlipidemi tedavisinde kullanılan statinlerin pleiotropik etkilerinden yola çıkılarak kronik enflamatuvar bir hastalık olan periodontitisin önlenmesi ve tedavisi üzerindeki etkileri araştırılmaya başlanmıştır. Kronik periodontitisli bireylerde oral statin kullanımının diş kaybında (46) ve periodontal enflamasyon bulgularında (213) azalma ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir. Statinler, üç farklı mekanizma ile periodonsiyum üzerine etki göstermektedirler. Lipid seviyelerini düşürücü etkileri periodontal parametrelerde dolaylı olarak iyileşmeye yol açar. Mevalonat yolu inhibisyonu ile pleiotropik etki göstererek doğrudan immunomodülatör, antienflamatuvar ve antioksidan etki gösterirler (167, 214, 215). Araştırma sonuçları tartışmalı olmasına karşın, kemik metabolizması üzerinde de etkileri olabildiği bildirilmiştir (216, 217).

Literatürde periodontal hastalıkların önlenmesinde ve tedavisinde farklı statinlerin değerlendirildiği çalışmalar bulunmasına rağmen (43, 44, 218),

rosuvastatin kullanımının yer aldığı deneysel bir çalışmaya rastlanmadı. Periodontitis oluşumunda ve/veya periodontal tedavi sonrası sınırlı rejenerasyonda oksidatif stresin rolü düşünöldüğünde, deneysel hayvan modeli olarak oluşturduğumuz periodontitiste antioksidan bir ajan olarak rosuvastatinin oksidatif stres belirteçleri üzerine olan etkilerinin ilk kez değeriendirilmesi gerek halk sağlığına gerekse ölk ekonomisine katma değeri açısından çalışma özgünlüğünü vurgulayan bir faktör olarak düşünölebilir. Çalışmamızda periodontal açıdan sağlıklı ve deneysel periodontitis oluşturulmuş ratlarda sistemik rosuvastatin uygulamasında, periodontal yıkımın histomorfometrik ve histopatolojik olarak incelenmesi, serumda oksidatif ve enflamatuvar belirteç seviyelerinin karşılaştırılması olarak değeriendirilmesi amaçlandı.

Periodontal hastalık patogenezinin daha iyi anlaşılabilmesi ve tedavi yöntemlerinin geliştirilebilmesi için hayvan modelleri oluşturmak önemlidir. İnsan ve ratların molar dişleri gerek anatomik olarak gerekse periodonsiyumun organizasyonu ve yapısı açısından benzerlik gösterir. Ek olarak ratlarda oluşturulan deneysel periodontitis modeli insanlarda görölen periodontal hastalıklar ile klinik ve histolojik olarak benzer bulgulara sahiptir (219). Ratlar; küçük, ucuz ve kolay elde edilebilir olmaları ve bakım maliyetlerinin düşük olması nedeniyle deneysel çalışmalarda sıklıkla tercih edilirler. Ayrıca ratlarda periodontal hastalık patogenezinde önemli olan yaş, cinsiyet, genetik yatkınlık ve stres gibi çeşitli modifiye edilebilen ve edilemeyen faktörlerin ve ilacın doz ve uygulama yolları gibi bazı önemli değışkenlerin standardize edilebilmesi mümkündür (220). Çalışmamızda deney hayvanı olarak erişkin erkek Wistar ratlar kullanıldı.

Ratlarda deneysel periodontitis oluşturulmasında ligatör yerleştirilmesi, LPS enjeksiyonu, oral gavaj uygulaması ve gingival dokuya kimyasal madde uygulaması (trinitrobenzen sülfonik asit ve dekstran sülfat sodyum gibi) gibi farklı teknikler kullanılmaktadır (221, 222). Ligatör ile indüklenen periodontitis modeli dentogingival alanda mekanik travma oluşturan, bakteriyel plak oluşumuna ve yoğun konak-bakteri etkileşimine izin veren, güvenilir ve tekrarlanabilir bir modeldir (223). Ligatör ile indüklenmiş periodontitis modellerinin limitasyonu akut bir model oluşu ile insandaki kronik periodontal hastalığı tam anlamıyla temsil edememesidir (224). Bu modelde ratlarda periodontal ataçman ve alveoler kemik kaybının 7 günlük bir

süreçte oluştuğunu bildiren çalışmaların yanı sıra (225-229), daha uzun periyotlar rapor eden çalışmalar da bulunmaktadır (230-233). Lima ve ark., (201) maksiller ikinci molar dişler etrafında naylon ligatür yerleştirildikten 3 gün sonra anlamlı alveoler kemik kaybı olduğunu, alveoler kemik kaybının 7. ve 11. günler arasında maksimum seviyeye ulaştığını ve 14. günde düşüşe geçtiğini rapor etmişlerdir. Başka bir çalışmada ligatür ile uygulanan periodontitis modelinde uygulamanın kısa periyotta (≤ 15 gün) olması tavsiye edilmektedir (233). Çalışmamızda ratlarda 3.0 ipek ligatür ile oluşturulan deneysel periodontitis 14. günde değerlendirildi. Maksilla örneklerinde yapılan histomorfometrik, histopatolojik ve radyografik değerlendirme sonuçlarına göre deneysel periodontitis gruplarında (P ve PR) yer alan tüm ratlarda periodontitis başarı ile indüklendi.

Rosuvastatin, diğer statinlere göre plazma lipid seviyesini düşürmedeki üstünlüğü, 19 saatlik yarılanma ömrü ve nadir görülen yan etkileri nedeniyle hiperkolesterolemi tedavisi gören hastalarda sıklıkla tercih edilen bir statin türüdür (64, 234). Alveoler kemik kaybının önlenmesinde farklı statinlerin çeşitli dozlarda etkilerini araştıran çalışmalar bulunmaktadır. Goes ve ark., (45) deneysel periodontitis modelinde düşük doz atorvastatinin (1 veya 3 mg/kg/gün) alveoler kemiğin korumasında herhangi bir etkisinin olmadığını ancak yüksek dozun (9 mg/kg/gün) kontrol grubu ile karşılaştırıldığında %47 oranında alveoler kemik kaybını azalttığını bildirilmiştir. Dalcico ve ark., (44) 3 mg/kg/gün simvastatin uygulamasının periodontal hastalık üzerinde olumlu bir etkisi olmadığını göstermişlerdir. Yapılan literatür incelemesinde rosuvastatinin insanlarda önerilen sistemik terapötik doz aralığının 2,5-40 mg (235, 236) olduğu görülürken, rat çalışmalarının geniş bir doz aralığında (0,5-200 mg/kg) gerçekleştirildiği görülmektedir (237,238). Hughes ve ark., (189) 2 ya da 20 mg/kg/gün rosuvastatinin overektomi yapılmış farelerde kortikal ve trabeküler kemik kaybını önlediğini rapor etmişlerdir. Bu etkinin kemik formasyonunun artmasından ziyade osteoklastik rezorpsiyonun inhibisyonu ile meydana geldiğini bildirmişlerdir. Rosuvastatin antioksidan etkisini 3. günden itibaren göstermektedir (239) ve 20 mg/kg/gün rosuvastatinin 14 gün süre ile kullanımının, lipid düzeylerinde %90 azalma sağladığı rapor edilmiştir (240). Tüm bu bilgilerin ışığında, çalışmamızda deneysel

periodontitis modelinde rosuvastatin 20 mg/kg/gün dozunda 14 gün süre ile uygulandı (64).

Statinlerin deneysel hayvan modellerinde ve insanlarda lokal, subkutan, subgingival jel ve sistemik uygulamalar gibi farklı uygulama yolları bulunmaktadır (43, 49, 198, 241). Yapılan deneysel bir araştırmada lokal olarak uygulanan atorvastatinin sistemik uygulamalara göre furkasyon bölgesindeki alveoler kemik alanında kazanç ve alveol kemik rezorpsiyonunun engellenmesi açısından daha etkili olduğu bildirilmiştir (43). Bu araştırma bulgularıyla benzer şekilde Gutierrez ve ark., (242) topikal uygulanan lovastatinin kemik oluşumu açısından sistemik uygulamaya göre daha etkili olduğunu belirtmişlerdir. Ancak lokal uygulanan yüksek konsantrasyondaki statin, membran bütünlüğü için gerekli olan kolesterol üretimini dramatik olarak düşürerek sitotoksik etki yapabilmektedir. Kemik defektlerine yüksek doz simvastatinin lokal uygulanımı ile enflamatuvar reaksiyon geliştiği ve erken iyileşme döneminde kemik formasyonunu geciktirdiği rapor edilmiştir (243, 244). Statinlerin oral kullanımının kemik formasyonu üzerine pozitif etkisini gösteren birçok çalışma vardır (44, 45, 245, 246). Statinler insanlarda en fazla oral yoldan alınmaktadır. Çalışmamızda rosuvastatin ratlara oral gavaj yöntemi ile verildi.

Statinlerin kemik mineral yoğunluğu ve kırık oluşma riski üzerine etkilerinin değerlendirildiği çalışmaların sonuçları tartışmalıdır. Hiperlipidemi nedeniyle oral statin tedavisi gören hastalarda statinlerin kemik mineral yoğunluğu üzerine pozitif etkisi olduğunu hatta kırık riskini azalttığını rapor eden çalışmalar olmasına rağmen, statinlerin kemik mineral yoğunluğunun artmasında ya da kırıkların önlenmesinde rolü olmadığını rapor eden çalışmalar da vardır (191-194, 247, 248). Tavşan tibialarında oluşturulan kritik boyuttaki kortikal kemik defektlerine kolajen sünger taşıyıcı ile rosuvastatin uygulamasının KMP-2 gen sunumunu indüklediği ve kemik formasyonunu uyarıcı etki gösterdiği rapor edilmiştir (249). Çalışmamızda alveoler kemik kaybı histomorfometrik olarak MSS-AKT arasındaki mesafenin ölçümü ile değerlendirildi. Deneysel periodontitis oluşturulmuş tüm gruplarda (P ve PR grupları) MSS-AKT arasındaki mesafe kontrol gruplarına (K ve R grupları) göre istatistiksel olarak yüksek bulundu ($p<0,001$). MSS-AKT arasındaki mesafe açısından P ve PR grupları karşılaştırıldığında, PR grubu istatistiksel olarak daha

düşük ortalama değere sahipti ($p<0,05$). Histopatolojik değerlendirme sonuçlarına göre periodontitisli her iki grupta da, birleşim epitelinin apikal yönde migrasyonu, dişeti kolajen fibrillerinde harabiyet, epitelde incelme, ödem ve alveoler kemik rezorpsiyonu gözlemlendi. PR grubunda enflamatuvar hücre reaksiyonu P grubuna göre daha hafif şiddette idi. Histomorfometrik ve histopatolojik bulgularımız, rosuvastatinin periodontitiste enflamasyonun ve alveoler kemik rezorpsiyonunun azaltılmasında etkili olduğunu gösterdi.

Protein ve karbonhidrat yapılarına kıyasla lipidler radikal hasarına karşı daha hassastırlar (18-20). ROT'un primer hedefi lipid peroksidasyonuna neden olan membran lipidlerindeki veya lipoproteinlerdeki çoklu doymamış yağ asitleridir. MDA, çoklu doymamış yağ asitleri peroksidasyonu ile oluşur ve lipid peroksidasyonu ölçümünde sık kullanılan güvenilir bir yöntemdir (27). Kronik periodontitisli bireylerde, periodontal yönden sağlıklı bireylere göre MDA düzeylerini dişeti, serum, salya ve DOS örneklerinde analiz eden çeşitli çalışmalarda, MDA düzeylerinde artış (22-24, 27, 31), az sayıda çalışmada da fark olmadığı rapor edilmiştir (25, 153). Enflame periodontal dokularda, periodontopatojenler ile PMNL'nin doğrudan etkileşimi sonucu ya da dolaylı olarak redoks hassas transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu (nükleer faktör kappa B, aktivatör protein-1 gibi) ile oluşan proenflamatuvar durum, MDA seviyelerinde artışa yol açar (10). Literatürle uyumlu olarak çalışmamızda en yüksek MDA konsantrasyonu ve alveoler kemik kaybı deneysel periodontitis grubunda (P) bulundu ve alveoler kemik kaybı ile MDA düzeyleri arasında pozitif korelasyon tespit edildi ($p<0,001$).

Rosuvastatin kullanımının farklı dokularda lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu rolü gösterilmiştir (41, 250-252). Rosuvastatinin, Ersoy ve ark., (41) gürültüye bağlı oluşan oksidatif stresi rat beyin sapı dokusunda azalttığını ve Otto ve ark., (252) nitrat indüklü oksidatif strese koruyucu olduğunu rapor etmişlerdir. De Araujo Junior ve ark., (179) periodontitisli ratlarda dişeti MDA seviyesini periodontal yönden sağlıklı olanlara göre daha yüksek saptamışlar ve atorvastatin kullanımı ile MDA seviyesinin azaldığını rapor etmişlerdir. Çalışmamızda rosuvastatin kullanımının MDA seviyesini düşürdüğü ve PR grubu ile K grubu arasında istatistiksel anlamlı fark olmadığı bulundu ($p>0,05$).

Nitrik oksit, kemik hücrelerinin aktivitesi için önemli bir otokrin ve parakrin mediyatördür. iNOS katalizi ile sentezlenen yüksek konsantrasyonlardaki NO, osteoklastik kemik rezorpsiyonuna güçlü inhibitör etki gösterir. Buna karşılık, eNOS katalizi ile sentezlenen düşük konsantrasyondaki NO normal osteoklast fonksiyonu için gereklidir. NO'nun kemik yapımı ve osteoblast fonksiyonlarına etkisi henüz tam olarak bilinmemektedir (141, 253). NO'nun enflamatuvar yanıtın bir parçası olarak yara ve tendon iyileşmesinde de rol oynadığına ilişkin çalışmalar bulunmaktadır (254).

NO immunomodülatör, sitotoksik ve antibakteriyel etkilere sahiptir (147). Periodontal patogeneze NO'nun önemli role sahip olduğu rapor edilmesine rağmen, rolü henüz açıklığa kavuşturulmamıştır (255, 256). Periodontopatojenlerin eliminasyonuna yardımcı olduğu ya da doku hasarına katıldığı ya da her iki durumda da etkisinin olduğu halen tartışmalıdır. Bazı çalışmalarda NO'nun alveoler kemik rezorpsiyonunu arttırdığı (149, 228), bazılarında ise bu molekülün osteoklastik aktivitenin kontrolünde mediyatör olarak rol aldığı ve kemik rezorpsiyonunu azalttığı rapor edilmiştir (142, 257). Çalışmamızda deneysel periodontitiste NO seviyesi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak arttı ($p<0,05$). NO ile alveoler kemik kaybı arasında pozitif korelasyon bulundu ($p<0,01$).

Statinlerin overektomize ratlarda NO formasyonunu arttırması ve oksidatif stresin azaltılması ile osteoporoza karşı koruyucu bir rolü olduğu gösterilmiştir (257). Laufs ve ark., (258) rosuvastatinin NOS aktivasyonu ve salımı üzerine etkisinin doza bağlı olduğunu rapor etmişlerdir. Overektomize ratlarda, simvastatinin eNOS'u ve total NOS aktivitesini arttırdığı, enflamasyon ve oksidatif stres durumlarında iNOS sunumunu azalttığı rapor edilmiştir (257). Çalışmamızda rosuvastatin, R ve PR gruplarında serumda önemli düzeyde NO seviyesini arttırması ile deneysel periodontitiste alveoler kemik kaybını azaltıcı etki yapmış görülmektedir. NO seviyeleri ile ilişkili mekanizma rosuvastatinin NO sentezinde görevli enzimler üzerindeki farklı etkilerine bağlı olarak gerçekleşebilir.

SOD, süperoksit radikalının moleküler oksijene ve daha az reaktif bir ürün olan hidrojen peroksiite dismutasyonunu katalizler. Bu reaksiyon sonucu oluşan hidrojen peroksiti KAT ve GSH-Px ortamdan uzaklaştırır. Periodontal hastalıkta meydana gelen oksidatif stres durumunda antioksidan enzimlerin rolünün

değerlendirildiği çalışmalarda antioksidan enzim seviyelerinde değişiklik olmadığı (157, 158), arttığı (19, 259) veya azaldığı (26, 208, 260) şeklinde farklı sonuçlar bildirilmiştir. Çalışmamızda tüm gruplarda SOD ve GSH-Px düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik bulunmadı ($p>0,05$). SOD ile GSH-Px seviyeleri arasında pozitif korelasyon saptandı ($p<0,01$). Bulgularımız periodontitiste meydana gelen oksidatif durumun SOD ve/veya GSH-Px düzeylerinde herhangi bir etkisinin olmadığını rapor eden çalışmalar ile benzerdir (157, 158).

Dislipidemik hastalarda statinlerin TBARS seviyelerini azalttığı ve KAT, SOD ve GSH-Px seviyelerini arttığı rapor edilmiştir (261). Atorvastatin ratlarda artrit tedavisinde TBARS seviyelerinin azalmasına ve SOD ve GSH seviyelerinin artışına böylece oksidatif stres düzeylerinde iyileşmeye neden olmuştur (262). Çalışmamızda rosuvastatinin SOD ve GSH-Px seviyeleri üzerine arttırma ya da azaltma etkisi olmadığı bulundu. Periodontitiste, rosuvastatin uygulansın ya da uygulanmasın, SOD ve paralel olarak GSH-Px konsantrasyonlarında değişiklik gözlenmemesi lipid peroksidasyonuna karşı bu enzimlerin aşırı tüketimi ile açıklanabilir.

GSH antioksidan aktivitesini ortamdaki mevcut serbest radikallerle birleşerek hücrede oluşacak oksidatif hasarı ve yanı sıra proteinlerdeki sülfidril gruplarını redükte halde tutarak protein ve enzimlerde oluşabilecek inaktivasyonu da engeller (78, 103). Periodontal hastalık varlığında GSH seviyesinin arttığını ya da azaldığını rapor eden çalışmalar bulunmaktadır (26, 103, 179). Giorgi ve ark., (156) gingivitisli dişeti örneklerinde sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında GSH seviyelerinin yükseldiğini rapor etmişlerdir. Çalışmamızda GSH seviyesi P grubunda K grubuna göre arttı ($p<0,05$). GSH ile alveoler kemik kaybı arasında pozitif yönde ilişki bulundu ($p<0,01$). Bulgularımız değerlendirildiğinde periodontal hastalık varlığında artan GSH seviyesi, ROT oluşumuna karşı tamponlama kapasitesinin arttırılması ve kronik enflamatuvar süreçte immün cevabın sürekli aktivasyonu ile ilişkili gözükmektedir.

Antioksidan maddeler ile yapılan tedavilerde GSH aktivitesinin arttığı ve antioksidan savunma sisteminin etkisiyle hücresel düzeyde oksidatif hasarın önlenildiği gösterilmiştir (263, 264). Rosuvastatinin obezite indüklü oksidatif strese kullanımının GSH seviyelerini arttırdığı rapor edilmiştir (265). Yapılan in vitro bir çalışmada, rosuvastatinin insan promyelositik hücrelerinde oksidatif strese

ve DNA hasarına karşı GSH sentezini arttırdığı bildirilmiştir (266). Çalışmamızda GSH seviyesi rosuvastatin uygulaması ile R grubunda K grubuna göre ve PR grubunda P grubuna göre yüksekti ($p<0,05$). Rosuvastatinin GSH antioksidan enzim seviyelerinin, antioksidan enzimlerin açığa çıkan oksidatif yükü baskılamak, süpürmek, yok etmek ve/veya dengelemek için arttırdığını ve bu yolla GSH'ın hücreyi oksidatif hasardan koruyacağı düşünülebilir.

CRP, enflamatuvar uyarı sonucu meydana gelen bir akut faz reaktanıdır (267). Literatürde periodontitiste hs-CRP konsantrasyonlarının arttığını (268, 269) ve periodontal tedaviden sonra anlamlı derecede düştüğünü rapor eden çalışmaların (270) yanı sıra periodontitisin CRP seviyelerinde artışa sebep olmadığını (271-273) ve kronik periodontitisli bireylerde cerrahi olmayan periodontal tedavinin plak ve gingival skorları iyileştirmesine rağmen CRP seviyeleri üzerine etkisi olmadığını rapor eden çalışmalar da bulunmaktadır (273-275). Bazı çalışmalara benzer olarak çalışmamızda gruplar arası karşılaştırmalarda, hs-CRP konsantrasyonlarında herhangi bir farklılık tespit edilmedi.

CRP kanda serbest halde bulunmakla birlikte, büyük oranda lipoproteinlere ve lipid peroksidasyonu ya da protein oksidasyonu sonucu oluşan okside moleküllere bağlı olarak taşınan bir proteindir. Statinlerin periodontal hastalık varlığında artmış CRP ve IL-6 gibi serum enflamatuvar belirteç seviyelerini azalttığı bildirilmiştir (51, 52). Çalışmamızda literatürden farklı olarak rosuvastatinin periodontitis varlığında CRP üzerinde azaltıcı etkisi saptanmadı. Ancak GSH ile hs-CRP arasındaki pozitif ilişki periodontal yıkımda CRP'nin varlığını ve artışı ile ilişkili olarak antioksidan enzim üretiminin arttığını desteklemektedir.

Ulaşılabilir kaynaklara göre çalışmamız deneysel periodontitis modelinde rosuvastatinin alveoler kemik kaybı, oksidatif stres ve antioksidan enzimler açısından etkinliğinin değerlendirildiği ilk çalışmadır. En önemli limitasyonumuz periodontitis varlığında rosuvastatinin etkilerinin sadece sistemik olarak serumda değerlendirilmesidir. Periodontal dokularda rosuvastatinin etkilerinin histopatolojik ve biyokimyasal olarak değerlendirilmesi önemli katkılar sağlayacaktır. Çalışmamızda herhangi bir doz kıyaslaması yapılmaması farklı dozlarda rosuvastatin kullanımının yer alacağı çalışmalara bir başlangıç teşkil edebilir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmamızda histomorfometrik ve histopatolojik değerlendirmelerde 20 mg/kg/gün dozda sistemik rosuvastatin kullanımının, oluşturulan deneysel periodontitis modelinde alveoler kemik rezorpsiyonunu ve periodontal enflamasyon şiddetini azaltmada etkili olduğu tespit edildi.

Rosuvastatin periodontitiste MDA seviyesini azaltmanın yanı sıra GSH seviyelerini yükseltti. Bu durum rosuvastatinin antioksidan etkisini destekler niteliktedir. Rosuvastatin kullanımının periodontitiste SOD ve GSH-Px enzim düzeylerinde herhangi bir değişikliğe neden olmadığı görüldü.

Periodontitiste NO seviyelerinin alveoler kemik kaybı ile ilişkili olarak arttığı bulundu. Rosuvastatin serum NO seviyelerini önemli ölçüde arttırdı. Rosuvastatin periodontitiste alveoler kemiğin korunmasında önemli derecede etkili görünmektedir. NO seviyeleri ile ilişkili mekanizma ilacın NO sentezinde görevli enzimler üzerindeki farklı etkilerine bağlı olarak gerçekleşebilir. Rosuvastatin kullanımının periodontitiste hs-CRP düzeylerinde herhangi bir değişikliğe neden olmadığı görüldü.

Sonuç olarak bu çalışmada rosuvastatinin deneysel periodontitiste serum MDA seviyesini azaltmak ve GSH antioksidan enzim seviyesini ve NO seviyesini arttırmak suretiyle oksidatif stres ve ilişkili periodontal doku hasarını azaltabileceği gösterildi. Bu durum, statinlerin antioksidan niteliğini de içeren pleotropik etkileri ile ilişkilidir. Bununla birlikte rosuvastatinin periodontal hastalık tedavisinde farklı dozlarda, lokal uygulamalarda sistemik olarak ve periodontal dokularda değerlendirildiği yeni çalışmalara gereksinim vardır.

ÖZET

Rosuvastatinin Deneysel Periodontitis Modelinde Oksidatif Stres ve Enflamatuvar Parametrelere Etkisinin Değerlendirilmesi

Amaç: Bu çalışmanın amacı ligatür indüklü periodontitis modelinde sistemik rosuvastatin kullanımının alveoler kemik kaybı ve oksidatif durum üzerine etkisinin değerlendirilmesidir.

Metodlar: 39 erkek Wistar Albino rat rastgele 4 gruba ayrıldı: kontrol grubu (K); Rosuvastatin grubu (R); Periodontitis grubu (P) ve Periodontitis+Rosuvastatin grubu (PR). Ligatürler her iki kadranda maksiller ikinci molar dişlerin servikslerine yerleştirildi ve ratlar oral gavaj yardımı ile su ya da rosuvastatin ile 14 gün süre ile tedavi edildi. Sakrifikasyon sonrası, maksillada histomorfometrik and histolojik analizler yapıldı. Serum malondialdehit (MDA), nitrik oksit (NO), superoksit dismutaz, glutatyon (GSH), glutatyon peroksidaz ve yüksek duyarlı C reaktif protein (hs-CRP) konsantrasyonları enzim bağlı immunosorbent assay ile değerlendirildi.

Sonuçlar: Rosuvastatin, P grubu ile karşılaştırıldığında PR grubunda alveoler kemik kaybını istatistiksel anlamlı azaltmıştır ($p<0,05$). MDA konsantrasyonunda K grubu ile P grubu arasında istatistiksel anlamlı fark belirlendi ($p<0,05$) ve K ve PR grupları arasında istatistiksel fark bulunmadı ($p>0,05$). NO seviyesi PR grubunda P grubuna, R grubunda göre K grubuna göre yüksekti ($p<0,05$). GSH konsantrasyonu P ve PR gruplarında K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek tespit edildi ($p<0,05$). Alveoler kemik kaybı ve MDA ($r=0,523$, $p=0,001$), NO ($r=0,370$, $p=0,01$) ve GSH ($r=0,371$, $p=0,01$) arasında ve SOD-GSH-Px arasında ($r=0,363$, $p=0,011$) pozitif korelasyonlar tespit edildi.

Tartışma: Çalışmanın sonucuna göre rosuvastatin, ligatür indüklü deneysel periodontitis modelinde alveoler kemik kaybını azalttı ve oksidatif durumu iyileştirdi.

Anahtar Kelimeler: Rosuvastatin; alveoler kemik kaybı; oksidatif stres; periodontitis; antioksidan.

ABSTRACT

Determination of the Role of Rosuvastatin on Oxidative Stress and Inflammatory Parameters in an Experimental Periodontitis Model of Rats

Background: The purpose of this study was to evaluate the effects of systemically administered rosuvastatin on alveolar bone loss (ABL) and oxidative status in ligature induced periodontitis in rats.

Methods: Thirty nine male Wistar Albino rats randomly divided into 4 groups: Control group (C); Rosuvastatin group (R); Periodontitis group (P); and Periodontitis+Rosuvastatin group (PR). Ligatures were placed at the cervix of the maxillary second molars in both quadrants and all rats were treated with water or rosuvastatin by oral gavage, during 14 days. After sacrifice, histomorphometric and histological analysis were performed on the maxillae. Serum malondialdehyde (MDA), nitric oxide (NO), superoxide dismutase, glutathione (GSH), glutathione peroxidase, and high sensitive C reactive protein (hs-CRP) concentrations were evaluated by enzyme-linked immunosorbent assay.

Results: Rosuvastatin significantly decreased ABL in the PR group compared to the P group ($p < 0.05$). MDA concentrations were statistically higher in the P group than those of the C group ($p < 0.05$), there was not statistically significant difference between the C and PR groups regarding MDA concentrations ($p > 0.05$). NO levels were higher in the PR group than the P group and in the R group than the C group ($p < 0.05$). GSH levels were significantly higher in the P and PR groups compared to the C group ($p < 0.05$). Positive correlations were found between ABL and MDA ($r = 0.523$, $p = 0.001$), NO ($r = 0.370$, $p = 0.01$), and GSH ($r = 0.371$, $p = 0.01$) and between SOD-GSH-Px ($r = 0.363$, $p = 0.011$).

Conclusion: The present data suggest that rosuvastatin decreases ABL and improve oxidative status in ligature-induced periodontitis model.

Keywords: Rosuvastatin; alveolar bone loss; oxidative stress; periodontitis; antioxidant.

KAYNAKLAR

1. Listgarten MA. Nature of periodontal diseases: pathogenic mechanisms. *J Periodontal Res.* 1987; 22(3): 172-178.
2. Cutler CW, Kalmar JR, Genco CA. Pathogenic strategies of the oral anaerobe, *Porphyromonas gingivalis*. *Trends Microbiol.* 1995; 3(2): 45-51.
3. D'Aiuto F, Graziani F, Tete S, Gabriele M, Tonetti MS. Periodontitis: from local infection to systemic diseases. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2005; 18 (Suppl 3): 1-11.
4. Kinane DF. Aetiology and pathogenesis of periodontal disease. *Ann R Australas Coll Dent Surg.* 2000; 15: 42-50.
5. Warwas M, Kaczmarek U, Golab K. The role of cysteine protease and cystatin in pathogenesis and laboratory diagnosis of periodontal disease. *Postepy Hig Med Dosw.* 2000; 54(6): 879-894.
6. Slots J. Herpesviruses in periodontal diseases. *Periodontol 2000.* 2005; 38: 33-62.
7. Halliwell B. How to characterize an antioxidant: an update. *Biochem Soc Symp.* 1995; 61: 73-101.
8. Consensus report. Periodontal diseases: pathogenesis and microbial factors. *Ann Periodontol.* 1996; 1(1): 926-932.
9. Lamster IB, Novak MJ. Host mediators in gingival crevicular fluid: implications for the pathogenesis of periodontal disease. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1992; 3(1-2): 31-60.
10. Chapple IL, Matthews JB. The role of reactive oxygen and antioxidant species in periodontal tissue destruction. *Periodontol 2000.* 2007; 43: 160-232.
11. Mathes WF, Kelly SA, Pomp D. Advances in comparative genetics: influence of genetics on obesity. *Br J Nutr.* 2011; 106 (Suppl 1): S1-10.
12. Steinbeck MJ, Appel WH, Jr., Verhoeven AJ, Karnovsky MJ. NADPH-oxidase expression and in situ production of superoxide by osteoclasts actively resorbing bone. *J Cell Biol.* 1994; 126(3): 765-772.
13. Hall TJ, Schaeublin M, Jeker H, Fuller K, Chambers TJ. The role of reactive oxygen intermediates in osteoclastic bone resorption. *Biochem Biophys Res Commun.* 1995; 207(1): 280-287.
14. Brock GR, Butterworth CJ, Matthews JB, Chapple IL. Local and systemic total antioxidant capacity in periodontitis and health. *J Clin Periodontol.* 2004; 31(7): 515-521.
15. Canakci CF, Tatar A, Canakci V, Cicek Y, Oztas S, Orbak R. New evidence of premature oxidative DNA damage: mitochondrial DNA deletion in gingival tissue of patients with periodontitis. *J Periodontol.* 2006; 77(11): 1894-1900.
16. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007; 39(1): 44-84.
17. Gutteridge JM, Halliwell B. Free radicals and antioxidants in the year 2000. A historical look to the future. *Ann N Y Acad Sci.* 2000; 899: 136-147.

18. Halliwell B. The role of oxygen radicals in human disease, with particular reference to the vascular system. *Haemostasis*. 1993; 23 (Suppl 1): 118-126.
19. Panjamurthy K, Manoharan S, Ramachandran CR. Lipid peroxidation and antioxidant status in patients with periodontitis. *Cell Mol Biol Lett*. 2005; 10(2): 255-264.
20. Siems W, Crifo C, Capuozzo E, Uchida K, Grune T, Salerno C. Metabolism of 4-hydroxy-2-nonenal in human polymorphonuclear leukocytes. *Arch Biochem Biophys*. 2010; 503(2): 248-252.
21. Miricescu D, Totan A, Calenic B, Mocanu B, Didilescu A, Mohora M, Spinu T, Greabu M. Salivary biomarkers: relationship between oxidative stress and alveolar bone loss in chronic periodontitis. *Acta Odontol Scand*. 2014; 72(1): 42-47.
22. Yagan A, Kesim S, Liman N. Effect of low-dose doxycycline on serum oxidative status, gingival antioxidant levels, and alveolar bone loss in experimental periodontitis in rats. *J Periodontol*. 2014; 85(3): 478-489.
23. Tonguc MO, Ozturk O, Sutcu R, Ceyhan BM, Kilinc G, Sonmez Y, Yetkin Ay Z, Sahin U, Baltacioglu E, Kirzioglu FY. The impact of smoking status on antioxidant enzyme activity and malondialdehyde levels in chronic periodontitis. *J Periodontol*. 2011; 82(9): 1320-1328.
24. Wei D, Zhang XL, Wang YZ, Yang CX, Chen G. Lipid peroxidation levels, total oxidant status and superoxide dismutase in serum, saliva and gingival crevicular fluid in chronic periodontitis patients before and after periodontal therapy. *Aust Dent J*. 2010; 55(1): 70-78.
25. Akalin FA, Baltacioglu E, Alver A, Karabulut E. Lipid peroxidation levels and total oxidant status in serum, saliva and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontitis. *J Clinical Periodontol*. 2007; 34(7): 558-565.
26. Sobaniec H, Sobaniec-Lotowska ME. Morphological examinations of hard tissues of periodontium and evaluation of selected processes of lipid peroxidation in blood serum of rats in the course of experimental periodontitis. *Med Sci Monit*. 2000; 6(5): 875-881.
27. Tsai CC, Chen HS, Chen SL, Ho YP, Ho KY, Wu YM, Hung CC. Lipid peroxidation: a possible role in the induction and progression of chronic periodontitis. *J Periodontal Res*. 2005; 40(5): 378-384.
28. Rosselli M, Keller PJ, Dubey RK. Role of nitric oxide in the biology, physiology and pathophysiology of reproduction. *Hum Reprod Update*. 1998; 4(1): 3-24.
29. Batista AC, Silva TA, Chun JH, Lara VS. Nitric oxide synthesis and severity of human periodontal disease. *Oral Dis*. 2002; 8(5): 254-260.
30. Lappin DF, Kjeldsen M, Sander L, Kinane DF. Inducible nitric oxide synthase expression in periodontitis. *J Periodontal Res*. 2000; 35(6): 369-373.
31. Oktay S, Chukkapalli SS, Rivera-Kweh MF, Velsko IM, Holliday S, Kesavalu LN. Periodontitis in Rats Induces Systemic Oxidative Stress That is Controlled by Bone-Targeted Antiresorptives. *J Periodontol*. 2015; 85(1) : 137-145.
32. Davignon J. The cardioprotective effects of statins. *Curr Atheroscler Rep*. 2004; 6(1): 27-35.
33. Kapur NK, Musunuru K. Clinical efficacy and safety of statins in managing cardiovascular risk. *Vasc Health Risk Manag*. 2008; 4(2): 341-353.
34. Zhou Q, Liao JK. Statins and cardiovascular diseases: from cholesterol lowering to pleiotropy. *Curr Pharma Des*. 2009; 15(5): 467-478.

35. Balakumar P, Kathuria S, Taneja G, Kalra S, Mahadevan N. Is targeting eNOS a key mechanistic insight of cardiovascular defensive potentials of statins? *J Mol Cell Cardiol.* 2012; 52(1): 83-92.
36. Maeda T, Matsunuma A, Kurahashi I, Yanagawa T, Yoshida H, Horiuchi N. Induction of osteoblast differentiation indices by statins in MC3T3-E1 cells. *J Cell Biochem.* 2004; 92(3): 458-471.
37. Liao JK, Laufs U. Pleiotropic effects of statins. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2005; 45: 89-118.
38. Takemoto M, Liao JK. Pleiotropic effects of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase inhibitors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001; 21(11): 1712-1719.
39. Lahera V, Goicoechea M, de Vinuesa SG, Miana M, de las Heras N, Cachofeiro V, Luno J. Endothelial dysfunction, oxidative stress and inflammation in atherosclerosis: beneficial effects of statins. *Curr Med Chem.* 2007; 14(2): 243-248.
40. Stoll LL, McCormick ML, Denning GM, Weintraub NL. Antioxidant effects of statins. *Drugs Today (Barc).* 2004; 40(12): 975-990.
41. Ersoy A, Koc ER, Sahin S, Duzgun U, Acar B, Ilhan A. Possible effects of rosuvastatin on noise-induced oxidative stress in rat brain. *Noise Health* 2014; 16(68): 18-25.
42. Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exp Physiol.* 1997; 82(2): 291-295.
43. Balli U, Keles GC, Cetinkaya BO, Mercan U, Ayas B, Erdogan D. Assessment of vascular endothelial growth factor and matrix metalloproteinase-9 in the periodontium of rats treated with atorvastatin. *J Periodontol.* 2014; 85(1): 178-187.
44. Dalcico R, de Menezes AM, Deocleciano OB, Oria RB, Vale ML, Ribeiro RA, Brito GA. Protective mechanisms of simvastatin in experimental periodontal disease. *J Periodontol.* 2013; 84(8): 1145-1157.
45. Goes P, Lima AP, Melo IM, Rego RO, Lima V. Effect of Atorvastatin in radiographic density on alveolar bone loss in wistar rats. *Braz Dent J.* 2010; 21(3): 193-198.
46. 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.
47. Meisel P, Kroemer HK, Nauck M, Holtfreter B, Kocher T. Tooth loss, periodontitis, and statins in a population-based follow-up study. *J Periodontol.* 2014; 85(6): e160-168.
48. 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.
49. Pradeep AR, Kumari M, Rao NS, Martande SS, Naik SB. Clinical efficacy of subgingivally delivered 1.2% atorvastatin in chronic periodontitis: a randomized controlled clinical trial. *J Periodontol.* 2013; 84(7): 871-879.
50. Subramanian S, Emami H, Vucic E, Singh P, Vijayakumar J, Fifer KM, Alon A, Shankar SS, Farkouh M, Rudd JH, Fayad ZA, Van Dyke TE, Tawakol A. High-dose atorvastatin reduces periodontal inflammation: a novel pleiotropic effect of statins. *J Am Coll Cardiol.* 2013; 62(25): 2382-2391.
51. Meisel P, Kohlmann T, Wallaschofski H, Kroemer HK, Kocher T. Cholesterol, C-Reactive Protein, and Periodontitis: HMG-KoA-Reductase Inhibitors (Statins) as Effect Modifiers. *ISRN Dent.* 2011; 2011: 125168.

52. Fentoglu O, Kirzioglu FY, Ozdem M, Kocak H, Sutcu R, Sert T. Proinflammatory cytokine levels in hyperlipidemic patients with periodontitis after periodontal treatment. *Oral Dis.* 2012; 18(3): 299-306.
53. Calabro P, Yeh ET. The pleiotropic effects of statins. *Curr Opin Cardiol.* 2005; 20(6): 541-546.
54. Schachter M. Chemical, pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of statins: an update. *Fundam Clin Pharmacol.* 2005; 19(1): 117-125.
55. Istvan ES, Deisenhofer J. Structural mechanism for statin inhibition of HMG-KoA reductase. *Science* 2001; 292(5519): 1160-1164.
56. Istvan E. Statin inhibition of HMG-KoA reductase: a 3-dimensional view. *Atheroscler Suppl.* 2003; 4(1): 3-8.
57. Endo A, Kuroda M, Tsujita Y. ML-236A, ML-236B, and ML-236C, new inhibitors of cholesterologenesis produced by *Penicillium citrinum*. *J Antibiot.* 1976; 29(12): 1346-1348.
58. Brown MS, Faust JR, Goldstein JL, Kaneko I, Endo A. Induction of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase activity in human fibroblasts incubated with compactin (ML-236B), a competitive inhibitor of the reductase. *J Biol Chem.* 1978; 253(4): 1121-1128.
59. Yamamoto A, Yamamura T, Yokoyama S, Sudo H, Matsuzawa Y. Combined drug therapy--cholestyramine and compactin--for familial hypercholesterolemia. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol.* 1984; 22(9): 493-497.
60. Alberts AW, Chen J, Kuron G, Hunt V, Huff J, Hoffman C, Rothrock J, Lopez M, Joshua H, Harris E, Patchett A, Monaghan R, Currie S, Stapley E, Albers-Schonberg G, Hensens O, Hirshfield J, Hoogsteen K, Liesch J, Springer J. Mevinolin: a highly potent competitive inhibitor of hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase and a cholesterol-lowering agent. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1980; 77(7): 3957-3961.
61. Endo A. The origin of the statins. 2004. *Atheroscler Suppl.* 2004; 5(3): 125-130.
62. Davidson MH. Rosuvastatin: a highly efficacious statin for the treatment of dyslipidaemia. *Expert Opin Investig Drugs.* 2002; 11(3): 125-141.
63. McTaggart F. Comparative pharmacology of rosuvastatin. *Atheroscler Suppl.* 2003; 4(1): 9-14.
64. McTaggart F, Buckett L, Davidson R, Holdgate G, McCormick A, Schneck D, Smith G, Warwick M. Preclinical and clinical pharmacology of Rosuvastatin, a new 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitor. *J Cardiol.* 2001; 87(5A): 28B-32B.
65. Weitz-Schmidt G. Statins as anti-inflammatory agents. *Trends Pharmacol Sci.* 2002; 23(10): 482-486.
66. Palinski W. New evidence for beneficial effects of statins unrelated to lipid lowering. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001; 21(1): 3-5.
67. Lardizabal JA, Deedwania P. Lipid-lowering therapy with statins for the primary and secondary prevention of cardiovascular disease. *Cardiol Clin.* 2011; 29(1): 87-103.
68. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Lancet.* 1994; 344(8934): 1383-1389.

69. Baigent C, Keech A, Kearney PM, Blackwell L, Buck G, Pollicino C, Kirby A, Sourjina T, Peto R, Collins R, Simes R. Efficacy and safety of cholesterol-lowering treatment: prospective meta-analysis of data from 90,056 participants in 14 randomised trials of statins. *Lancet* 2005; 366(9493): 1267-1278.
70. Horiuchi N, Maeda T. Statins and bone metabolism. *Oral Dis* 2006; 12(2): 85-101.
71. Liao JK. Isoprenoids as mediators of the biological effects of statins. *J Clin Invest.* 2002; 110(3): 285-288.
72. Tsartsalis AN, Dokos C, Kaiafa GD, Tsartsalis DN, Kattamis A, Hatzitolios AI, Savopoulos CG. Statins, bone formation and osteoporosis: hope or hype? *Hormones (Athens)* 2012; 11(2): 126-139.
73. Cuello FM, Kato CS, Diaz SD, Owen G. Effects of statins in cancer. *Rev Med Chil.* 2013; 141(2): 227-236.
74. Willey JZ, Elkind MS. 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitors in the treatment of central nervous system diseases. *Arch Neurol.* 2010; 67(9): 1062-1067.
75. Podda M, Grundmann-Kollmann M. Low molecular weight antioxidants and their role in skin ageing. *Clin Exp Dermatol.* 2001; 26(7): 578-582.
76. Waddington RJ, Moseley R, Embery G. Reactive oxygen species: a potential role in the pathogenesis of periodontal diseases. *Oral Dis.* 2000; 6(3): 138-151.
77. Battino M, Bullon P, Wilson M, Newman H. Oxidative injury and inflammatory periodontal diseases: the challenge of anti-oxidants to free radicals and reactive oxygen species. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1999; 10(4): 458-476.
78. Chapple IL. Reactive oxygen species and antioxidants in inflammatory diseases. *J Clin Periodontol.* 1997; 24(5): 287-296.
79. Seifried HE, Anderson DE, Sorkin BC, Costello RB. Free radicals: the pros and cons of antioxidants. Executive summary report. *J Nutr.* 2004; 134(11): 3143S-3163S.
80. Cathcart MK. Regulation of superoxide anion production by NADPH oxidase in monocytes/macrophages: contributions to atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004; 24(1): 23-28.
81. Halliwell B. Oxygen is poisonous: the nature and medical importance of oxygen radicals. *Med Lab Sci.* 1984; 41(2): 157-171.
82. Auer DE, Ng JC, Seawright AA. Effect of palosein (superoxide dismutase) and catalase upon oxygen derived free radical induced degradation of equine synovial fluid. *Equine Vet J.* 1990; 22(1): 13-17.
83. Halliwell B, Gutteridge JM. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods Enzymol.* 1990; 186: 1-85.
84. Knight JA. Review: Free radicals, antioxidants, and the immune system. *Ann Clin Lab Sci.* 2000; 30(2): 145-158.
85. Khan AU, Kasha M. Singlet molecular oxygen in the Haber-Weiss reaction. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1994; 91(26): 12365-12367.
86. Martinez MC, Andriantsitohaina R. Reactive nitrogen species: molecular mechanisms and potential significance in health and disease. *Antioxid Redox Signal.* 2009; 11(3): 669-702.
87. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev.* 2002; 82(1): 47-95.

88. Abdollahi M, Ranjbar A, Shadnia S, Nikfar S, Rezaie A. Pesticides and oxidative stress: a review. *Med Sci Monit.* 2004; 10(6): RA141-147.
89. Reilly PM, Schiller HJ, Bulkley GB. Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *Am J Surg.* 1991; 161(4): 488-503.
90. Yu BP. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol Rev.* 1994; 74(1): 139-162.
91. Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. *Am J Med.* 1991; 91(3C): 14S-22S.
92. Giera M, Lingeman H, Niessen WM. Recent Advancements in the LC- and GC-Based Analysis of Malondialdehyde (MDA): A Brief Overview. *Chromatographia* 2012; 75(9-10): 433-440.
93. Dizdaroglu M. Facts about the artifacts in the measurement of oxidative DNA base damage by gas chromatography-mass spectrometry. *Free Radical Res.* 1998; 29(6): 551-563.
94. De Martinis BS, de Lourdes Pires Bianchi M. Methodology for urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine analysis by HPLC with electrochemical detection. *Pharmacol Res.* 2002; 46(2): 129-131.
95. Quinlan GJ, Gutteridge JM. Hydroxyl radical generation by the tetracycline antibiotics with free radical damage to DNA, lipids and carbohydrate in the presence of iron and copper salts. *Free Radic Biol Med.* 1988; 5(5-6): 341-348.
96. Valko M, Morris H, Cronin MT. Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr Med Chem.* 2005; 12(10): 1161-1208.
97. Cheeseman KH. Mechanisms and effects of lipid peroxidation. *Mol Aspects Med.* 1993; 14(3): 191-197.
98. Durak K, Bilgen OF, Kaleli T, Tuncel P, Ozbek R, Turan K. Antioxidant effect of alpha-tocopherol on fracture haematoma in rabbits. *J Int Med Res.* 1996; 24(5): 419-424.
99. Peskin AV. Cu, Zn-superoxide dismutase gene dosage and cell resistance to oxidative stress: a review. *Biosci Rep.* 1997; 17(1): 85-89.
100. Jacoby BH, Davis WL. The electron microscopic immunolocalization of a copper-zinc superoxide dismutase in association with collagen fibers of periodontal soft tissues. *J Periodontol.* 1991; 62(7): 413-420.
101. Mates JM. Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology* 2000; 153(1-3): 83-104.
102. Hall AG. Review: The role of glutathione in the regulation of apoptosis. *J Clin Invest.* 1999; 29(3): 238-245.
103. Chapple IL, Brock G, Eftimiadi C, Matthews JB. Glutathione in gingival crevicular fluid and its relation to local antioxidant capacity in periodontal health and disease. *Mol Pathol.* 2002; 55(6): 367-373.
104. Nishida M, Grossi SG, Dunford RG, Ho AW, Trevisan M, Genco RJ. Dietary vitamin C and the risk for periodontal disease. *J Periodontol.* 2000; 71(8): 1215-1223.
105. Maxwell SR. Prospects for the use of antioxidant therapies. *Drugs.* 1995; 49(3): 345-361.

106. Duarte TL, Lunec J. Review: When is an antioxidant not an antioxidant? A review of novel actions and reactions of vitamin C. *Free Radic Res.* 2005; 39(7): 671-686.
107. Loesche WJ, Grossman NS. Periodontal disease as a specific, albeit chronic, infection: diagnosis and treatment. *Clin Microbiol Rev.* 2001; 14(4): 727-752.
108. 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 (Suppl 1): 3-23.
109. Mariotti A. Sex steroid hormones and cell dynamics in the periodontium. *Crit Rev in Oral Biol Med.* 1994; 5(1): 27-53.
110. Mariotti A. Dental plaque-induced gingival diseases. *Ann Periodontol.* 1999; 4(1): 7-19.
111. Mascarenhas P, Gapski R, Al-Shammari K, Wang HL. Influence of sex hormones on the periodontium. *J Clin Periodontol.* 2003; 30(8): 671-681.
112. Page RC, Kornman KS. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontol 2000.* 1997; 14: 9-11.
113. Page RC, Schroeder HE. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Invest.* 1976; 34(3): 235-249.
114. Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol.* 1999; 4(1): 1-6.
115. Oliver RC, Brown LJ, Loe H. Periodontal diseases in the United States population. *J Periodontol.* 1998; 69(2): 269-278.
116. Flemmig TF. Periodontitis. *Ann Periodontol.* 1999; 4(1): 32-38.
117. Smith M, Seymour GJ, Cullinan MP. Histopathological features of chronic and aggressive periodontitis. *Periodontol 2000.* 2010; 53: 45-54.
118. Berglundh T, Donati M. Aspects of adaptive host response in periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2005; 32 (Suppl 6): 87-107.
119. Tatakis DN, Trombelli L. Modulation of clinical expression of plaque-induced gingivitis. I. Background review and rationale. *J Clin Periodontol.* 2004; 31(4): 229-238.
120. The pathogenesis of periodontal diseases. *J Periodontol.* 1999; 70(4): 457-470.
121. Kinane DF. Causation and pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol 2000.* 2001; 25: 8-20.
122. Fahn HJ, Wang LS, Kao SH, Chang SC, Huang MH, Wei YH. Smoking-associated mitochondrial DNA mutations and lipid peroxidation in human lung tissues. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1998; 19(6): 901-909.
123. Key LL, Wolf WC, Gundberg CM, Ries WL. Superoxide and bone resorption. *Bone.* 1994; 15(4): 431-436.
124. Segal AW. How neutrophils kill microbes. *Ann Rev Immunol.* 2005; 23: 197-223.
125. Hansbrough J, Tenenhaus M, Wikstrom T, Braide M, Rennekampff OH, Kiessig V, Bjursten LM. Effects of recombinant bactericidal/permeability-increasing protein (rBPI23) on neutrophil activity in burned rats. *J Trauma* 1996; 40(6): 886-892; discussion 892-883.
126. Robinson JP, Carter WO, Narayanan PK. Oxidative product formation analysis by flow cytometry. *Methods Cell Biol.* 1994; 41: 437-447.

127. Ozcaka O, Bicakci N, Pussinen P, Sorsa T, Kose T, Buduneli N. Smoking and matrix metalloproteinases, neutrophil elastase and myeloperoxidase in chronic periodontitis. *Oral Dis.* 2011; 17(1): 68-76.
128. Pendyala G, Thomas B, Kumari S. The challenge of antioxidants to free radicals in periodontitis. *J Indian Soc Periodontol.* 2008; 12(3): 79-83.
129. Sculley DV, Langley-Evans SC. Salivary antioxidants and periodontal disease status. *Proc Nutr Soc.* 2002; 61(1): 137-143.
130. Whyte GJ, Seymour GJ, Cheung K, Robinson MF. Chemiluminescence of peripheral polymorphonuclear leukocytes from adult periodontitis patients. *J Clin Periodontol.* 1989; 16(2): 69-74.
131. Tamaki N, Tomofuji T, Maruyama T, Ekuni D, Yamanaka R, Takeuchi N, Yamamoto T. Relationship between periodontal condition and plasma reactive oxygen metabolites in patients in the maintenance phase of periodontal treatment. *J Periodontol.* 2008; 79(11): 2136-2142.
132. Akalin FA, Baltacioglu E, Alver A, Karabulut E. Total antioxidant capacity and superoxide dismutase activity levels in serum and gingival crevicular fluid in pregnant women with chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2009; 80(3): 457-467.
133. Khalili J, Biloklytska HF. Salivary malondialdehyde levels in clinically healthy and periodontal diseased individuals. *Oral Dis.* 2008; 14(8): 754-760.
134. Celec P, Hodosy J, Celecova V, Vodrazka J, Cervenka T, Halcak L, Bozek P, Kopani M, Kudela M. Salivary thiobarbituric acid reacting substances and malondialdehyde--their relationship to reported smoking and to parodontal status described by the papillary bleeding index. *Dis Markers.* 2005; 21(3): 133-137.
135. Tuter G, Kurtis B, Serdar M. Interleukin-1beta and thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) levels after phase I periodontal therapy in patients with chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2001; 72(7): 883-888.
136. Marton IJ, Balla G, Hegedus C, Redi P, Szilagyi Z, Karmazsin L, Kiss C. The role of reactive oxygen intermediates in the pathogenesis of chronic apical periodontitis. *Oral Microbiol Immunol.* 1993; 8(4): 254-257.
137. Baltacioglu E, Kehribar MA, Yuva P, Alver A, Atagun OS, Karabulut E, Akalin FA. Total oxidant status and bone resorption biomarkers in serum and gingival crevicular fluid of patients with periodontitis. *J Periodontol.* 2014; 85(2): 317-326.
138. Lohinai Z, Stachlewitz R, Virag L, Szekely AD, Hasko G, Szabo C. Evidence for reactive nitrogen species formation in the gingivomucosal tissue. *J Dent Res.* 2001; 80(2): 470-475.
139. Menaka KB, Ramesh A, Thomas B, Kumari NS. Estimation of nitric oxide as an inflammatory marker in periodontitis. *J Indian Soc Periodontol.* 2009; 13(2): 75-78.
140. Reher VG, Zenobio EG, Costa FO, Reher P, Soares RV. Nitric oxide levels in saliva increase with severity of chronic periodontitis. *J Oral Sci.* 2007; 49(4): 271-276.
141. Ralston SH. The Michael Mason Prize Essay 1997. Nitric oxide and bone: what a gas! *Br J Rheumatol.* 1997; 36(8): 831-838.
142. Ralston SH, Ho LP, Helfrich MH, Grabowski PS, Johnston PW, Benjamin N. Nitric oxide: a cytokine-induced regulator of bone resorption. *J Bone Miner Res.* 1995; 10(7): 1040-1049.

143. Fox SW, Chambers TJ, Chow JW. Nitric oxide is an early mediator of the increase in bone formation by mechanical stimulation. *Am J Physiol.* 1996; 270(6 Pt 1): E955-960.
144. Miles AM, Bohle DS, Glassbrenner PA, Hansert B, Wink DA, Grisham MB. Modulation of superoxide-dependent oxidation and hydroxylation reactions by nitric oxide. *J Biol Chem.* 1996; 271(1): 40-47.
145. Ralston SH, Todd D, Helfrich M, Benjamin N, Grabowski PS. Human osteoblast-like cells produce nitric oxide and express inducible nitric oxide synthase. *Endocrinology* 1994; 135(1): 330-336.
146. Damoulis PD, Hauschka PV. Nitric oxide acts in conjunction with proinflammatory cytokines to promote cell death in osteoblasts. *J Bone Miner Res.* 1997; 12(3): 412-422.
147. Zamora R, Vodovotz Y, Billiar TR. Inducible nitric oxide synthase and inflammatory diseases. *Mol Med* 2000; 6(5): 347-373.
148. Gyurko R, Shoji H, Battaglini RA, Boustany G, Gibson FC, 3rd, Genco CA, Stashenko P, Van Dyke TE. Inducible nitric oxide synthase mediates bone development and P. gingivalis-induced alveolar bone loss. *Bone* 2005; 36(3): 472-479.
149. Chae HJ, Park RK, Chung HT, Kang JS, Kim MS, Choi DY, Bang BG, Kim HR. Nitric oxide is a regulator of bone remodelling. *J Pharm Pharmacol.* 1997; 49(9): 897-902.
150. Parwani SR, Chitnis PJ, Parwani RN. Salivary nitric oxide levels in inflammatory periodontal disease - a case-control and interventional study. *Int J Dent.* 2012; 10(1): 67-73.
151. Aurer A, Aleksic J, Ivic-Kardum M, Aurer J, Culo F. Nitric oxide synthesis is decreased in periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2001; 28(6): 565-568.
152. Andrukhov O, Haririan H, Bertl K, Rausch WD, Bantleon HP, Moritz A, Rausch-Fan X. Nitric oxide production, systemic inflammation and lipid metabolism in periodontitis patients: possible gender aspect. *J Clin Periodontol.* 2013; 40(10): 916-923.
153. Baltacioglu E, Yuva P, Aydin G, Alver A, Kahraman C, Karabulut E, Akalin FA. Lipid peroxidation levels and total oxidant/antioxidant status in serum and saliva from patients with chronic and aggressive periodontitis. Oxidative stress index: a new biomarker for periodontal disease? *J Periodontol.* 2014; 85(10): 1432-1441.
154. Baltacioglu E, Akalin FA, Alver A, Balaban F, Unsal M, Karabulut E. Total antioxidant capacity and superoxide dismutase activity levels in serum and gingival crevicular fluid in post-menopausal women with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2006; 33(6): 385-392.
155. Huang P, Su T, Wang H. The relationship between GPx activity in gingival fluid and clinical parameters of adult periodontitis. *Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi.* 2000; 18(2): 106-108.
156. Giorgi G, Micheli L, Fiashi AI, Cerratani D, Romeo Mr. The role of glutathione in periodontal disease. *Curr Ther Res Clin Exp.* 1992; 51: 600-603.
157. Akalin FA, Toklu E, Renda N. Analysis of superoxide dismutase activity levels in gingiva and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontitis and periodontally healthy controls. *J Clin Periodontol.* 2005; 32(3): 238-243.
158. Trivedi S, Lal N, Mahdi AA, Mittal M, Singh B, Pandey S. Evaluation of antioxidant enzymes activity and malondialdehyde levels in patients with chronic periodontitis and diabetes mellitus. *J Periodontol.* 2014; 85(5): 713-720.

159. Masi S, Salpea KD, Li K, Parkar M, Nibali L, Donos N, Patel K, Taddei S, Deanfield JE, D'Aiuto F, Humphries SE. Oxidative stress, chronic inflammation, and telomere length in patients with periodontitis. *Free Radic Biol Med*. 2011; 50(6): 730-735.
160. Haffajee AD, Socransky SS. Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. *Periodontol 2000* 1994; 5: 78-111.
161. Kirkwood KL, Cirelli JA, Rogers JE, Giannobile WV. Novel host response therapeutic approaches to treat periodontal diseases. *Periodontol 2000*. 2007; 43: 294-315.
162. Preshaw PM. Host response modulation in periodontics. *Periodontol 2000*. 2008; 48: 92-110.
163. Souza JA, Rossa C, Garlet GP, Nogueira AV, Cirelli JA. Modulation of host cell signaling pathways as a therapeutic approach in periodontal disease. *J Appl Oral Sci*. 2012; 20(2): 128-138.
164. Gulati M, Anand V, Govila V, Jain N. Host modulation therapy: An indispensable part of perioceutics. *J Indian Soc Periodontol*. 2014; 18(3): 282-288.
165. Elavarasu S, Sekar S, Murugan T. Host modulation by therapeutic agents. *J Pharm Bioallied Sci*. 2012; 4 (Suppl 2): S256-259.
166. Fentoglu O, Oz G, Tasdelen P, Uskun E, Aykac Y, Bozkurt FY. Periodontal status in subjects with hyperlipidemia. *J Periodontol*. 2009; 80(2): 267-273.
167. Sangwan A, Tewari S, Singh H, Sharma RK, Narula SC. Periodontal status and hyperlipidemia: statin users versus non-users. *J Periodontol*. 2013; 84(1): 3-12.
168. Losche W, Marshal GJ, Apatzidou DA, Krause S, Kocher T, Kinane DF. Lipoprotein-associated phospholipase A2 and plasma lipids in patients with destructive periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 2005; 32(6): 640-644.
169. D'Aiuto F, Nibali L, Parkar M, Suvan J, Tonetti MS. Short-term effects of intensive periodontal therapy on serum inflammatory markers and cholesterol. *J Dent Res*. 2005; 84(3): 269-273.
170. Sadowitz B, Maier KG, Gahtan V. Basic science review: Statin therapy--Part I: The pleiotropic effects of statins in cardiovascular disease. *Vasc Endovascular Surg*. 2010; 44(4): 241-251.
171. Ridker PM, Danielson E, Fonseca FA, Genest J, Gotto AM, Kastelein JJ, Koenig W, Libby P, Lorenzatti AJ, MacFadyen JG, Nordestgaard BG, Shepherd J, Willerson JT, Glynn RJ. Rosuvastatin to prevent vascular events in men and women with elevated C-reactive protein. *N Engl J Med*. 2008; 359(21): 2195-2207.
172. Ridker PM, Rifai N, Clearfield M, Downs JR, Weis SE, Miles JS, Gotto AM, Jr. Measurement of C-reactive protein for the targeting of statin therapy in the primary prevention of acute coronary events. *N Engl J Med*. 2001; 344(26): 1959-1965.
173. Munford RS. Statins and the acute-phase response. *N Engl J Med*. 2001; 344(26): 2016-2018.
174. Horne BD, Muhlestein JB, Carlquist JF, Bair TL, Madsen TE, Hart NI, Anderson JL. Statin therapy, lipid levels, C-reactive protein and the survival of patients with angiographically severe coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*. 2000; 36(6): 1774-1780.
175. Ridker PM, Rifai N, Lowenthal SP. Rapid reduction in C-reactive protein with cerivastatin among 785 patients with primary hypercholesterolemia. *Circulation* 2001; 103(9): 1191-1193.

176. Ascer E, Bertolami MC, Venturinelli ML, Buccheri V, Souza J, Nicolau JC, Ramires JA, Serrano CV. Atorvastatin reduces proinflammatory markers in hypercholesterolemic patients. *Atherosclerosis*. 2004; 177(1): 161-166.
177. Qu HY, Xiao YW, Jiang GH, Wang ZY, 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.
178. 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.
179. de Araujo Junior RF, Souza TO, de Moura LM, Torres KP, de Souza LB, Alves Mdo S, Rocha HO, de Araujo AA. Atorvastatin decreases bone loss, inflammation and oxidative stress in experimental periodontitis. *PloS One*. 2013; 8(10): e75322.
180. Hernandez C, Francisco G, Ciudin A, Chacon P, Montoro B, Llaverias G, Blanco-Vaca F, Simo R. Effect of atorvastatin on lipoprotein (a) and interleukin-10: a randomized placebo-controlled trial. *Diabetes Metab*. 2011; 37(2): 124-130.
181. Nassar PO, Nassar CA, Guimaraes MR, Aquino SG, Andia DC, Muscara MN, Spolidorio DM, Rossa C, Spolidorio LC. Simvastatin therapy in cyclosporine A-induced alveolar bone loss in rats. *J Periodontol Res*. 2009; 44(4): 479-488.
182. Sale ST, Parvez H, Yeltiwar RK, Vivekanandan G, Pundir AJ, Jain P. A comparative evaluation of topical and intrasulcular application of coenzyme Q10 (Perio Q) gel in chronic periodontitis patients: A clinical study. *J Indian Soc Periodontol*. 2014; 18(4): 461-465.
183. Toker H, Ozan F, Ozer H, Ozdemir H, Eren K, Yeler H. A morphometric and histopathologic evaluation of the effects of propolis on alveolar bone loss in experimental periodontitis in rats. *J Periodontol*. 2008; 79(6): 1089-1094.
184. Akman S, Canakci V, Kara A, Tozoglu U, Arabaci T, Dagsuyu IM. Therapeutic effects of alpha lipoic acid and vitamin C on alveolar bone resorption after experimental periodontitis in rats: a biochemical, histochemical, and stereologic study. *J Periodontol*. 2013; 84(5): 666-674.
185. Fentoğlu Ö, Yılmaz G, Koçak H, Sütçü R, Kırzioğlu FY. Periodontitisli hiperlipidemil bireylerde periodontal tedavinin salya laktoferrin seviyeleri üzerine etkisinin değerlendirilmesi. *Süleyman Demirel Üniv Diş Hek Fak Derg*. 2010; 2(1): 1-11.
186. Edwards CJ, Spector TD. Statins as modulators of bone formation. *Arthritis Res*. 2002; 4(3): 151-153.
187. Staal A, Frith JC, French MH, Swartz J, Gungor 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-KoA reductase activity. *J Bone Miner Res*. 2003; 18(1): 88-96.
188. 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.
189. Hughes A, Rogers MJ, Idris AI, Crockett JC. A comparison between the effects of hydrophobic and hydrophilic statins on osteoclast function in vitro and ovariectomy-induced bone loss in vivo. *Calcif Tissue Int*. 2007; 81(5): 403-413.

190. Kanazawa I, Yamaguchi T, Yamauchi M, Sugimoto T. Rosuvastatin increased serum osteocalcin levels independent of its serum cholesterol-lowering effect in patients with type 2 diabetes and hypercholesterolemia. *Intern Med* 2009; 48(21): 1869-1873.
191. Edwards CJ, Hart DJ, Spector TD. Oral statins and increased bone-mineral density in postmenopausal women. *Lancet* 2000; 355(9222): 2218-2219.
192. Reid IR, Hague W, Emberson J, Baker J, Tonkin A, Hunt D, MacMahon S, Sharpe N. Effect of pravastatin on frequency of fracture in the LIPID study: secondary analysis of a randomised controlled trial. Long-term Intervention with Pravastatin in Ischaemic Disease. *Lancet* 2001; 357(9255): 509-512.
193. Chuengsamarn S, Rattanamongkoulgul S, Suwanwalaikorn S, Wattanasirichaigoon S, Kaufman L. Effects of statins vs. non-statin lipid-lowering therapy on bone formation and bone mineral density biomarkers in patients with hyperlipidemia. *Bone*. 2010; 46(4): 1011-1015.
194. Bauer DC, Mundy GR, Jamal SA, Black DM, Cauley JA, Ensrud KE, van der Klift M, Pols HA. Use of statins and fracture: results of 4 prospective studies and cumulative meta-analysis of observational studies and controlled trials. *Arch Intern Med*. 2004; 164(2): 146-152.
195. Maritz FJ, Conradie MM, Hulley PA, Gopal R, Hough S. Effect of statins on bone mineral density and bone histomorphometry in rodents. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001; 21(10): 1636-1641.
196. Fajardo ME, Rocha ML, Sanchez-Marin FJ, Espinosa-Chavez EJ. Effect of atorvastatin on chronic periodontitis: a randomized pilot study. *J Clin Periodontol*. 2010; 37(11): 1016-1022.
197. 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.
198. Seto H, Ohba H, Tokunaga K, Hama H, Horibe M, Nagata T. Topical administration of simvastatin recovers alveolar bone loss in rats. *J Periodontal Res*. 2008; 43(3): 261-267.
199. Bjornsson MJ, Velschow S, Stoltze K, Havemose-Poulsen A, Schou S, Holmstrup P. The influence of diet consistence, drinking water and bedding on periodontal disease in Sprague-Dawley rats. *J Periodontal Res*. 2003; 38(6): 543-550.
200. Schafer A, Fraccarollo D, Vogt C, Flierl U, Hemberger M, Tas P, Ertl G, Bauersachs J. Improved endothelial function and reduced platelet activation by chronic HMG-KoA-reductase inhibition with rosuvastatin in rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Biochem Pharmacol*. 2007; 73(9): 1367-1375.
201. de Lima V, Bezerra MM, de Menezes Alencar VB, Vidal FD, da Rocha FA, de Castro Brito GA, de Albuquerque Ribeiro R. Effects of chlorpromazine on alveolar bone loss in experimental periodontal disease in rats. *Eur J Oral Sci*. 2000; 108(2): 123-129.
202. Fujishiro N, Anan H, Hamachi T, Maeda K. The role of macrophages in the periodontal regeneration using Emdogain gel. *J Periodontal Res*. 2008; 43(2): 143-155.
203. Holzhausen M, Spolidorio DM, Muscara MN, Hebling J, Spolidorio LC. Protective effects of etoricoxib, a selective inhibitor of cyclooxygenase-2, in experimental periodontitis in rats. *J Periodontal Res*. 2005; 40(3): 208-211.

204. Sakakura CE, Neto RS, Bellucci M, Wenzel A, Scaf G, Marcantonio E, Jr. Influence of homeopathic treatment with comfrey on bone density around titanium implants: a digital subtraction radiography study in rats. *Clin Oral Implants Res.* 2008; 19(6): 624-628.
205. Grauballe MC, Bentzen BH, Bjornsson M, Moe D, Jonassen TE, Bendtzen K, Stoltze K, Holmstrup P. The effect of spironolactone on experimental periodontitis in rats. *J Periodontal Res.* 2005; 40(3): 212-217.
206. Tanomaru JM, Leonardo MR, Silva LA, Poliseli-Neto A, Tanomaru-Filho M. Histopathological evaluation of different methods of experimental induction of periapical periodontitis. *Braz Dent J.* 2008; 19(3): 238-244.
207. Tanomaru-Filho M, Tanomaru JM, Leonardo MR, da Silva LA. Periapical repair after root canal filling with different root canal sealers. *Braz Dent J.* 2009; 20(5): 389-395.
208. Singh N, Chander Narula S, Kumar Sharma R, Tewari S, Kumar Sehgal P. Vitamin E supplementation, superoxide dismutase status, and outcome of scaling and root planing in patients with chronic periodontitis: a randomized clinical trial. *J Periodontol.* 2014; 85(2): 242-249.
209. Buduneli N, Kardesler L, Isik H, Willis CS, 3rd, Hawkins SI, Kinane DF, Scott DA. Effects of smoking and gingival inflammation on salivary antioxidant capacity. *J Clin Periodontol.* 2006; 33(3): 159-164.
210. Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet.* 1994; 344(8924): 721-724.
211. Trombelli L, Heitz-Mayfield LJ, Needleman I, Moles D, Scabbia A. A systematic review of graft materials and biological agents for periodontal intraosseous defects. *J Clin Periodontol.* 2002; 29 (Suppl 3)117-135; discussion 160-112.
212. 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): 304-309.
213. Lindy O, Suomalainen K, Makela M, Lindy S. Statin use is associated with fewer periodontal lesions: A retrospective study. *BMC Oral health* 2008; 8(16).
214. Suresh S, Narayana S, Jayakumar P, Sudhakar U, Pramod V. Evaluation of anti-inflammatory effect of statins in chronic periodontitis. *Indian J Pharmacol.* 2013; 45(4): 391-394.
215. Fentoglu O, Koroglu BK, Kara Y, Dogan B, Yilmaz G, Sutcu R, Ay ZY, Tonguc MO, Orhan H, Tamer MN, Kirzioglu FY. Serum lipoprotein-associated phospholipase A(2) and C-reactive protein levels in association with periodontal disease and hyperlipidemia. *J Periodontol.* 2011; 82(3): 350-359.
216. Hatzigeorgiou C, Jackson JL. Hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitors and osteoporosis: a meta-analysis. *Osteoporosis Int.* 2005; 16(8): 990-998.
217. 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.
218. Nassar CA, Battistetti GD, Nahsan FP, Olegario J, Marconato J, Marin CF, Faccioni DM, da Costa KF, Kottwitz LB, Nassar PO. Evaluation of the effect of simvastatin on the progression of alveolar bone loss in experimental periodontitis--an animal study. *J Int Acad Periodontol.* 2014; 16(1): 2-7.

219. Klausen B. Microbiological and immunological aspects of experimental periodontal disease in rats: a review article. *J Periodontol.* 1991; 62(1): 59-73.
220. Nassar CA, Nassar PO, Andia DC, Guimaraes 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.
221. Graves DT, Kang J, Andriankaja O, Wada K, Rossa C, Jr. Animal models to study host-bacteria interactions involved in periodontitis. *Front Oral Biol.* 2012; 15: 117-132.
222. Oz HS, Puleo DA. Animal models for periodontal disease. *J Biomed Biotechnol.* 2011; 2011: 754857.
223. Araujo AA, Souza TO, Moura LM, Brito GA, Aragao KS, Araujo LS, Medeiros CA, Alves MS, Araujo RF, Jr. Effect of telmisartan on levels of IL-1, TNF-alpha, down-regulated COX-2, MMP-2, MMP-9 and RANKL/RANK in an experimental periodontitis model. *J Clin Periodontol.* 2013; 40(12): 1104-1111.
224. Ekuni D, Tomofuji T, Irie K, Kasuyama K, Umakoshi M, Azuma T, Tamaki N, Sanbe T, Endo Y, Yamamoto T, Nishida T, Morita M. Effects of periodontitis on aortic insulin resistance in an obese rat model. *Lab Invest.* 2010; 90(3): 348-359.
225. Nowotny A, Sanavi F. Induction of nonspecific tolerance to endotoxins reduces the alveolar bone resorption in ligature-treated rats. *Infect Immun.* 1983; 39(2): 873-878.
226. Bezerra MM, Brito GA, Ribeiro RA, Rocha FA. Low-dose doxycycline prevents inflammatory bone resorption in rats. *Braz J Med Biol Res.* 2002; 35(5): 613-616.
227. Bezerra MM, de Lima V, Alencar VB, Vieira IB, Brito GA, Ribeiro RA, Rocha FA. Selective cyclooxygenase-2 inhibition prevents alveolar bone loss in experimental periodontitis in rats. *J Periodontol.* 2000; 71(6): 1009-1014.
228. Lohinai Z, Benedek P, Feher E, Gyorfi A, Rosivall L, Fazekas A, Salzman AL, Szabo C. Protective effects of mercaptoethylguanidine, a selective inhibitor of inducible nitric oxide synthase, in ligature-induced periodontitis in the rat. *Br J Clin Pharmacol.* 1998; 123(3): 353-360.
229. Xie R, Kuijpers-Jagtman AM, Maltha JC. Inflammatory responses in two commonly used rat models for experimental tooth movement: comparison with ligature-induced periodontitis. *Arch Oral Biol.* 2011; 56(2): 159-167.
230. Nociti FH, Jr., Nogueira-Filho GR, Tramontina VA, Machado MA, Barros SP, Sallum EA, Sallum AW. Histometric evaluation of the effect of nicotine administration on periodontal breakdown: an in vivo study. *J Periodontal Res.* 2001; 36(6): 361-366.
231. Weiner GS, DeMarco TJ, Bissada NF. Long term effect of systemic tetracycline administration on the severity of induced periodontitis in the rat. *J Periodontol.* 1979; 50(12): 619-623.
232. Rovin S, Costich ER, Gordon HA. The influence of bacteria and irritation in the initiation of periodontal disease in germfree and conventional rats. *J Periodontal Res.* 1966; 1(3): 193-204.
233. Kuhr A, Popa-Wagner A, Schmoll H, Schwahn C, Kocher T. Observations on experimental marginal periodontitis in rats. *J Periodontal Res.* 2004; 39(2): 101-106.
234. Nicholls SJ, Brandrup-Wogensen 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.

235. Thongtang N, Ai M, Otokozawa S, Himbergen TV, Asztalos BF, Nakajima K, Stein E, Jones PH, Schaefer EJ. Effects of maximal atorvastatin and rosuvastatin treatment on markers of glucose homeostasis and inflammation. *Am J Cardiol.* 2011; 107(3): 387-392.
236. Hu M, Tomlinson B. Current Perspectives on rosuvastatin. *Integr Blood Press Control.* 2013; 6: 15-25.
237. Shirin H, Sharvit E, Aeed H, Gavish D, Bruck R. Atorvastatin and rosuvastatin do not prevent thioacetamide induced liver cirrhosis in rats. *World J Gastroenterol.* 2013; 19(2): 241-248.
238. Nigam GK, Ansari MN, Bhandari U. Effect of rosuvastatin on methionine-induced hyperhomocysteinaemia and haematological changes in rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2008; 103(3): 287-292.
239. John S, Delles C, Jacobi J, Schlaich MP, Schneider M, Schmitz G, Schmieder RE. Rapid improvement of nitric oxide bioavailability after lipid-lowering therapy with cerivastatin within two weeks. *J Am Coll Cardiol.* 2001; 37(5): 1351-1358.
240. Kilic E, Kilic U, Matter CM, Luscher TF, Bassetti CL, Hermann DM. Aggravation of focal cerebral ischemia by tissue plasminogen activator is reversed by 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitor but does not depend on endothelial NO synthase. *Stroke.* 2005; 36(2): 332-336.
241. Mundy GR. Statins and their potential for osteoporosis. *Bone.* 2001; 29(6): 495-497.
242. 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. *Osteoporosis Int.* 2006; 17(7): 1033-1042.
243. Nyan M, Sato D, Oda M, Machida T, Kobayashi H, Nakamura T, Kasugai S. Bone formation with the combination of simvastatin and calcium sulfate in critical-sized rat calvarial defect. *J Pharmacol Sci.* 2007; 104(4): 384-386.
244. 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.
245. Oxlund H, Andreassen TT. Simvastatin treatment partially prevents ovariectomy-induced bone loss while increasing cortical bone formation. *Bone.* 2004; 34(4): 609-618.
246. Vaziri H, Naserhojjati-Roodsari R, Tahsili-Fahadan N, Khojasteh A, Mashhadi-Abbas F, Eslami B, Dehpour AR. Effect of simvastatin administration on periodontitis-associated bone loss in ovariectomized rats. *J Periodontol.* 2007; 78(8): 1561-1567.
247. Yue J, Zhang X, Dong B, Yang M. Statins and bone health in postmenopausal women: a systematic review of randomized controlled trials. *Menopause.* 2010; 17(5): 1071-1079.
248. Chan KA, Andrade SE, Boles M, Buist DS, Chase GA, Donahue JG, Goodman MJ, Gurwitz JH, LaCroix AZ, Platt R. Inhibitors of hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase and risk of fracture among older women. *Lancet.* 2000; 355(9222): 2185-2188.
249. Monjo M, Rubert M, Wohlfahrt JC, Ronold HJ, Ellingsen JE, Lyngstadaas SP. In vivo performance of absorbable collagen sponges with rosuvastatin in critical-size cortical bone defects. *Acta Biomater.* 2010; 6(4): 1405-1412.

250. Ajith TA, Riji T, Anu V. In vitro anti-oxidant and DNA protective effects of the novel 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitor rosuvastatin. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2008; 35(5-6): 625-629.
251. Sicard P, Delemasure S, Korandji C, Segueira-Le Grand A, Lauzier B, Guiland JC, Duvillard L, Zeller M, Cottin Y, Vergely C, Rochette L. Anti-hypertensive effects of Rosuvastatin are associated with decreased inflammation and oxidative stress markers in hypertensive rats. *Free Radic Res*. 2008; 42(3): 226-236.
252. Otto A, Fontaine D, Fontaine J, Berkenboom G. Rosuvastatin treatment protects against nitrate-induced oxidative stress. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2005; 46(2): 177-184.
253. van't Hof RJ, Ralston SH. Nitric oxide and bone. *Immunology*. 2001; 103(3): 255-261.
254. Schaffer MR, Tantry U, Efron PA, Ahrendt GM, Thornton FJ, Barbul A. Diabetes-impaired healing and reduced wound nitric oxide synthesis: a possible pathophysiologic correlation. *Surgery*. 1997; 121(5): 513-519.
255. Hirose M, Ishihara K, Saito A, Nakagawa T, Yamada S, Okuda K. Expression of cytokines and inducible nitric oxide synthase in inflamed gingival tissue. *J Periodontol*. 2001; 72(5): 590-597.
256. Allaker RP, Silva Mendez LS, Hardie JM, Benjamin N. Antimicrobial effect of acidified nitrite on periodontal bacteria. *Oral Microbiol Immunol*. 2001; 16(4): 253-256.
257. Yin H, Shi ZG, Yu YS, Hu J, Wang R, Luan ZP, Guo DH. Protection against osteoporosis by statins is linked to a reduction of oxidative stress and restoration of nitric oxide formation in aged and ovariectomized rats. *Eur J Pharmacol*. 2012; 674(2-3): 200-206.
258. Laufs U, Gertz K, Dirnagl U, Bohm M, Nickenig G, Endres M. Rosuvastatin, a new HMG-KoA reductase inhibitor, upregulates endothelial nitric oxide synthase and protects from ischemic stroke in mice. *Brain Res*. 2002; 942(1-2): 23-30.
259. Wei PF, Ho KY, Ho YP, Wu YM, Yang YH, Tsai CC. The investigation of glutathione peroxidase, lactoferrin, myeloperoxidase and interleukin-1beta in gingival crevicular fluid: implications for oxidative stress in human periodontal diseases. *J Periodontal Res*. 2004; 39(5): 287-293.
260. Akalin FA, Isiksal E, Baltacioglu E, Renda N, Karabulut E. Superoxide dismutase activity in gingiva in type-2 diabetes mellitus patients with chronic periodontitis. *Arch Oral Biol*. 2008; 53(1): 44-52.
261. Broncel M, Koter-Michalak M, Chojnowska-Jezierska J. The effect of statins on lipids peroxidation and activities of antioxidants enzymes in patients with dyslipidemia. *Przegląd lekarski*. 2006; 63(9): 738-742.
262. Kumar VL, Guruprasad B, Wahane VD. Atorvastatin exhibits anti-inflammatory and anti-oxidant properties in adjuvant-induced monoarthritis. *Inflammopharmacology* 2010; 18(6): 303-308.
263. Kalkan Y, Kapakin KA, Kara A, Atabay T, Karadeniz A, Simsek N, Karakus E, Can I, Yildirim S, Ozkanlar S, Sengul E. Protective effect of Panax ginseng against serum biochemical changes and apoptosis in kidney of rats treated with gentamicin sulphate. *J Mol Histol*. 2012; 43(5): 603-613.
264. Karadeniz A, Simsek N, Karakus E, Yildirim S, Kara A, Can I, Kisa F, Emre H, Turkeli M. Royal jelly modulates oxidative stress and apoptosis in liver and kidneys of rats treated with cisplatin. *Oxid Med Cell Long*. 2011; 2011: 981793.

265. Ansari JA, Bhandari U, Haque SE, Pillai KK. Enhancement of antioxidant defense mechanism by pitavastatin and rosuvastatin on obesity-induced oxidative stress in Wistar rats. *Toxicol Mech Methods*. 2012; 22(1): 67-73.
266. Schupp N, Schmid U, Heidland A, Stopper H. Rosuvastatin protects against oxidative stress and DNA damage in vitro via upregulation of glutathione synthesis. *Atherosclerosis*. 2008; 199(2): 278-287.
267. Ablij H, Meinders A. C-reactive protein: history and revival. *Eur J Int. Med*. 2002; 13(7): 412.
268. Buhlin K, Gustafsson A, Pockley AG, Frostegard J, Klinge B. Risk factors for cardiovascular disease in patients with periodontitis. *Eur Heart J*. 2003; 24(23): 2099-2107.
269. Bizzarro S, van der Velden U, ten Heggeler JM, Leivadaros E, Hoek FJ, Gerdes VE, Bakker SJ, Gans RO, Ten Cate H, Loos BG. Periodontitis is characterized by elevated PAI-1 activity. *J Clin Periodontol*. 2007; 34(7): 574-580.
270. Zhou SY, Duan XQ, Hu R, Ouyang XY. Effect of non-surgical periodontal therapy on serum levels of TNF-a, IL-6 and C-reactive protein in periodontitis subjects with stable coronary heart disease. *Chin J Dent Res*. 2013; 16(2): 145-151.
271. Buduneli E, Buduneli N, Vardar-Sengul S, Kardesler L, Atilla G, Lappin D, Kinane DF. Systemic low-dose doxycycline and alendronate administration and serum interleukin-1beta, osteocalcin, and C-reactive protein levels in rats. *J Periodontol*. 2005; 76(11): 1927-1933.
272. Yamazaki K, Honda T, Oda T, Ueki-Maruyama K, Nakajima T, Yoshie H, Seymour GJ. Effect of periodontal treatment on the C-reactive protein and proinflammatory cytokine levels in Japanese periodontitis patients. *J Periodontal Res*. 2005; 40(1): 53-58.
273. Ushida Y, Koshy G, Kawashima Y, Kiji M, Umeda M, Nitta H, Nagasawa T, Ishikawa I, Izumi Y. Changes in serum interleukin-6, C-reactive protein and thrombomodulin levels under periodontal ultrasonic debridement. *J Clin Periodontol*. 2008; 35(11): 969-975.
274. Ide M, McPartlin D, Coward PY, Crook M, Lumb P, Wilson RF. Effect of treatment of chronic periodontitis on levels of serum markers of acute-phase inflammatory and vascular responses. *J Clin Periodontol*. 2003; 30(4): 334-340.
- 275.** Ide M, Jagdev D, Coward PY, Crook M, Barclay GR, Wilson RF. The short-term effects of treatment of chronic periodontitis on circulating levels of endotoxin, C-reactive protein, tumor necrosis factor-alpha, and interleukin-6. *J Periodontol*. 2004; 75(3): 420-428.

EKLER

Etik Kurul İzni



T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı

SAYI : B.08.6.YÖK.2.SD.0.05.0.07.00 - 299
KONU: Etik Kurul Kararı

08/01/2013

SAYIN
Prof. Dr. F. Yeşim KIRZIOĞLU
(SDÜ Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji A.D.)

“Deneyisel Periodontitis Modelinde Statinin Oksidatif Stres Parametrelerine Etkisi”
konulu projeniz Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından **08 OCAK 2013** tarih ve **01** sayılı kararı ile uygun bulunmuştur. Kararın bir örneği ekte sunulmuştur. Bilgilerinize rica ederim.

Doç. Dr. Efkan UZ
SDÜ-HADYEK Başkanı

BEYAN

“Rosuvastatinin Deneysel Periodontitis Modelinde Oksidatif Stres ve Enflamatuvar Parametrelere Etkisinin Değerlendirilmesi“ adlı doktora tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi ‘ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan

Memduha TÖZÜM BULUT

Danışman

Prof. Dr. F. Yeşim KIRZIOĞLU

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Memduha	Soyadı: Tözüm Bulut
Doğum Yeri	Isparta	Doğum Tarihi: 02.02.1985
Uyruğu	T.C.	Tel: 05052560326
E-mail	memduha_tozum@hotmail.com	

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurum	Mezuniyet Yılı
Doktora	Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji	2009-Devam Ediyor
Ön Lisans	Anadolu Üniversitesi Açıköğretim Fakültesi Sağlık Kurumları İşletmeciliği	2014-Devam Ediyor
Lisans	Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2003-2008 (Dönem Birincisi)
Lise	Isparta Anadolu Lisesi	2000-2003

Yabancı Dilleri	ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	76,25	