تاثیر سیمواستاتین بر التیام نقص تجربی استخوان متراکم فمور در موش صحرایی

*دکتر داریوش مهاجری: دانشیار و متخصص پاتولوژی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، تبریز، ایران (*مولف مسئول).
daryoushmohajeri@yahoo.com
دکتر غفور موسوی: استادیار و متخصص جراحی دامپزشکی، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، تبریز، ایران.
gh_mousavi@iaut.ac.ir
دکتر علی رضایی: استاد و متخصص جراحی دامپزشکی، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، تبریز، ایران.areazaie1@gmail.com
دکتر آرمین علیمحمدی: دانش‌آموخته دکترای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، تبریز، ایران.armin.alimohammadi@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۰/۶/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۰/۱۰/۶

چکیده

زمینه و هدف: بازسازی و ترمیم استخوان از دست رفته، خواه ناشی از علل فیزیولوژیک و خواه به سبب عوامل پاتولوژیک یکی از انگیزه‌های جراحان از زمان‌های دور بوده است. داروهای استاتینی به عنوان پایین آورنده کلسترول مورد استفاده قرار می گیرند. با این حال این داروها دارای اثرات موثر در بافت استخوان بوده و می توانند در استخوان دارای تاثیر مثبتی باشند. هدف از این مطالعه ارزیابی احتمال تاثیر سیمواستاتین بر روند استخوان سازی در نقیصه تجربی ایجاد شده در استخوان متراکم فمور موش صحرایی به عنوان الگوی آزمایشگاهی می‌باشد.

روش‌کار: این مطالعه تجربی آزمایشگاهی برروی ۳۰ سر موش صحرایی نر نژاد Sprague dawley انجام شد. موش‌ها به صورت تصادفی به ۳ گروه (آزمایش و شاهد) تقسیم شدند. پس از القای بیهوشی عمومی با استفاده از مته دندانپزشکی سوراخی به قطر ۲ میلی‌متر در عرض استخوان فمور تا رسیدن به کانال مدولاری ایجاد شد. پس از جراحی، گروه شاهد سرم فیزیولوژی به صورت خوراکی دریافت نمود و گروه‌های آزمایش ۱ و۲ به ترتیب ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم سیمواستاتین به صورت خوراکی دریافت نمودند. ۴۵ روز پس از جراحی، موش‌ها آسان‌کشی شده و مقاطع هیستوپاتولوژیک از محل نقیصه ایجاد شده تهیه و رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین انجام گردید و مورد ارزیابی هیستوپاتولوژی و هیستومورفومتری قرار گرفت. جهت آنالیز داده‌ها از آزمون آماری (ANOVA) کروسکال والیس و آزمون تعقیبی یو-من ویتنی و بسته نرم‌افزاری SPSS ویرایش ۱۸ استفاده شد.

یافته‌ها: در گروه شاهد محل نقیصه توسط استخوان نابالغ به همراه فضاهایی از مغز استخوان پر شده بود و یک استخوان سازی ضعیفی در محل نقیصه قابل مشاهده بود. در گروه‌های آزمایش مقادیر فراوانی از ترابکول‌های استخوانی جوان شکل گرفته بود که به صورت سازمان یافته به نظر می‌رسید. نتایج ارزیابی هیستومورفومتری نشان داد که سیمواستاتین دارای تاثیر معنی‌داری در التیام استخوان در گروه‌های مورد آزمایش دوم و سوم نسبت به گروه شاهد می‌باشد، اما تاثیر معنی‌داری مابین دو گروه دریافت کننده دوز پایین و بالای سیمواستاتین وجود نداشت.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که سیمواستاتین قادر به تحریک استخوان‌سازی در موش صحرایی می‌باشد.

کلیدواژه‌ها: سیمواستاتین، التیام استخوان، موش صحرایی، هیستوپاتولوژی، هیستومورفومتری

مقدمه

تحقیقات انجام گرفته روی ترمیم شکستگی‌های استخوانی، بیانگر این موضوع است که عامل زمان در روند بهبودی موثر می‌باشد. این نتیجه، حاصل ارزیابی خصوصیات مکانیکی و هیستوپاتولوژی ناحیه شکستگی بوده که هر دو مورد، تاثیر عامل زمان را در ترمیم شکستگی استخوان تایید کردند؛ به این صورت که هر چه التیام سریع‌تر شکل بگیرد نقیصه استخوانی از قوام واستحکام بیشتری برخوردار خواهد بود و احتمال عدم جوش خوردگی یا جوش خوردگی با تاخیر کمتر شده و نیز بروز عفونت و عدم موفقیت در جراحی ارتوپدی کمتر خواهد شد (۳-۱). مطالعات زیادی وجود دارند که اثر تقویتی داروهای مختلف بر استخوان‌سازی را نشان می‌دهند. حال این سوال پیش می‌آید که آیا می‌توان از دارو یا داروهایی استفاده کرد که مدت زمان التیام را کاهش دهد؟

سیمواستاتین یکی از داروهای استاتینی پایین آورنده چربی و کلسترول خون می‌باشد. مطالعاتی در خصوص افزایش استخوان‌سازی و جلوگیری از بازجذب استخوان توسط سیمواستاتین وجود دارد (۴و ۵). همچنین به

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-03-29]

اثرات ضد التهابی آن بوسیله کاهش اینترلوکین-۶ و اینترلوکین-۸ اشاره شده است(۶).

مطالعات زیادی برای اثبات تاثیر تقویتی استخوان در استعمال موضعی استاتین‌ها در نمونه‌های حیوانی انجام شده است و تاثیر سیمواستاتین در افزایش حجم بافت استخوان، سرعت شکل‌گیری استخوان و استحکام بافت اسفنجی استخوان ثابت شده است(۷).

مکانیسم اثر مختلفی برای تاثیر سیمواستاتین در بافت استخوان پیشنهاد شده است. سیمواستاتین می‌تواند استئوبلاست‌ها را با فعال نمودن BMP-2 تحریک نماید؛ همچنین کاهش تعداد استئوکلاست‌ها، کاهش فعالیت سرمی اسید فسفاتاز b5، و کاهش فعالیت استئوکلاست‌ها در مطالعات هیستولوژیکی بعد از تجویز خوراکی سیمواستاتین دیده شده است (۴). سیمواستاتین همچنین فعالیت آلکالین فسفاتاز و مینرالیزه شدن استخوان را افزایش داده و بیان سیالوپروتئین استخوان، استئوکلسین و کلاژن I را افزایش می‌دهد(۶).

گزارش شده است که سیمواستاتین فاکتور رشد آندوتلیالی عروقی (Vascular Endothelial Growth Factor-VEGF) را تحریک می‌کند که به شکل وابسته به دوز انتشار می‌یابد. محققان پیشنهاد کرده‌اند که سیمواستاتین تفکیک استئوبلاست‌ها را افزایش داده و با تحریک VEGF، باعث شکل‌گیری استخوان متراکم می‌گردد(۸).

بنابراین مطالعات صورت گرفته از این فرضیه که سیمواستاتین می‌تواند سبب افزایش تشکیل استخوان گردد، حمایت می‌کند. هدف از انجام این مطالعه ارزیابی تاثیر سیمواستاتین در التیام نقیصه ایجاد شده در استخوان متراکم فمور در مدل حیوانی موش صحرایی می‌باشد که به صورت ارزیابی هیستوپاتولوژی و هیستومورفومتری صورت گرفته است.

روش کار

این مطالعه تجربی آزمایشگاهی روی ۳۰ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد SD (Sprague-Dawley) با وزن تقریبی ۳۰۰-۲۵۰ گرم و سن ۱۰ هفته در مرکز تحقیقات دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز انجام شد. موش‌ها از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز تهیه گردید. پس از انتقال به بخش جراحی به منظور پرهیز از استرس و سازگار شدن با محیط جدید، هیچ‌گونه آزمایشی به مدت یک هفته روی آن ها انجام نشد. موش ها در درجه حرارت ۲±۲۳ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی هفتاد درصد، چرخه روشنایی-تاریکی ۱۲ ساعت و در قفس‌های جداگانه نگهداری شدند. تغذیه با استفاده از پلت آماده مخصوص حیوانات آزمایشگاهی صورت گرفته و آب نیز به طور آزاد در اختیار حیوانات قرار گرفت. موش‌ها به صورت تصادفی به ۳ گروه برابر با ۱۰ سر موش در هر گروه تقسیم شدند. پروتکل این مطالعه مطابق اصول اخلاقی مورد تایید کمیته های بین المللی حمایت از حقوق حیوانات آزمایشگاهی طراحی شده است.

به منظور ایجاد بیهوشی از کتامین (Ketamine 10%, Alfasan,Woerden-Holland) به میزان ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و زایلازین (Xylazin 2%, Alfasan,Woerden-Holland) به مقدار ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت تزریق داخل صفاقی استفاده شد. پس از ایجاد بیهوشی، ناحیه ستیغ لگنی تا مفصل زانوی اندام حرکتی خلفی چپ به صورت معمول آماده جراحی گردید. برشی به طول ۳ سانتی‌متر روی پوست بخش جانبی اندام خلفی چپ به موازات استخوان فمور ایجاد گردید. فاسیا و بافت‌های همبندی زیر جلدی به صورت کُندکاری جدا گردید و پس از جداسازی عضلات از محل اتصال آن‌ها به همدیگر، استخوان فمور در معرض دید قرار گرفت.

با استفاده از مته دندانپزشکی و حداکثر سرعت چرخش ۶۰۰۰ دور در دقیقه سوراخی به قطر ۲ میلی‌متر در عرض استخوان فمور تا رسیدن به کانال مدولاری ایجاد شد. برای اطمینان از صحیح بودن نحوه انجام جراحی، موضع با نرمال سالین شستشو داده شد. نقیصه ایجاد شده به صورت خالی رها شده و عضلات ناحیه با استفاده از نخ بخیه قابل جذب سنتتیک پلی‌گلی‌کولات ۰-۴ ساخت کارخانه سوپا به صورت ساده سرتاسری بخیه گردید. پوست محل برش نیز توسط نخ بخیه سیلک ۳ صفر ساخت کارخانه سوپا به صورت تکی ساده بخیه گردید.

بعد از به هوش آمدن کامل، حیوانات به قفس‌های مخصوص خود منتقل و در اختیارشان آب و غذا قرار گرفت. جهت جلوگیری از عفونت های احتمالی، روزانه ۴۰۰۰۰ واحد پنی‌سیلین G (شرکت داروسازی جابربن

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-03-29]

حیان) و ۵ میلی‌گرم جنتامایسین (شرکت داروسازی البرز دارو) به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت عضلانی به مدت ۵ روز تزریق شد.

پس از ایجاد نقیصه استخوانی به گروه اول که به عنوان گروه شاهد در نظر گرفته شد، ۱ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی به‌طور روزانه و به مدت ۴۵ روز به صورت خوراکی توسط سوند مری خورانده شد. همچنین به موش‌های گروه‌های دوم و سوم نیز پس از ایجاد نقیصه استخوانی، به ترتیب ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن داروی سیمواستاتین (قرص سیمواستایتن ۲۰ میلی‌گرمی، ساخت شرکت داروسازی آریا) که در ۱ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی تهیه شده بود، به‌طور روزانه و در یک ساعت معین، به مدت ۴۵ روز توسط سوند مری خورانده شد(۹). کلیه مراحل آزمایش (شامل تیمار، نمونه‌برداری و ارزیابی هیستوپاتولوژی) به صورت کورسازی انجام گردید.

ارزیابی هیستوپاتولوژی

به منظور ارزیابی هیستوپاتولوژی در روز ۴۶ پس از جراحی، موش‌ها ابتدا توسط اتر بیهوش، سپس با تزریق دوز بالای تیوپنتال سدیم (۲۰ میلی‌گرم بر اساس کیلوگرم) به صورت داخل صفاقی آسان‌کشی شدند. پس از برش پوست، فاسیا و عضلات از روی کالوس استخوانی کنار زده شد. استخوان فمور جدا و در محلول فرمالین بافر ۱۰ درصد قرار داده شد. پس از پایدار شدن نمونه‌ها، کلسیم گیری از بافت استخوان توسط محلول اسیدنیتریک ۱۰ درصد انجام گردید. از هر نمونه برش‌های پی‌درپی به ضخامت ۵ میکرومتر از محل ترمیم نقیصه استخوانی تهیه شد. مقاطع تهیه شده به روش هماتوکسیلین ـ ائوزین رنگ‌آمیزی شدند و با استفاده از میکروسکوپ نوری مدل نیکون (ECLIPSE E200, Japan) از لحاظ ریزبینی مورد ارزیابی قرار گرفتند.

ارزیابی هیستومورفومتری

برای ارزیابی هیستومورفومتری توسط اندازه گیری خطی از طریق خطوط مشبک متقاطع و توسط یک عدسی چشمی مشبک، حاوی ۱۰۰ خانه مربعی، با تعیین درصدی از نقیصه استخوانی که توسط اجزای ترمیم شامل ۱) مغز استخوان، ۲) استخوان نابالغ و ۳) استخوان لاملار (تیغه‌ای) اشغال شده بود، صورت پذیرفت(۱۰). اجزای بافتی مذکور با بزرگ نمایی ۴۰× و نشانگر ماوس، تعیین و مورد سنجش قرار گرفتند. مغز استخوان با سلول های چربی فراوان و بافت همبند با حضور تعداد فراوانی فیبروبلاست و رشته های کلاژن مشخص گردید. به منظور تعیین مقادیر نرمال استخوان لاملار، استخوان تیغه‌ای و مغز استخوان، قطعه استخوانی سالم اندام حرکتی مقابل نیز جدا و مورد ارزیابی هیستومورفومتری قرار گرفت.

ارزیابی آماری

با توجه به نتایج آزمون همگونی واریانس‌ها و آزمون توزیع نرمال دادها (کولموگرواسمیرنوف) داده‌های به دست آمده شامل درصدی از نقیصه استخوانی که توسط اجزای ترمیم شامل مغز استخوان، استخوان نابالغ و استخوان لاملار (تیغه‌ای) اشغال شده، به صورت میانگین و انحراف استاندارد ارائه شد و اختلاف معنی دار بین گروه‌ها توسط آزمون آماری (ANOVA) کروسکال والیس و آزمون تعقیبی یو-من ویتنی و α=۰/۰۵، در سطح معنی‌داری $p<$۰/۰۵ توسط بسته نرم‌افزاری SPSS ویرایش ۱۸ برآورد گردید.

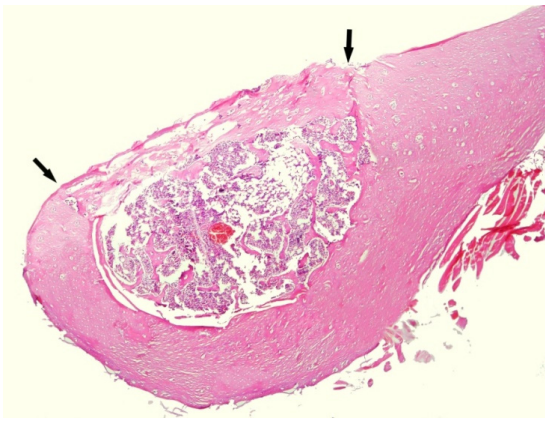
یافته‌ها

یافته‌های هیستوپاتولوژی

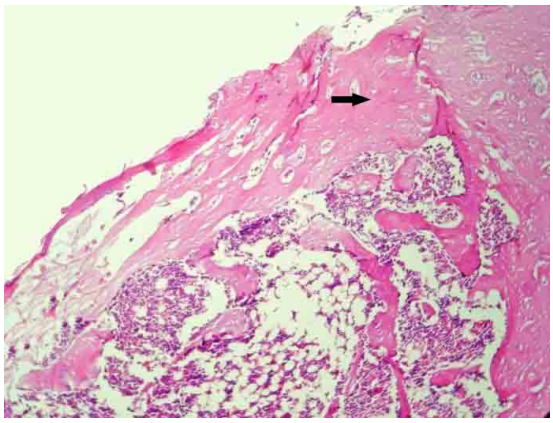
ریزبینی جایگاه ترمیم در موش‌های گروه شاهد ۴۵ روز پس از جراحی نشان داد که نقیصه ایجاد شده در قسمت میانی دیافیز استخوان فمور توسط اسپیکول‌های استخوان نابالغ پر شده و مابین استخوان‌های تازه تشکیل فضاهای وسیعی از مغز استخوان وجود داشت. استخوان تازه تشکیل نابالغ در محل اتصال آن با استخوان قدیمی، توسط استخوان تیغه‌ای اولیه در حال جایگزینی بود (تصاویر ۱ و۲).

در موش‌های گروه تیمار با سیمواستاتین (۱۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) نقیصه استخوانی توسط بافت استخوان نابالغ و استخوان تیغه ای ترابکولی اولیه پوشیده و مسدود شده بود، لکن استخوان تازه تشکیل از تراکم زیادی برخوردار نبود؛ به‌طوری‌که مابین تیغه‌های استخوانی تازه تشکیل فضاهای مغز استخوانی قابل مشاهده بود. با این وجود، سیستم هاورسی در این مکان به تدریج در حال شکل‌گیری بود. همچنین عدم

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-03-29]



تصویر ۱. نمای ریزبینی از جایگاه ترمیم نقیصه ایجاد شده در استخوان متراکم فمور یک موش صحرایی از گروه شاهد. به اسپیکول های استخوان نابالغ تازه تشکیل و فضاهای وسیع مغز استخوانی مابین آن ها که قسمت اعظم نقیصه (فضای بین دو پیکان) را پر کرده توجه فرمائید (هماتوکسیلین-ائوزین، بزرگ نمایی ۱۰۰×).



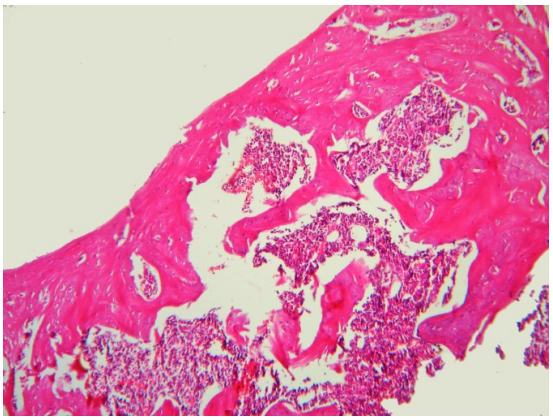
تصویر ۲. نمای ریزبینی با درشت نمایی بیشتر از جایگاه ترمیم نقیصه ایجاد شده در استخوان متراکم فمور یک موش صحرایی از گروه شاهد. استخوان نابالغ قسمت اعظم نسج ترمیمی را در محل نقیصه به خود اختصاص داده است. استخوان نابالغ تازه تشکیل در محل ارتفاق با استخوان قدیمی مجاور نقیصه (پیکان)، در حال جایگزینی با استخوان تیغه ای اولیه می باشد (هماتوکسیلین-ائوزین، بزرگ نمایی ۴۰۰×).

پیوستگی بین استخوان تازه تشکیل و استخوان قدیمی دیده می‌شد؛ به‌طوری‌که فضای باریکی مابین این دو استخوان وجود داشت (تصاویر ۳ و ۴).

در موش‌های گروه تیمار با سیمواستاتین (۲۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) لایه نسبتاً باریکی از استخوان متراکم اولیه و مقادیر اندکی از استخوان نابالغ در قسمت سطحی نقیصه با تشکیل پلی فضای نقیصه را مسدود کرده بود. در این گروه نیز استخوان تازه تشکیل با استخوان قدیمی پیوسته نبود و شکاف باریکی بین استخوان جدید و قدیمی همچنان وجود داشت.



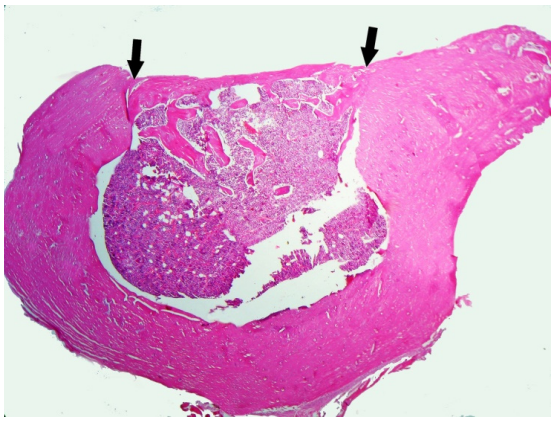
تصویر ۳. نمای ریزبینی از جایگاه ترمیم نقیصه ایجاد شده در استخوان متراکم فمور یک موش صحرایی از گروه تیمار با دوز ۱۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن. نقیصه استخوانی توسط بافت استخوان نابالغ و استخوان تیغه ای ترابکولی اولیه همراه با فضاهای مغز استخوانی مابین آن ها پر شده است (فضای بین دو پیکان). عدم تولید کافی ماتریکس آلی استخوانی و کلسیفیکاسیون آن مانع از ایجاد تراکم در توده استخوانی تازه تشکیل و در نهایت، تشکیل استخوان متراکم شده است. استخوان تازه تشکیل با استخوان قدیمی پیوسته و مداوم نبوده و شکاف مشخصی بین آن ها از هر دو طرف وجود دارد. (هماتوکسیلین-ائوزین، بزرگ نمایی ۱۰۰×).



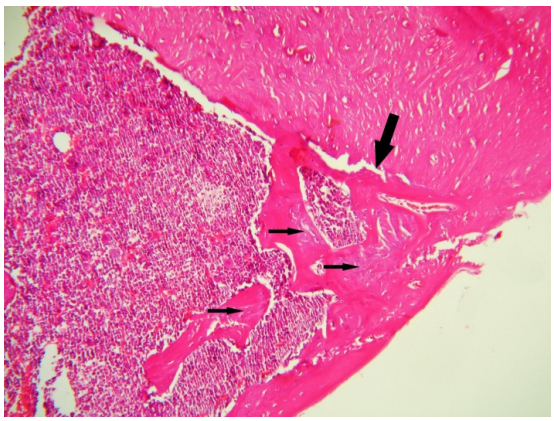
تصویر ۴. نمای ریزبینی با درشت نمایی بیشتر از جایگاه ترمیم نقیصه ایجاد شده در استخوان متراکم فمور یک موش صحرایی از گروه تیمار با دوز ۱۰ میلی گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن. فضاهای مغز استخوانی مابین تیغه‌های نابالغ و ترابکول‌های تازه تشکیل استخوانی قابل مشاهده هستند (هماتوکسیلین-ائوزین، بزرگنمایی ۴۰۰×).

استخوان شکل گرفته در محل نقیصه از تراکم چندانی برخوردار نبود، لکن در این گروه نیز نسبت به گروه شاهد لایه‌های استخوانی به هم فشرده‌تر گشته و سیستم هاورس در حال شکل گیری بود (تصاویر ۵ و ۶). از لحاظ کیفیت ترمیم محل نقیصه، تفاوت قابل ملاحظه‌ای بین دو گروه تیمار با دوز ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم سیمواستاتین مشاهده نشد ($p<۰/۰۰۱$).

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-03-29]



تصویر ۵. نمای ریزبینی از جایگاه ترمیم نقیصه ایجاد شده در استخوان متراکم فمور یک موش صحرایی از گروه تیمار با دوز ۲۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلو گرم وزن بدن. نقیصه استخوانی توسط بافت استخوان نابالغ و استخوان تیغه ای ترابکولی اولیه همراه با فضاهای مغز استخوانی مابین آن ها پر شده است (فضای بین دو پیکان). ترابکول های تازه تشکیل استخوانی که به دلیل عدم تولید کافی ماتریکس استخوانی و کلسیفیکاسیون آن به استخوان متراکم اولیه تمایز نیافته‌اند، مشخص می‌باشند. عدم پیوستگی و وجود شکاف بین استخوان تازه تشکیل و استخوان قدیمی همچنان برقرار می‌باشد (هماتوکسیلین-ائوزین، بزرگنمایی ۱۰۰×).



تصویر ۶. نمای ریزبینی از جایگاه ترمیم نقیصه ایجاد شده در استخوان متراکم فمور یک موش صحرایی از گروه تیمار با دوز ۲۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلو گرم وزن بدن. ساختار ترمیم، وجود شکاف (پیکان ضخیم) مشخصی را در سطح مشترک استخوان تازه تشکیل متراکم و استخوان قدیمی موجود نشان می‌دهد. تیغه‌های متراکم اولیه حاوی مقادیر اندکی استخوان نابالغ (پیکان‌های نازک) در قسمت مرکزی خود می باشند (هماتوکسیلین-ائوزین، بزرگنمایی ۴۰۰×).

یافته‌های هیستومورفومتری

ارزیابی نتایج هیستومورفومتری به‌دست آمده نشان-دهنده آن است که مقادیر استخوان لاملار شکل گرفته در گروه‌های آزمایش دوم و سوم به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد و کمتر از استخوان سالم می‌باشد ($p<0/001$). مقدار استخوان نابالغ و مغز استخوان در گروه شاهد به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه‌های آزمایش دوم و سوم می‌باشد ($p<0/001$).

در مقایسه دو به دو مابین گروه‌های مورد مطالعه از لحاظ میزان تشکیل استخوان لاملار تفاوت معنی‌داری بین گروه سیمواستاتین با دوز پایین و گروه شاهد وجود دارد. همچنین مابین گروه سیمواستاتین با دوز بالا و گروه شاهد نیز تفاوت معنی‌دار می‌باشد ($p<0/001$)، ولی تفاوت معنی‌داری بین دو گروه سیمواستاتین با دوز بالا و پایین از لحاظ میزان تشکیل استخوان لاملار مشاهده نمی‌شود ($p=0/080$). نتایج ارزیابی هیستومورفومتری ترمیم و مقایسه آن مابین گروه‌های مورد آزمایش، در جدول ۱ ارائه گردیده است.

بحث و نتیجه گیری

در بررسی حاضر، نتایج ریزبینی ساختار ترمیم حکایت از استخوان‌سازی داخل غشایی در نقیصه ایجاد شده در استخوان متراکم فمور موش‌های صحرایی دارد. در این مطالعه تجربی به دلیل آنکه کانال ایجاد شده دارای قطر محدودی بود، التیام تنها با فعال شدن سلول‌های استئوپروژنیتور آندوستی که قابلیت تبدیل شدن به استئوبلاست‌ها را دارند، صورت گرفته است. با شکل‌گیری استخوان نامنظم و نابالغ و با گذشت زمان تغییراتی در اسپیکول‌های استخوان نابالغ پدید آمده و با منظم شدن رشته‌های کلاژن در آن ها به استخوان‌های منظم بالغ تبدیل شده بودند که به این نوع استخوان سازی، استخوان سازی درون غشایی اطلاق می‌گردد(۱۱و ۱۲).

در گروه شاهد که پس از ایجاد نقیصه استخوانی مداخله دارویی انجام نشده بود، تبدیل بافت همبندی به استخوان و شکل‌گیری التیام از وسعت و شدت بالایی برخوردار نبود و پس از گذشت ۴۵ روز تنها لایه نازکی از استخوان نابالغ که فضاهای وسیعی از مغز استخوان در بین آن دیده می‌شد تشکیل شده بود. این در حالی است که در گروه‌های تیمار با سیمواستاتین مقادیر مختلفی از تیغه‌های استخوانی تازه تشکیل در محل نقیصه مشاهده می‌شد که نسبت به گروه شاهد سازمان یافته و منظم‌تر بودند.

در گروه تیمار با سیمواستاتین با دوز ۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن لایه نسبتاً باریکی از استخوان متراکم اولیه به همراه استخوان‌های نابالغ روی نقیصه تشکیل شده بود. این در حالی است که

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-03-29]

جدول ۱- مقایسه گروه‌های مورد مطالعه از لحاظ اشغال جایگاه ترمیم توسط اجزای استخوانی بر حسب درصد (تعداد موش‌ها در هر گروه ۱۰ سر می‌باشد. داده‌ها به صورت میانگین و انحراف استاندارد ارائه شده است)

	استخوان سالم	گروه اول (شاهد)	گروه دوم (سیمواستاتین ۱۰mg/kg)	گروه سوم (سیمواستاتین ۲۰mg/kg)
استخوان لاملار	۹۵/۱۰±۱/۵۹[a]	۱۳/۱۰±۲/۰۲[b]	۴۳/۵۰±۲/۵۰[c]	۴۶±۲/۷۰[c]
استخوان نابالغ	۴/۲۰±۱/۳۱[a]	۳۷/۲۰±۲/۲۵[b]	۲۹/۱۰±۱/۵۹[c]	۲۶/۲۰±۱/۵۴[d]
مغز استخوان	۰/۸۰±۰/۶۳[a]	۴۹/۷۰±۲/۸۶[b]	۲۷/۴۰±۱/۷۷[c]	۲۷/۸۰±۱/۳۱[c]
کروسکال والیس	p=۰/۰۰	p=۰/۰۰	p=۰/۰۰	p=۰/۰۰

a b c: حروف غیر مشابه نشان‌دهنده معنی‌دار بودن اختلاف در هر ردیف می‌باشد.

افزایش دوز دارو به ۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تغییر چندانی از لحاظ ارتقاء و بهبود کیفیت التیام ایجاد نکرده است.

چنانچه از نتایج هیستومورفومتری نیز بر می‌آید قسمت اعظم نقیصه در گروه شاهد توسط استخوان نابالغ و فضاهای وسیع مغز استخوان مابین آن پر شده است. استخوان نابالغ و فضای مغز استخوان به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه‌های آزمایش دوم و سوم می‌باشد و مقدار استخوان لاملار تشکیل شده در گروه شاهد بسیار کم می‌باشد. این در حالی است که در گروه‌های آزمایش دوم و سوم مقدار استخوان لاملار به طور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد می‌باشد که نشان دهنده یک استخوان‌سازی فعال نسبت به گروه‌های دیگر می‌باشد، ولی با این حال مقدار استخوان لاملار از مقدار طبیعی آن در استخوان سالم کمتر می‌باشد.

مقایسه بین دو گروه دریافت کننده سیمواستاتین با دوز بالا و پایین نشان می‌دهد که با افزایش دوز دارو تفاوت معنی‌داری در مقدار استخوان لاملار تشکیل شده بوجود نمی‌آید. ارزیابی نتایج هیستوپاتولوژی و هیستومورفومتری به‌دست آمده در این تحقیق نشان دهندهٔ آن است که داروی سیمواستاتین باعث تسریع روند استخوان‌سازی می‌شود.

در مطالعه Ozeç و همکاران در سال ۲۰۰۷، که در محل نقیصه تجربی استخوان مانديبول موش صحرایی نژاد ویستار آلبینو مخلوط اسفنج ژلاتینی و سیمواستاتین قرار داده شده بود، میزان استخوان تازه تشکیل ۲۴٪ بیشتر از گروه شاهد بود (۱۳). همچنین گزارش شده است که کوپولیمر اسید لاکتیک/اسید پلی‌گلی‌کوئید با یک میلی‌گرم سیمواستاتین که در داخل ریشه حفره دندان ثنایای مانديبولار کاشت شده، به‌طور موثر باعث تقویت شکل‌گیری استخوان در حفره ریشه دندان گردیده است(۱۴).

Nyan و همکاران در سال ۲۰۰۷ گزارش کردند که ترکیبی از سیمواستاتین و سولفات کلسیم باعث تسریع در التیام استخوان می‌شود (۱۵). Mundy و همکاران در سال ۱۹۹۹ گزارش کردند که حجم استخوان ترابکولار در موش‌هایی که تخمدان آن ها برداشته شده و به مدت ۳۵ روز سیمواستاتین با دوز ۵ تا ۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن را دریافت کردند، افزایش یافته است (۴). مطالعات انجام شده روی حیوانات آزمایشگاهی نشان داده است که دوز بالای سیمواستاتین (۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در هر روز) تشکیل استخوان و بازجذب آن را افزایش می‌دهد و در مواردی که دوز کم سیمواستاتین استفاده می‌شود (۱ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در هر روز) تشکیل استخوان کاهش می‌یابد(۱۶).

در رابطه با فارماکوکینتیک سیمواستاتین، محققان ملاحظه کرده‌اند که دوز ۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در هر روز برای موش صحرایی معادل ۷۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در هر روز برای انسان است.

محاسبات این طور نشان داده‌اند که فرآیندهای متابولیک سیمواستاتین در جوندگان ۱۰ مرتبه نسبت به انسان سریع‌تر انجام می‌گیرد(۱۷). از دیگر اثرات سیمواستاتین ویژگی ضد التهابی موضعی و سیستمیک آن است، اما این ویژگی در استعمال موضعی با دوز بالا تغییر می‌یابد. نشان داده شده که علائم بالینی التهاب را می‌توان با پایین آوردن دوز سیمواستاتین کاهش داد(۱۸).

Montagnani و همکاران در سال ۲۰۰۳ گزارش کردند که سیمواستاتین حجم بافت استخوان، سرعت تشکیل استخوان و توان فشار بافت اسفنجی استخوان

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-03-29]

را افزایش می‌دهد (۱۹). همچنین در مطالعه دیگری که توسط Ayukawa در سال ۲۰۰۴ انجام شده گزارش شده است که استفاده از سیمواستاتین در اطراف ایمپلنت تتانیومی باعث افزایش دانسیته استخوان اطراف ایمپلنت می‌گردد(۲۰). مطالعه نتایج به دست آمده از تحقیقات قبلی، نتایج این مطالعه را مورد تایید قرار می‌دهد و به این امر که سیمواستاتین سبب افزایش استخوان‌سازی می‌شود، دلالت می‌نماید.

آسیب‌شناسی بافتی جایگاه ترمیم نقیصه استخوانی در این مطالعه، نشان می‌دهد که سیمواستاتین سبب افزایش استخوان‌سازی شده و می‌تواند التیام نقیصه استخوانی را تسریع بخشد. بنابراین می‌توان بعد از انجام کارآزمایی‌های بالینی تصادفی، سیمواستاتین را در انسان‌هایی که نیاز به ترمیم استخوان دارند، مورد استفاده قرار داد. لکن، تعیین دقیق مکان و مکانیسم یا مکانیسم های مؤثر در عملکرد فارماکولوژیکی این دارو و میزان مصرف آن در مورد انسان به مطالعات آتی نیاز دارد.

تقدیر و تشکر

مقاله حاضر برگرفته از پایان‌نامه دکترای حرفه‌ای دامپزشکی می‌باشد.

بدین وسیله نویسندگان مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از معاونت محترم پژوهش و فن‌آوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز و همچنین بخش جراحی و آزمایشگاه پاتولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز ابراز می‌نمایند.

منابع

1. Blokhuis TJ, den boer FC, Bramer JA, van Lingen A, Roos JC, Bakker FC, et al. Evaluation of strength of healing fractures with dual energy Xray absorptiometry. Clin Orthop Relat Res. 2000;380:260-8.
2. Hara Y, Nakamura T, Fukuda H, Havada Y, Nezu Y, Tagawa M. Changes of biomechanical characteristics of the bone in experimental tibial osteotomy model in the dog. J Vet Med Sci. 2003;65(1):103-7.
3. Kim JC, Crawford Downs J, Azula ME. Devon G. Time scale for periosteal re-adhesion after brow lift. Laryngoscope. 2004;144(1):50-5.
4. Mundy G, Garrett R, Harris S, Chan J, Chen D, Rossini G, et al. Stimulation of bone formation in vitro and in rodents by statins. Science. 1999; 286:1946-9.
5. Fernández-Tresguerres-Hernández-Gil I, Alobera - Gracia MA, Del-Canto-Pingarrón M, Blanco-Jerez L. Physiological bases of bone regeneration I. Histology and physiology of bone tissue. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2006;11:E47-51.
6. 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; 85:520-3.
7. Gutierrez GE, Lalka D, Garrett IR, Rossini G, Mundy GR. Transdermal application of lovastatin to rats causes profound increases in bone formation and plasma concentrations. Osteoporos Int. 2006;17:1033-42.
8. Takenaka M, Hirade K, Tanabe K, Akamatsu S, Dohi S, Matsuno H, et al. Simvastatin stimulates VEGF release via p44/p42 MAP kinase in vascular smooth muscle cells. Biochem Biophys Res Commun. 2003;301:198-203.
9. Anbinder AL, Junqueira JC, Mancini MNG, Balducci I, da Rocha, Carvalho YR. Influence of simvastatin on bone regeneration of tibial defects and blood cholesterol level in rats. Braz Dent J. 2006;17(4):267-3.
10. Carmagnola D, Berglundh T, Lindhev J. The effect of a fibrin glue on the integration of Bio-Oss® with bone tissue. An experimental study in labrador dogs. J Clin Periodontol Journal of Clinical Periodontology.2002;29(5):377-83.
11. Liacouras PC, Owen JR, Jiranek WA, Wayne JS. Effect of pigmentation on the mechanical and polymerization characteristics of bone cement. J Arthroplasty. 2006;21(4):606-11.
12. Link DP, Van den Dolder J, Jurgens WJ, Wolk JG, Jansen JA. Mechanical evaluation of implanted calcium phosphate cements incorporated with PLGA microparticles. Biomaterials. 2006;27(28):4941-47.
13. Ozeç I, Kiliç E, Gümüş C, Göze F. Effect of local simvastatin application on mandibular defects. J Craniofac Surg. 2007;18:546-50.
14. Wu Z, Liu C, Zang G, Sun H. The effect of simvastatin on remodelling of the alveolar bone following tooth extraction. Int J Oral Maxillofac Surg. 2008;37: 170-76.
15. Nyan M, Sato D, Oda M, Machida T, Kobayashi H, Nakamura T, et al, editors. Bone formation with the combination of simvastatin and calcium sulfate in critical-sized rat calvarial defect. J Pharmacol Sci. 2007; 104:384-6.
16. 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;21:1636-41.
17. Wang JW, Xu SW, Yang DS, Lv RK. Locally applied simvastatin promotes fracture healing in

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-03-29]

ovariectomized rat. Osteoporos Int. 2007;18:1641-50.
18. Thylin MR, McConnell JC, Schmid MJ, Reckling RR, Ojha J, Bhattacharyya I, et al. Effects of simvastatin gels on murine calvarial bone. J Periodontol. 2002;73:1141-8.
19. Montagnani A, Gonnelli S, Cepollaro C, Pacini S, Campagna MS, Franci MB, et al. Effect of simvastatin treatment on bone mineral density and bone turnover in hypercholesterolemic postmenopausal women: a 1-year longitudinal study. Bone. 2003;32:427-33.
20. Ayukawa Y, Okamura A, Koyano K. Simvastatin promotes osteogenesis around titanium implants–a histological and histometrical study in rats. Clin Oral Implants Res. 2004; 15:346-50.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-03-29]

Original Article

Effect of Simvastatin on healing of experimental femoral cortical bone defect in rats

***Daryoush Mohajeri, DVM.** Associate Professor of Pathology, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran (*Corresponding author). daryoushmohajeri@yahoo.com
Ghafour Mousavi, DVM. Assistant Professor of Veterinary Surgery, Department of Clinical Science, Faculty of Veterinary Medicine, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran. gh_mousavi@iaut.ac.ir
Ali Rezaie, DVM. Professor of Veterinary Surgery, Department of Clinical Science, Faculty of Veterinary Medicine, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran. areazaie1@gmail.com
Armin Alimohamadi, DVM. Graduate of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran. armin.alimohammadi@gmail.com

Abstract

Background: Rebuilding and renovation of lost bone whether because of physiologic or pathologic factors was one of the surgeons' motivations from the past. Statins are commonly prescribed cholesterol-lowering drugs; however, it has recently been shown that they also have the beneficial side effect of enhancing bone matrix formation. As a result, this study evaluates the possible osteogenic effect of Simvastatin on the experimental femoral defect in rats.

Methods: This experimental study was conducted on 30 male SD rats. Animals were divided randomly into 3 groups (control and experimental). After induction of general anesthesia, a 2mm hole was made using a dental bit in the width of the femur reaching the medullary channel. After surgery, the control group received orally physiological serum daily and experimental groups 1 and 2 respectively received daily 10 and 20 mg/kg/PO of Simvastatin. Histopathological and histomorphometrical studies for evaluation of bone healing were carried out in experimental rats, which were euthanized after 45 days of the experiment using hematoxylin-eosin (H&E) staining method. For data analysis ANOVA and Tukey tests along with SPSS version 18 was used.

Results: In control group, defect seemed to be filled with woven bone and bone marrow spaces in spite of a poor osteogenic activity. In experiment groups, young bone trabeculae had increased in number and were more organized. Histomorphometric results observed that Simvastatin has significant effect on bone healing in experimental groups 2 and 3 than control group, but no significant effect was observed between groups that received low and high dosage of simvastatin.

Conclusion: The results of this study show that Simvastatin could stimulate osteogenesis in rats.

Keywords: Simvastatin, Bone healing, Rat, Histopathology, Histomorphometry.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-03-29]