

Ooforektomi Yapılmış Sıçanlarda Simvastatin ve 17β-Östradiolün Kemik Mineral Dansitesine Etkisi

Cem BATUKAN¹, Mahmut Tuncay ÖZGÜN¹, İbrahim Serdar SERİN¹, Bülent ÖZÇELİK¹, Semih ULUDAĞ¹, Mustafa BAŞBUĞ¹, Ahmet ÖZTÜRK²

¹Department of Gynecology and Obstetrics, Faculty of Medicine, Erciyes University, Kayseri, Turkey

²Department of Biostatistics, Faculty of Medicine, Erciyes University, Kayseri, Turkey

Received 13 October 2006; received in revised form 07 December 2006; accepted 14 December 2006;
published online 24 January 2007

Abstract

The Effect of Simvastatin and 17β-Estradiol on Bone Mineral Density in Ooforectomized Rats

Objective: This study evaluated the effect of simvastatin at different doses on proximal femur and lumbal vertebra bone mineral density (BMD) in rats receiving estrogen replacement therapy.

Materials and Methods: Forty-eight Wistar Albino rats were divided into six groups, containing 8 rats each. Ooforectomy was performed to the rats of the first 5 groups, whereas the last group was sham operated. Four groups of ooforectomized rats were treated with 150 µg/kg body weight/day 17β-estradiol and/or high (6 mg/kg body weight/day) or low (3 mg/kg body weight/day) dose simvastatin for 120 days by gavage. BMD of the proximal femur and lumbal vertebra were compared between groups at the end of the study.

Results: Proximal femur BMD of ooforectomized rats decreased significantly (0.145±0.01 g/cm² and 159±0.01 g/cm²; p=0.001), whereas the lumbal vertebral bone loss did not reach statistical significance (0.161±0.01 g/cm² and 0.168±0.01 g/cm²; p=0.471). 150 µg/kg body weight/day 17β-estradiol treatment preserved proximal femur and lumbal vertebra BMD. The effect of 150 µg/kg body weight/day 17β-estradiol and 3 mg/kg body weight/day on proximal femur and lumbal vertebra BMD were comparable. The estrogen and low dose simvastatin combination provided greatest protection of proximal femur (0.176±0.01 g/cm² ve 0.145±0.01 g/cm²; p<0.001) and lumbal vertebra (0.179±0.01 g/cm² and 0.161±0.01 g/cm²; p=0.002) BMD, when compared with ooforectomized rats. Although, adding low or high dose simvastatin to estrogen therapy did increase or decrease proximal femur and lumbal vertebra BMD, this effect did not reach statistical significance.

Discussion: In rats, prophylactic administration of high dose oral simvastatin treatment alone prevents ooforectomy-induced bone loss to comparable degree as oral estrogen replacement therapy. Estrogen and low simvastatin combination increased the BMD most effectively. Adding higher dose of simvastatin to estrogen has no additional beneficial effect on BMD.

Keywords: bone mineral density, estrogen, osteoporosis, rat, statin

Özet

Amaç: Ooforektomize sıçanlarda östrojen yerine koyma tedavisine eklenen farklı simvastatin miktarlarının, proksimal femur ve lomber vertebra kemik mineral dansitesine (KMD) etkisini araştırmak.

Materyal ve Metot: Kırksekiz Wistar Albino cinsi dişi sıçan, her biri 8 hayvandan oluşan 6 gruba ayrıldı. İlk 5 gruba ooforektomi, son gruba Sham operasyonu yapıldı. Ooforektomi yapılmış 5 grubun 4'üne 120 gün boyunca gavaj yoluyla 150 µg/kg/gün dozunda 17β-östradiol ve/veya yüksek (6 mg/kg/gün) veya düşük (3 mg/kg/gün) doz simvastatin verildi. Çalışmanın sonunda her bir grubun proksimal femur ve lomber vertebra KMD'si birbiriyle karşılaştırıldı.

Sonuçlar: Ooforektomi sonrası proksimal femur KMD'si anlamlı oranda azalırken (0.145±0.01 g/cm² ve 159±0.01 g/cm²; p=0.001), lomber vertebradaki kemik kaybının anlamlı olmadığı saptandı (0.161±0.01 g/cm² ve 0.168±0.01 g/cm²; p=0.471). Dozajı 150 µg/kg/gün olan 17β-östradiol tedavisinin, proksimal femur ve lomber vertebra KMD'sini koruduğu

Corresponding Author: Dr. Cem Batukan
Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum AD,
Gevher Nesibe Hastanesi, 38039 Kayseri, Türkiye
Phone : +90 533 649 44 72
E-mail : cbatukan@erciyes.edu.tr; cbatukan@yahoo.com

saptandı. Tek başına 6 mg/kg/gün simvastatin ile 150 µg/kg/gün 17β-östradiol tedavisinin proksimal femur ve lomber vertebra KMD'si üzerine etkisi benzer bulundu. Ooforektomi yapılan sıçanlara kıyasla proksimal femur (0.176±0.01 g/cm² ve 0.145±0.01 g/cm²; p<0.001) ve lomber vertebra (0.179±0.01 g/cm² ve 0.161±0.01 g/cm²; p=0.002) KMD'sinde en az kaybı östrojen+düşük doz simvastatin kombinasyonu sağladı. Östrojen tedavisine düşük veya yüksek doz simvastatin eklenmesi, proksimal femur ve lomber vertebra KMD'sini artırıcı veya azaltıcı etki göstermişse de, bu, istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Tartışma: Sıçanlarda, ooforektomi sonrası KMD'sini korumaya yönelik profilaktik olarak tek başına yüksek doz oral simvastatin, oral östrojen replasman tedavisi kadar etkili bulundu. Östrojen ile birlikte düşük doz simvastatin kombinasyonu KMD'sini en fazla artırdı. Östrojen tedavisine yüksek doz simvastatin eklenmesi, KMD üzerine olumlu etki göstermedi.

Anahtar sözcükler: kemik mineral dansitesi, osteoporoz, östrojen, sıçan, statin

Giriş

Osteoporoz, yaşın ilerlemesi ile birlikte ortaya çıkan önemli bir sağlık sorunudur. Kadınlar, yaşamları süresince, trabeküler kemik kütlelerinin %50'sini ve kortikal kemik kütlelerinin %30'unu kaybederler (1). Bu kaybın büyük bir kısmı menopoz sonrası ortaya çıkan gonadal yetersizliğe bağlı olarak meydana gelir. Cerrahi ve doğal menopoz ile birlikte kemik yıkımının kemik yapımının önüne geçmesiyle, kemik kütlelerinde azalma hızlanmaktadır. Ooforektomi sonrası sıçanlarda da benzer iskelet sistemi değişiklikleri ortaya çıktığı (2,3) ve östrojen tedavisinin postmenopozal kadınlarda (4,5) olduğu gibi sıçanlarda (3,6,7) da kemik kaybını azalttığı gösterilmiştir. Ancak, insanlarda östrojen tedavisi meme ve endometrium kanseri ile ilişkilendirilmiştir (8). Bununla birlikte, bazı hastaların tedaviye uyumunun düşük olabilmesi veya kontrendikasyonlar bulunmasından dolayı hormon tedavisi uygulanamamaktadır (9).

Östrojen tedavisi, postmenopozal osteoporozla karşı bilinen en etkili ajan olmasına karşın (10), son yıllarda bu tedaviye karşı hekim ve hastaların çekinceli tutumları, osteoporoz tedavisinde kullanılabilecek güvenilir ve etkin yeni tedavi seçeneklerinin araştırılmasına yol açmıştır. Statinler bunlardan birisidir. İlk defa Mundy ve arkadaşları (11), statinlerin *in vitro* ve *in vivo* ortamda yeni kemik yapımını artırdığını bildirmişlerdir. Statinler, kemikte bir yandan osteoklast aktivitesini inhibe ederek antirezorptif etki gösterirken, diğer yandan osteoblastların farklılaşmasını uyarak yeni kemik yapımını sağlarlar (12).

Statinlerin kemik mineral dansitesini (KMD) olumlu etkilediğini bildirmiş olan çok sayıda deneysel çalışma olmasına karşın, literatürde östrojen ile statinlerin etkisini karşılaştıran sadece bir deneysel çalışma bulunmaktadır. Yakın zamanda yayımlanmış olan bu çalışmada, lovastatin ve 17β-östradiolün ooforektomi yapılmış sıçanlardaki etkisi karşılaştırılmıştır (13). Östrojen ve statin kombinasyonlarını karşılaştıran deneysel çalışma bulunmadığından, bu çalışmadaki temel amaç, ooforektomi yapılmış sıçanlara 4 ay süreyle uygulanan değişik dozlarda oral 17β-östradiol ve simvastatin kombinasyonlarının lomber vertebra ve proksimal femur bölgesindeki KMD'ye etkisi araştırılmıştır.

Materyal ve Metot

Hayvanlar

Çalışma için ağırlıkları 194±17 g (160-230) olan 48 Wistar Albino cinsi 6 aylık dişi sıçan kullanıldı. Hayvanlar dörderli gruplar halinde kapağı metal ızgaradan oluşan plastik kafeslerde ısısı 21-24°C, nemi %40-60 ve karanlık/aydınlık periyodu 12 saat/12 saat olan ve yeterli standart sıçan yemi (%1 kalsiyum, %0.5 fosfor, 100 IU/100g vitamin D3) ve su bulunan ortamda tutuldu. Çalışma, Erciyes Üniversitesi Etik Kurulu tarafından onaylandı.

Çalışma protokolü

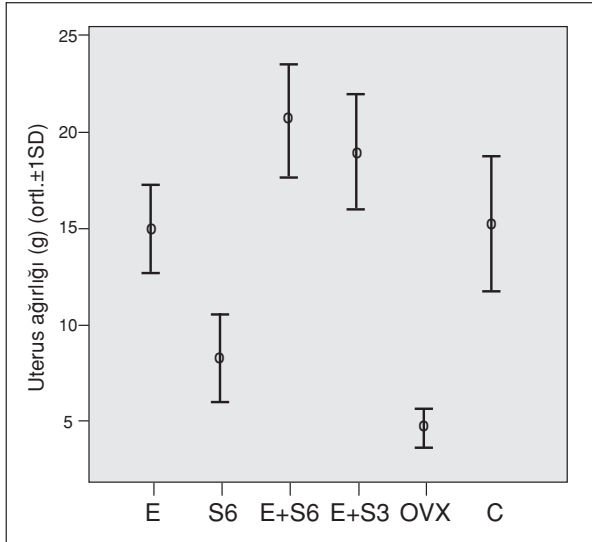
Sıçanlar, her bir grup 8 hayvandan oluşacak şekilde 6 gruba ayrıldı. Sham grubu dışındaki sıçanlara intraperitoneal ketamin (10 mg/kg; Ketalar, Eczacıbaşı, İstanbul, Türkiye) ve xylazin (3 mg/kg; Rompun %2, Bayer, Almanya) anestezisi altında 3-4 cm'lik abdominal insizyondan ooforektomi yapıldı. Sham grubundaki sıçanlara da diğer gruptaki hayvanlara yapıldığı gibi laparotomi yapıldı, ancak ooforektomi yapılmadı. Cerrahi girişimlerden iki gün sonra sıçanlar şu tedavi gruplarına ayrıldı: 1. grup: 150 µg/kg/gün 17β-östradiol, 2. grup: 6 mg/kg/gün simvastatin, 3. grup: 150 µg/kg/gün 17β-östradiol+6 mg/kg/gün simvastatin, 4. grup: 150 µg/kg/gün 17β-östradiol+3 mg/kg/gün simvastatin, 5. grup: sadece ooforektomi yapılan ve herhangi bir ilaç tedavisi verilmeyen grup (OVX), 6. grup: Sham. Seçilen simvastatin dozları daha önce sıçanlarda yapılmış ve etkinliği kanıtlanmış dozlarla uygun olarak seçilmiştir (11,14,15).

İlaçlar 120 gün boyunca uygulandı. İlaçların hazırlanmasında simvastatin (Zocor, MSD, Türkiye) ve 17β-östradiol (Estrafem, Novo Nordisk, Danimarka) tabletler ezildikten sonra %0.9'luk NaCl'de eritildi. Elde edilen süspansiyon her gün taze olarak hazırlandı. Bütün ilaçlar her gün 17:00 ile 19:00 arasında gavaj yoluyla verildi. Verilen ilaç miktarı %0.9'luk NaCl'de eritilerek hazırlandı ve hayvanlara bu ilaçlar her gün 0.3 ml/100 g sıvı ile birlikte verildi. Sham ve OVX grubundaki hayvanlara aynı miktarda %0.9'luk NaCl verildi. Hayvanlar haftada bir tartıldı ve o hafta verilecek ilaç dozları her defasında kilolara göre yeniden hesaplandı.

Çalışmada, 2 sıçan yapılan cerrahi işlemten sonra ilk 2 gün içinde kaybedildi. Bu nedenle, çalışmanın başında çalışmaya fazladan 2 sıçan daha eklendi. İlaç tedavileri sıra-

sında herhangi bir komplikasyon ve/veya ölüm meydana gelmedi.

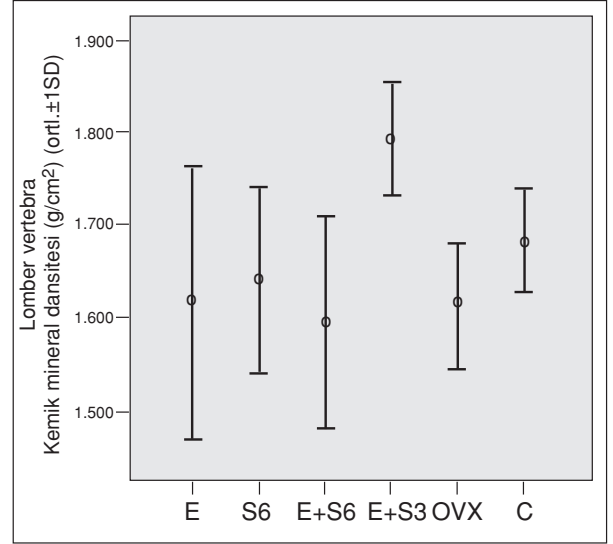
Yüz yirmi günün sonunda hayvanların KMD'si ketamin ve xylazin anestezisi altında dual-enerji X-ray absorpsiyometri (DEXA) (QDR 4500/W, Hologic Inc., Bedford, MA, ABD) ile daha önce yapılmış çalışmalara benzer şekilde *in vivo* olarak ölçüldü ve bütün sonuçlar aynı kişi (C.B.) tarafından değerlendirildi (15,16). Bunun için hayvanlar karınları üzerine yatırıldı ve alt ekstremitelere kalça ekleminden eksternal rotasyon ve fleksiyon konumuna gelecek şekilde pozisyon verildi. Küçük laboratuvar hayvanları için geliştirilmiş olan altbölge (subregion) programı kullanılarak proksimal femur (femur boynu) ve lomber vertebra KMD'si bölgesel olarak ölçüldü (17). Lomber vertebradaki ölçümler için standart 21x17 mm ve proksimal femurdaki ölçümler için 13x9 mm'lik alanlar kullanıldı. Lomber vertebradaki ölçüm iliyak kemiğin üst sınırının üzerinde kalan alandan yapıldı ve buradaki ölçümler için kullanılmış olan standart alan yaklaşık 3 vertebra korpusunu içine alacak şekilde belirlendi (Şekil 1). KMD g/cm² olarak ifade edildi. Sıçanlar daha sonra yüksek doz eter anestezisi ile öldürüldü ve uterusları çıkarılarak tartıldı.



Şekil 1. Sıçanların kemik mineral dansitesi lomber (R1) ve proksimal femur (R2) bölgesinden standart alanlar kullanılarak yapılmıştır. (R1: 21x17 mm; R2: 13x9 mm)

İstatistiksel analiz

Bütün veriler, ortalama ± standart sapma (SD) olarak ifade edildi. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilks yöntemi ile test edildi. Veriler, normal dağılım varsayımlarını sağladığından, tedavi grupları arasındaki karşılaştırmalar tek yönlü varyans analizi ve çoklu karşılaştırmalar için Tamhane testi yapıldı. Çoklu karşılaştırma testi sonucu p değerinin anlamlılığı $p=0.05/6$, yani $p<0.008$ sınırı olarak alındı.

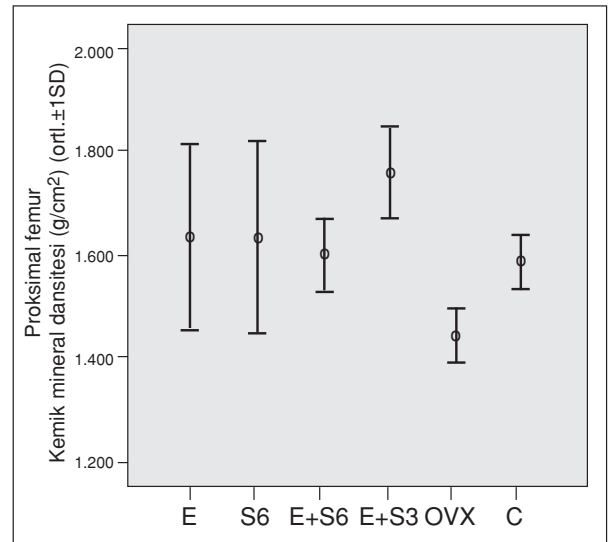


Şekil 2. Proksimal femur kemik mineral dansitesinde farklı tedaviler sonucu meydana gelen değişiklik

Sonuçlar

Yüz yirmi günlük tedavinin sonunda farklı gruplarda proksimal femur ve lomber vertebra bölgesinde meydana gelen değişiklikler Tablo 1 ve Şekil 2-4'te, çalışma sırasında gruplardaki sıçanların tartısında meydana gelen değişiklikler Tablo 2'de özetlenmiştir. On iki haftalık sürenin sonunda ooforektomi yapılmış bütün sıçanların tartısının anlamlı oranda arttığı izlenmiştir.

Ooforektomi yapılmış sıçanların (OVX) femur proksimal bölgesindeki KMD'sinde (0.145 ± 0.01 g/cm²) sham grubuna (0.159 ± 0.01 g/cm²) kıyasla anlamlı derecede düşüş izlenmiştir ($p=0.001$). Ooforektomi sonrası lomber vertebraların KMD'sinde de düşme gözlenmesine karşın, bu düşüşün

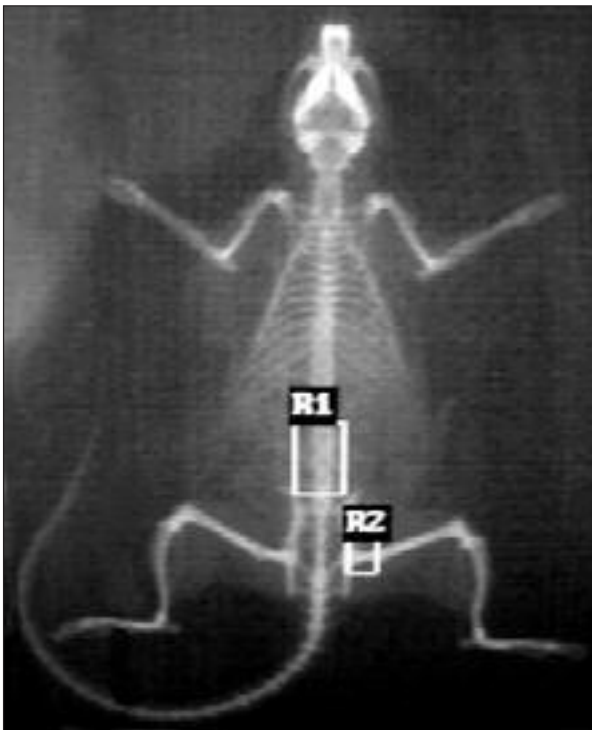


Şekil 3. Lomber vertebra kemik mineral dansitesinde farklı tedaviler sonucu meydana gelen değişiklik

Tablo 1. Bütün gruplardaki sıçanların proksimal femur ve lomber vertebra kemik mineral dansitesi

Grup	Tedavi	Kemik mineral dansitesi (g/cm ²)		
		Proksimal femur	Lomber vertebra	Uterus ağırlığı (mg)
1	150 µg/kg/gün 17β-östradiol	0.164 (0.02)	0.162 (0.01)	1500 (230)
2	6 mg/kg/gün simvastatin	0.164 (0.02)	0.164 (0.01)	840 (230)
3	150 µg/kg/gün 17β-östradiol+6 mg/kg/gün simvastatin	0.160 (0.01)	0.159 (0.01)	1500 (160)
4	150 µg/kg/gün 17β-östradiol+3 mg/kg/gün simvastatin	0.176 (0.01)	0.179 (0.01)	1900 (300)
5	OVX-Kontrol	0.145 (0.01)	0.161 (0.01)	480 (100)
6	Sham	0.159 (0.01)	0.168 (0.01)	1530 (360)
		F=5.6; p<0.001	F=4.1; p=0.004	F=36.2; p<0.001
Çoklu karşılaştırma testi (Tamhane)		p		
1 grup-2 grup		1	1	<0.001
1 grup-3 grup		1	1	1
1 grup-4 grup		0.801	0.179	0.201
1 grup-5 grup		0.265	1	<0.001
1 grup-6 grup		1	1	1
2 grup-3 grup		1	1	<0.001
2 grup-4 grup		0.84	0.06	<0.001
2 grup-5 grup		0.324	1	0.038
2 grup-6 grup		1	1	0.004
3 grup-4 grup		0.035	0.011	0.16
3 grup-5 grup		0.002	1	<0.001
3 grup-6 grup		1	0.618	1
4 grup-5 grup		<0.001	0.002	<0.001
4 grup-6 grup		0.019	0.044	0.481
5 grup-6 grup		0.001	0.471	<0.001

Değerler, ortalama (SD) olarak verilmiştir.

**Şekil 4.** Uterus ağırlığında farklı tedaviler sonucu meydana gelen değişiklik

Sham grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür (0.161 ± 0.01 g/cm² ve 0.168 ± 0.01 g/cm²; $p=0.471$).

Ooforektomi sonrası günlük 150 mg/kg oral 17β-östradiol tedavisi almış olan sıçanlar ile Sham grubundaki sıçanların proksimal femur ve lomber vertebra KMD'lerinin benzer olduğu izlenmiştir ($p=1$ ve $p=1$). Ooforektomi sonrası günlük 6 mg/kg oral simvastatin tedavisi almış olan sıçanlar ile Sham grubundaki sıçanların proksimal femur ve lomber vertebra KMD'lerinin benzer olduğu izlenmiştir ($p=1$ ve $p=1$). Tek başına günlük 6 mg/kg oral simvastatin verilen sıçanların proksimal femur ve lomber vertebra KMD'si sadece ooforektomi yapılmış olan sıçanlara (OVX) kıyasla artmış olmasına rağmen, bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Tablo 1). Ooforektomi yapılmış sıçanlarda günlük 150 µg/kg 17β-östradiol tedavisi ile günlük 6 mg/kg simvastatin tedavisinin proksimal femur ve lomber vertebra KMD'sine etkisi benzer bulunmuştur (Tablo 1).

OVX grubundaki sıçanlarla kıyaslandığında, proksimal femur KMD'sinde en az kaybı günlük 150 mg/kg 17β-östradiol ve 3 mg/kg simvastatin kombinasyonu sağlamıştır (0.176 ± 0.01 g/cm² ve 0.145 ± 0.01 g/cm²; $p<0.001$). Bu kombinasyon, lomber vertebra KMD'sini de anlamlı şekilde korumuştur (0.179 ± 0.01 g/cm² ve 0.161 ± 0.01 g/cm²; $p=0.002$). Sham grubundaki sıçanlarla karşılaştırıldığında bu kombinasyonun her iki kemik bölgesindeki KMD'sini artırmasına

Tablo 2. Her bir gruptaki sıçanların çalışmanın başında (tartı-bazal) ve sonundaki (tartı-son) tartıları

Grup	Tartı-bazal (g)	Tartı-son (g)	p
1	187.3 (16.7)	200 (18.5)	0.005
2	192.5 (11.6)	223.8 (13)	<0.001
3	192.5 (14.8)	206.3 (18.5)	0.008
4	202.9 (23.6)	224.3 (22.9)	0.001
5	191.3 (12.5)	227.5 (8.9)	0.001
6	203.3 (18.0)	213.3 (14.1)	0.320

Değerler, ortalama (SD) olarak verilmiştir.

rağmen, bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0.019$ ve $p=0.044$). Günlük 150 µg/kg 17β-östradiol tedavisine düşük (3 mg/kg/gün) veya yüksek (6 mg/kg/gün) doz simvastatin eklenmesi, proksimal femur ve lomber vertebra KMD'sini tek başına östrojen tedavisine göre daha fazla artırmış; ancak bu artış, istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Östrojene yüksek doz simvastatin eklenmesinin KMD üzerine istatistiksel olarak anlamlı olmasa da, azaltıcı yönde etki gösterdiği izlenmiştir ($p=1$) (Tablo 1).

Çalışmanın sonunda ooforektomi yapılmış sıçanların uterus ağırlığı (480±100 mg), Sham grubundaki sıçanların uterus ağırlığından (1530±360 mg) anlamlı derecede düşük ($p<0.001$) ve günlük 150 µg/kg 17β-östradiol alan sıçanların uterus ağırlığı Sham grubundaki sıçanların uterus ağırlıkları benzer bulunmuştur (1500±230 mg ve 1530±360 mg; $p=1$). Günlük 6 mg/kg simvastatin verilmiş olan sıçanların uterus ağırlığı OVX grubundakilere kıyasla artmış, ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (840±230 mg; $p=0.038$). Simvastatinin sağladığı bu artış, günlük 150 µg/kg 17β-östradiolun tek başına sağladığı artıştan (1500±230 mg) düşük bulunmuştur ($p<0.001$). Östrojen tedavisine yüksek veya düşük doz simvastatin eklenmesi, tek başına östrojen verilmesine kıyasla uterus ağırlığını önemli derecede etkilememiştir (Tablo 1).

Tartışma

İnsanlarda olduğu gibi sıçanlarda da hipoöstrojenik bir ortamda kemik yıkımı kemik yapımının önüne geçmekte ve kemik kaybına yol açmaktadır (18). Bu çalışma da, ooforektomi yapılmış sıçan modelinin postmenopozal osteoporoz ile ilgili deneysel çalışma yapmak için uygun bir yöntem olduğunu desteklemektedir (3,14,18). Sıçanlarda ooforektomi sonrası kemiklerdeki değişikliklerin ortaya çıkması için yaklaşık bir aylık süre yeterli olmakla birlikte (11,13,14), çoğu çalışmada ooforektomiden sonra en az 12 haftalık bir sürenin geçmesi gerektiği bildirilmektedir (16,19).

Bu çalışmada, sıçanlarda ooforektomiden 120 gün sonra proksimal femur ve lomber vertebra KMD'sinin azaldığı izlenmiştir. Kemik kaybının özellikle kortikal kemik bakımından zengin olan proksimal femurda belirgin olduğu, buna karşın vertebradaki trabeküler kemik kaybının daha az olduğu saptanmıştır. Sıçanlarda yapılmış birçok deneysel çalışmada ooforektomi sonrası hem femur hem de vertebra

KMD'sinde anlamlı oranda azalma meydana geldiği gösterilmişse de (13,18,19), bir çalışmada vertebradaki azalmanın femura kıyasla daha az olduğu bildirilmiştir (20). Bu fark, ooforektomi sonrası DEXA çekilene kadar geçen süreye bağlı olabilir. Sıçanlarda ooforektomi sonrası ilk 180 günde özellikle kortikal kemikte, 180. ile 270. günler arasında ise özellikle trabeküler kemikte kayıp meydana gelmektedir (21).

Çalışmamız, sıçanlara ooforektomi sonrası günlük 150 µg/kg dozunda oral 17β-östradiol verilmesinin, proksimal femurda hipoöstrojenemiye bağlı kemik kaybını önlediğini göstermiştir. Tek başına günlük 6 mg/kg oral simvastatin tedavisinin ooforektomi sonrası KMD'si üzerine olan koruyucu etkisi östrojen tedavisine benzer bulunmuştur. Statinlerin sıçanlarda kemik kaybını önleyebildiği sonucu, daha önce Pytlik ve arkadaşları (14) tarafından yapılmış olan deneysel çalışmadaki bulgular ile örtüşmektedir. Bu araştırmacılar, ooforektomi yapılmış sıçanlarda 30 gün süreye oral 3 mg/kg/gün veya 6 mg/kg/gün simvastatin verilmesinin kortikal ve trabeküler kemik yapımını artırdığını göstermiştir. Ooforektomi yapılan sıçanlarda 30 günlük oral lovastatin (0.9 mg/kg/gün) ve subkütan 17β-östradiol (10 mg/kg/gün) tedavisinin femur ve vertebra KMD'ye etkisinin incelendiği bir başka çalışmada, östrojen ve lovastatinin osteoporozu önlediği, ancak östrojenin daha etkili olduğu saptanmıştır (13). Bizim çalışmamızın önemli bulgularından birisi de, sıçanlara östrojen tedavisi yanında düşük doz simvastatin verilmesinin sadece östrojen verilmesine göre proksimal femur ve lomber vertebra KMD'sini Sham grubundaki sıçanların KMD'sine göre artırmış olmasıdır. Bu artış, istatistiksel olarak anlamlı olmamasına rağmen yine de önemlidir ($p=0.019$ ve $p=0.044$). Bu bulgu, östrojen-simvastatin kombinasyonunun aditif veya sinerjik etki göstererek yeni kemik oluşumunu stimüle edebilme potansiyeli taşıdığını düşündürmektedir. Diğer yandan, çalışmamızda sıçanlara östrojenle birlikte yüksek doz simvastatin verilmesinin KMD'si üzerine bir ilaçların tek tek verilmesine kıyasla avantaj sağlamadığı, hatta KMD'sini azalttığı saptanmıştır. Bu sonuç, simvastatinin sıçanlarda farklı dozlarda KMD'yi farklı şekilde etkilemesi ile açıklanabilir (15). Statinlerin kemirgenlerde kemik metabolizmasına neden bu şekilde iki yönlü etki gösterdiği konusunda ise net bilgi bulunmamaktadır. Bu etki, osteoklastların statinlere osteoblastlardan göre daha duyarlı olmasına (15) veya statinlerin osteoklastlar gibi osteoblastlardaki mevalonat metabolizmasını inhibe ederek bu hücrelerde de inhibisyon yapabilmelerine bağlı olabilir (22). Bu karmaşık metabolik süreçte, östrojenin rolü ise bilinmemektedir. Östrojenin, osteoklastlarda moleküler düzeyde statinler ile etkileşmesi veya karaciğer metabolizmasını etkileyerek statinlerin biyoyararlanımını değiştirmesi mümkün olabilir. Bu konuda daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

Statinler, karaciğerde 3-hidroksi-3-metil-glutaril-CoA (HMG-CoA) redüktaz enzimini inhibe ederek endojen kolesterol yapımını azaltır. HMG-CoA'yı mevalonik aside dönüştüren bu enzim kolesterol biyosentezinde anahtar rol oynamaktadır. Mevalonik asit ise, daha sonra farnesil sentetaz en-

zimi ile geranil difosfat üzerinden farnesil difosfat ve garnesilgarnesil difosfata dönüşmektedir. Bu son iki madde, osteoklastlarda hücre içi proteinlerin aktivasyonu ve hücre membran bütünlüğünün sağlanması için gerekli olan frenilasyon işlemine rol oynamaktadır. Mevalonik asit metabolizmasının inhibisyonu osteoklastların aktivitesini azaltmakta ve apoptozise uğramalarına neden olmaktadır (23). Antirezortif etki gösteren bifosfonatlar, mevalonik asit metabolizmasını mevalonik asit farnesil sentetaz enzimini baskılamak sureti ile inhibe ederler. Statinler ise benzer etkiyi, başka bir enzim (HMG-CoA redüktaz) inhibe ederek sağladığından kemiklerdeki osteoklastik aktiviteyi azaltabilmeleri doğaldır (12). Statinlerin bunun yanında osteoblastik diferansiyasyonda rol oynayan BMP-2 promotör gen bölgesini indükleyebilmektedir. Bu sekonder etkilerinden dolayı bifosfonatlara benzer antirezortif etkilerinin yanında kemiklerde anabolizan etki de gösterirler (11,24). Statinlerin kemik sialoprotein ve osteokalsin ekspresyonunu artırarak osteoblast fonksiyonlarını düzenlediği, bunun yanı sıra matris metallo-proteinaz 1 ve 3 gibi kolajenazları baskılayarak tip I kolajenin etkisini artırdığı da bildirilmiştir (25). Yakın zamanda, statinlerin osteoblastlarda BMP-2 yanında VEGF denilen başka bir anabolizan maddenin ekspresyonunu da artırdığı gösterilmiştir (26).

Karaciğerde yüksek oranda metabolize edilmelerinden dolayı sistemik biyoyararlanımları düşüktür. İnsanda oral alınan simvastatin, sadece %5 oranında periferik etki göstermektedir. Simvastatinin sıçanlardaki biyoyararlanımı konusunda veri yoktur. Bu hayvanların metabolizmasının insanlarınkine göre yaklaşık 10 kat fazla olduğu bilinmektedir. Bu nedenle, bu çalışmada sıçanlara insanlardaki günlük 40 mg'lık (0.6 mg/kg) maksimum oral doza tekabül eden dozda oral simvastatin verilmiştir (6 mg/kg/gün) (14).

Sadece o anki durumu yansıtacağından, çalışmanın sonunda her bir gruptaki sıçanların kan östrojen düzeyini ölçmek yerine, kronik östrojenizasyonu daha iyi göstermesi bakımından uterus ağırlıkları ölçülmüştür. Ooforektomi sonrası sıçanların uterus ağırlıklarının belirgin olarak azalmış olması yapılan cerrahinin yeterli hipöstrojenemi sağladığını göstermektedir. Günlük oral yolla 150 µg/kg 17β-östradiol verilmesinin uterus ağırlığını korumuş olması, bu dozun sıçanlarda fizyolojik olduğunu düşündürmektedir. Literatürde, sıçanlardaki fizyolojik oral 17β-östradiol dozu konusunda çelişkili sonuçlar vardır. Jimenez ve arkadaşları (27) yapmış oldukları çalışmada, ooforektomi sonrası oral 100 µg/kg/gün 17β-östradiolün uterin atrofiye karşı koruyucu etki göstermek için yeterli olduğu bildirirken, Kerdelhue ve Jolette (28), fizyolojik oral 17β-östradiol dozunu 900 µg/kg/gün gibi çok daha yüksek bir değer olarak bulmuşlardır.

Çalışmamızda OVX grubu ile kıyaslandığında, yüksek doz simvastatinin sıçan uterus ağırlığını artırma eğilimi gösterdiği izlenmiştir. Statinlerin, uterusu doğrudan etki gösterdiğine dair bilimsel kanıt bulunmamasına ve diğer benzer çalışmalarda böyle bir etkiden söz edilmemesine rağmen, Pytlik ve arkadaş-

larının (14) yapmış olduğu çalışmanın verilerinden, 28 günlük oral 6 mg/kg/gün simvastatin tedavisinden sonra sıçanların uterus ağırlığında artış meydana gelmiş olduğu, ancak bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlenmektedir. Bu bulgular, statinlerin sıçanlarda endojen östrojen metabolizması üzerine etkisi olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmada sadece DEXA yöntemi ile KMD'si değerlendirilmiştir. DEXA, KMD'yi değerlendirmede hâlâ altın standart olarak kabul edilmekte (29) ve deney hayvanlarında küçük alanlardaki ölçümleri de hassas bir şekilde yapabildiği bildirilmektedir (30). Ancak, kemik metabolizmasını yansıtan biyokimyasal belirteçlerin ölçülmemiş, kırılmalık testleri ve kemik histomorfometrik analizlerin yapılmaması bu çalışmanın zayıf noktasını oluşturmaktadır. Postmenopozal dönemdeki kemik kaybının değerlendirilmesi için serum alkalik fosfataz, idrar hidroksiprolin, idrarla atılan kalsiyum ve fosfor miktarı ve idrar kalsiyum/kreatinin oranı kullanılabilir. Kemik kaybının arttığı dönemde bu belirteçlerin idrardaki miktarı artmaktadır (13). Sıçanlarda ooforektomi sonrası idrarla atılan kalsiyum ve fosfor düzeyinin arttığı, lovastatin ve 17β-östradiol tedavisi ile bu belirteçlerin idrardaki konsantrasyonlarının azaltıldığı gösterilmiştir (13).

Sonuç olarak, sıçanlara ooforektomi sonrası 120 gün süreyle profilaktik olarak 3 mg/kg/gün dozunda oral simvastatin verilmesi KMD'yi fizyolojik dozda östrojen tedavisi kadar korumaktadır. Düşük doz östrojen tedavisi ile birlikte düşük doz simvastatin kombinasyonu KMD değerini, ooforektomi yapılmamış sıçanların KMD değerinin üzerine çıkarmaktadır. İnsanlarda da statinlerin kemik kütlelerini korumak bakımından östrojen kadar etkili olup olmadığını araştırmak için prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır. Eğer böyle bir etki bulunacak olursa, statinlerin östrojen tedavisinin yerini alması olasıdır; çünkü bu ajanların kardiyovasküler sistem üzerine olumlu etkileri vardır ve bu özellikle hiperkolesterolemisi olan hastalar için önemli bir avantaj olacaktır.

Kaynaklar

1. Riggs BL, Melton LJ 3rd. Involutional osteoporosis. *N Engl J Med.* 1986;314:1676-86.
2. Wronski TJ, Lowry PL, Walsh CC, Ignaszewski LA. Skeletal alterations in ovariectomized rats. *Calcif Tissue Int.* 1985;37:324-8.
3. Turner RT, Vandersteenhoven JJ, Bell NH. The effects of ovariectomy and 17 beta-estradiol on cortical bone histomorphometry in growing rats. *J Bone Miner Res.* 1987;2:115-22.
4. Lindsay R, Nieves J, Formica C et al. Randomised controlled study of effect of parathyroid hormone on vertebral-bone mass and fracture incidence among postmenopausal women on oestrogen with osteoporosis. *Lancet.* 1997;350:550-5.
5. Aitken JM, Hart DM, Lindsay R. Oestrogen replacement therapy for prevention of osteoporosis after oophorectomy. *Br Med J.* 1973;3:515-8.
6. Wronski TJ, Cintron M, Doherty AL, Dann LM. Estrogen treatment prevents osteopenia and depresses bone turnover in ovariectomized rats. *Endocrinology.* 1988;123:681-6.
7. Kalu DN, Liu CC, Salerno E et al. Skeletal response of ovariectomized rats to low and high doses of 17 beta-estradiol. *Bone Miner.* 1991;14:175-87.
8. Henderson BE. The cancer question: an overview of recent epidemiologic and retrospective data. *Am J Obstet Gynecol.* 1989;161:1859-64.
9. Grady D, Rubin SM, Petitti DB et al. Hormone therapy to prevent disease and prolong life in postmenopausal women. *Ann Intern Med.* 1992;117:1016-37.

10. Arjmandi BH. The role of phytoestrogens in the prevention and treatment of osteoporosis in ovarian hormone deficiency. *J Am Coll Nutr.* 2001;20:398S-402S.
11. Mundy G, Garrett R, Harris S et al. Stimulation of bone formation *in vitro* and in rodents by statins. *Science.* 1999;286:1946-9.
12. Biskobing DM, Novy AM, Downs R Jr. Novel therapeutic options for osteoporosis. *Curr Opin Rheumatol.* 2002;14:447-52.
13. Mukherjee M, Das AS, Das D et al. Effects of garlic oil on postmenopausal osteoporosis using ovariectomized rats: comparison with the effects of lovastatin and 17beta-estradiol. *Phytother Res.* 2006;20:21-7.
14. Pytlík M, Janiec W, Misiarz-Myrta M, Gubala I. Effects of simvastatin on the development of osteopenia caused by ovariectomy in rats. *Pol J Pharmacol.* 2003;55:63-71.
15. Maritz FJ, Conradie MM, Hulley PA et al. Effect of statins on bone mineral density and bone histomorphometry in rodents. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21:1636-41.
16. Yoshitake K, Yokota K, Kasugai Y et al. Effects of 16 weeks of treatment with tibolone on bone mass and bone mechanical and histomorphometric indices in mature ovariectomized rats with established osteopenia on a low-calcium diet. *Bone.* 1999;25:311-9.
17. Bahr JM, Nakai M, Rivera A et al. Dietary soy protein and isoflavones: minimal beneficial effects on bone and no effect on the reproductive tract of sexually mature ovariectomized Sprague-Dawley rats. *Menopause.* 2005;12:165-73.
18. Kalu DN. The ovariectomized rat model of postmenopausal bone loss. *Bone Miner.* 1991;15:175-91.
19. Oxlund H, Andreassen TT. Simvastatin treatment partially prevents ovariectomy-induced bone loss while increasing cortical bone formation. *Bone.* 2004;34:609-18.
20. Bauss F, Lalla S, Ende R, Hothorn LA. Effects of treatment with ibandronate on bone mass, architecture, biomechanical properties, and bone concentration of ibandronate in ovariectomized aged rats. *J Rheumatol.* 2002;29:2200-8.
21. Wronski TJ, Dann LM, Horner SL. Time course of vertebral osteopenia in ovariectomized rats. *Bone.* 1989;10:295-301.
22. Staal A, Frith JC, French MH et al. The ability of statins to inhibit bone resorption is directly related to their inhibitory effect on HMG-CoA reductase activity. *J Bone Miner Res.* 2003;18:88-96.
23. Rogers MJ, Gordon S, Benford HL et al. Cellular and molecular mechanisms of action of bisphosphonates. *Cancer* 2000;88:2961-78.
24. Sugiyama M, Kodama T, Konishi K et al. Compactin and simvastatin, but not pravastatin, induce bone morphogenetic protein-2 in human osteosarcoma cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000;271:688-92.
25. Maeda T, Matsunuma A, Kurahashi I et al. Induction of osteoblast differentiation indices by statins in MC3T3-E1 cells. *J Cell Biochem.* 2004;92:458-71.
26. Maeda T, Kawane T, Horiuchi N. Statins augment vascular endothelial growth factor expression in osteoblastic cells via inhibition of protein prenylation. *Endocrinology.* 2003;144:681-92.
27. Jimenez MA, Magee DE, Bryant HU, Turner RT. Clomiphene prevents cancellous bone loss from tibia of ovariectomized rats. *Endocrinology.* 1997;138:1794-800.
28. Kerdelhue B, Jolette J. The influence of the route of administration of 17beta-estradiol, intravenous (pulsed) versus oral, upon DMBA-induced mammary tumour development in ovariectomised rats. *Breast Cancer Res Treat.* 2002;73:13-22.
29. Syed Z, Khan A. Bone densitometry: applications and limitations. *J Obstet Gynaecol Can.* 2002;24:476-84.
30. Yamauchi H, Kushida K, Yamazaki K, Inoue T. Assessment of spine bone mineral density in ovariectomized rats using DXA. *J Bone Miner Res.* 1995;10:1033-9.



www.ureme2007.org