University of Mosul
College of Veterinary Medicine

Effect of Atorvastatin and Rosuvastatin on Some Biomarkers of Osteoporosis Induced by Ovariectomy in Rats

Sumaya Sultan Salih

M.Sc. / Thesis

Veterinary Medicine / Veterinary Biochemistry

Supervised by

Assistant Professor

Dr. Elham Mohammad AL-Khashab

2022 A.D. **1444 A.H.**

Abstract

This study was designed to explore the effect of two types of statins Atorvastatin (lipophilic) and Rosuvastatin (hydrophilic) on some biomarkers of bone formation, alkaline phosphatase (ALP), dihydroxycholecalciferol (1,25 $(OH)_2$ D3, osteocalcin (OC), calcium (Ca) and phosphorus (P), and bone resorption N-telopeptide of type 1 collagen (NTx) in serum of adult female ovariectomized rats. In addition to determine calcium (Ca), phosphorus (P) and magnesium (Mg) content in femur bone ash of female ovariectomized rats. Also, histological examination was performed in left femur bones of these rats. Forty female rats (2.5-3months) age, weighing (200-220 g) were housed at controlled conditions of temperature (22-25°C), (12h light-12h dark) cycle in the animals house of the College of Veterinary Medicine / University of Mosul. The animals were divided into four equal groups that include; group 1: sham group and given distilled water, group 2: ovariectomized (ovx) group as a model of osteoporosis and given distilled water, group 3: ovx group treated orally with 20 mg/kg body weight daily of atorvastatin and group 4: ovx group treated orally with 20 mg/kg body weight daily of Rosuvastatin. All groups were treated for 60 days. After 30 and 60 day of treatment, blood samples were collected from all groups and separated serum for biochemical analysis, right femur bones were excised and ashed to estimate calcium, phosphorus and magnesium percentage, and left femur bones were excised for histological examination.

The results showed a significant elevation in serum ALP, OC, NTx, calcium and phosphorus and body weight with a significant reduction in 1,25 $(OH)_2$ D3 in ovx group compared to the sham group, but treatment with 20 mg/kg atorvastatin for 60 days caused a significant reduction in

ALP, and NTx with a non-significant elevation of 1,25$(OH)_2$D3. However, treatment with 20 mg/kg rosuvastatin caused a significant reduction in ALP, NTx, OC and calcium with a significant elevation in 1,25$(OH)_2$D3 compared to the ovx group.

As well as, the results revealed a significant reduction in bone ash weight, percentage of Ca, P and Mg content in bone ash of the ovx group compared to the sham group, but 20 mg/kg of rosuvastatin treatment led to a significant elevation in the bone ash weight, percentage of Ca and P in bone ash in comparison with the ovx rats. Treatment with 20 mg/kg of atorvastatin elevated Ca and P content in bone ash compared with ovx group.

Histological results showed a low density, thin trabecular bone, a few blood vessels, a high numbers of osteoclasts, with low numbers of osteoblasts in ovx group compared with the sham group, but treated ovx rats with atorvastatin have an increase in the thickness of trabecular bone and medium developed osteogenic tissue, also medium number of osteoblasts and osteoclasts compared with ovx group. Treatment of the ovx rats with rosuvastatin caused a significant increase in trabecular bone thickness, well developed osteogenic tissue, high numbers osteoblasts and low numbers osteoclasts compared with ovx group.

From the results of the current study, we concluded that treatment with atorvastatin and rosuvastatin prevent bone resorption and enhance bone formation in ovx female rats. In addition, rosuvastatin has a better effect on bone metabolism than atorvastatin.

جامعة الموصل
كلية الطب البيطري

تأثير الأتورفاستاتين والروزفاستاتين في بعض المؤشرات الحيوية لهشاشة العظام المحدثة عن طريق استئصال المبايض في الجرذان

سمية سلطان صالح

رسالة ماجستير
الطب البيطري / الكيمياء الحياتية البيطرية

بإشراف
الأستاذ المساعد
الدكتورة الهام محمد الخشاب

١٤٤٤ هـ ٢٠٢٢ م

الخلاصة

تم اجراء هذه الدراسة للتقصي عن تأثير نوعين من الستاتينات الاتورفاستاتين (محب للدهون) والروزفاستاتين (محب للماء) في بعض المؤشرات الحيوية لبناء العظم (انزيم الفوسفاتيز القاعدي ALP، 25,1 ثنائي هيدروكسي فيتامين D3، اوستيوكالسينOC، الكالسيوم Caوالفسفور P)، واحد مؤشرات ارتشاف العظم (NTx) في مصل دم اناث الجرذان البالغة المستأصلة المبايض. بالاضافة الى مستوى الكالسيوم، الفسفور والمغنسيوم في رماد عظم الفخذ الايمن كذلك تم إجراء الفحوصات النسجية في عظم الفخذ الايسر في هذه الجرذان. اربعون من اناث الجرذان البالغة تراوحت اعمارها (2.5-3 اشهر) و اوزانها (200-220 غم) تمت تربيتها تحت ظروف مسيطر عليها من درجة حرارة (22-25 °م) و (12 ساعة ظلام-12 ساعة ضوء) في بيت الحيوانات التابع لكلية الطب البيطري لجامعة الموصل. تم تقسيم الحيوانات الى أربعة مجاميع متساوية والتي تضمنت المجموعة الشاهدة sham، المجموعة المستأصلة المبايض والتي اخذت كنموذج لهشاشة العظام، المجموعة المستأصلة المبايض المعاملة ب 20 ملغم/كغم فموياً من الاتورفاستاتين والمجموعة المستأصلة المبايض المعاملة ب 20 ملغم/كغم فموياً من الروزفاستاتين ولمدة 60 يوم. تم سحب الدم بعد 30 و 60 يوم من المعاملة، تم جمع نماذج الدم من كل المجاميع وفصل مصل الدم لغرض الفحوصات الكيموحيوية، ونزع عظم الفخذ الايمن وتم تحويله الى رماد لغرض تقدير النسبة المئوية للكالسيوم، الفسفور والمغنسيوم ونزع عظم الفخذ الايسر لاجراء الفحوصات النسجية لكل مجموعة.

اشارت النتائج الى وجود ارتفاع معنوي في فعالية انزيم الفوسفاتيز القاعدي، الاوستيوكالسين و NTx، الكالسيوم، الفسفور و وزن الجسم مع وجود انخفاض معنوي في مستوى 1,25 ثنائي هيدروكسي فيتامين D3 في مصل الجرذان المستأصلة المبايض مقارنة مع المجموعة الشاهدة، لكن المعاملة ب 20 ملغم/كغم من الاتورفاستاتين ادت الى انخفاض معنوي في فعالية انزيم الفوسفاتيز القاعدي، الاوستيوكالسين و NTx، وارتفاع غير معنوي في مستوى 1,25 ثنائي هيدروكسي فيتامين D3 مقارنة مع المجموعة المستأصلة المبايض. في حين ادت المعاملة ب 20 ملغم/كغم من الروزفاستاتين الى انخفاض معنوي في كل من ALP, OC, NTx والكالسيوم مع وجود ارتفاع معنوي في مستوى 1,25 ثنائي هيدروكسي فيتامين D3 مقارنة مع المجموعة المستأصلة المبايض بعد 60 يوم من المعاملة.

كما أظهرت النتائج انخفاضا ملحوظا في وزن رماد العظم، النسبة المئوية لمحتوى الكالسيوم، الفسفور والمغنسيوم في رماد العظم للمجموعة المستأصلة المبايض مقارنة مع المجموعة الشاهدة، لكن المعاملة ب 20 ملغم/كغم من الروزفاستاتين ادت الى ارتفاع معنوي في وزن رماد العظم، النسبة المئوية للكالسيوم والفسفور في رماد العظم مقارنة مع المجموعة المستأصلة المبايض. كما ان المعاملة ب 20 ملغم/كغم من الاتورفاستاتين ادت الى زيادة محتوى الكالسيوم والفسفور في رماد العظم مقارنة مع المجموعة المستأصلة المبايض.

اظهرت النتائج النسجية كثافة منخفضة وعظم تربيقي رقيق، وقلة الاوعية الدموية، واعداد كبيرة من الخلايا الهادمة للعظم، مع انخفاض اعداد الخلايا البانية للعظم في مجموعة الجرذان المستأصلة المبايض مقارنة مع الجرذان الشاهدة، لكن معاملة الجرذان المستأصلة المبايض بالاتورفاستاتين ادى الى زيادة سمك العظم التربيقي وتطور متوسط لانسجة العظم، وكذلك عدد متوسط من الخلايا البانية للعظم والخلايا الناقضة للعظم مقارنة مع المجموعة المستأصلة المبايض. وتسببت معاملة الجرذان المستأصلة المبايض بالروزفاستاتين ارتفاع معنوي في سماكة العظام التربيقية، الانسجة العظمية متطورة بشكل جيد، وارتفاع اعداد الخلايا البانية للعظم وانخفاض اعداد الخلايا الناقضة للعظم.

من خلال نتائج الدراسة الحالية، نستنتج ان المعاملة بالستاتينات لها تأثير في منع ارتشاف العظام وتعزيز تكوين العظام في اناث الجرذان المستأصلة المبايض. كما ان الروزفاستاتين تأثيره في ايض العظام افضل من الاتورفاستاتين.