تأثیر توام و مقایسه‌ای مصرف ویتامین D3 و امپرازول بر جلوگیری از پیشرفت استئوپروز یائسگی در رتهای ماده

احمد تمجیدی‌پور[1]، مجید طوافی [2]، حسن احمدوند [3]، علیرضا خلعتبری[4]

1- مربی، گروه آناتومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان
2- استادیار، گروه بافت شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان
3- استادیار، گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان
4- استادیار، گروه آناتومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان

یافته / دوره یازدهم / شماره 4 / زمستان 88 / مسلسل 42

چکیده

دریافت مقاله: 88/7/27، پذیرش مقاله: 88/10/23

Ø مقدمه: وقوع یائسگی و کاهش هورمونهای استروئیدی موجب بروز استئوپروز می‌گردد. درمان استئوپروز با هورمونهای استروئیدی مثل استروژن در زنان یائسه منجر به عوارض جانبی مانند سرطان پستان و سیستم تناسلی شده است. از آنجاییکه فعالیت استئوکلاستها جهت برداشت استخوان نیازمند ترشح یونهای H^+ و اسیدی نمودن محیط برای جذب استخوان است. امروزه کاربرد مهارکننده‌های پمپ پروتون برای مهار فعالیت استئوکلاستها تحت بررسی است. از طرف دیگر مطالعات اخیر نشان می‌دهد که این مهارکننده‌ها با کاهش جذب کلسیم در روده، می‌توانند خطر بروز شکستگی استخوانها را افزایش دهند. با توجه به شواهد مذکور، فیزیولوژی استئوکلاستها و نحوهٔ اثر ویتامین D بر جذب کلسیم روده، در این پژوهش تأثیر توأم مصرف ویتامین D3 و امپرازول بررسی گردید.

Ø مواد و روش ها: تعداد 64 رت ماده از نژاد اسپراگ با وزن تقریبی 160 تا 180 گرم انتخاب و به هشت گروه هشت تایی تقسیم شدند. یک هفته بعد از عمل اورکتومی درمان گروههای سوم تا هشتم شروع و به مدت 12 هفته ادامه داشت. هنگام نمونه گیری از رتها ابتدا تحت بیهوشی خونگیری و سرم تهیه شد. سپس مهره‌های کمری و استخوانهای فیمر و تیبیای سمت راست رتها جدا و در محلول ثبوتی قرار گرفت. میزان آلکالین فسفاتاز و کلسیم سرم اندازه‌گیری شد. میزان مقاومت تنهٔ استخوانهای فیمر در برابر شکستگی اندازه‌گیری گردید. از تنهٔ مهره‌های L3 و انتهای استخوانهای تیبیا اسلاید بافتی تهیه گردید و تراکم حجمی تیغه‌های استخوانی تنهٔ مهره‌های L3 نمونه‌ها با روش استریولوژیک اندازه گیری شد. تعداد استئوکلاستها در اسلایدهای تیبیا به صورت تصادفی اندازه‌گیری شد و با استفاده از اصل ارشمیدوس چگالی مهره‌های L4 تعیین گردید. میانگین داده‌ها با نرم‌افزار Spss12 بررسی و مقایسه شدند. برای مقایسهٔ میانگین آلکالین فسفاتاز، کلسیم سرم، چگالی مهره‌های L4 و میزان مقاومت تنهٔ استخوانهای فیمر در برابر شکستگی از آنالیز واریانس و تست گیمزهاول و برای مقایسهٔ میانگین تراکم حجمی تیغه‌های استخوانی و تعداد استئوکلاستها از آزمون من‌ویتنی با $p<0/05$ استفاده شد.

Ø یافته ها: اورکتومی بعد از 12 هفته باعث بروز استئوپروز شدید در رتهای یائسهٔ گروه دوم و هفتم گردید.گروههای اول (نرمال)، سوم، چهارم، ششم و هشتم هیچگونه پوکی استخوانی را نشان ندادند. رتهای گروه پنجم بمیزان کمی دچار استئوپروز گردیدند.

Ø بحث و نتیجه گیری: مصرف ویتامین D و تا اندازهٔ زیادی DMSO از بروز و پیشرفت استئوپروز جلوگیری می‌کند. مصرف امپرازول نمی‌تواند از بروز استئوپروز جلوگیری نماید ولی در صورتیکه با دوز مناسبی از ویتامین D همراه گردد از بروز و پیشرفت استئوپروز جلوگیری می‌کند.

Ø واژه های کلیدی: یائسگی، استئوپروز، ویتامین D3، امپرازول، اورکتومی، DMSO، چگالی استخوان

آدرس مکاتبه: خرم آباد، کمالوند، مجتمع دانشگاهی پردیس، دانشکده پزشکی، گروه آناتومی
پست الکترونیک: ahmad@yahoo.com

مقدمه

بروز یائسگی و کاهش هورمونهای استروئیدی منجر به تغییرات مهمی در زنان سالمند می‌گردد که بروز استئوپروز یکی از وخیم‌ترین این تغییرات است (4-1). استئوپروز ناشی از فعالیت بیش از حد استئوکلاستها در بافت استخوان است و خطر بروز شکستگی‌ها خصوصاً شکستگی مهره‌های کمر، استخوانهای ساعد و لگن را افزایش می‌دهد (9-5). شکستگی لگن خطرناکترین عارضهٔ ناشی از پوکی استخوان می‌باشد زیرا ممکن است به احشاء مهمی در حفرهٔ لگن آسیب جدی برساند. میزان شیوع سالانهٔ شکستگی لگن در اروپا در سال 2000 میلادی 414000 مورد بوده که پیش‌بینی می‌گردد در سال 2050 به 972000 مورد برسد (10). هزینهٔ درمان و توان‌بخشی سالمندانی که به علت استئوپروز دچار شکستگی شده‌اند در اروپا در سال 2000 میلادی حدود 36/3 میلیارد یورو بوده که پیش‌بینی می‌شود این هزینه در سال 2050 به 76/8 میلیارد یورو برسد (7). متأسفانه در مورد میزان شیوع استئوپروز و شکستگیهای ناشی از آن در زنان سالمند ایرانی آمار مشخصی وجود ندارد. مطالعات پژوهشگران نشان می‌دهد همزمان با افزایش متوسط عمر زنان در جوامع پیشرفته میزان شکستگیهای ناشی از استئوپروز افزایش یافته است (11).

امروزه برای مقابله با استئوپروز زنان سالمند درمانهای متعددی وجود دارد که هر یک ممکن است دارای عوارضی باشند. درمان با هورمونهای استروئیدی مثل استروژن در زنان یائسه جهت مقابله با پوکی استخوان منجر به عوارض جانبی متعددی می‌گردد و احتمال بروز سرطانهای سیستم تناسلی و پستان را افزایش می‌دهد (15-12). از آنجاییکه فعالیت استئوکلاستها جهت برداشت استخوان نیازمند ترشح یونهای H^+ و اسیدی نمودن محیط برای جذب استخوان است. این تفکر وجود دارد که استفاده از مهارکننده‌های پمپ پروتون مانند امپرازول علاوه بر کاهش ترشح اسید معده فعالیت استئوکلاستها را نیز کاهش دهد (20-16). از طرف دیگر مطالعات اخیر نشان می‌دهد که این مهارکننده‌ها با کاهش جذب کلسیم در روده، می‌توانند خطر بروز شکستگی استخوانها، از جمله استخوان لگن، مهره‌های کمر و ساعد را افزایش دهند (24-21). با توجه به شواهد مذکور و در نظر گرفتن فیزیولوژی استئوکلاستها، نحوهٔ اثر ویتامین D بر جذب کلسیم روده (28-25) برای اولین بار تأثیر توأم مصرف ویتامین D3 و امپرازول (به عنوان یک مهار کنندهٔ پمپ پروتون) بررسی می‌گردد.

مواد و روشها

رت های ماده از نژاد اسپراگ با سن شش هفته از دانشگاه علوم پزشکی اهواز خریداری شدند و به مدت شش هفته در واحد نگهداری حیوانات مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی دانشگاه علوم پزشکی لرستان نگهداری شدند تا با محیط جدید سازش پیدا کرده و به وزن مناسب برسند. از بین رتهای موجود تعداد 64 رت با وزن تقریبی 160 تا 180 گرم انتخاب و به هشت گروه هشت تایی تقسیم شدند: 1ـ گروه جراحی بدون اورکتومی (گروه Sham)، 2ـ گروه اورکتومی بدون درمان (گروه WT)، 3ـ گروه اورکتومی، درمان با دوز 100 میکروگرم بر کیلوگرم ویتامین D3 (گروه D1)، 4ـ گروه اورکتومی، درمان با دوز400 میکروگرم بر کیلوگرم ویتامین D3 (گروه D2)، 5ـ گروه اورکتومی، درمان با دوز 20 میلی‌گرم بر کیلوگرم امپرازول همراه با دوز 100 میکروگرم بر کیلوگرم ویتامین D3 (گروه DOM1)، 6ـ گروه اورکتومی، درمان با دوز 20 میلی‌گرم بر کیلوگرم امپرازول همراه با دوز 400 میکروگرم بر کیلوگرم ویتامین D3 (گروه DOM2)، 7ـ گروه اورکتومی، درمان با دوز 20

میلی‌گرم بر کیلوگرم امپرازول (گروه OM) و 8ـ گروه اورکتومی، درمان با DMSO به عنوان حلال (گروه Vehicle). امپرازول از شرکت تماد (ایران، جادهٔ تهران ـ کرج)، ویتامین D (کوله‌کلسیفرول) و DMSO از شرکت سیگما خریداری گردید. تمام رتها به جزء گروه Sham تحت عمل اورکتومی دوطرفه قرار گرفته و تخمدانهای آنها برداشته شد ولی رتهای گروه Sham بدون آنکه به احشاء آنها آسیبی برسد تحت عمل جراحی قرار گرفته و صرفاً جدار قدامی شکم آنها در خط وسط باز و دوباره با نخ بخیه دوخته شد. یک هفته بعد از عمل اورکتومی درمان گروههای سوم تا هشتم شروع و به مدت 12 هفته ادامه داشت. دوز داروها با توجه به وزن رتها و دوزهای بیان شده در بالا تعیین و به صورت داخل صفاقی و یک بار در روز تزریق گردید. هنگام نمونه گیری از رتها ابتدا تحت بیهوشی خونگیری و سرم تهیه شد و سپس مهره‌های کمری و استخوانهای فیمر و تیبیای سمت راست رتها جدا شده و در محلول ثبوتی قرار گرفت. میزان آلکالین فسفاتاز و کلسیم سرم اندازه‌گیری شد. میزان مقاومت تنهٔ استخوانهای فیمر در برابر شکستگی اندازه‌گیری گردید. از تنهٔ مهره‌های L3 و انتهای استخوانهای تیبیا اسلاید بافتی تهیه گردید و تراکم حجمی تیغه‌های استخوانی تنهٔ مهره‌های L3 نمونه‌ها با روش استریولوژیک (شمارش نقطه) اندازه گرفته شد. تعداد استئوکلاستها در اسلایدهای تیبیا بصورت تصادفی شمارش گردید و با استفاده از اصل ارشمیدوس چگالی (29) مهره‌های L4 تعیین گردید. میانگین داده‌ها با نرم‌افزار Spss12 بررسی و مقایسه شدند. برای مقایسهٔ میانگین آلکالین فسفاتاز، کلسیم سرم، چگالی مهره‌های L4 و میزان مقاومت تنهٔ استخوانهای فیمر در برابر شکستگی از آنالیز واریانس و تست گیمزهاول و برای مقایسهٔ میانگین تراکم حجمی تیغه‌های استخوانی و تعداد استئوکلاستها از آزمون من‌ویتنی با $p<0/05$ استفاده شد.

یافته‌ها

دانسیته یا چگالی مهره‌های L4 گروههای هشتگانه با استفاده از اصل ارشمیدوس محاسبه و سپس میانگین دانسیته استخوانی هشت گروه تعیین گردید که نتایج آن در نمودار شمارهٔ یک مشخص است. بیشترین دانسیته مربوط به گروههای Sham، Vehicle، D1، D2 و DOM2 و تا اندازه‌ای DOM1 و کمترین دانسیته مربوط به گروههای بدون درمان (WT) و امپرازول است.

میانگین دانسیتهٔ استخوانهای مهره‌های L4 گروههای هشتگانه:

1ـ گروه جراحی بدون اورکتومی (گروه Sham)، 2ـ گروه اورکتومی بدون درمان (گروه WT)، 3ـ گروه اورکتومی، درمان با دوز 100 میکروگرم بر کیلوگرم ویتامین D3 (گروه D1)، 4ـ گروه اورکتومی، درمان با دوز 400 میکروگرم بر کیلوگرم ویتامین D3 (گروه D2)، 5ـ گروه اورکتومی، درمان با دوز 20 میلی‌گرم بر کیلوگرم امپرازول همراه با دوز 100 میکروگرم بر کیلوگرم ویتامینD3 (گروه DOM1)، 6ـ گروه اورکتومی، درمان با دوز 20 میلی‌گرم بر کیلوگرم امپرازول همراه با دوز 400 میکروگرم بر کیلوگرم ویتامینD3 (گروه DOM2)، 7ـ گروه اورکتومی، درمان با دوز 20 میلی‌گرم بر کیلوگرم امپرازول (گروه OM) و 8ـ گروه اورکتومی، درمان با DMSO بعنوان حلال (گروه Vehicle) (نمودار 1).

مقایسهٔ میانگین دانسیته استخوانی هشت گروه با تست گیمزهاول که شش گروه از هشت گروه که در نمودار شمارهٔ یک با حرف A مشخص شده‌اند با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشته و دو گروه باقیمانده نیز که با حرف B مشخص شده اند

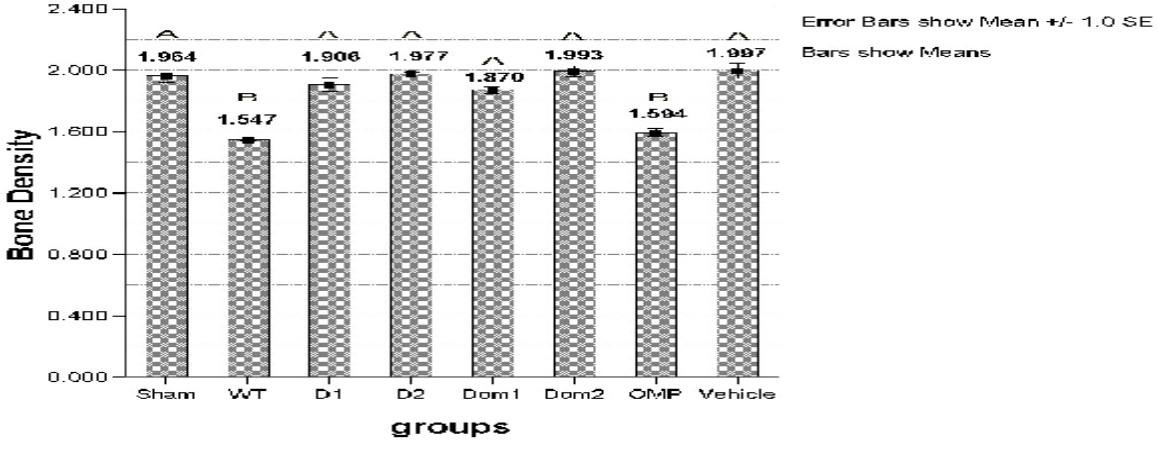
نیز با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند ولی اختلاف گروههای A و B با یکدیگر معنی‌دار است (p<0/03).

میزان مقاومت تنهٔ استخوانهای فیمر در برابر شکستگی در گروههای هشتگانه محاسبه و سپس میانگین میزان مقاومت تنهٔ استخوانهای فیمر در برابر شکستگی هشت گروه تعیین گردید که نتایج آن در نمودار شمارهٔ دو مشخص است. بیشترین میزان مقاومت مربوط به گروههای Sham، Vehicle، D1، D2 و DOM2 و تا اندازه‌ای DOM1 و کمترین میزان مقاومت مربوط به گروههای بدون درمان (WT) و امپرازول است.

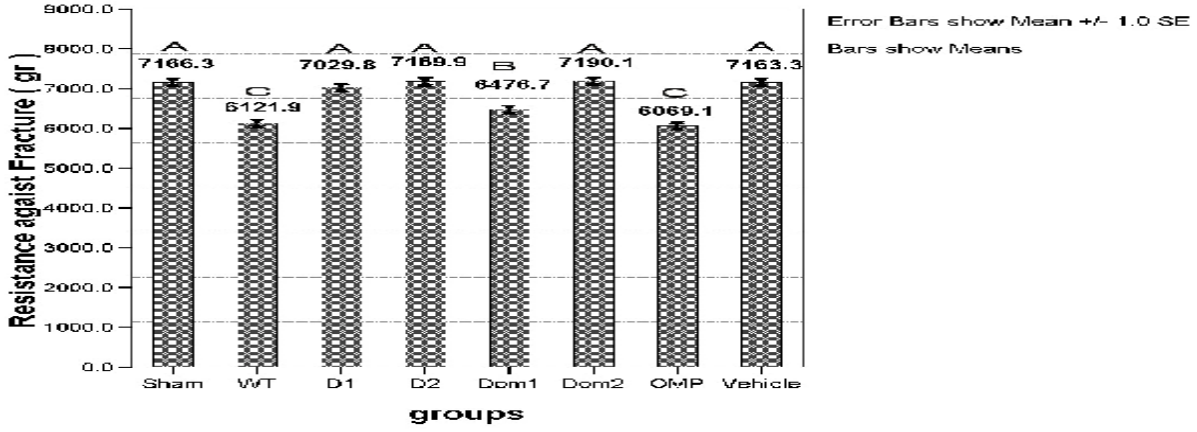
مقایسهٔ میانگین میزان مقاومت تنهٔ استخوانهای فیمر در برابر شکستگی هشت گروه با تست گیمزهاول و P کمتر از 0/05 نشان داد که پنج گروه Sham، Vehicle، D1، D2 و DOM2 که در نمودار شمارهٔ دو با حرف A مشخص شده‌اند با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند. دو گروه بدون درمان (WT) و امپرازول (OM) که با حرف C مشخص شده اند نیز با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند ولی اختلاف گروه DOM1 که با حرف B مشخص شده و گروههای A و C با یکدیگر معنی‌دار است (اختلاف گروههای غیرهمنام با یکدیگرمعنی‌دار است).

میانگین میزان مقاومت تنهٔ استخوانهای فیمر در برابر شکستگی در گروههای هشتگانه:

1ـ گروه جراحی بدون اورکتومی (گروه Sham)، 2ـ گروه اورکتومی بدون درمان (گروه WT)، 3ـ گروه اورکتومی، درمان با دوز 100 میکروگرم بر کیلوگرم ویتامین D3 (گروه D1)، 4ـ گروه اورکتومی، درمان با دوز 400 میکروگرم بر کیلوگرم ویتامین D3 (گروه D2)، 5ـ گروه اورکتومی، درمان با دوز 20 میلی‌گرم بر کیلوگرم امپرازول همراه با دوز 100 میکروگرم بر کیلوگرم ویتامینD3 (گروه DOM1)، 6ـ گروه اورکتومی، درمان با دوز 20 میلی‌گرم بر کیلوگرم امپرازول همراه با دوز 400 میکروگرم بر کیلوگرم ویتامینD3 (گروه DOM2)، 7ـ گروه اورکتومی، درمان با دوز 20 میلی‌گرم بر کیلوگرم امپرازول (گروه OM) و 8ـ گروه اورکتومی، درمان با DMSO به عنوان حلال (گروه Vehicle) (نمودار 2).



نمودار شماره 1- دانسیته یا چگالی مهره‌های L4 گروههای هشتگانه با استفاده از اصل ارشمیدوس



نمودار شماره 2- مقایسهٔ میانگین میزان مقاومت تنهٔ استخوانهای فیمر در برابر شکستگی

تراکم حجمی تیغه‌های استخوانی تنهٔ مهره‌های L3 نمونه‌ها (گروههای هشتگانه) با روش استریولوژیک (شمارش نقطه) اندازه گرفته شد سپس میانگین دانسیتهٔ حجمی تیغه‌های استخوانی تنهٔ مهره‌های L3 در هشت گروه تعیین گردید که نتایج آن در نمودار شمارهٔ سه مشخص است.

میانگین دانسیتهٔ حجمی تیغه‌های استخوانی تنهٔ مهره‌های L3 در گروههای هشتگانه:

1ـ گروه جراحی بدون اورکتومی (گروه Sham)، 2ـ گروه اورکتومی بدون درمان (گروه WT)، 3ـ گروه اورکتومی، درمان با دوز 100 میکروگرم بر کیلوگرم ویتامین D3 (گروه D1)، 4ـ گروه اورکتومی، درمان با دوز 400 میکروگرم بر کیلوگرم ویتامین D3 (گروه D2)، 5ـ گروه اورکتومی، درمان با دوز 20 میلی‌گرم بر کیلوگرم امپرازول همراه با دوز 100 میکروگرم بر کیلوگرم ویتامین D3 (گروه DOM1)، 6ـ گروه اورکتومی، درمان با دوز 20 میلی‌گرم بر کیلوگرم امپرازول همراه با دوز 400 میکروگرم بر کیلوگرم ویتامین D3 (گروه DOM2)، 7ـ گروه اورکتومی، درمان با دوز 20 میلی‌گرم بر کیلوگرم امپرازول (گروه OM) و 8ـ گروه اورکتومی، درمان با DMSO بعنوان حلال (گروه Vehicle) نمودار 3).

بیشترین دانسیتهٔ حجمی تیغه‌های استخوانی تنهٔ مهره‌های L3 مربوط به گروههای Sham، D2، DOM2 و D1و تا اندازه‌ای Vehicle وDOM1 و کمترین دانسیتهٔ حجمی تیغه‌های استخوانی مربوط به گروههای بدون درمان (WT) و امپرازول است. مقایسهٔ میانگین دانسیتهٔ حجمی تیغه‌های استخوانی تنهٔ مهره‌های L3 در هشت گروه با تست من ویتنی که پنج گروه Sham، D1، D2، DOM2 و Vehicle که در نمودار شمارهٔ سه با حرف A مشخص شده‌اند با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند. دو گروه بدون درمان (WT) و امپرازول (OM) نیز با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند ولی بین میانگین دانسیتهٔ حجمی تیغه‌های استخوانی تنهٔ مهره‌های L3 در پنج گروه Sham، D1، D2، DOM2 و Vehicle با دو گروه بدون درمان (WT) و امپرازول (OM) که با حرف C مشخص شده‌اند اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($p<0/04$). گروه DOM1 که با حرف B مشخص شده و گروههای A و C با یکدیگر

معنی‌دار است (اختلاف گروههای غیرهمنام با یکدیگرمعنی‌دار است).

تعداد استئوکلاستها در اسلایدهای تیبیا (درگروههای هشتگانه) بصورت تصادفی شمارش گردید سپس میانگین تعداد استئوکلاستها در هشت گروه تعیین گردید که نتایج آن در نمودار شمارهٔ چهار مشخص است.

تعداد استئوکلاستها در اسلایدهای تیبیا (درگروههای هشتگانه):

1ـ گروه جراحی بدون اورکتومی (گروه Sham)، 2ـ گروه اورکتومی بدون درمان (گروه WT)، 3ـ گروه اورکتومی، درمان با دوز 100 میکروگرم بر کیلوگرم ویتامین D3 (گروه D1)، 4ـ گروه اورکتومی، درمان با دوز 400 میکروگرم بر کیلوگرم ویتامین D3 (گروه D2)، 5ـ گروه اورکتومی، درمان با دوز 20 میلی‌گرم بر کیلوگرم امپرازول همراه با دوز 100 میکروگرم بر کیلوگرم ویتامین‌D3 (گروه DOM1)، 6ـ گروه اورکتومی، درمان با دوز 20 میلی‌گرم بر کیلوگرم امپرازول همراه با دوز 400 میکروگرم بر کیلوگرم ویتامین‌D3 (گروه DOM2)، 7ـ گروه اورکتومی، درمان با دوز 20 میلی‌گرم بر کیلوگرم امپرازول (گروه OM) و 8ـ گروه اورکتومی، درمان با DMSO بعنوان حلال (گروه Vehicle) (نمودار 4).

بیشترین تعداد استئوکلاستها مربوط به دو گروه بدون درمان (WT) و امپرازول (OM) و کمترین تعداد استئوکلاستها مربوط به گروههای Sham، Vehicle، D1، D2، DOM1 و DOM2 است. مقایسهٔ میانگین تعداد استئوکلاستها در اسلایدهای تیبیا در هشت گروه با تست من ویتنی و P کمتر از 0/05 نشان داد که شش گروه Sham، Vehicle، D1، D2، DOM1 و DOM2 که در نمودار شمارهٔ چهار با حرف A مشخص شده‌اند با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند. دو گروه بدون درمان (WT) و امپرازول (OM) نیز که با حرف B مشخص شده‌اند با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند ولی میانگین تعداد استئوکلاستها در شش گروهی که با حرف A مشخص شده‌اند با دو گروهی که با حرف B مشخص شده‌اند اختلاف معنی‌داری وجود دارد. (اختلاف گروههای غیرهمنام با یکدیگرمعنی‌دار است).

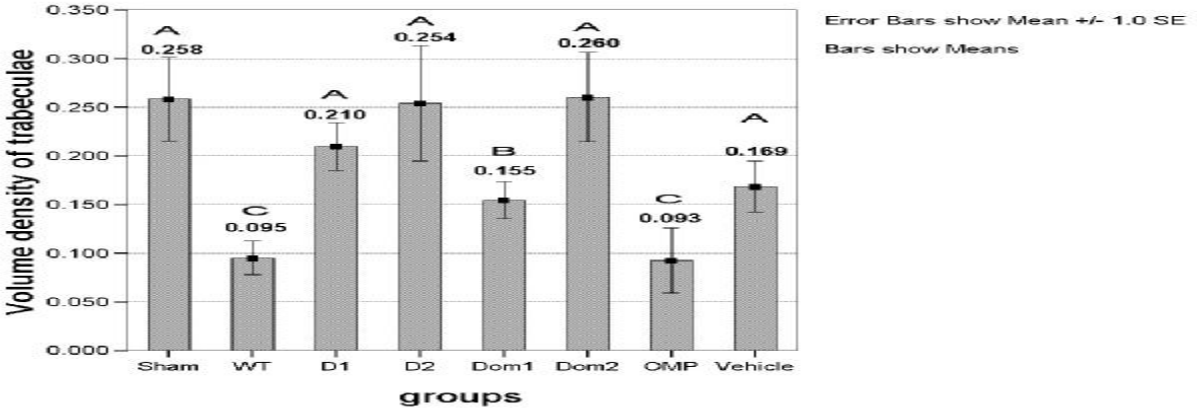
میزان آلکالین فسفاتاز و کلسیم سرم نمونه‌ها (گروههای هشتگانه) اندازه گرفته شد سپس میانگین آلکالین فسفاتاز و کلسیم سرم نمونه‌ها در هشت گروه تعیین گردید که نتایج آنها بترتیب در نمودار شمارهٔ 5 و 6 مشخص است. مقایسهٔ میانگین آلکالین فسفاتاز و کلسیم سرم نمونه‌ها در هشت گروه با تست گیمزهاول و P کمتر از 0/05 نشان داد که بین آنها اختلاف معنی‌داری وجود ندارد.

میزان آلکالین فسفاتاز سرم نمونه‌ها (درگروههای هشتگانه):

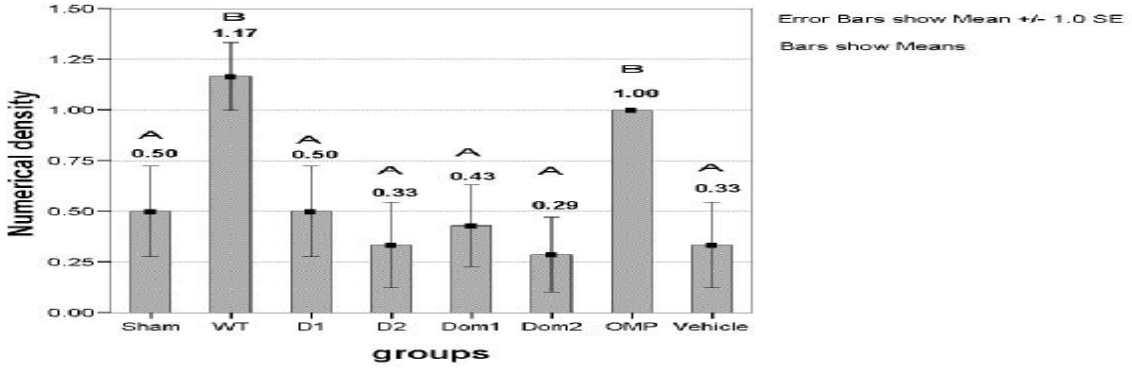
1ـ گروه جراحی بدون اورکتومی (گروه Sham)، 2ـ گروه اورکتومی بدون درمان (گروه WT)، 3ـ گروه اورکتومی، درمان با دوز 100 میکروگرم بر کیلوگرم ویتامین D3 (گروه D1)، 4ـ گروه اورکتومی، درمان با دوز 400 میکروگرم بر کیلوگرم ویتامین D3 (گروه D2)، 5ـ گروه اورکتومی، درمان با دوز 20 میلی‌گرم بر کیلوگرم امپرازول همراه با دوز 100 میکروگرم بر کیلوگرم ویتامین‌D3 (گروه DOM1)، 6ـ گروه اورکتومی، درمان با دوز 20 میلی‌گرم بر کیلوگرم امپرازول همراه با دوز 400 میکروگرم بر کیلوگرم ویتامین‌D3 (گروه DOM2)، 7ـ گروه اورکتومی، درمان با دوز 20 میلی‌گرم بر کیلوگرم امپرازول (گروه OM) و 8ـ گروه اورکتومی، درمان با DMSO بعنوان حلال (گروه Vehicle) (نمودار 5)

میزان کلسیم سرم نمونه‌ها (درگروههای هشتگانه):

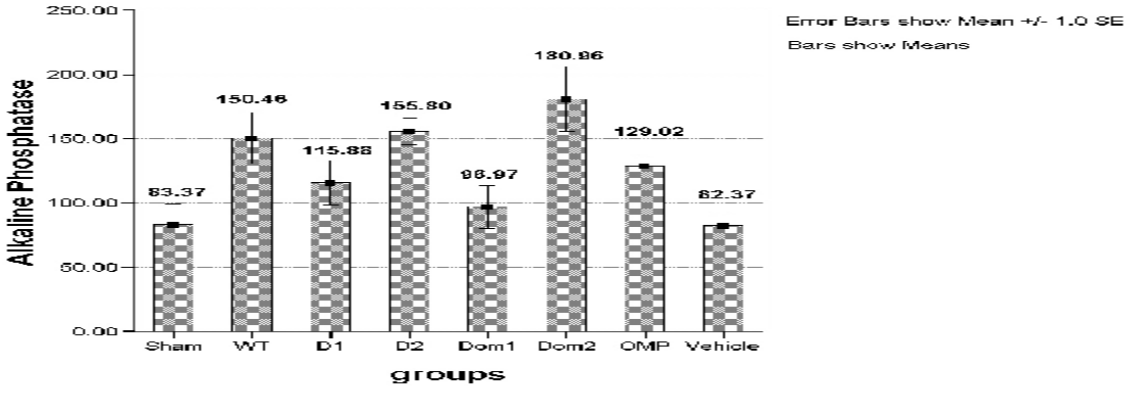
1ـ گروه جراحی بدون اورکتومی (گروه Sham)، 2ـ گروه اورکتومی بدون درمان (گروه WT)، 3ـ گروه اورکتومی، درمان با دوز 100 میکروگرم بر کیلوگرم ویتامین D3 (گروه D1)، 4ـ گروه اورکتومی، درمان با دوز 400 میکروگرم بر کیلوگرم ویتامین D3 (گروه D2)، 5ـ گروه اورکتومی، درمان با دوز 20 میلی‌گرم بر کیلوگرم امپرازول همراه با دوز 100 میکروگرم بر کیلوگرم ویتامینD3 (گروه DOM1)، 6ـ گروه اورکتومی، درمان با دوز 20 میلی‌گرم بر کیلوگرم امپرازول همراه با دوز 400 میکروگرم بر کیلوگرم ویتامینD3 (گروه DOM2)، 7ـ گروه اورکتومی، درمان با دوز 20 میلی‌گرم بر کیلوگرم امپرازول (گروه OM) و 8ـ گروه اورکتومی، درمان با DMSO بعنوان حلال (گروه Vehicle) (نمودار 6)



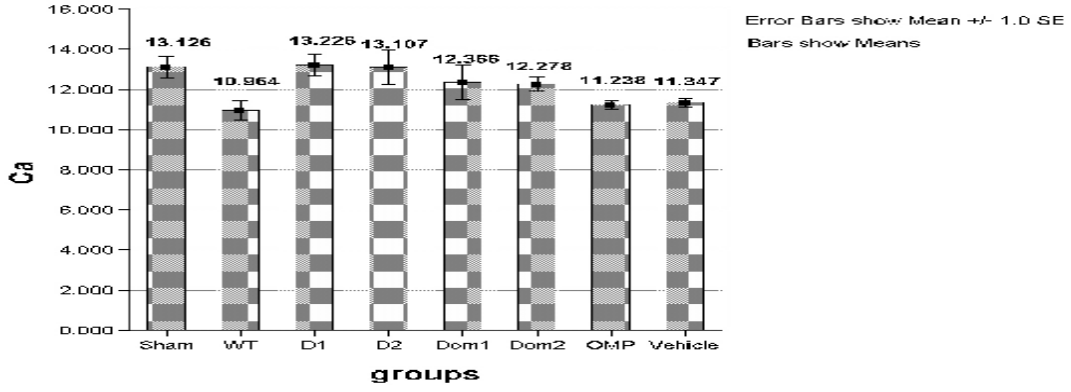
نمودار شماره 3- میانگین دانسیتهٔ حجمی تیغه‌های استخوانی تنهٔ مهره‌های L3 در گروههای هشتگانه



نمودار شماره 4- تعداد استئوکلاستها در اسلایدهای تیبیا درگروههای هشتگانه



نمودار شماره 5- میزان آلکالین فسفاتاز سرم نمونه‌ها درگروههای هشتگانه



نمودار شماره 6- میزان کلسیم سرم نمونه‌ها درگروههای هشتگانه

بحث و نتیجه‌گیری

اورکتومی بعد از 12 هفته باعث بروز استئوپروز می‌گردد (35-30) و این مسئله در رتهای یائسهٔ گروههای بدون درمان و امپرازول ایجاد گردید.گروههای Sham، D1، D2، DOM2 و Vehicle هیچگونه پوکی استخوانی را نشان ندادند ولی رتهای گروه DOM1 بمیزان کمی دچار استئوپروز گردیدند. در این پژوهش برای تشخیص استئوپروز از شش متغیر (دانسیتهٔ استخوان، مقاومت فیمر در برابر شکستگی، تراکم حجمی تیغه‌های استخوانی، تعداد استئوکلاستها، کلسیم و آلکالین فسفاتاز سرم) استفاده شد. بین میانگین آلکالین فسفاتاز و کلسیم سرم نمونه‌ها در هشت گروه اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. لذا با توجه به مطالعات همسان باید اذعان نمود که میزان کلسیم سرم مبنای دقیقی برای تشخیص استئوپروز نیست و در این ارتباط در مقالات مختلف اطلاعات ضد و نقیضی وجود دارد (29، 32، 33، 36 و 37). میزان آلکالین فسفاتاز کلی (Total ALP) سرم نیز مبنای دقیقی برای تشخیص استئوپروز نیست و شاید علت این مسئله آن است که استخوان تنها منبع آلکالین فسفاتاز سرم نیست به نحوی که آلکالین فسفاتاز در بافتهای مختلف بدن به خصوص در کبد، رودهٔ کوچک، کلیه، استخوان و جفت تولید می‌شود. اخیراً از

سنجش آلکالین فسفاتاز استخوانی (Bone ALP) سرم که روش حساسی است استفاده می‌شود (33، 38، 39، 40 و 41). دانسیتهٔ استخوانی مهره‌های L4 و میزان مقاومت استخوان ران رتهای گروههای Sham، Vehicle، D1، D2 و DOM2 و تا اندازه‌ای DOM1 بیشتر و در گروههای بدون درمان (WT) و امپرازول کمتر است. از مقایسهٔ میانگین دانسیتهٔ حجمی تیغه‌های استخوانی تنهٔ مهره‌های L3 در هشت گروه می‌توان نتیجه گرفت که حجم تیغه‌های استخوانی تنهٔ مهره‌های L3 در پنج گروه Sham، D1، D2 و DOM2 بالا و در دو گروه بدون درمان (WT) و امپرازول (OM) پایین، ولی در گروههای DOM1 و Vehicle متوسط است. مقایسهٔ میانگین تعداد استئوکلاستها در اسلایدهای انتهای فوقانی تیبیا در هشت گروه نشان می‌دهد که تعداد استئوکلاستها و فعالیت آنها در شش گروه Sham، Vehicle، D1، D2، DOM1 و DOM2 کم ولی در دو گروه بدون درمان (WT) و امپرازول (OM) زیاد می‌باشد. از این آزمونها می‌توان نتیجه گرفت که همانند مطالعات مشابه مصرف ویتامین D3 در جلوگیری از بروز پوکی استخوان مؤثر است (48-42).

از آنجاییکه میزان استئوپروز در گروههای بدون درمان (WT) و امپرازول (OM) یکسان است این پژوهش هشداری را که در مقالات اخیر در مورد مصرف امپرازول در زنان سالمند بیان شده، با توجه به اینکه این مقالات اکثراً بصورت پرونده خوانی بیمارستانی می‌باشند تأیید نمی‌کند (24-21 و 49). ولی از آنجاییکه مدت درمان در این پژوهش 12 هفته بود ممکن است در مصرف طولانی مدت امپرازول (در حد چند سال) پوکی استخوان تشدید گردد. لذا در مصرف داروهای مهار کننده پمپ پروتون نظیر امپرازول بایست احتیاط نمود و در صورت نیاز به مصرف آن در افراد سالمند باید در کنار مصرف امپرازول از ویتامین D3 و میزان مناسبی از کلسیم استفاده نمود زیرا بر فرض صحیح بودن این نظریه که امپرازول باعث کاهش جذب کلسیم از روده می‌شود (24-21 و 49) در مقابل ویتامین D3جذب کلسیم از روده را افزایش می‌دهد و مانع از کاهش سطح کلسیم خون می‌گردد (28-25 و 50). بنظر می‌آید برای بررسی تأثیر امپرازول بر روی استئوپروز باید مطالعهٔ طولانی مدتی صورت بگیرد.

از آنجاییکه در گروه Vehicle به رتهای اورکتومی شدهٔ دوطرفه فقط DMSO به عنوان حلال تزریق گردید، با توجه به نتایج آزمونهای آماری می‌توان بیان نمود که DMSO نیز در جلوگیری از بروز پوکی استخوان مؤثر است.

References

1. Wilkin TJ. Changing perceptions in osteoporosis. BMJ. 1999; 318: 862-865
2. Marcus R, Wong M, Heath H, et al. Antiresorptive Treatment of Postmenopausal Osteoporosis: Comparison of Study Designs and Outcomes in Large Clinical Trials with Fracture as an Endpoint. Endocrine Reviews 2002; 23 (1): 16-37
3. Han SM, Szarzanowicz TE, I. Effect of ovariectomy and calcium deficiency on the ultrasound velocity, mineral density and strength in the rat femur. Clinical Biomechanics. 1998; 13: 480-484
4. Silver JJ, Einhorn TA. Osteoporosis and aging:current update.Clin Orthop Rel Res. 1995; 316: 10-20
5. Ettinger B, Black DM, Mitlak BH, et al. Reduction of Vertebral Fracture Risk in Postmenopausal Women With Osteoporosis Treated With Raloxifene. JAMA, 1999; 282 (7): 637
6. WHO, study group on assessment of fracture risk and its application of screening for postmenopausal osteoprosis. Geneva, 1994; 7 & 8
7. I.A. Dontas and C.K. Yiannakopoulos. Risk factors and prevention of osteoporosis-related fractures. J Musculoskelet Neuronal Interact 2007; 7(3): 268-272
8. Osteoporosis among estrogen deficient women—United States, 1988-1994 [From the Centers for Disease Control Prevention]. JAMA. 1999; 281: 224-226
9. Soufiane Boufous, Caroline Finch, Stephen Lord, etc. The epidemiology of hospitalised wrist fractures in older people, New South Wales, Australia. Bone. 2006; 39: 1144–1148
10. John Damilakis, George Papadokostakis, Kostas Perisinakis, et al. Hip fracture discrimination by the Achilles Insight QUS imaging device. European Journal of Radiology 2007; 63: 59–62
11. Gambacciani M, Aloysio Dd, Elia D, et al. Quantitative ultrasound (QUS) of bone in the management of postmenopausal women. Maturitas. 2004; 47: 139–149
12. L Bergkvist, HO Adami, I Persson, R Hoover, and C Schairer. The risk of breast cancer after estrogen and estrogen-progestin replacement. N Engl J Med. 1989; 321(3): 293-297
13. Colditz GA, Hankinson, SE, Hunter DJ, et al. The Use of Estrogens and Progestins and the Risk of Breast Cancer in Postmenopausal Women. N Engl J Med. 1995; 322(24): 1589-1593
14. Ettinger B, Grady D, The Waning Effect of Postmenopausal Estrogen Therapy on Osteoporosis. N Engl J Med. 1993; 329(16): 1192-1193
15. Hunt K, Vessey M, McPherson K, et al. Long-term surveillance of mortality and cancer incidence in women receiving hormone replacement therapy. Br J Obstet Gynaecol. 1987; 94(7): 620-35
16. Edwards J C, Cohen C et al. c-Src Control of Chloride Channel Support for Osteoclast HCl Transport and Bone Resorption. J. Biol. Chem. 2006; 281: 28011-28022

17. Canalis E. Novel Treatments for osteoprosis. J Clin Invest 2000; 106 (2): 177-179
18. Visentin L, Dodds RA, Valente M, et al. A selective inhibitor of the osteoclastic V-H ATPase prevents bone loss in both thyroparathyroidectomized and ovariectomized rats. J Clin Invest. 2000; 106 (2): 309-318
19. Teitelbaum SL. Osteoporosis and Integrins. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2005; 90 (4): 2466-2468
20. Mattsson JP, Vaananen K, Wallmark B, et al. Omeprazole and bafilomycin, two proton pump inhibitors: differentiation of their effects on gastric, kidney and bone H(+)-translocating ATPases. Biochim Biophys Acta. 1991; 18, 1065(2): 261-8
21. Vestergaard P, Rejnmark L & Mosekilde L. Proton Pump Inhibitors, Histamine H2 Receptor Antagonists, and Other Antacid Medications and the Risk of Fracture. Calcified Tissue International 2006; 79 (2): 76-83
22. Yang YX, Lewis JD, Epstein S, et al. Long-term proton pump inhibitor therapy and risk of hip fracture. JAMA. 2006; 296: 2947-53
23. Richards JB, Goltzman D. Proton pump inhibitors: balancing the benefits and potential fracture risks. CMAJ. 2008; 179: 306-307
24. Targownik LE, Lix LM, Metge CJ, et al. Use of proton pump inhibitors and risk of osteoporosis-related fractures. CMAJ. 2008;179: 319-26
25. Burch B. Vitamin D. The Eclectic Physician. 2008
26. Matsunaga S, Ito H, Sakou T. The effect of vitamin K and D supplementation on ovariectomy-induced bone loss. Calcif Tissue Int. 1999; 65(4): 285-9
27. Inzucchi SE. Understanding hypercalcemia, its metabolic basis, signs, and symptoms. Postgraduate medicine. 2004; 115 (4)
28. FAVUS MJ, WALLING MW, KIMBERG DV. Effects of Dietary Calcium Restriction and Chronic Thyroparathyroidectomy on the Metabolism of [3H]25-Hydroxyvitamin D3 and the Active Transport of Calcium by Rat Intestine. The Journal of Clinical Investigation. 1974; V(53):1139-1148
29. Arjmahdi BH, Alekel L, Mollis W, et al. Dietary Soybean Protein Prevents Bone Loss in an Ovariectomized Rat Model of Osteoporosis. The Journal of Nutrition. 1996; 126: 161-167
30. Weber K, Kaschig C, Erben RG. 1α-Hydroxyvitamin D2 and 1α-hydroxyvitamin D3 have anabolic effects on cortical bone, but induce intracortical remodeling at toxic doses in ovariectomized rats. Bone. 2004; 35, Issue (3): 704-710
31. Erben RG, Bromm S, Stangassinger M. Therapeutic efficacy of 1alpha,25 dihydroxy vitamin D3 and calcium in osteopenic ovariectomized rats: evidence for a direct anabolic effect of 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 on bone.

Endocrinology. 1998; Vol:139, No:10, 4319-28
32. Horcajada-Molteni MN, Davicco MJ, Lebecque P, et al. Amylin inhibits ovariectomy -induced bone loss in rats. Endocrinology. 2000; V:165, 663–668
33. 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 (3): 311-319
34. Mosekilde LI, Thomsen JS, Orhii PB, et al. Growth Hormone Increases Vertebral and Femoral Bone Strength in Osteopenic, Ovariectomized, Aged Rats in a Dose-Dependent and Site-Specific Manner. Bone. 1998; 23 (4): 343–352
35. Akhter MP, Kimmel DB, Recker RR. Effect of Parathyroid Hormone (hPTH[1-84]) Treatment on Bone Mass and Strength in Ovariectomized Rats. Journal of Clinical Densitometry. 2001; 4 (1): 13-23
36. KAWASE H. Effect of the Ovariectomy on the Progression of Experimental Periodontitis in Rats. Aichi-Gakuin Journal of Dental Science. 2000; 38 (1): 103-116.
37. Zhang Y, Lai WP, Leung PC, et al. Short-to Mid-Term Effects of Ovariectomy on Bone Turnover, Bone Mass and Bone Strength in Rats. Biological & Pharmaceutical Bulletin. 2007; 30 (5): 898
38. Urena P, Hruby M, Ferreira A, et al. Plasma total versus bone alkaline phosphatase as markers of bone turnover in hemodialysis patients. Journal of the American Society of Nephrology. 1996; Vol 7, 506-512
39. Tobiume H, Kanzaki S, Hida S, et al. Serum Bone Alkaline Phosphatase Isoenzyme Levels in Normal Children and Children with Growth Hormone (GH) Deficiency: A Potential Marker for Bone Formation and Response to GH Therapy. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.1997; 82 (7): 2056-2061
40. Hartwella SK, Somprayoona D, Kongtawelertb P, et al. Online assay of bone specific alkaline phosphatase with a flow injection-bead injection system. Analytica chimica acta. 2007; 600: 188–193
41. Swaminathan R. Biochemical markers of bone turnover. Clinica Chimica Acta. 2001 313: 95–105
42. Ito M, Azuma Y, Takagi H, et al. Preventive effects of sequential treatment with alendronate and 1 alpha-hydroxyvitamin D3 on bone mass and strength in ovariectomized rats. Bone. 2003; 33(1): 90-9
43. Erben RG, Mosekilde L, Thomsen JS, et al. Prevention of bone loss in ovariectomized rats by combined treatment with risedronate and 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3. J Bone Miner Res. 2002; 17(8):1498-511
44. Erben RG, Bromm S, Stangassinger M. Therapeutic Efficacy of 1,25 Dihydroxyvitamin D3 and Calcium in Osteopenic Ovariectomized Rats: Evidence for a Direct Anabolic Effect of

1,25-Dihydroxyvitamin D3 on Bone. Endocrinology. 1998; 139 (10): 4319-4328
45. Erben RG, SCUTT AM, MIAO D. Short-Term Treatment of Rats with High Dose 1,25-Dihydroxyvitamin D3 Stimulates Bone Formation and Increases the Number of Osteoblast Precursor Cells in Bone Marrow. Endocrinology. 1997; 138 (11): 4629- 4635
46. Erben RG, Weiser H, Sinowatz F, et al. Vitamin D metabolites prevent vertebral osteopenia in ovariectomized rats. Calcif Tissue Int. 1992; 50(3):228-36
47. Erben RG, Kohn B, Weiser H, et al. Role of vitamin D metabolites in the prevention of the osteopenia induced by ovariectomy in the axial and appendicular skeleton of the rat. Z Ernahrungswiss. 1990; 29(4): 229-48
48. Shiraishi A Higashi S, Ohkawa H, et al. The advantage of alfacalcidol over vitamin D in the treatment of osteoporosis. Calcif Tissue Int. 1999; 65(4):311-6.
49. Schwenk TL. PPIs and Risk for Hip Fracture. Journal Watch General Medicine. 2007; 296:2947-53
50. Iwamoto J, Yeh JK, Takeda T, Sato Y. Comparative effects of vitamin K and vitamin D supplementation on calcium balance in young rats fed normal or low calcium diets. J. Nutr. Sci. Vitaminol (Tokyo). 2005; 51(4):211-5