

OSTEOPOROZA YENİ ÇÖZÜM

Esra Erdemli* Sibel Serin* Meral Tekelioğlu*

ÖZET

Yaşlı populasyon arttığına, osteoporoz riski altındaki insan sayısı da artmaktadır. Kemik geri emilimini engelleyen ilaçlar bulunmasıyla beraber, osteoporoz tedavisinde asıl ihtiyaç duyulan tedavi, anabolik ajanlarla uygulanmaktadır. Bizim çalışmamızda; kolesterol biyosentezinde ilk basamağı kontrol eden 3-hidroksi-3-metilglutaril Koenzim A redüktazı inhibe ederek etki eden simvastatinin kemik oluşumunu uyardır in vivo olarak sınavlarında gösterilmiştir. Bu çalışmanın amacı; kontrol ve simvastatin uygulandıktan sonra 7., 14. ve 21. günlerde incelenenlere göre farklı gruba ayrılan sınavlarda, normal kemik dokusundaki değişiklikleri belirlemektir. Sağlıklı bir hayvan modelinde izlenen değişiklikler; kalça damar gelişimiyle beraber, kemik oluşum hızlarında ve farklılanmada artış ve yeni osteoid doku oluşumudur.

Anahtar Kelimeler: Osteoporoz, Kemik Oluşumu, Statinler

SUMMARY

New Solution To Osteoporosis

The number of people under the risk of osteoporosis is growing as the elderly population increases. Although there is such of drugs that inhibit bone resorption, the main therapy needed is an anabolic agent for the treatment of osteoporosis. In our study; inhibitor of the enzyme 3-hydroxy-3-methylglutaryl Coenzyme A (HMG-CoA) reductase, simvastatin, which controls the first step in the biosynthesis of cholesterol, has been shown to stimulate bone formation in rats in vivo. The aim of this study is to investigate the changes in normal bone tissue in rats that is grouped to four as a control and 7., 14., 21. day groups following simvastatin injection. The observed effects of the bone in a healthy animal model included advancement of the blood supply, acceleration of the proliferation and differentiation of osteoprogenitor cells and formation of osteoid tissue.

Key Words: Osteoporosis, Bone Formation, Statins

Kemik kaybıyla seyreden hastalıklar özellikle ileri yaş grubunun önemli bir sağlık problemidir. Dünya çapında 100 milyon kişi, kemik mineral yoğunluğunun (Kemik mineral yoğunluğu=Kemik kütlesi/Kemik hacmi) azalması olarak bilinen osteoporozla karşı karşıyadır. Artan yaşla beraber osteoporoz riski, dolayısıyla kırık riski de artmaktadır. 50 yaşında bir kadının geri kalan hayatında

kalça kırığı riski %17'dir. Yaşam sürecinin uzamasıyla beraber, her iki cinste de osteoporoz ve kırık riski artmaktadır. (1-3)

Östrojen reseptör uyarıcıları, biyofosfonatlar, paratiroid hormon analogları, oksitosin analogları, D vitamini, C vitamini ve kalsiyum gibi ilaçların osteoporoz tedavisinde kullanımı yaygındır. (2,4) Kemik geri emilimini (rezorpsiyonunu) en-

* Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji ABD

gelleleyen diyet ve ilaç grubunun ispatlanmış başarısına rağmen, mevcut kemik kaybına uğramış insanlarda, kemik oluşumunu artıran ve toksik olmayan anabolik ajanlara ihtiyaç vardır. Bu düşüncenin ışığında in vitro çalışmalar yapılmıştır. Biz de bu çalışmada, G Mundy ve R Garret' in statinlerin kemik oluşumu üzerine olumlu etkilerini gösterdikleri ve in vitro olarak yaptıkları çalışmaları örnek alarak, in vivo ilaç etkisini araştırdık. Karaciğer hücrelerindeki HMG-KoA redüktazı inhibe ederek serum kolesterolünü düşürdüğü bilinen statinlerin, yaşlı bayanlarda kemik mineral yoğunluğunu artırdığı ve kalça kırığı riskini azalttığı, retrospektif çalışmalarla gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda; statinlerin kemik oluşumu üzerine etkisi in vivo olarak araştırıldığından anlamlıdır. Çünkü retrospektif bir çalışma ve in vitro araştırmalar, statinlerin, kemik oluşumuna olumlu etkisinin kesin bilgi olarak kabul edilmesi için yeterli bulunamaz. (1,5)

MATERYAL VE METOD

Bu çalışma, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji AbD laboratuvarlarında yürütüldü. Materyal olarak Ankara Üniversitesi Deneysel Laboratuvarlarında yetiştirilen, yaklaşık 200 gram ağırlığında, 8-10 haftalık, 24 adet Wistar tipi erişkin albino sıçan kullanıldı.

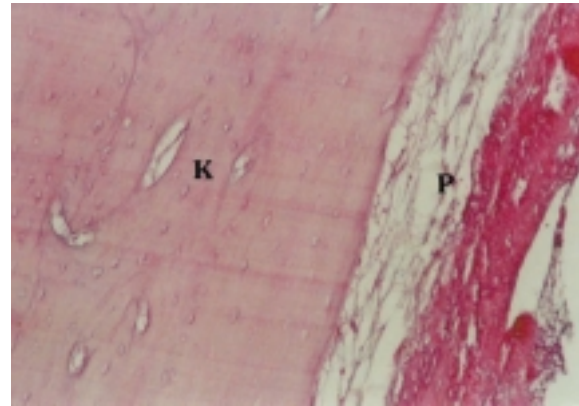
Sıçanlar kontrol grubu; simvastatin uygulanan 7. gün, 14. gün ve 21. gün grubu olmak üzere dört gruba ayrıldı. Simvastatinin etkisini araştırmak üzere ilaç (Zocor, 10 mg ve 20 mg tablet, Merc Sharp & Dohme tarafından üretilen) bağış olarak temin edildi. Her 10 mg'lık tablet 600 mikrogram dimetilsülfoksit (DMSO) içinde eritilerek karışım hazırlandı. Enjeksiyon yapılacak günden bir gün önce hazırlanan ilaç, insülin enjektörlerine çekildi. Etkin doz (1) günde 5 mg/kg ilaç uygulanacak şekilde, 200 gram ağırlığındaki sıçanların günlük dozları 1 mg olarak hesaplandı. Kontrol grubuna beş gün boyunca, tibia 2/3 alt kısmından, deri altına serum fizyolojik verilirken, diğer gruplara simvastatin uygulandı. 7. gün, 14. gün ve 21. gün ilaç uygulanan bölgeye komşu kemik kısımları anestezi altında çıkartıldı. Parçalar, ışık mikroskobu doku inceleme yöntemlerine uygun olarak, %10'luk pH'sı 7.4 olan nötral formalinde tespit edildi. Formalinde 2 gün tespit edilen parçalar, yumuşak doku kısımları ayrıldıktan sonra

dekalsifikasyon solusyonuna alındılar. Dekalsifikasyon solusyonu; %8'lik hidroklorik asit ve %8'lik formik asit solusyonlarının eşit oranda karıştırılmasıyla elde edildi. Dekalsifikasyon solusyonu gün aşırı değiştirilerek takip edildi ve dokuların dekalsifikasyonu 15 gün sürdü. Dekalsifikasyonun tamamlanmasıyla; yıkama, dehidrasyon, şeffaflandırma, infiltrasyon ve gömme aşamalarından geçirilen doku parçaları, parafin bloklara gömüldü. (6)

Leitz-1512 tipi mikrotomla 4-6 mikrometre kalınlığında kesitler alındı. Kesitler Hematoksilin-Eozin (H&E) ve Mallory'nin Azan (MA) boyasıyla boyandıktan sonra axioskope ışık mikroskopunda incelenerek mikrografları çekildi.

BULGULAR

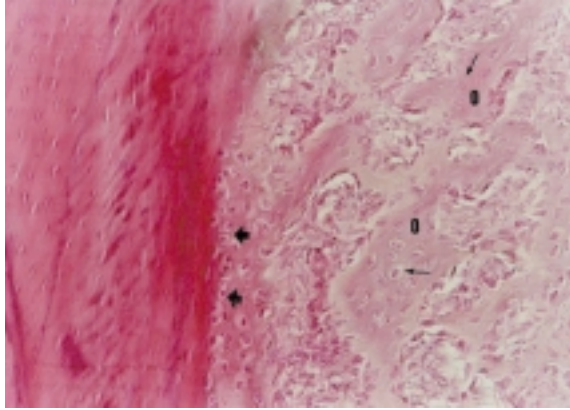
Simvastatin uygulanan 7. gün grubu, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında (Şekil 1), kemik oluşumunun uyarıldığı izlendi. Kemiğe yakın tarafta, periyost altında osteoblastik aktivitenin artışıyla



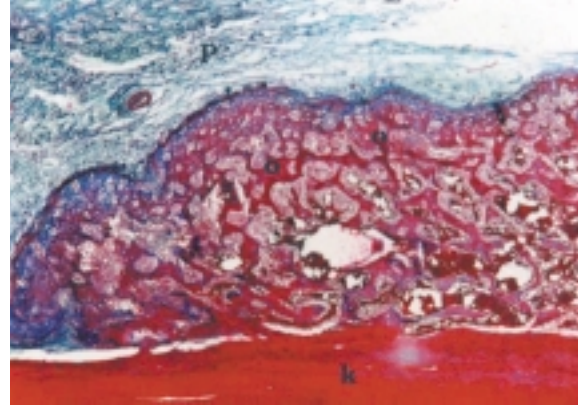
Şekil 1: Kontrol grubuna ait mikrografta; kemik (K), periyost (P) izleniyor. Herhangi bir kemik oluşumu gözlenmiyor. HE X 10

beraber, apozisyonel kemik oluşturacak şekilde, osteoblastların dizilimi görüldü. Bunun yanında, membranöz kemikleşme bölgeleri de izlendi. Bu bölgelerde, osteoidin varlığı, osteoid merkezinde lakunalar içinde osteositler, kenarındaysa osteoblastlar dikkat çekiciydi. Kemik trabeküllerinin arasında, farklanmamış hücrelerde belirgin bir aktivite artışı vardı. Kemik oluşumuna paralel artan kılcal damarlar izlendi. (Şekil 2)

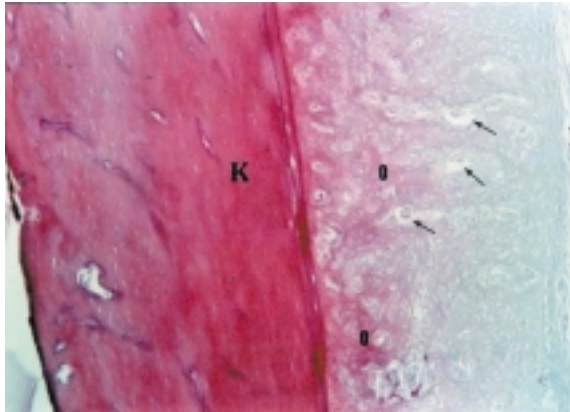
Simvastatin uygulanan 14. gün grubunda; oluşan yeni osteoid dokunun kalınlığındaki artış da-



Şekil 2: 1 mg/gün simvastatin uygulanan 7. gün grubuna ait mikrografta, kemiğe yakın apozisyonel kemik oluşturmak üzere dizilmiş osteoblastlar (↑) izleniyor. Bağ dokusu içerisinde intramembranöz kemikleşme bölgelerinde, osteoid doku (O) ve osteoidlerin merkezinde osteositler (↑) izlenmektedir. HE X20



Şekil 4: 1 mg/gün simvastatin uygulanan 21. gün grubuna ait mikrografta, yeni oluşan kemik dokudaki organize görünüm, kılcal damar artışı (↑) ve yaygın osteoid doku (O) dikkat çekicidir. Mallory-Azan X5



Şekil 3: 1 mg/gün simvastatin uygulanan 14. gün grubuna ait mikrografta, kılcal damar artışı (↑) ve osteoid dokunun (O) kalınlaştığı izleniyor. HE X5

ha belirgindi. 7. güne oranla oluşan osteoid doku, daha organize ve kalın izlendi. 14. gün grubunda damarlanmanın daha geniş alana yayıldığı görüldü. (Şekil 3) Organize osteoid dokunun distalinde kanlanmanın daha yetersiz olması nedeniyle kondrositlerin geliştiği ve dizinler yaptığı izlendi.

Simvastatin uygulanan 21. gün grubunda, ilacın uyardığı yeni kemik oluşumunun ilerlediği, 14. gün grubuna oranla damarlanmanın geniş bir alana yayıldığı, osteoid dokunun periferik kısımlarda da artması dikkat çekiciydi. (Şekil 4)

TARTIŞMA VE SONUÇ

Kemik oluşumu ve geri emiliminin fizyolojik koşullardaki dengesi, menopoz döneminde östrojen seviyesinin düşmesiyle bozular. Düşük östrojen düzeyleri, osteoklastik geri emilimin artmasına ve sonucunda osteoporozu neden olur. Erken dönemde geri emilimin azaltılması, östrojen desteğiyle sağlanabilirken, geç menopoz döneminde östrojenin yerini Ca ve D vitamini alır.(2)

D vitamini gibi diğer vitaminlerin de kemik metabolizması üzerine etkilerini ispatlayan çalışmalar yapılmıştır.

B6 vitamini eksikliğinde, piridoksal fosfata ko-faktör olarak ihtiyaç duyan ornitin dekarboksilaz aktivitesinde azalmayla beraber, kemik mineral yoğunluğu da azalır.(7) K vitamini eksikliği de osteoporoz gelişiminde etkilidir. (8) Antioksidan vitaminler olan, E ve C vitaminlerinden zengin bir diyet, kemik mineral yoğunluğuna olumlu etki eder. (9) Sigara kullanımının ve egzersizden yoksun bir yaşantının, kemik mineral yoğunluğuna olumsuz etkisi gösterilmiştir. (10,11) Malnütrisyon, tüm sistemleri etkilediği gibi yaştan bağımsız olarak, kemik kaybı riskini artırır. Proteinin normal düzeye getirilmesi, kemik kütlesine olumlu etki eder ve yaşla düştüğü bilinen “insülin büyüme faktörü-1(IGF-1)” düzeyinde artışa yol açar.(12)

Osteoklastik geri emilimi engellemeyi amaçlayan tüm bu tedaviler, osteoporoz tedavisinde

beklentileri karşılayamamaktadır. Çünkü; kemik yıkımını durduraktan çok, yapımını artıran ilaçlara ihtiyaç vardır. Statinler, son yıllarda anabolik etki eden ajanlar arasında dikkati çekmektedir. Kolesterol düşürücü bir ajan olarak, koroner kalp hastalığı tedavisinde yaygın kullanıma sahip olmasının yanısıra, kemik oluşumuna olumlu etkisi görülmüştür. Osteoporoz ve koroner kalp hastalığının görülme sıklığı, ileri yaş grubuna denk geldiğinden, toplum sağlığına yararı küçümsenemeyen HMG-KoA redüktaz inhibitörleri olan statinler önem kazanmıştır. Statin grubu bu ilaçların kemik üzerine olumlu etki mekanizması nedir?

Statinler, öncü endotelial hücrelerin (EPCs) çoğalmasını sağlar. Endotelial hücrelerdeki bu artış ise kılcal damar gelişimini olumlu etkileyerek, yeni kemik oluşumuna ve kemik öncü hücrelerin artışına yol açar. Statinlerin osteoblastik hücre artışına etkisi kadar belirgin olmasa da osteoklastik hücrelerde azalmaya neden olduğu bilinmektedir. Statinler, kemik iliği kaynaklı öncü endotelial hücrelerdeki bu artışa, EPCs'lerdeki Akt protein kinazı aktive ederek yol açarlar. Akt protein kinaz aktivasyonu, hücre çoğalmasında artışa, göç aktivitesine ve hücre döngüsü artışına neden olur. (1,13) Statinlerin, kemik oluşumunu artırıcı etkilerini, kemik hücrelerindeki “ kemik

morfojenetik proteini-2 (BMP-2) “ geninin ekspresyonunu artırarak sağladıklarını destekleyen çalışmalar vardır. Kemik oluşumunu artırıcı etkisi nedeniyle, bu ilaç grubunun kırık riskini azaltması beklenir. Retrospektif çalışmalarla, statin grubu ilaçları kullanan ileri yaş grubu hastalarda, kırık riskinin azaldığı görülmüştür. (1,5,14)

Bu in vivo çalışmada; statin grubu bir ilaç olan simvastatinin kemik oluşumu üzerine olumlu etkisi izlenmiştir. Bizim çalışmamızda da; kemik öncü hücrelerinin farklanmasında ve kılcal damar gelişiminde izlenen belirgin artış, BMP-2 geni ekspresyonu artışına ve EPCs'lerdeki Akt protein kinaz aktivasyonuna bağlanabilir. Mezanşimal hücrelerin, kemik hücrelerine dönüşümüyle, osteoblastik aktivitenin arttığı görülmüştür. Özellikle ilacın uygulandığı yer yakınındaki kemik dokuda, yeni osteoid oluşumu belirgindir. Bu bulgular, ileri yaş grubunda kolesterol düşürücü ajan olarak kullanılan statinlerin, ek bir ilaç tedavisine gerek kalmadan, yeni kemik oluşumuna çözüm olabileceğini göstermektedir. Osteoporoz tedavisi, kırık riskinin azaltılması ve kırık tedavisinde umut vadeden statinlerin olumlu etkilerinin değerlendirilmesi için klinik prospektif çalışmalara önemle ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

- 1- Garret R, Mundy G, Harris S, Chan J, Chan J ve ark. Stimulation of bone formation in vitro and in rodents by statins. *Science* 1999; 286:1946-49
- 2- Meunier P. Prevention of hip fractures by correcting calcium and vitamin D insufficiencies in elderly people. *Scand J Rheumatol Supply* 1996;103:75-8
- 3- Nordin BE, Morris HA. Osteoporosis and vitamin D. *J Cell Biochem* 1992;49(1): 19-25
- 4- Lopez FJ. New approaches to the treatment of osteoporosis. *Current opinion in chemical biology* 2000;4(4): 383-93
- 5- Watanabe S, Takeuchi Y, Nakano T. Effects of 1-Year Treatment with Fluvastatin or Pravastatin on Bone. *The American Journal of Medicine* 2001;110; 584-587
- 6- Edna B. *Laboratory Methods in Histotechnology* 1992:71-75
- 7- Reynolds TM, Marshall PD. Hip fracture patients may be vitamin B6 deficient. Controlled study of serum pyridoxal-5'-phosphate. *Acta Orthop Scand* 1992: 63(6);635-8
- 8- Kaneki M, Mizuno Y, Hosoi T, Inoue S, Hoshino S ve ark. Serum concentration of vitamin K in elderly women with involutional osteoporosis. *Nippon Ronen Igakkai Zasshi* 1995;32(3);195-200
- 9- Schmuck A, Ravel A, Coudray C, Alary J, Franco A ve ark. Antioxidant vitamins in hospitalized elderly patients: analysed dietary intakes and biochemical status. *Eur J Clin Nutr* 1996: 50(7); 473-8
- 10- Reid IR. Therapy of osteoporosis: calcium, vitamin D, and exercise. *Am J Med Sci* 1996: 312(6); 278-286
- 11- Michaelsson K, Holberg I, Mallmin H, Sörensen S, Wolk A ve ark. Diet and hip fracture risk: a case-control study. Study Group of the Multiple Risk Survey on Swedish Women for Eating Assessment. *Int J Epidemiol* 1995: 24(4); 771-82
- 12- Bonjour JP, Schurch MA, Rizzoli R. Nutritional aspects of hip fractures. *Bone* 1996;18(3); 139-144
- 13- Llevadot J, Murasawa S, Kureishi Y, Uchida S, Masuda H ve ark. HMG-CoA reductase inhibitor mobilizes bone marrow-derived endothelial progenitor cells. *Journal of clinical investigation* 2001: 108(3); 399-405
- 14- Garret IR, Mundy GR, Gutierrez G. Statins and bone formation. *Current Pharmaceutical design* 2001: 7(8);715-36

