



HİPERKOLESTEROLEMİ VE ANTİKOAGÜLAN İLAÇ KULLANIMININ FARKLI YÜZEY ÖZELLİKLERİNE SAHİP TİTANYUM YÜZEYLERİN İSLANABİLİRLİĞİNE ETKİSİ: HAYVAN DENEYİ

EFFECT of HYPERCHOLESTEROLEMIA and ANTICOAGULANT DRUG USE on the WETTABILITY of TITANIUM SURFACES with DIFFERENT SURFACE PROPERTIES: ANIMAL EXPERIMENT

Deniz Çağlar¹, Onur Güven², Erhan Fıratlı³

¹ Doktor, İstanbul Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Periodontoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

² Doktor Öğretim Üyesi, Adana Alparslan Türkeş Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Maden Mühendisliği Bölümü, Maden ve Cevher Hazırlama Mühendisliği Programı, Adana, Türkiye

³ Profesör Doktor, İstanbul Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Periodontoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

ÖZET

Kanın implant yüzeyini ıslatabilmesi, kanın ve titanyumun yüzey özelliklerine bağlıdır. Statin ve antikoagülan ilaç kullanımı ve kandaki lipid seviyesi kanın viskozitesine etki edebilmektedir. Bu durum ıslanabilirliği negatif yönde etkileyebilir. Bu çalışmanın amacı varfarin ve statinin farklı yüzey özelliklerine sahip titanyum disklerin ıslanabilirliğine olan etkisinin incelenmesidir. 9 adet Yeni Zelanda tavşanı Sağlıklı dönem, Hiperkolesterolemik dönem, Statin kullanımı dönemi ve Antikoagülan kullanımı dönemine sokulmuştur. Her dönem sonunda deney hayvanlarından kan alınıp makine yüzeyli, RBM (Resorbable blast media) ve SLA (Sand blasted – large grit – acid etched) yüzeyli titanyum disklerin üzerine damlatılmıştır. Titanyum disk yüzeyi ve kan damlası arasındaki temas açısı ölçülüp gruplar arasında karşılaştırılmıştır. Hiperkolesterolemik dönemde SLA grubunun temas açısı ortalaması ($92.69^\circ \pm 9.50^\circ$); Makine ($118.41^\circ \pm 9.14^\circ$) ve RBM ($110.00^\circ \pm 6.18^\circ$) grubuna göre daha düşüktür ($p < 0.001$). Statin döneminde SLA grubunun temas açısı ortalaması ($82.59^\circ \pm 7.84^\circ$); Makine ($99.35^\circ \pm 9.78^\circ$) ve RBM ($97.85^\circ \pm 11.24^\circ$) grubuna göre daha düşüktür ($p < 0.001$). Antikoagülan dönemde SLA grubu temas açısı ortalaması ($81.84^\circ \pm 14.18^\circ$); RBM ($106.38^\circ \pm 5.65^\circ$) ve Makine ($108.35^\circ \pm 13.43^\circ$) grubuna göre düşüktür ($p < 0.001$). Dönem bazında bakıldığında Makine yüzeyli grubunun Sağlıklı ($90.91^\circ \pm 14.18^\circ$) ve

Statin dönemindeki ($99.35^\circ \pm 9.78^\circ$) temas açısı ortalaması Hiperkolesterolemik dönemden ($118.41^\circ \pm 9.14^\circ$) daha düşüktür ($p < 0.05$). SLA yüzeyli titanyum diskler her dönemde RBM ve Makine yüzeylilere göre anlamlı düzeyde daha hidrofildir. En yüksek temas açısı ortalamaları Hiperkolesterolemik dönemde görülmüştür, statin kullananlarda temas açısı ortalamaları düşmüştür. Statin tedavisi gören hiperkolesterolemi hastalarında SLA yüzeyli implant kullanılması ıslanabilirliği yüksek olduğundan, osseointegrasyon şansını artıracaktır. Bu çalışmanın farklı yüzey özellikli titanyum diskler kullanılarak yapılması hiperkolesterolemik hastalarda en uygun yüzey özelliğinin bulunmasına yardımcı olacaktır.

Anahtar Kelimeler: İmplant, Temas açısı, Kolesterol, Statin, Antikoagülan, İslanabilirlik

ABSTRACT

The ability of blood to wet the implant surface depends on the surface properties of blood and titanium. Statin and anticoagulant drug use and lipid levels in the blood can affect blood viscosity. This may negatively affect wettability. The aim of this study is to examine the effect of warfarin and statin on the wettability of titanium discs with different surface properties. 9 New Zealand rabbits were introduced into the healthy period, hypercholesterolemic period, statin use period and anticoagulant use period. At the end of each

period, blood was taken from the animals and dropped onto machine-surfaced, RBM (Resorbable blast media) and SLA (Sand blasted – large grit – acid etched) surfaced titanium discs. The contact angle between the titanium disc surface and the blood drop was measured and compared between groups. In the end of the hypercholesterolemic period, the mean contact angle of the SLA group ($92.69^\circ \pm 9.50^\circ$) is lower than the Machine ($118.41^\circ \pm 9.14^\circ$) and RBM ($110.00^\circ \pm 6.18^\circ$) groups ($p < 0.001$). In the end of the statin period, the mean contact angle of the SLA group ($82.59^\circ \pm 7.84^\circ$) is lower than the Machine ($99.35^\circ \pm 9.78^\circ$) and RBM ($97.85^\circ \pm 11.24^\circ$) groups ($p < 0.001$). In the end the anticoagulant period, the mean contact angle of the SLA group ($81.84^\circ \pm 14.18^\circ$) is lower than that of the RBM ($106.38^\circ \pm 5.65^\circ$) and Machine ($108.35^\circ \pm 13.43^\circ$) groups ($p < 0.001$). On the period basis, the average contact angle of the machine surface group in the healthy ($90.91^\circ \pm 14.18^\circ$) and statin period ($99.35^\circ \pm 9.78^\circ$) is lower than the hypercholesterolemic period ($118.41^\circ \pm 9.14^\circ$) ($p < 0.05$). Titanium discs with SLA surfaces are significantly more hydrophilic than those with RBM and Machine surfaces in all periods. The highest contact angle averages were seen in the hypercholesterolemic period, and contact angle averages decreased in statin users. The use of SLA surface implants in hypercholesterolemia patients receiving statin therapy will increase the chance of osseointegration, as it has high wettability. Conducting this study using titanium discs with different surface properties will help finding the most suitable surface feature for hypercholesterolemic patients.

Keywords: Implant, Contact angle, Cholesterol, Statin, Anticoagulant, Wettability

GİRİŞ

İmplant kemiğe yerleştirildiğinde, kemik–implant devamlılığının sağlanması araya fibröz veya yumuşak doku girmeksizin kemik apozisyonu ile gerçekleşir. Bu olaylar dizisi osseointegrasyon olarak tanımlanır (Krause et al., 2000). Osseointegrasyonun başarıyla gerçekleşmesinde; hastanın sistemik durumu, kemiğin niteliği, implant materyalinin biyouyumu, implantın biçimi, implantın yüzey özellikleri, implantın genişliği ve uzunluğu ve operatif teknik gibi etmenler etkilidir (Albrektsson & Wennerberg, 2005).

Kan biyomateryal gibi bir yabancı cisimle temas ettiğinde klinik olarak ilk gerçekleşen olay hemostazın etkin hale gelmesidir (Spijker et al., 2003). Hemostazın ilk adımı ise kan proteinlerinin yüzeye tutunması ve sonrasında trombositlerin aktif hale gelmesidir (Smith et al., 2015). Osseointegrasyonun gerçekleşebilmesi için de iyileşmenin ilk aşaması olan hemostazın gerçekleşmesi gerekir. Ancak kan proteinlerinin yüzeye nasıl tutunduğu tam olarak aydınlatılmamış olmasına rağmen nanopografide modifikasyonların yapılmasının hidrofilikliğini artırdığı bilinmektedir (Kopf et al., 2015). Hidrofilikliğin artması osseointegrasyonun başarısını artıracak daha erken gerçekleşmesini sağlayabilecek ve erken osseointegrasyon olan implantlara daha erken yüklemeye yapılabilmesini sağlayacaktır (Albrektsson & Wennerberg, 2019).

Titanyum yüzeylere uygulanan fiziksel ve kimyasal modifikasyonlar yüzey enerjisini artırarak ve sıvıyla oluşan temas açısını düşürürler. Bu durum ıslanabilirliğin artmasını ve proteinlerin afinitesini sağlayarak osseointegrasyon sürecini olumlu yönde etkiler (Albrektsson & Wennerberg, 2004). Makine yüzeyli implantlar ilk jenerasyon olarak kullanılan implantlardır. Makrotopografisi düz olsa da elektron mikroskobu altında oluklar görülmüştür. Kalsiyum fosfat ile kumlanma yapılmış titanyum implantlar RBM ismini almıştır. Makine yüzeylerin alümina tanecikleriyle kumlanması ile SLA yüzeyli titanyum elde edilir (Velasco-Ortega et al., 2021). SLA yüzeyli implantların mikrotopografisinin ıslanabilirliği yükseltip protein tutunmasını artırarak osseointegrasyonu olumlu yönde etkilediği belirtilmektedir (Mei et al., 2018; Rupp et al., 2018).

Kullanılan ilaçların dışında yüksek orandaki kolesterol kemik dokusunda değişimlere sebep olmaktadır. Hiperlipidemik sıçanlarda osteoklast sayısında artma, osteoblastik aktivitede inhibisyon ve düşük kemik remodelingi görülmüştür (Krieger, 1998). Osseointegrasyonu bozan birçok etmen arasında, hiperkolesterolemi göz ardı edilmiş bir risk faktörü olarak görülmektedir (Choukroun et al., 2014).

Viskozite sıvının akmaya karşı gösterdiği direnç olarak tanımlanır. Viskozitesi yüksek olan sıvı, bir yüzeye damlatıldığında daha az dağılır ve yüzeye oluşturduğu temas açısı daha yüksek olur. Hidrofobik davranış gösterir. Kanda yüksek oranda kolesterol bulunmasının viskoziteyi artırdığı gösterilmiştir (Ho, 2004; Tomaiuolo,

2014). Buradan yola çıkarak hiperkolesteroleminin implant yüzeyinde hidrofobiklik yarattığı düşünülebilir. Statin grubu ilaçlar da kandaki LDL (düşük dansiteli lipoprotein) düzeyini düşürdüğünden ve varfarinin kan viskozitesini azalttığı yorumunda bulunulabilir.

Buradan yola çıkarak bu çalışmada; kanın, hiperkolesterolemi statin ile tedavi edilmeden önce ve tedavi edildikten sonraki ıslatma davranışlarıyla, varfarin kullanımı öncesi ve sonrasındaki davranışlarının farklı yüzey özelliklerine sahip titanyum disklerde farklı olacağı hipotezi kuruldu. Buradan hareketle kan damlası damlatılan üç farklı titanyum yüzeyde (Makine, RBM ve SLA) oluşan temas açıları irdelenmiştir.

MATERYAL METOT

Deney hayvanları ABDEHAM (Aykut Bolu Deney Hayvanları Merkezi)'dan temin edildi. Deney hayvanları üzerindeki işlemler İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Laboratuvar Hayvanları Anabilim Dalı Laboratuvarları'nda yapıldı. Deney hayvanlarından alınan kanın titanyum disklerle yaptığı açığı Adana Alparslan Türkeş Bilim ve Teknoloji Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Maden Mühendisliği Bölümü'nde ölçüldü.

Deney Hayvanları

3 – 4 kg ağırlığındaki 8 – 10 aylık 9 adet Yeni Zelanda tavşanı ABDEHAM'dan temin edildi. Her bir deney hayvanı ayrı metal kafeste olmak üzere 25 – 30 °C sıcaklıktaki ve %45 – 50 bağıl nemli, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık ortamda barındırıldı.

Deneyin Dönemleri

Bu çalışmada 9 adet deney hayvanı Sağlıklı, Hiperkolesterolemik, Statin kullanımı ve Antikoagülan kullanımı olmak üzere dört dönemden geçirilmiştir. Sağlıklı dönemde deney hayvanlarına 2 hafta boyunca müdahale edilmedi. Ortama alışmaları beklendi. Hiperkolesterolemik dönemde deney hayvanları 5 hafta boyunca kolesterolden zengin diyetle beslendi. Statin kullanımı döneminde deney hayvanları 5 hafta boyunca statin ile tedavi edildi. Antikoagülan kullanımı döneminde deney hayvanlarına 5 gün boyunca varfarin sodyum verildi.

Disk yüzeyleri

Bu çalışmada üç farklı yüzey özelliği olan, 5 mm çapında 1 mm yüksekliğinde titanyum diskler kullanıldı: Makine, RBM ve SLA yüzeyli titanyum. Üç yüzey özellikli implant materyali de ticari olarak kullanılmaktadır. Her dönemde, her bir tavşana 3'er tane disk olmak üzere, bir dönemde 9 tavşan için 27 disk, 4 dönemde toplam 108 adet titanyum disk kullanıldı. Her disk tek sefer kullanıldı.

Deney prosedürü

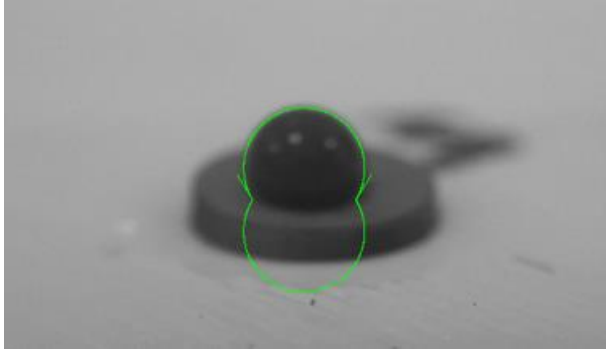
Deney hayvanları, ortama alışmaları için 2 hafta süreyle normal diyetle (%40 – 50 karbohidrat, %15 – 25 lif, %15 protein ve %2 sebze yağı) beslendi. Belirtilen süre sonunda tüm deney hayvanları tartılıp ağırlıkları kaydedildi. Deney hayvanlarının kulaklarında bulunan marjinal ven etil alkollü pamukla dezenfekte edildi (Şekil 1). Deney hayvanlarından damlatma yoluyla alınan kan heparinli tüplere transfer edildi.



ŞEKİL 1: Tavşan kulak marjinal veninden kan alınması

Kan içeren tüpler Adana Alparslan Türkeş Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Maden Mühendisliği Bölümü'ne götürüldü. Tüplerdeki kan, titanyum disklerin üzerine damlatılmak üzere otomatik bir pipetle (PIPETMAN® Classic, Gilson INC, Wisconsin, USA) çekildi. Belirtilen otomatik pipet özel olarak üretilmiş aygıtla sabitlendi. Sabitlenen aygıttan 3 farklı yüzey özellikli 1 mm kalınlığa 5 mm çapa sahip steril titanyum disklerin (AGS Medikal, İstanbul, Türkiye) üzerine, 70 µL 1 cm yükseklikten durağan damla (sessile drop) yöntemiyle damlatıldı. Toplamda 108 adet titanyum disk kullanıldı, her disk bir defa kullanıldı. Her kan damlasının fotoğrafı, çözünürlüğün bozulmaması için fotoğraf makinesi sabitlenerek, aynı

mesafeden ve aynı açıyla çekildi (Nikon D3100). Fotoğraflar bilgisayara aktarılarak damlaların 2 boyutlu düzlemde sağ ve sol tarafındaki açılar ImageJ (U. S. National Institutes of Health, Bethesda) programıyla ölçülerek ortalamaları alındı ve kaydedildi (Şekil 2). Her dönemin sonunda damlatma işlemi ve ölçüm işlemi gerçekleştirildi.



ŞEKİL 2: Fotoğrafi çekilen kan damlasının bilgisayara aktarılmış hali. Bilgisayarda kan damlasının sınırları belirlenmiş olup ImageJ programıyla açı ölçümü yapıp kaydedildi.

Heparinli tüpler dışında alınıp seperatör jel içeren tüplere aktarılan kan, cihazda dakikada 4500 RPM (rotation per minute: 1 dakikadaki çevrim hızı) ile 5 dakika boyunca santrifüj edildi. Santrifüj sonrası ayrılan serum Eppendorf tüplere nakledildi. Her deney hayvanı için ayrı kan tüpü ve Eppendorf tüp tahsis edildi ve numaralandırıldı. Eppendorf tüpler Düzen Laboratuvarı'na (İstanbul, Türkiye) nakledildi. Burada serum total kolesterol değerleri ölçüldü. Değerler mg/dL türünden kaydedildi.

Sağlıklı dönem ardından deney hayvanları Hiperkolesterolemik döneme geçirildi. Bu dönemde deney hayvanları 5 hafta boyunca toz kolesterolle hazırlanmış %2 yağdan zengin yemle (ARDEN Yem Ticareti, Ankara) beslendi. 5 hafta sonunda deney hayvanlarının ağırlıkları ölçülüp kaydedildi, yukarıda belirtildiği şekilde total kolesterol değerleri ölçüldü ve mg/dL cinsinden kaydedildi. Deney hayvanlarından alınan kan yine yukarıda belirtildiği şekilde titanyum disklerin üzerine damlatıldı ve kan – titanyum temas açısı ölçüldü.

Hiperkolesterolemik dönemden sonra deney hayvanları 5 hafta sürecek Statin dönemine geçirildi. Statin döneminde deney hayvanlarına yağdan zengin yem bırakılmadı, normal beslenme düzenine geri döndürüldü. Buna ek olarak diyetlerine 3,7 mg/kg/gün atorvastatin (Ator, Sanovel, Türkiye) eklendi (Das et al., 2016). Atorvastatin dozu her deney hayvanının ağırlığı

ölçülerek hesaplandı ve solüsyon olarak her gün gavaj yoluyla verildi. 5 hafta sonunda deney hayvanlarının ağırlıkları ölçülüp kaydedildi. Diğer dönemlerde olduğu gibi total kolesterol değerleri ölçüldü ve mg/dL cinsinden kaydedildi. Deney hayvanlarından alınan kan yine aynı şekilde titanyum disklerin üzerine damlatıldı ve kan – titanyum temas açısı ölçüldü. Bu dönem sonunda diğer dönemlerden farklı olarak hematokrit ölçüldü.

Statin döneminden sonra deney hayvanlarına 5 gün boyunca intravenöz varfarin sodyum uygulaması yapıldı. Varfarin sodyum her deney hayvanına 0,5 mg/kg/gün dozunda verildi (Zivelin et al., 1993). Deney hayvanlarından alınan kan yine yukarıda belirtildiği şekilde titanyum disklerin üzerine damlatıldı ve kan – titanyum temas açısı ölçüldü. Bu dönem sonunda hematokrit ölçümü yapıldı.

İstatistiksel Analiz

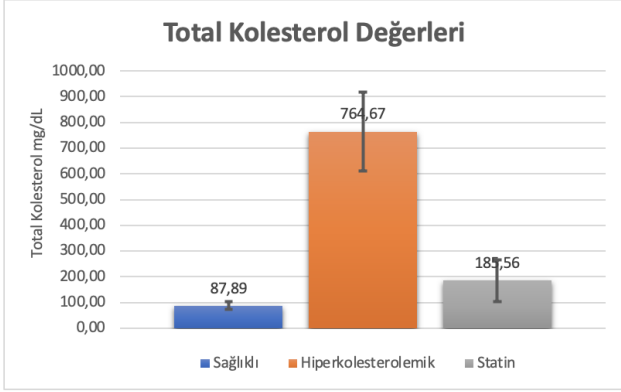
Veriler IBM SPSS V25 (Statistical Packages of Social Sciences) programı ile analiz edildi. Verilerin dağılım normalliği Shapiro – Wilk testi ile değerlendirildi. Tanımlayıcı istatistikler ortalama (standart sapma), ortanca (minimum-maksimum) olarak sunuldu. Verilerin tümü normal dağılım gösterdi. Uç değerler veri analizine dahil edilmedi. Gruplar arasında varyans homojenliğini test etmek için Levene testi yapıldı. Değerlerin gruplar arası karşılaştırılmasında varyansların homojen olduğu durumda tekrarlı ölçümler için ANOVA testi yapıldı. Birbirleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunan değerlere post-hoc test olarak Tukey testi yapıldı. Grup içi karşılaştırmada varyansların homojen olduğu durumda tekrarlı ölçümler için ANOVA testi kullanıldı. Varyansların homojen olmadığı durumda ise Friedman testi kullanıldı. Zaman içindeki değişim istatistiksel olarak anlamlı ise değişkenlere, Wilcoxon post – hoc testi uygulandı. P değerlerine Bonferroni düzeltmesi yapıldı. p < 0.05 değeri anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Deney Hayvanlarının Total Kolesterol Seviyeleri

Deney hayvanlarının total kolesterol seviyeleri Hiperkolesterolemik dönemde arttı, Statin

döneminde azaldı. Tavşanların serum total kolesterol ortalamaları Şekil 3'te görülmektedir.



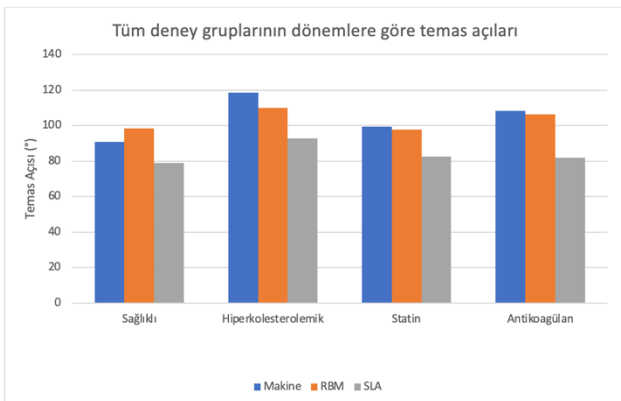
ŞEKİL 3: Deney hayvanlarının farklı dönemlerdeki total kolesterol değerleri (mg/dL). Deney hayvanlarının farklı dönemlerde ölçülen total kolesterol değerleri tabloda görülmektedir. Yeni Zelanda tavşanlarında total kolesterol ortalaması Sağlıklı dönemde 87.89 ± 14.49 , Hiperkolesterolemik dönemde 764.67 ± 152.49 ve Statin döneminde 185.56 ± 80.76 oldu.

TABLO 1: Antikoagülan dönemi öncesi ve sonrasında deney hayvanlarının hematokrit değerleri ortalama ve standart sapmaları(L/L). Deney hayvanlarının hematokrit değerleri antikoagülan kullandıktan sonra düştü.

	Antikoagülan öncesi	Antikoagülan sonrası
Ort±Std. Sp.	0.42 ± 0.09	0.31 ± 0.04

Temas Açısı Ölçümlerinin Dönemlere Göre Karşılaştırılması

Tüm grupların temas açıları ortalamalarının dönemlere göre değişimleri Şekil 4'te gösterilmiştir.



ŞEKİL 4: Tüm deney gruplarının dönemlere göre temas açıları ($^{\circ}$). Tüm deney gruplarının temas açıları. Makine, RBM ve SLA grubunun temas açıları arasında döneme göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık görülmedi. Ancak Makine grubunun temas açısı p değerine yakın olduğundan ikili karşılaştırmalar yapıldı ($p < 0.05$). İkili karşılaştırmalar Tablo 4'te gösterildi. Aşağıdaki paragrafta ortalama ve standart sapma değerleri verildi.

Makine grubunun temas açısı ortalaması, Sağlıklı dönemde $90.91^{\circ} \pm 28.05^{\circ}$, Hiperkolesterolemik dönemde $118.41^{\circ} \pm 9.14^{\circ}$, Statin döneminde $99.35^{\circ} \pm 9.78^{\circ}$ ve Antikoagülan döneminde $108.35^{\circ} \pm 13.43^{\circ}$ tür.

RBM grubunun temas açısı ortalaması Sağlıklı dönemde $98.47^{\circ} \pm 9.59^{\circ}$, Hiperkolesterolemik dönemde $110.00^{\circ} \pm 6.18^{\circ}$, Statin döneminde $97.85^{\circ} \pm 11.24^{\circ}$ ve Antikoagülan döneminde $106.38^{\circ} \pm 5.65^{\circ}$ tir.

SLA grubunun temas açısı ortalaması Sağlıklı dönemde $79.02^{\circ} \pm 18.30^{\circ}$, Hiperkolesterolemik dönemde $92.69^{\circ} \pm 9.50^{\circ}$, Statin döneminde $82.59^{\circ} \pm 7.84^{\circ}$ ve Antikoagülan döneminde $81.84^{\circ} \pm 14.18^{\circ}$ dir.

TABLO 2: Makine grubunda dönemlere göre yüzey temas açılarının karşılaştırması. Makine yüzeyde oluşan temas açısı ortalaması, Sağlıklı dönemde Hiperkolesterolemik döneme göre, Statin döneminde Hiperkolesterolemik döneme göre ve Antikoagülan dönemde Statin dönemine göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüktür. RBM ve SLA yüzeyli disklerde dönemler arasında fark görülmediğinden tablo eklenmedi.

Makine	p
Sa - Hk	0.038*
Hk - S	0.008*
S - A	0.017*
Sa - S	0.594
Sa - A	0.441

Sa: Sağlıklı dönem

Hk: Hiperkolesterolemik dönemi

S: Statin dönemi

A: Antikoagülan dönem

$p < 0.05$

Makine grubunun farklı zamanlardaki temas açıları ortalamalarına Wilcoxon testi uygulanmıştır. Tablo 4'de belirtildiği gibi Sağlıklı

(90.91° ± 28.05°) – Hiperkolesterolemik (118.41° ± 9.14°) dönem arasında ve Hiperkolesterolemik (118.41° ± 9.14°) – Statin (99.35° ± 9.78°) dönemi arasında anlamlı fark bulunmuştur (p <0.05). Statin (99.35° ± 9.78°) – Antikoagülan (108.35° ± 13.43°) dönemi arasında anlamlı fark bulunmuştur (p <0.05). Antikoagülan (108.35° ± 13.43°) döneminde Statin (99.35° ± 9.78°) dönemine göre temas açısı ortalaması daha yüksektir. Sağlıklı dönemdeki temas açısı ortalamaları Hiperkolesterolemik (118.41° ± 9.14°) döneme göre anlamlı olarak daha düşüktür (p <0.05). Statin (99.35° ± 9.78°) dönemindeki temas açısı ortalamaları Hiperkolesterolemik (118.41° ± 9.14°) döneme göre anlamlı olarak daha düşüktür (p < 0.05).

RBM grubunun farklı zamanlardaki temas açıları ortalamaları arasındaki ikili karşılaştırmalarda anlamlı fark bulunamamıştır. Temas açısı ortalamalarının döneme göre sıralaması şöyledir: Hiperkolesterolemik dönem > Antikoagülan dönem > Sağlıklı dönem > Statin dönemi.

SLA grubunun farklı zamanlardaki temas açıları ortalamaları arasında ikili karşılaştırmalarda anlamlı fark bulunamamıştır. Temas açısı ortalamalarının döneme göre sıralaması şöyledir: Hiperkolesterolemik dönem > Statin dönemi > Antikoagülan dönemi > Sağlıklı dönem.

Temas Açısı Ölçümlerinin Disk Yüzeyi Tipine Göre Karşılaştırılması

Sağlıklı Dönemde Gruplar Arası Karşılaştırma

Sağlıklı dönemdeki temas açılarının ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır. SLA (79.02° ± 18.30°) grubundaki temas açısı ortalaması diğer iki gruba göre daha düşük çıkmıştır. RBM (98.47° ± 9.59°) grubunun temas açısı ortalaması Makine (90.91° ± 28.05°) grubuna göre daha yüksektir.

Hiperkolesterolemik Dönemde Gruplar Arası Karşılaştırma

Hiperkolesterolemik dönemdeki grupların temas açıları arasında anlamlı fark bulunmuştur (p <0.05). Gruplar arasında ikili anlamlılığın hangileri arasında bulunduğunu saptamak için Tukey testi yapıp yorumlanmıştır. En düşük ortalama açısı SLA (92.69° ± 9.50°) grubundadır,

en yüksek ortalama açısı Makine (118.41° ± 9.14°) grubundadır.

TABLO 3: Hiperkolesterolemik, Statin döneminde ve Antikoagülan dönemde disk tipleri arasındaki istatistiksel farklar. SLA yüzeyli titanyum disklerdeki temas açısı ortalaması; Statin döneminde, Hiperkolesterolemik ve Antikoagülan dönemde Makine ve RBM yüzeydeki ortalamaya göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşüktür (*: p<0.05).

Gruplar	Hiperkolesterolemik	Statin	Antikoagülan
Makine - RBM	0.107	0.943	0.932
Makine - SLA	<0.001*	<0.001*	<0.001*
RBM - SLA	<0.001*	<0.001*	<0.001*

İkili karşılaştırmalarda, Tablo 5'te belirtildiği gibi, Makine ile RBM grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır. Makine (118.41° ± 9.14°) grubunun ıslatma açısı RBM (110.00° ± 6.18°) grubuna göre daha yüksektir. Makine ile SLA (92.69° ± 9.50°) grubu arasında ve RBM ile SLA grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (p <0.05). Makine grubunun temas açısı değerleri diğer gruplara göre daha yüksek, SLA grubu temas açısı ortalaması ise en küçüktür.

Statin Döneminde Gruplar Arası Karşılaştırma

Statin dönemindeki disk temas açıları ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır (p <0.05). İkili gruplar arasındaki anlamlı farkları belirlemek için Tukey testi yapıp yorumlanmıştır (Tablo 5).

Statin dönemindeki ikili karşılaştırmalarda Makine (99.35° ± 9.78°) ve RBM (97.85° ± 11.24°) grubu temas açıları ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır. Makine grubunun temas açısı ortalaması RBM grubuna göre daha yüksektir. Makine grubu ile SLA (82.59° ± 7.84°) grubu arasında ve RBM grubu ile SLA grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (p <0.001). En düşük temas açısı ortalaması SLA grubunda, en yüksek temas açısı ortalaması Makine grubunda bulunmaktadır.

Antikoagülan Döneminde Gruplar Arası Karşılaştırma

Antikoagülan dönemindeki temas açısı ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0.001$). Anlamlı farkın hangi gruplar arasında bulunduğunu saptamak için Tukey testi yapılmıştır (Tablo 5). 23

İkili karşılaştırmalar sonucunda Ma grubu ve RBM grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Makine grubunun ($108.35^\circ \pm 13.43^\circ$) temas açısı ortalamaları RBM grubuna ($106.38^\circ \pm 5.65^\circ$) göre daha yüksektir. Makine grubu ile SLA grubu ($81.84^\circ \pm 14.18^\circ$) arasında ve RBM grubu ile SLA grubu temas açısı ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p < 0.001$). En düşük temas açısı ortalaması SLA grubunda, en yüksek temas açısı ortalaması ise Makine grubundadır.

TARTIŞMA

Bu çalışmada, beklendiği gibi SLA yüzeylerde ölçülen temas açısı ortalamaları RBM ve makine yüzeylerle karşılaştırıldığında, tüm dönemlerde SLA yüzeyin diğer yüzeylere göre daha hidrofilik olduğu, hiperkolesteroleminin kanın hidrofobisiteye sebep olduğu, statinin hidrofilikliği artırdığı saptandı. Literatür tarandığı kadarıyla, hiperkolesterolemi tablosunda antikoagülan ve statin kullanımının titanyum disklerde temas açısına olan etkisini irdeleyen bir çalışma bulunmamakta. Bu durum çalışmanın özgün değerini ortaya koymaktadır. Bu çalışmadan farklı olarak titanyum yüzeyine uygulanan kimyasal ve fiziksel modifikasyonlar iyileşme sürecini hızlandırmaktadır (Wennerberg et al., 2013). Titanyum implantların kumlanması ve ardından asitle dağlanması biyoyumluluk ve etrafında kemik oluşumuna olumlu etkileri olduğu bildirilmektedir (Buser et al., 2004; H. Kim et al., 2008)

Kanın deney hayvanları laboratuvarından açılı ölçümü için laboratuvara taşınması için heparinli tüpler kullanılmıştır. Heparin kullanımının LDL değerlerinde düşmeye sebep olduğu literatürde gösterilmiştir (Mellwig, 2003; Wiemer et al., 2002). Bu durumun çalışmadaki temas açısı değerlerini etkileyebileceği çalışma öncesinde tahmin edildi. Ancak, beklendiği üzere, Statin dönemindeki temas açılarının tümünün Hiperkolesterolemik döneme göre düşük olduğu görüldü.

Kan, heparinli tüpün içinde sıcaklık 40°C 'den fazla olduğunda ve 8 saatten fazla süre beklediği durumda kan hücrelerinin yapısının bozulduğu literatürde belirtilmekte (Olson et al.,

2011). Bu çalışmada da kan alındıktan sonra 8 saati aşmadan temas açısı ölçümlerinin yapılması sağlandı. Türkiye şartlarında deneyin yapıldığı tarihte hava sıcaklığı 40°C 'ye ulaşmadığı takip edildi.

Normal şartlarda Yeni Zelanda tavşanlarında serum total kolesterol değerleri $30 - 90 \text{ mg/dL}$ 'dir. Bu değer yaklaşık 800 mg/dL olduğunda deney hayvanlarında hiperkolesterolemi tablosu olduğu kabul edilir (Taylor & Fan, 1997). Yeni Zelanda tavşanlarının $>2\%$ kolesterolü yem içeren yemi kullanması hiperkolesterolemi tablosu oluşturmak için önerilirse de, bu çalışmada deney hayvanlarının iştah düşüklüğü görülmesi beklendiğinden 2% kolesterolü yemle beslendi (Fan et al., 2018). Yine başka bir çalışmada kolesterolü yem oranının 2% 'yi geçmemesi gerektiği belirtilmektedir (Fan et al., 2015).

Çalışmada hiperkolesterolemi tablosundaki kişilere en uygun yüzeyli implantın hangisi olacağı sorusuna yanıt arandı. Hiperkolesterolemisi bulunan kişiler tedavi için statin grubu bir ilaç kullanırlar, buna ek olarak antikoagülan veya antiagregan ilaç kullanabilmektedirler. Statin grubu bir ilaç olan atorvastatin hemoreolojik olarak en fazla çalışılmış ilaç olup kan viskozitesini düşürdüğü birçok çalışmada kanıtlandığından ve insanlarda hiperkolesterolün tedavisinde en sık kullanılan ilaç olduğundan bu çalışmada kullanılmıştır (Akın et al., 2013; Banyai et al., 2001; Empen et al., 2003; J. B. Kim et al., 2021; Li et al., 2021). Varfarin ise üzerine hemoreolojik olarak çok fazla çalışılmış ve kan viskozitesini azalttığı kanıtlandığından dolayı bu çalışmada kullanılmıştır (Jung et al., 2023; Lee et al., 2019). Hiperkolesterolemi tedavisinde kullanılan diğer kimyasalların kan viskozitesine etkisi hakkında yeterli çalışma bulunmadığından benzer çalışmalarda etkisi öngörülememi.

Bu çalışmada Makine, RBM ve SLA yüzeyli implantlar kullanıldı. Kan viskozitesinden bağımsız olarak yüzeye yapılan kimyasal ve fiziksel modifikasyonların da titanyum yüzeyin ıslanabilirliği artırdığı literatürde belirtilmektedir (Kopf et al., 2015; Park et al., 2011; Wennerberg et al., 2013). SLA yüzeylerin de RBM ve Makine yüzeyli implantlara göre daha başarılı şekilde osseoentegre olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada da hiperkolesterolemi tablosunda ve antikoagülan kullanımında SLA yüzeyin ıslanabilirliğinin Makine veya RBM yüzeye göre yüksek olduğu ispatlanmıştır.

Literatürde heparin, varfarin ve statin arasında herhangi bir etkileşim belirtilmemiş olmasına rağmen, temas açısı ölçümü yapılan laboratuvar ve hayvanlardan kan alınan makine ve SLA yüzeyleri birbirine yakın olması olası bir etkileşim²⁴ önlenmesi adına ileride planlanacak çalışmalar için faydalı olabilir.

Çalışmada kan-disk arasındaki temas açısını ölçmek için örnekler fotoğraf makinesiyle çekildi ve temas açıları bilgisayar ortamında ölçüldü. Temas açısının ölçüldüğü çalışmalarda tipik olarak gonyometre kullanılmaktadır (Duske et al., 2012; Koca et al., 2020). Ancak son yıllarda optik yakınlaştırmanın gelişmesiyle akıllı telefonların da temas açısı ölçümünde kullanılabileceği belirtilmektedir (Chen H et al., 2018). Belirtilen çalışmada akıllı telefon ve geleneksel gonyometreyle ölçülen temas açıları karşılaştırılmış ve temas açılarının örtüştüğü görülmüştür. Bu çalışmada da akıllı telefonlardan daha gelişmiş lenslere sahip makine kullanıldı. Ancak gonyometre yerine fotoğraf makinesi kullanılması kan damlasının sınırlarını belirlemede zorluk yaratmaktadır. Bu yüzden temas açısı ölçümleri tecrübeli bir operatör tarafından yapıldı.

Kanın viskozitesinin, kanın damladığı yüzeyle oluşturduğu temas açısı üzerindeki etkisi büyüktür (Chao et al., 2015). Viskozitenin artması, kanın yüzeydeki dağılımının azalmasına, dolayısıyla da temas açısının artmasına sebep olmaktadır. Hiperkolesterolemi tablosunda kan viskozitesi HDL ve LDL düzeyine bağlı olarak artmaktadır (Destiana & Timan, 2018). Bundan ötürü çalışmada oluşturulan hiperkolesterolemi tablosunda makine, RBM ve SLA yüzeylerde ölçülen temas açıları sağlıklı döneme göre daha yüksekti. İki veri birbirini tamamlar niteliktedir.

Makine, SLA, Roxolid SLA, SLActive ve Roxolid SLActive yüzeye, hiperlipidemik tavşanlardan alınan kanın damlatıldığı çalışmada SLA yüzeyin Makine yüzeye göre daha hidrofilik olduğu saptandı (Koca et al., 2020). Bu çalışma Koca ve ark. çalışmasına benzer dizayndadır. SLA yüzeyli titanyum disklerin Makine yüzeylilere göre daha hidrofilik olması bu çalışmayla benzerdir. Bu çalışmaya benzer bir çalışmada SLA, SLActive ve Roxolid SLActive yüzey özellikli diskler üzerinde temas açısı karşılaştırılmış (Wennerberg et al., 2013). SLA yüzeyin hidrofobik, SLActive ve Roxolid SLActive yüzeyin hidrofilik olduğu bulunmuş. Bu çalışmayla benzer yöntem olsa da karşılaştırılan yüzeyler farklı olduğundan bu çalışmayla karşılaştırmak mümkün olmamıştır.

Yine benzer bir çalışmada Makine, SLA ve SLActive yüzeyli titanyum diskler Argon plazma uygulanmadan önce ve uygulandıktan sonra temas açıları grup içinde karşılaştırıldığından bu çalışmaya karşılaştırma yapmak mümkün olmadı (Duske et al., 2012). Ancak çalışmada temas açısı ortalamaları SLA yüzeyli disklerde Makine yüzeylilere göre daha düşük çıkmıştır.

İmplant osseoentegrasyonuna etki eden çok sayıda etmen bulunmaktadır. İmplantın makrogeometrisi, materyali; mekanik stabilite, varfarin, COX-2 inhibitörleri gibi ilaçlar; hastanın diyabet, osteoporoz, romatoid artrit gibi hastalıklar; ileri yaş, sigara kullanımı gibi etmenler etki eder (Mavrogenis et al., 2009). Bunların yanında implant yüzey topografisinde yapılan modifikasyonlar ıslanabilirliği artırarak protein tutunmasını artırır, osteojenik hücre göçünü stimüle eder (Coelho et al., 2015; Hanawa, 2011). İmplant alıcı bölgesine yerleştirildiğinde, implantın ilk temas ettiği doku kandır (Gittens et al., 2013). Kanın, doku içinde yabancı bir materyalle karşılaştığında ilk verdiği yanıt hemostazın tekrardan sağlanmasıdır. Bunu gerçekleştirmek için ilk olarak materyale kan proteinleri tutunur. Kan proteinlerini yüzeye düzgün bir şekilde tutunması için, kanın implant yüzeyini uygun bir şekilde ıslatması gerekir. Aksi takdirde araya fibröz doku girer, osseoentegrasyon gerçekleşmez. Bu yüzden ıslanabilirlik osseoentegrasyon için önemli bir etmenddir. Bu çalışmanın sonuçlarından yola çıkarak SLA yüzeyli implantların, Makine ve RBM yüzeye göre ıslanabilirliği yüksek çıktığından, hiperkolesterolemi tablosunda daha iyi sonuç vereceği öngörülebilir.

SLA yüzeyli implantların hidrofilik yüzeylere sahip olduğu, bu durumun osteoblast davranışına, kemik mineralizasyonuna ve erken osseoentegrasyon evresine faydalı olduğu belirtilmektedir (Buser et al., 2004). Bu çalışmada da hiperkolesterolemi, tedavisi ve antikoagülan ilaç kullanımının hidrofiliklik üzerine etkisi incelenmiş, SLA yüzeyin Makine ve RBM yüzeylere göre hastalık tablosunda da daha hidrofilik olduğu saptanmıştır. SLA yüzeyli implantlar hiperkolesterolemi tablosunda da osseoentegrasyonun başarısına yarar sağlayacaktır.

Statin grubu ilaçlar kolesterol sentezinde 3-hidroksi 3-metil glutaril koenzim A redüktaz (HMG-KoA) enzimini inhibe ederek hücre yüzeyindeki LDL reseptör sayısını artırır ve kandaki LDL düzeyini düşürür (Stancu & Sima,

2001). LDL seviyesi azaldığında kan viskozitesinin azalacağı öngörülür. Bu çalışmada da deney hayvanlarının hiperkolesterolemi tablosunu tedavi etmek için hayvanlara statin kullanıldı. Statin kullanımı sonrası tüm yüzeylerde temas açıları Hiperkolesterolemik döneme göre düştü. Ancak Sağlıklı dönemdeki temas açısı ortalamalarına ulaşamadı. Bu durum deney hayvanlarına yeterince uzun süre statin kullanılmamış olmaktan veya vücut dengesi bozulduktan sonra eski haline dönememesinden kaynaklanabilir.

Bu çalışmada sadece Makine, RBM ve SLA yüzey kullanmak mümkün olmuştur. İlerde planlanacak çalışmalarda, hiperkolesterolemi tablosunda kullanılabilir en uygun yüzeyli implant çeşidini bulabilmek için daha fazla çeşitte farklı yüzey özellikli implant kullanılmalıdır.

Varfarin kullanıldığında kanın viskozitesinin düşmesi beklenir (Lee et al., 2019). Kan viskozitesi düştüğünde hidrofiliğin artması, dolayısıyla da temas açıları azalma gözlenmelidir. Ancak bu çalışmada Antikoagülan döneminde Statin dönemine göre sadece SLA yüzeylerde azalma görüldü. Makine ve RBM yüzeylerde varfarin kullanımı sonrasında temas açıları arttı. Antikoagülan ilaç kullanımının kan viskozitesini azalttığı, dolayısıyla kanın ıslatabilirliğini artırdığı bilinmektedir (Lee et al., 2019). Ancak elde edilen bulgulara göre varfarinin kan viskozitesini azaltmasının etkisi sadece SLA yüzeylerde temas açısının azalmasıyla görüldü. Makine ve RBM yüzeyli titanyum disklerde temas açıları varfarin kullandıktan sonra arttı. İmplantın yüzeyine uygulanan modifikasyonların da yüzey enerjisini artırıp ıslanabilirliği artırdığı yorumu yapılabilir.

Bu çalışmada tedavi için statin ilacı ve antikoagülan ilaç kullanan bireylerde osseointegrasyona etki eden faktörlerden biri olan kanın yüzeyi ıslatma davranışı çalışıldı. Çalışma dizaynında deney hayvanları Hiperkolesterolemik dönemden sonra, deney hayvanları ayrı ayrı statin ve antikoagülan ilaç kullanımı dönemine sokuldu. İlerde yapılacak çalışmalarda statin ve antikoagülan ilaç kullanımının aynı anda yapılması çalışma dizaynına katkı sağlayabilir. Deney hayvanlarında hiperkolesterolemi tablosu ölümcül sonuçlar doğurabildiğinden bu çalışmada deney hayvanlarına aşırı stres yüklememek için bu yöntem tercih edilmedi.

SONUÇ

Bu çalışmanın sonuçlarına göre hiperkolesterolemi titanyum diskin yüzey özelliği farketmeksizin kanın ıslatma davranışını değiştirmektedir. Varfarinin farklı yüzeyler üzerinde çelişkili sonuçlar verdiği gözlemlendi. Kandaki total kolesterol düzeyi arttığında titanyum yüzey daha az ıslanabilir hale gelmektedir. Bu çalışmanın bulgularına göre hiperkolesterolemi hastalarında implant tercihi olarak SLA yüzeyli bir implant seçilmesi, diğer yüzeylere göre daha hidrofilik olduğundan en uygun tercih olacaktır. RBM yüzeyli implantların ıslanabilirliği daha düşük olduğundan osseointegrasyonda sorun yaşanma ihtimali bulunmaktadır.

İlerde planlanacak çalışmalarda daha fazla çeşit titanyum yüzey kullanılması, deney hayvanları laboratuvarı ve temas açısı ölçülecek yerin yakın olması hiperkolesterolemi hastalarında uygulanacak implant çeşidinin seçimi için daha ideal bir rehber oluşturulabilir.

ETİK KURUL ONAYI

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu'nun E-35980450-050.01.99-183632 numaralı onayı alındıktan sonra yürütülmüştür.

TEŞEKKÜR

Titanyum diskleri temin ettiği için AGS Medikal'e teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

Akın, F., Ayça, B., Köse, N., Şahin, I., Akin, M. N., Canbek, T. D., & Güngör, Ö. (2013). Effect of Atorvastatin on Hematologic Parameters in Patients With Hypercholesterolemia. *Angiology*, 64(8), 621–625. <https://doi.org/10.1177/0003319713479154>

Albrektsson, T., & Wennerberg, A. (2004). Oral implant surfaces: Part 2--review focusing on clinical knowledge of different surfaces. *Int J Prosthodont.*, 17(5), 544–564.

Albrektsson, T., & Wennerberg, A. (2005). The impact of oral implants-past and future, 1966-2042. *J Can Dent Assoc*, 71(5), 327.

- Albrektsson, T., & Wennerberg, A. (2019). On osseointegration in relation to implant surfaces. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*, 21, 4–7.
- Banyai, S., Banyai, M., Falger, J., Jansen, M., Alt, E., Derfler, K., & Koppensteiner, R. (2016). Atorvastatin improves blood rheology in patients with familial hypercholesterolemia (FH) on long-term LDL apheresis treatment. *Atherosclerosis*, 159(2), 513–519. [https://doi.org/10.1016/S0021-9150\(01\)00532-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9150(01)00532-9)
- Buser, D., Brogini, N., Wieland, M., Schenk, R. K., Denzer, A. J., Cochran, D. L., Hoffmann, B., Lussi, A., & Steinemann, S. G. (2004). Enhanced Bone Apposition to a Chemically Modified SLA Titanium Surface. *Journal of Dental Research*, 83(7), 529–533. <https://doi.org/10.1177/154405910408300704>
- Chao, T. C., Arjmandi-Tash, O., Das, D. B., & Starov, V. M. (2015). Spreading of blood drops over dry porous substrate: Complete wetting case. *Journal of Colloid and Interface Science*, 446, 218–225. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jcis.2015.01.054>
- Chen H, Muros-Cobos JL, & Amirfazli A. (2018). Contact angle measurement with a smartphone. *Rev Sci Instrum.*, 89(3). <https://doi.org/10.1063/1.5022370>
- Choukroun, J., Khoury, G., Khoury, F., Russe, P., Testori, T., Komiyama, Y., Sammartino, G., Palacci, P., Tunali, M., & Choukroun, E. (2014). Two Neglected Biologic Risk Factors in Bone Grafting and Implantology: High Low-Density Lipoprotein Cholesterol and Low Serum Vitamin D. *Journal of Oral Implantology*, 40(1), 110–114. <https://doi.org/10.1563/AAID-JOI-D-13-00062>
- Coelho, P. G., Jimbo, R., Tovar, N., & Bonfante, E. A. (2015). Osseointegration: hierarchical designing encompassing the micrometer, micrometer, and nanometer length scales. *Dental Materials : Official Publication of the Academy of Dental Materials*, 31(1), 37–52. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2014.10.007>
- Das, S., Datta, A., Bagchi, C., Chakraborty, S., Mitra, A., & Tripathi, S. K. (2016). A comparative study of lipid-lowering effects of guggul and atorvastatin monotherapy in comparison to their combination in high cholesterol diet-induced hyperlipidemia in rabbits. *Journal of Dietary Supplements*, 13(5), 495–504. <https://doi.org/10.3109/19390211.2015.1118654>
- Destiana, D., & Timan, I. (2018). The relationship between hypercholesterolemia as a risk factor for stroke and blood viscosity measured using Digital Microcapillary®. *Journal of Physics: Conference Series*, 1073, 42045. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1073/4/042045>
- Duske, K., Koban, I., Kindel, E., Schröder, K., Nebe, B., Holtfreter, B., Jablonowski, L., Weltmann, K. D., & Kocher, T. (2012). Atmospheric plasma enhances wettability and cell spreading on dental implant metals. *Journal of Clinical Periodontology*, 39(4), 400–407. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2012.01853.x>
- Empen, K., Geiss, H.-C., Lehrke, M., Otto, C., Schwandt, P., & Parhofer, K. G. (2003). Effect of atorvastatin on lipid parameters, LDL subtype distribution, hemorrheological parameters and adhesion molecule concentrations in patients with hypertriglyceridemia. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 13(2), 87–92. [https://doi.org/10.1016/S0939-4753\(03\)80023-6](https://doi.org/10.1016/S0939-4753(03)80023-6)
- Fan, J., Chen, Y., Yan, H., Niimi, M., Wang, Y., & Liang, J. (2018). Principles and applications of rabbit models for atherosclerosis research. In *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis* (Vol. 25, Issue 3, pp. 213–220). Japan Atherosclerosis Society. <https://doi.org/10.5551/jat.RV17018>
- Fan, J., Kitajima, S., Watanabe, T., Xu, J., Zhang, J., Liu, E., & Chen, Y. E. (2015). Rabbit models for the study of human atherosclerosis: From pathophysiological mechanisms to translational medicine. *Pharmacology & Therapeutics*, 146, 104–119. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2014.09.009>
- Gittens, R. A., Olivares-Navarrete, R., Cheng, A., Anderson, D. M., McLachlan, T., Stephan, I., Geis-Gerstorfer, J., Sandhage, K. H., Fedorov, A. G., & Rupp, F. (2013). The roles of titanium surface micro/nanotopography and wettability on

the differential response of human osteoblast lineage cells. *Acta Biomaterialia*, 9(4), 6268–6277.

Hanawa, T. (2011). A comprehensive review of techniques for biofunctionalization of titanium. In *Journal of Periodontal and Implant Science* (Vol. 41, Issue 6, pp. 263–272). <https://doi.org/10.5051/jpis.2011.41.6.263>

Ho, C.-H. (2004). White blood cell and platelet count could affect whole blood viscosity. *J Chin Med Assoc.*, 67(8), 394–397.

Jung, Y. H., Han, S. W., & Park, J. H. (2023). The Impact of Prior Antithrombotic Use on Blood Viscosity in Cardioembolic Stroke with Non-Valvular Atrial Fibrillation. *Journal of Clinical Medicine*, 12(3). <https://doi.org/10.3390/jcm12030887>

Kim, H., Choi, S.-H., Ryu, J.-J., Koh, S.-Y., Park, J.-H., & Lee, I.-S. (2008). The biocompatibility of SLA-treated titanium implants. *Biomedical Materials*, 3(2), 25011. <https://doi.org/10.1088/1748-6041/3/2/025011>

Kim, J. B., Song, W. H., Park, J. S., Youn, T.-J., Park, Y. H., Kim, S.-J., Ahn, S. G., Doh, J.-H., Cho, Y.-H., & Kim, J. W. (2021). A randomized, open-label, parallel, multi-center Phase IV study to compare the efficacy and safety of atorvastatin 10 and 20 mg in high-risk Asian patients with hypercholesterolemia. *PLOS ONE*, 16(1), e0245481-. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0245481>

Koca, R. B., Güven, O., Çelik, M. S., & Fıratlı, E. (2020). Wetting properties of blood lipid fractions on different titanium surfaces. *International Journal of Implant Dentistry*, 6(1), 16. <https://doi.org/10.1186/s40729-020-00213-x>

Kopf, B. S., Ruch, S., Berner, S., Spencer, N. D., & Maniura-Weber, K. (2015). The role of nanostructures and hydrophilicity in osseointegration: In-vitro protein-adsorption and blood-interaction studies. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 103(8), 2661–2672.

Krause, A., Cowles, E. A., & Gronowicz, G. (2000). Integrin-mediated signaling in osteoblasts on titanium implant materials. *Journal of Biomedical Materials Research*, 52(4), 738–747.

Krieger, M. (1998). The “best” of cholesterol, the “worst” of cholesterol: A tale of two receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(8), 4077–4080. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.8.4077>

Lee, C.-H., Jung, K.-H., Cho, D. J., & Jeong, S.-K. (2019). Effect of warfarin versus aspirin on blood viscosity in cardioembolic stroke with atrial fibrillation: a prospective clinical trial. *BMC Neurology*, 19(1), 82. <https://doi.org/10.1186/s12883-019-1315-5>

Li, R., Shi, T., Xing, E., & Qu, H. (2021). Atorvastatin calcium tablets on inflammatory factors, hemorheology and renal function damage indexes in patients with diabetic nephropathy. *Pakistan Journal of Medical Sciences*, 37(5). <https://doi.org/10.12669/pjms.37.5.4045>

Mavrogenis, A. F., Dimitriou, R., Parvizi, J., & Babis, G. C. (2009). Biology of implant osseointegration. *Journal of Musculoskeletal & Neuronal Interactions*, 9(2), 61–71.

Mei, S., Dong, F., & Rahman Khan, M. S. (2018). Effects of Biomineralization on Osseointegration of Pure Titanium Implants in the Mandible of Beagles. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 76(10), 2104.e1-2104.e10. <https://doi.org/10.1016/j.joms.2018.06.015>

Mellwig, K. (2003). Heparin-induced extracorporeal low-density lipoprotein precipitation. *Therapeutic Apheresis and Dialysis*, 7(3), 365–369.

Olson, W. C., Smolkin, M. E., Farris, E. M., Fink, R. J., Czarkowski, A. R., Fink, J. H., Chianese-Bullock, K. A., & Slingluff, C. L. (2011). Shipping blood to a central laboratory in multicenter clinical trials: effect of ambient temperature on specimen temperature, and effects of temperature on mononuclear cell yield, viability and immunologic function. *Journal of Translational Medicine*, 9(1), 1–13.

Park, J. H., Schwartz, Z., Olivares-Navarrete, R., Boyan, B. D., & Tannenbaum, R. (2011). Enhancement of surface wettability via the modification of microtextured titanium implant surfaces with polyelectrolytes. *Langmuir*, 27(10), 5976–5985.

- Rupp, F., Liang, L., Geis-Gerstorfer, J., Scheideler, L., & Hüttig, F. (2018). Surface characteristics of dental implants: A review. *Dental Materials*, 34(1), 40–28. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.dental.17.09.007>
- Smith, S. A., Travers, R. J., & Morrissey, J. H. (2015). How it all starts: Initiation of the clotting cascade. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 50(4), 326–336.
- Spijker, H. T., Graaff, R., Boonstra, P. W., Busscher, H. J., & van Oeveren, W. (2003). On the influence of flow conditions and wettability on blood material interactions. *Biomaterials*, 24(26), 4717–4727.
- Stancu, C., & Sima, A. (2001). Statins: mechanism of action and effects. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 5(4), 378–387. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2001.tb00172.x>
- Taylor, J. M., & Fan, J. (1997). Transgenic rabbit models for the study of atherosclerosis. *Front. Biosci.*, 2(4), 298–308.
- Tomaiuolo, G. (2014). Biomechanical properties of red blood cells in health and disease towards microfluidics. *Biomicrofluidics*, 17;8(5).
- Velasco-Ortega, E., Ortiz-Garcia, I., Jiménez-Guerra, A., Núñez-Márquez, E., Moreno-Muñoz, J., Rondón-Romero, J. L., Cabanillas-Balsera, D., Gil, J., Muñoz-Guzón, F., & Monsalve-Guil, L. (2021). Osseointegration of sandblasted and acid-etched implant surfaces. A histological and histomorphometric study in the rabbit. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(16), 8507.
- Wennerberg, A., Svanborg, L. M., Berner, S., & Andersson, M. (2013). Spontaneously formed nanostructures on titanium surfaces. *Clinical Oral Implants Research*, 24(2), 203–209. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2012.02429.x>
- Wiemer, J., Winkler, K., Baumstark, M., März, W., & Scherberich, J. E. (2002). Influence of low molecular weight heparin compared to conventional heparin for anticoagulation during haemodialysis on low density lipoprotein subclasses. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 17(12), 2231–2238.
- Zivelin, A., Vijaya Mohan Rao, L., & Rapaport, S. I. (1993). Mechanism of the anticoagulant effect of warfarin as evaluated in rabbits by selective depression of individual: Procoagulant vitamin K-dependent clotting factors. *Journal of Clinical Investigation*, 92(5), 2131–2140. <https://doi.org/10.1172/JCI116814>