



Simvastatinin sıçanlarda spinal füzyona katkısı

Bora BOSTAN¹, Taner GÜNEŞ¹, Murat AŞÇI¹, Cengiz ŞEN², Mehmet Halidun KELEŞTEMUR³,
Mehmet ERDEM⁴, Reşit Doğan KÖSEOĞLU⁵, Ünal ERKORKMAZ⁶

¹Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Tokat;

²Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, İstanbul;

³Melikşah Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Makine Mühendisliği Bölümü, Kayseri;

⁴Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 1. Ortopedi Kliniği, İstanbul;

⁵Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Tokat;

⁶Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyoistatistik Anabilim Dalı, Tokat

Amaç: Statinler kemik morfojenetik proteinlerinin (BMP-2) üretimini uyararak kemik oluşumuna katkıda bulunurlar. Çalışmamızda, sıçanlarda ağız yoluyla simvastatin alımının spinal füzyon üzerine olan etkilerini araştırmayı hedefledik.

Çalışma planı: Yirmi adet sıçan spinal füzyon grubu (SF; n=10) ve spinal füzyon ve simvastatin grubu (SFS; n=10) olarak rastgele iki gruba bölündü. L4-L6 arasına (her sıçanda toplam 2 seviye) spinal füzyon modeli uygulandı. Simvastatin 120 mg/kg/gün dozunda SFS grubundaki sıçanlara ağız yoluyla verildi. Sıçanlar 12. hafta sonunda öldürüldü.

Bulgular: Elle muayenede SF grubunda 2 orta dereceli füzyon tespit edilirken, SFS grubunda psödoartroz görülmedi. Ortalama 3 nokta eğme testi ile füzyonda yetmezlik oluşturan değerler SFS ve SF gruplarında, sırasıyla, 148.80±39.403 Newton ve 123.80±28.479 Newton olarak tespit edildi (p>0.05). Histolojik skorlamalarda SFS grubunda ortalama 9.30 ±0.949 değerle SF grubundan (ortalama: 6.80±2.044) daha iyi sonuçlar elde edildi (p=0.003). Radyolojik değerlendirmede SF grubunda 2 seviyede Derece C ve 18 seviyede Derece A füzyon tespit edilirken, SFS grubunda 1 seviyede Derece C ve 19 seviyede Derece A füzyon tespit edildi.

Çıkarımlar: Sonuçlarımız simvastatinin spinal füzyona katkıda bulunabileceğini ve yüksek kolesterolü yaşlı hastalarda spinal füzyon girişimlerinde ek ilaç olarak kullanılabilceğini önermektedir.

Anahtar sözcükler: BMP; psödoartroz; simvastatin; spinal füzyon; statin.

Fluvastatin, lovastatin, simvastatin, pravastatin ve atorvastatin gibi 3-hidroksi-3-metilglutaril koenzim A redüktazın (HMG-KoA redüktaz) spesifik muadil inhibitörleri kolesterol seviyelerinin düşürülmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır ve çok az yan etkilerle ateroskleroz riskini azaltmaktadır.^[1-3] Özellikle lovastatin ve simvastatinin kemik morfojenetik proteinlerinin (BMP-2) üretimini uyarılmasını sağlayarak kemik oluşumuna ve iyileşmesine katkıda bulunduğu

belirtilmiştir.^[4] Kemik morfojenetik proteinleri kırıkların iyileşmesinde çok önemli düzenleyicilerdir.^[5] Kırık iyileşmesi süreci ile benzerlik gösteren posterior spinal füzyon; spondilolistezis, skolyoz, kifoz, dejeneratif omurga hastalıkları ve omurga tümörleri tedavisinde sıklıkla kullanılan bir yöntemdir.^[6,7] Bu çalışmada, sıçanlarda ağız yoluyla simvastatin alımının spinal füzyon üzerine olan etkilerinin araştırılması hedeflenmiştir.

Gereç ve yöntem

Tüm uygulamalar yerel etik kurul onayı alındıktan sonra yapılmıştır. Ortalama ağırlığı 300 g ve ortalama yaşları 6 (dağılım: 5-6) ay olan yirmi adet Sprague Dawley cinsi erkek sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar polikarbonat kafeslerde ve standart rejimle beslendi. Sıçanlar spinal füzyon (SF; n=10) ve spinal füzyon ve statin alanlar (SFS; n=10) olarak iki eşit gruba rastgele bölündü. Her iki gruptaki sıçanlar cerrahiden önceki 10 gün boyunca çikolata ile beslendiler. Simvastatin (Zocor; Merck, NJ, ABD) ezildi ve toz hali çikolata ile karıştırılarak 120 mg/kg/gün dozunda ağız yoluyla cerrahiden 7 gün önce verilmeye başlandı ve buna cerrahiden sonra 12 hafta süreyle devam edildi. SF grubundaki sıçanlara ise aynı miktarda sadece çikolata verildi. Cerrahi, Dimar ve ark.'nın tarif ettiği tekniğe göre yapıldı.^[7] Anestezi 60 mg/kg ketamin ve 6 mg/kg ksilazin karışımının 0.45 cc'sinin periton içine enjekte edilmesi ile sağlandı. Enfeksiyon profilaksisi kas içine yapılan 100,000 Ü Penisilin G ile yapıldı. Sonrasında sıçanlar küçük bir ameliyat masasına tespit edildi, traşları yapıldı ve ameliyat tarafı %10 povidon iyot ile sterilize edildi.

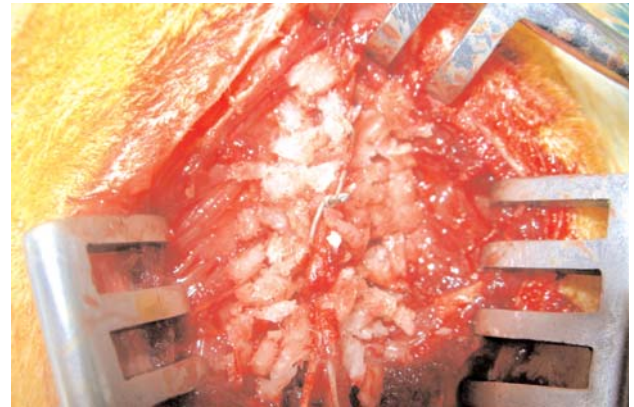
Kuyruktan kemik grefti alınması için kuyruk ampüte edildi. Tüm yumuşak dokular forseps, ronjür ve skalpel ile temizlendi. Beş omur intervertebral disklerinden ayrıldı ve tüm periost sıyrıldı (Şekil 1). Kemik ronjür ile morsalize edildi ve greftlerin gruplar arasında homojen dağıtılabilmesi için ağırlıkları ölçüldü. Ortalama greft miktarı 0.30 g (dağılım: 0.25-0.32 g) olarak belirlendi. Sonrasında posterior spinal füzyon ameliyatı için L3 sakrum arasına dorsal uzunlamasına kesi ile girildi. Cilt altı yağ dokuları keskin diseksiyonla geçildi ve paravertebral kaslar faset eklemlerin laterale kadar otomatik retraktörlerle açıldı. Posteriordaki yumuşak dokuların özenle temizlenmesinin ardından transvers çıkıntıların ve faset eklemlerin dekortikasyonu yüksek hızlı bór (Core Ref 5400-50; Stryker, MI, ABD) ile yapıldı. L4, L5 ve L6'nın (2 seviyeli füzyon amaçlı) spinöz çıkıntısında delik açıldı ve paslanmaz serklaj teli ile "8" figürü şeklinde tespit sağlandı. Tespit sonrası kuyruktan alınan otogreftler posterior lamina ve transvers çıkıntılar boyunca yerleştirildi (Şekil 2). Paraspinal kaslar devamlı dikişle ve insizyon stepler ile kapatıldı.

Bütün sıçanlar 12 hafta hayatta kaldı ve sonrasında karın içi aşırı doz pentobarbital (100 mg/kg) ile öldürüldüler. L2-sakrum arasındaki tüm yumuşak dokular ve kaslar çıkarıldı. Lomber omurlar ve sakrum enblok çıkarıldı. Serklaj telleri çıkarıldı ve füzyon bölgeleri üç cerrah tarafından elle muayene yöntemi ile psödoartroz bulgusu açısından değerlendirildi^[7] (Tablo 1). Koronal ve sagittal plandaki (L4-L5 ve L5-L6) mikro hareketler değerlendirildi. Tüm sıçanların radyografileri çekildi ve Lenke ve ark.'larına göre füzyon kitlesi değerlendirildi^[8] (Tablo 1; Şekil 3 ve 4). Biyomekanik değerlendirme üç nokta eğme test cihazı (Hounsfield H50KM; Hounsfield Test Equipment Ltd., Surrey, İngiltere) ile yapıldı. Spesimenlerin dorsalleri güç uygulayıcının uç kısmına gelecek şekilde cihaza yerleştirildi. Kaynayan noktanın orta noktasına 10 mm/dakika hızında güç yetmezlik oluşuncaya kadar uygulandı. Yetmezlik anındaki güç Newton cinsinden kaydedildi.

Her iki grubun histopatolojik incelemesi yapıldı. Yumuşak dokudan arındırılmış L2-Sakrum arası spi-



Şekil 1. Kuyruğun tüm yumuşak dokuları temizlenmiş. [Bu şekil, derginin www.aott.org.tr adresindeki online versiyonunda renkli görülebilir]



Şekil 2. Kuyruktan alınmış ve morsalize edilmiş kemik greftinin dekortike edilmiş posterior lamina ve faset eklemler üzerine koyulması. [Bu şekil, derginin www.aott.org.tr adresindeki online versiyonunda renkli görülebilir]

nal segment %10'lük formalinde tutuldu, dekalsifiye edildi ve standart hematoksilin eosin boyası ile boyandı. Sonrasında ışık mikroskobu altında inceleme yapıldı. Histolojik değerlendirmeler Huddlestone ve ark.'nın kriterlerine göre yapıldı^[9] (Tablo 1). Spesimen başına dört sahadan inceleme yapıldı (her spesimende 2 seviye ve her seviyenin sağ ve solu). Dört sahadaki skorların ortalamaları alındı.

İstatistiksel analiz

Grupların dağılımlarının değerlendirilmesi Kolmogorov-Smirnov testi ile yapıldı. SF ve SFS grupları arasında biyomekanik üç nokta eğme testi ve histopatolojik skorların karşılaştırılması bağımsız 2 t-testi ile yapıldı. İstatistiksel olarak $p < 0.05$ değerleri anlamlı kabul edildi ve hesaplamalar SPSS (SPSS Inc., IL, ABD) paket programı kullanılarak yapıldı.

Bulgular

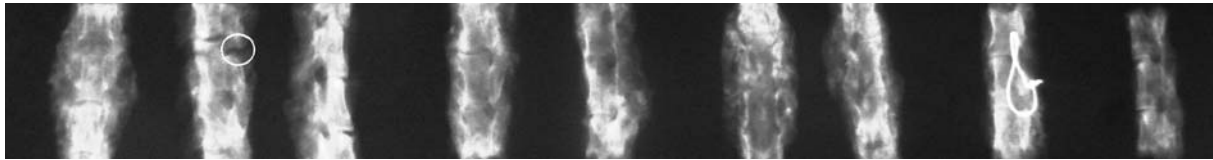
Elle muayene yöntemi ile SF grubundaki 20 seviyenin ikisinde (%90) orta derece füzyon tespit edilirken, tedavi grubunda psödoartroz tespit edilmedi. Ortalama 3 nokta eğme testi ile füzyon alanındaki yetmezlik oluşturan değerler SFS ve SF gruplarında, sırasıyla, 148.80 ± 39.403 Newton ve 123.80 ± 28.479 Newton olarak tespit edildi ($p > 0.05$) (Tablo 2). Histolojik skorlamalarda SFS grubunda 9.30 ± 0.949 değerle SF grubundan (6.80 ± 2.044) daha iyi sonuçlar elde edildi ($p = 0.003$) (Tablo 2; Şekil 5 ve 6). Radyolojik değerlendirmede SF grubunda iki seviyede Derece C füzyon ve 18 seviyede Derece A füzyon tespit edilirken, SFS grubunda ise bir seviyede Derece C ve 19 seviyede Derece A füzyon tespit edildi (Şekil 3 ve 4).

Tablo 1. Füzyonun elle muayene, histolojik muayene ve radyografik değerlendirilmesi.

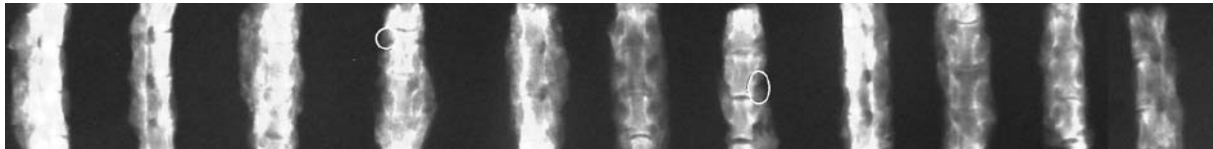
Füzyon derecesi	Elle muayene (Dimar ve ark. ^[7])
Katı	Anteroposterior ve lateral planda mikro hareket yok
Orta	Tek planda mikro hareket
Psödoartroz	Her iki planda belirgin hareket
Füzyon derecesi	Histolojik değerlendirme (Huddlestone ve ark. ^[9])
Derece 1	Fibröz doku
Derece 2	Az kırkırdak ile birlikte baskın olarak fibröz doku
Derece 3	Kırkırdak ve fibröz doku eşit
Derece 4	Tamamen kırkırdak
Derece 5	Az örgülü kemik ile birlikte baskın olarak kırkırdak
Derece 6	Kırkırdak ve örgülü kemik eşit
Derece 7	Az kırkırdakla birlikte baskın olarak örgülü kemik
Derece 8	Tamamen örgülü kemik
Derece 9	Az lamellar kemik ile birlikte baskın olarak örgülü kemik
Derece 10	Lamellar kemik
Füzyon derecesi	Radyografik değerlendirme (Lenke ve ark. ^[8])
A	Belirgin trabeküle olmuş bilateral füzyon kitlesi
B	Tek taraflı geniş muhtemel katı füzyon kitlesi ile karşı taraf küçük füzyon kitlesi
C	Olasılıkla katı olmayan, bilateral ince füzyon kitlesi
D	Kesinlikle katı füzyon yok, bilateral greft rezorpsiyonu mevcut

Tartışma

Posterior spinal füzyon spondilolistezis, skolyoz, kifoz, dejeneratif omurga hastalıkları ve omurga tümörleri tedavisinde sıkça kullanılan bir yöntemdir.^[6] Psödoartrozu engellemek için deneysel ve klinik çalışmalarda heterolog demineralize kemik matriksi, kemik morfogenetik protein-7 ve osteojenik protein-1 gibi yeni öğeler kullanılmıştır.^[10-13] BMP'ler kırık



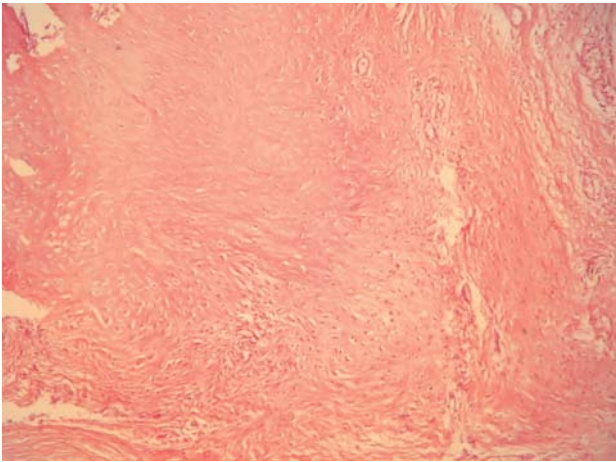
Şekil 3. SFS grubunun radyografisi (çember içinde Derece C füzyon görünüyor).



Şekil 4. SF grubunun radyografisi (çember içlerinde Derece C füzyonlar görünüyor).

iyileşmesinde önemli düzenleyicilerdendir.^[5] Özellikle lovastatin ve simvastatinin BMP-2 üretimini uyarılmasını sağlayarak kemik oluşumuna katkıda bulunduğu ve bu ilaçların ağız yoluyla alınmasının süngerimsi kemik hacminde artışa yol açtığı tespit edilmiştir.^[4] Dahası, anjiyogenez kemik oluşumu için esastır.^[5] Hidrofobik statinler osteoblastlarda vasküler endotelial büyüme faktörlerinin üretimini arttırarak, farklılaşmayı sağlarlar.^[14] Simvastatinin kemik oluşumuna bir başka etkisi de enflamasyonu baskılamasıdır.^[15] Statinler osteoklast aktivasyonu için gerekli olan farnesil-pirofosfat da dahil ve kolesterol ve diğer yolların oluşumunda anahtar etkisi olan HMG-KoA redüktaz enzimini baskırlarlar.^[16] HMG-KoA redüktaz inhibitörlerinin hipokolesterolemik etkileri kalp üzerinde olumlu sonuç verir.^[17,18] Statinlerin çok az yan etkileri olduğu belirtilmiştir.^[3]

Bir başka statin olan serivastatinin yüksek dozlarının (1.0 mg/kg/gün) sıçan modelinde allogreftin konuk dokuya kaynamasını uyardığı belirtilmiş ve bu etkisi BMP-2 ve vasküler endotelial büyüme faktörlerini artırmasına bağlanmıştır.^[19] Sıçanlar spinal füzyon modelleri için çok uygun hayvanlardır.^[10,20] Çalışmamızda Huang-Brown Guhad'ın geliştirdiği ve çok sayıda sıçana uzun süreli ilaç vermede etkili ve güvenli bir yöntem olduğu kanıtlanmış olan bu yöntemi kullandık.^[21] Douglas ve ark.'nın yaptığı metaanaliz çalışmasında statinlerin, kalça ve omurga dışı kırıkların oranında belirgin azalmaya neden olduğu belirtilmiştir.^[22]

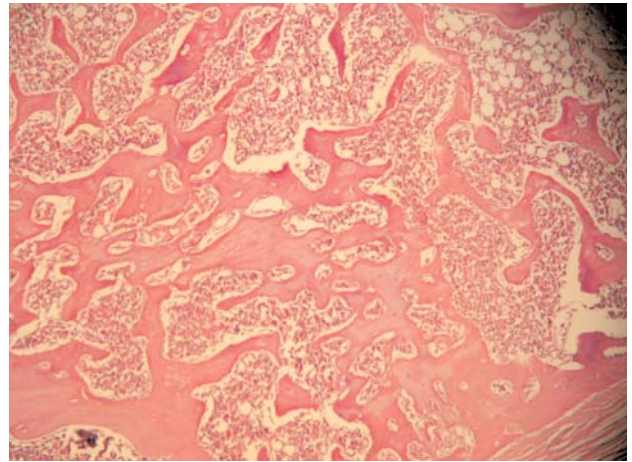


Şekil 5. Ağırlıklı olarak kırık dokusu olan füzyon alanı (H-E x30). [Bu şekil, derginin www.aott.org.tr adresindeki online versiyonunda renkli görülebilir]

Tablo 2. Biyomekanik ve histolojik sonuçlar.

Gruplar	Biyomekanik ortalama±SS (Newton)	Histolojik ortalama±SS
SF grubu	123.80±28.479	6.80±2.04
SFS grubu	148.80±39.403	9.30±0.94
p	0.121	0.003

Sistemik ve lokal simvastatin uygulanmasının kemik iyileşmesine etkilerini araştıran çeşitli çalışmalar mevcuttur.^[19,23-30] Wong ve Rabie, onbeş tavşanın parietal kemiklerinde defekt oluşturup, beşinde simvastatin kollajen greftle onarım yapmışlar, beşinde sadece kollajen greft kullanmış ve diğer beşinde ise defekt boş bırakılmıştır.^[24] Simvastatin kollajen greft kullanılan grupta kollajen greft kullanılan gruba göre %308 daha fazla yeni kemik oluşumu görülmüştür. Wong ve Rabie büyük defektlerde otojen greftlerle birlikte statin kollajen greftlerin osteoindüktif etkilerinden yararlanılabileceğini belirtmişlerdir.^[24] Mundy ve ark. cilt altına simvastatin enjeksiyonunun 21 günde sıçan kafatasında %50 yeni kemik oluşumuna neden olduğunu ve fibroblast büyüme faktörü ile benzer sonuçlar doğurduğunu belirtmişlerdir.^[25] Wong ve Rabie, tavşan kafatasına uyguladıkları statin greftlerin 5. günde yeni kemik oluşumuna neden olduğunu tespit etmişler, 14. günde ise bu bölgede fazlasıyla kemik oluştuğunu saptamışlardır.^[26] Stein ve ark. metilsellüloz jel içinde lokal uygulanan simvastatinin



Şekil 6. İyileşme alanında lamellar kemik ve kemik iliği (H-E x20). [Bu şekil, derginin www.aott.org.tr adresindeki online versiyonunda renkli görülebilir]

mandibulada %45 kemik artışına neden olduğunu belirtmişlerdir.^[29] Ma ve ark., çalışmalarında, ağız yoluyla alınan simvastatinin implant çevresi defekt modelinde yeni kemik oluşumu ve seramik rezorpsiyon üzerine etkilerini incelemişler ve etkisiz olduğunu belirtmişler; bunu da ilacın karaciğerde olan ciddi eliminasyonunun doğurduğu yetersiz biyoyararlanımına bağlamışlardır.^[30] Skoglund ve ark., 40 adet sıçan üzerinde 120 mg/kg/gün dozunda ağız yoluyla alınan simvastatinin transvers hacimde %53 artışa, enerji alımında 14. günde %150 artışa neden olduğunu ve kırık oluşturmak için % 63 daha fazla güç gereksinimi yarattığını belirtmişlerdir.^[23] Bu doz hayvanlar için çok yüksek olmasına rağmen ilacın kemik içinde etkin konstrasyona ulaşması için gereklidir. Bununla birlikte, klinik uygulamalarda böylesine yüksek dozların kullanılması mümkün değildir.

Patil ve ark., ağız yoluyla alınan (20 mg/gün) simvastatinin insanlarda distal radius kırıklarında olan etkilerini prospektif, çift kör, randomize kontrollü çalışmalarında incelemişlerdir.^[28] Altmış iki hastayı plasebo ve ilaç gruba olarak ikiye ayırmışlar ve ilaç grubundaki 31 hastada 12 haftanın sonunda, plasebo grubuna göre kırık iyileşmesi yönünden fark tespit etmemişlerdir. Bunun ilacın karaciğerdeki yüksek eliminasyonu sonucu oluşan kemik ve dokulardaki yetersiz ilaç seviyelerine bağlı olduğunu vurgulamışlardır. Bundan dolayı bizim çalışmada da Skoglund ve ark.'nın^[23] çalışmasındaki yüksek doz tercih edilmiştir. Yee ve ark., tavşanlarda ağız yoluyla alınan simvastatinin spinal posterolateral füzyona etkisini araştırmışlar ve etkisiz olduğunu tespit etmişlerdir. Ancak kullandıkları dozun çok düşük olduğunu belirtmişler (6.5 mg/kg/gün) ve etkisiz oluşunu da buna bağlamışlardır.^[31] Bu gözlem nedeniyle, bu sorunun üstesinden gelmek için yüksek dozda (120 mg/kg/gün) ilaç kullandık.

Çalışmamızda her ne kadar, ortalama 3 nokta eğme testinde SFS grubunda füzyonu bozacak güç (148.80±39.403 N) SF grubundakinden (123.80±28.479 N) daha yüksek olsa da fark istatistiksel olarak anlamlı değil idi (p>0.05). Bununla birlikte elle muayene metoduyla SF grubunda 2 seviyede orta derecede füzyon tespit edilirken, SFS grubunda hiç psödoartroz tespit edilmedi. Biyomekanik testler her zaman elle muayene ve radyografik muayene ile paralellik göstermeyebilir. Bazı çalışmalar elle muayenenin spinal füzyonu değerlendirmede altın stan-

dart olduğunu belirtmiştir.^[7,10,20,32] Çalışmamızdaki sonuçlar da bunu destekler niteliktedir. Histopatolojik sonuçlarımız, radyografik sonuçları ve elle muayene sonuçlarıyla ilişkilidir. SF grubunda orta derecede füzyon olan iki spesimende, radyografik olarak Derece C füzyon ve histolojik olarak Derece 3 ve 5 füzyon tespit edilmişti.

Sonuç olarak simvastatinin spinal füzyona katkıda bulunabileceğini düşünüyoruz. Simvastatinin karaciğerdeki eliminasyonu düşürülerek kemik içinde etkin konsantrasyonda bulunması sağlanabilir ise, yüksek kolesterolü yaşlı hastalarda spinal füzyon girişimlerinde destekleyici ilaç olarak kullanılabilir.

Çıkar Örtüşmesi: Çıkar örtüşmesi bulunmadığı belirtilmiştir.

Kaynaklar

1. Garrett IR, Gutierrez G, Mundy GR. Statins and bone formation. *Curr Pharm* 2001;7:715-36.
2. Deedwania PC, Hunninghake DB, Bays HE, Jones PH, Cain VA, Blasetto JW; STELLAR Study Group. Effects of rosuvastatin, atorvastatin, simvastatin, and pravastatin on atherogenic dyslipidemia in patients with characteristics of the metabolic syndrome. *Am J Cardiol* 2005;95:360-6.
3. Oxlund H, Andreassen TT. Simvastatin treatment partially prevents ovariectomy-induced bone loss while increasing cortical bone formation. *Bone* 2004;34:609-18.
4. Mundy G, Garrett R, Harris S, Chan J, Chen D, Rossini G, Boyce B, Zhao M, Gutierrez G. Stimulation of bone formation in vitro and in rodents by statins. *Science* 1999; 286:1946-9.
5. Wong RW, Rabie AB. Early healing pattern of statin-induced osteogenesis. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2005;43: 46-50.
6. Drespe IH, Polzhofer GK, Turner AS, Grauer JN. Animal models for spinal fusion. *Spine J* 2005;5:209-16.
7. Dimar JR 2nd, Ante WA, Zhang YP, Glassman SD. The effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on posterior spinal fusions in the rat. *Spine* 1996;21:1870-6.
8. Lenke LG, Bridwell KH, Bullis D, Betz RR, Baldus C, Schoenecker PL. Results of in situ fusion for isthmic spondylolisthesis. *J Spinal Disord* 1992;5:433-42.
9. Huddleston PM, Steckelberg JM, Hansen AD, Rouse MS, Bolander ME, Pater R. Ciprofloxacin inhibition of experimental fracture healing. *J Bone Joint Surg Am* 2000;82:161-73.
10. Moazzaz P, Gupta MC, Gilotra MM, Gilotra MN, Maitra S, Theerajunyaporn T, et al. Estrogen-dependent actions of bone morphogenetic protein-7 on spine fusion in rats. *Spine* 2005;30:1706-11.
11. Salamon ML, Althausen PL, Gupta MC, Laubach J. The effects of BMP-7 in a rat posterolateral intertransverse process fusion model. *J Spinal Disord Tech* 2003;16:90-5.

12. Guizzardi S, Di Silvestre M, Scandroglio R, Ruggeri A, Savini R. Implants of heterologous demineralized bone matrix for induction of posterior spinal fusion in rats. *Spine* 1992;17:701-7.
13. Patel TC, Erulkar JS, Grauer JN, Toriano NW, Panjabi MM, Friedlaender GE. Osteogenic protein-1 overcomes the inhibitory effect of nicotine on posterolateral lumbar fusion. *Spine* 2001;26:1656-61.
14. 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.
15. Edwards CJ, Spector TD. Statins as modulators of bone formation. *Arthritis Res* 2002;4:151-3.
16. Gonyeau MJ. Statins and osteoporosis: a clinical review. *Pharmacotherapy* 2005;25:228-43.
17. Gotto AM Jr, LaRosa JC. The benefits of statin therapy--what questions remain? *Clin Cardiol* 2005;28:499-503.
18. Barter P, Gotto AM, LaRosa JC, Maroni J, Szarek M, Grundy SM, et al. HDL cholesterol, very low levels of LDL cholesterol, and cardiovascular events. *N Engl J Med* 2007;357:1301-10.
19. Ohno T, Shigetomi M, Ihara K, Matsunaga T, Hashimoto T, Kawano H, et al. Skeletal reconstruction by vascularized allogeneic bone transplantation: effects of statin in rats. *Transplantation* 2003;76:869-71.
20. Lee YP, Jo M, Luna M, Chien B, Lieberman JR, Wang JC. The efficacy of different commercially available demineralized bone matrix substances in an athymic rat model. *J Spinal Disord Tech* 2005;18:439-44.
21. Huang-Brown KM, Guhad FA. Chocolate, an effective means of oral drug delivery in rats. *Lab Anim (NY)* 2002;31:34-6.
22. Bauer DC, Mundy GR, Jamal SA, Black DM, Cauley JA, Ensrud KE, et al. Use of statins and fracture: results of 4 prospective studies and cumulative meta-analysis of observational studies and controlled trials. *Arch Intern Med* 2004;164:146-52.
23. Skoglund B, Forslund C, Aspenberg P. Simvastatin improves fracture healing in mice. *J Bone Miner Res* 2002;17:2004-8.
24. Wong RW, Rabie AB. Statin collagen grafts used to repair defects in the parietal bone of rabbits. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2003;41:244-88.
25. 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.
26. Wong RW, Rabie BM. Histologic and ultrastructural study on statin graft in rabbit skulls. *J Oral Maxillofac Surg* 2005;63:1515-21.
27. Skoglund B, Aspenberg P. Locally applied simvastatin improves fracture healing in mice. *BMC Musculoskeletal Disorders* 2007;8:1-6.
28. Patil S, Holt G, Raby N, McLennan AN, Smith K, O'Kane S, et al. Prospective, double blind, randomized, controlled trial of simvastatin in human fracture healing. *J Orthop Res* 2009;27:281-5.
29. Stein D, Lee Y, Schmid MJ, Killpack B, Genrich MA, Narayana N, et al. Local simvastatin effects on mandibular bone growth and inflammation. *J Periodontol* 2005;76:1861-70.
30. Ma B, Clarke SA, Brooks RA, Rushton N. The effect of simvastatin on bone formation and ceramic resorption in a peri-implant defect model. *Acta Biomater* 2008;4:149-55.
31. Yee AJ, Bae HW, Friess D, Roth SM, Whyne C, Robbin M, et al. The use of simvastatin in rabbit posterolateral lumbar intertransverse process spine fusion. *Spine J* 2006;6:391-6.
32. Yee AJ, Bae HW, Friess D, Robbin M, Johnstone B, Yoo JU. Accuracy and interobserver agreement for determinations of rabbit posterolateral spinal fusion. *Spine* 2004;29:1308-13.