

Vliv metoprololu na kostní metabolismus u samců potkanů kmene Wistar po provedené orchidektomii

I. GRADOŠOVÁ¹, H. ŽIVNÁ², P. ŽIVNÝ¹, S. HUBENÁ¹, K. ŠVEJKOVSKÁ¹, V. PALIČKA¹

¹Ústav klinické biochemie a diagnostiky, LF UK a FN Hradec Králové

²Vivárium a Radioizotopové laboratoře, LF UK, Hradec Králové

SOUHRN

Gradošová I., Živná H., Živný P., Hubená S., Švejkovská K., Palička V.: **Vliv metoprololu na kostní metabolismus u samců potkanů kmene Wistar po provedené orchidektomii**

Cíl: Sledovali jsme vliv často užívaného beta-blokátoru – metoprololu na kostní metabolismus u samců potkanů kmene Wistar po provedené orchidektomii.

Materiál a metody: Naše studie byla provedena na 24 potkanech rozdělených do 3 skupin ($n = 8$). Skupina SHAM a kontrolní skupina (KON) po orchidektomii (ORCH) dostávala standardní laboratorní dietu (SLD), experimentální skupina (MET) po ORCH přijímala SLD obohacenou o metoprolol (MET; 27 mg/25 g diety) po dobu 12 týdnů. Kostní metabolismus byl sledován změřením hladin kostních markerů v séru – PINP, OPG a IGF-I a v kostním homogenátu – CTX-I, BALP, BMP-2. Stanovili jsme hladinu sérového vápníku a jeho množství v tibii. Byla změřena BMD a testována biomechanická odolnost kostní tkáně.

Výsledky: U KON došlo k nárůstu hladin markerů kostního obratu CTX-I ($p < 0,001$), BALP ($p < 0,01$), BMP-2 ($p < 0,01$) vs. SHAM. U MET se snížily hladiny CTX-I ($p < 0,001$), PINP ($p < 0,01$), BMP-2 ($p < 0,05$) a OPG ($p < 0,001$) vs. KON. U KON klesla sérová koncentrace IGF-1 ($p < 0,001$) vs. SHAM a u MET došlo k jejímu nárůstu ($p < 0,01$) vs. KON. Orchidektomie způsobila pokles celotělového BMD ($p < 0,001$) v oblasti bederních obratlů ($p < 0,05$), levého femuru (LF; $p < 0,01$) a pravého femuru (PF; $p < 0,001$). Testováním biomechanické odolnosti kostní tkáně v oblasti diafýzy LF a PF byl zjištěn pokles tlakové odolnosti u KON ($p < 0,01$, $p < 0,05$) vs. SHAM. Změřením sérového vápníku a jeho množství v tibii, BMD a biomechanické odolnosti kostní tkáně u MET nedošlo k statisticky významným změnám v porovnání s KON.

Závěr: Metoprolol má pozitivní vliv na kostní metabolismus u samců potkanů kmene Wistar snížením kostního obratu, který byl vystupňován vlivem orchidektomie. Po podání beta-blokátoru došlo k zvýšení syntézy IGF-1, který je zodpovědný za správný růst a vývoj kostí.

Klíčová slova: metoprolol, kostní markery, ELISA, DXA, testování biomechanické odolnosti kostní tkáně

SUMMARY

Gradošová I., Živná H., Živný P., Hubená S., Švejkovská K., Palička V.: **Effect of metoprolol on bone metabolism in male Wistar rats after orchidectomy**

Objective: We investigated the effect of the frequently used beta-blocker metoprolol on bone metabolism in male Wistar rats after orchidectomy.

Material and methods: The study was carried out on 24 rats which were divided into 3 groups ($n = 8$). A sham-operated control group (SHAM) and a control group after orchidectomy (KON) received standard laboratory diet (SLD). An experimental group after orchidectomy (MET) received SLD enriched with metoprolol (27 mg/25 g of the diet) for 12 weeks. Bone metabolism was monitored by measuring the levels of bone markers in serum (PINP, OPG and IGF-I) and in bone homogenate (CTX-I, BALP and BMP-2). The levels of total calcium in serum and the calcium content of the tibiae were determined. Bone mineral density (BMD) and biomechanical testing were performed.

Results: Bone markers (CTX-I, BALP, BMP-2) in KON were higher vs. SHAM ($p < 0.001$, $p < 0.01$, $p < 0.01$, respectively). In MET, there was a decrease in CTX-I, PINP, BMP-2 and OPG vs. KON ($p < 0.001$, $p < 0.01$, $p < 0.05$, $p < 0.001$, respectively). In KON, there was a decrease in IGF-1 vs. SHAM ($p < 0.001$). In MET, this was increased vs. KON ($p < 0.01$). Orchidectomy caused a significant decrease in total body BMD, in lumbar spine BMD and in left (LF) and right (RF) femur ($p < 0.001$, $p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.001$, respectively). Biomechanical testing of LF and RF diaphyses revealed a decrease in maximal load values in KON vs. SHAM ($p < 0.01$, $p < 0.05$). There was no statistically significant change in serum concentrations of total calcium, in the amount of calcium in the tibia, BMD and biomechanical testing in MET vs. KON.

Conclusion: Metoprolol has a positive effect on bone metabolism in male Wistar rats by decreasing bone turnover increased as a result of orchidectomy. After administration of the beta-blocker, there was increased synthesis of IGF-1, which is responsible for proper bone growth and development.

Keywords: metoprolol, bone markers, ELISA, DXA, biomechanical testing of bone tissue

Osteologický bulletin 2011;16(4):153–158

Adresa: Mgr. Iveta Gradošová, Ústav klinické biochemie a diagnostiky LF UK a FN v Hradci Králové, Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové, e-mail: gradosovai@lfhk.cuni.cz

Došlo do redakce: 4. 10. 2011

Přijato k tisku: 7. 12. 2011

Úvod

Arteriální hypertenze se spolu s osteoporózou řadí mezi tzv. civilizační choroby. Tato onemocnění se častěji vyskytují u starších osob. V dnešní době, kdy na nás v průběhu života působí mnoho nepříznivých vlivů, je běžné, že lidé v pokročilém věku často užívají velké množství léků. S přibývajícím věkem dochází k úbytku kostní hmoty, a proto je poslední dobou středem zájmu nových výzkumů, zda běžně předepisované léky nezasahují do kostního metabolismu. Beta-blokátory patří mezi často užívanou skupinu antihipertenziv, mezi které patří také právě metoprolol. O jeho vlivu na kostní metabolismus se zatím mnoho neví a dosavadní data o beta-blokátorech a jejich vlivu na kostní metabolismus jsou nejednotná.

Metoprolol patří mezi lipofilní β_1 -selektivní blokátory bez vnitřní sympatomimetické aktivity. Hlavní mechanismus účinku beta-blokátorů je dán „kardioselektivitou“, tedy bloádou β_1 -receptorů, které se vyskytují především v srdci, ale také např. v ledvinách. Bloádou těchto receptorů dochází k snížení srdečního výdeje, což vede k poklesu srdeční frekvence a snížení kontraktility myokardu a jeho zmenšení nároků na kyslík. V ledvinách inhibují tvorbu reninu, což má rozhodující vliv na antihipertenzní účinek [1]. Při vyšších dávkách metoprolol blokuje také β_2 -receptory [1], které byly též nalezeny na buňkách osteoblastů a osteoklastů [2]. Aktivací sympatického nervového systému, ve kterém hraje roli hormon leptin, dochází k produkci noradrenalinu v kostech, který se váže na β_2 -receptory osteoblastů, a tím inhibuje jejich aktivitu. Navíc, stimulací β_2 -receptorů dochází k produkci ligandu pro aktivátor nukleárního faktoru kappaB (RANKL) osteoblasty, to může vést k aktivaci osteoklastů a tím zvýšené kostní resorpci [3]. Výskyt těchto receptorů na buňkách kostní tkáně naznačuje, že by mohl metoprolol podávaný pacientům ve vyšších dávkách zasahovat pozitivně do kostního metabolismu cestou jejich bloády. Většina dosavadních studií naznačuje, že užívání beta-blokátorů zvyšuje kostní minerální hustotu (BMD) [4,5,6,7] a snižuje riziko zlomenin [4,6,7,8,9,10], ale ne všechny studie se s tímto zjištěním ztotožňují [11].

Osteoporózou trpí nejen ženy, ale často opomíjeny jsou i muži. Vlivem stárnutí dochází k poklesu pohlavních hormonů a u mužů je to především testosteron, který je velmi důležitý pro kostní tkáň. Snížením hladiny sexuelních hormonů dochází k zvýšenému kostnímu obratu s následným snížením hustoty kostního minerálu a poruchou mikroarchitektury kostní tkáně (jak trabekulární, tak kortikální), a s tím spojený vznik křehčích kostí vedoucí ke vzniku fraktur [12]. Cestou aktivace receptorů na osteoblastech testosteronem dochází k následné proliferaci a diferenciaci osteoblastů, produkci růstových faktorů, cytokinů, snížení sekrece interleukinu 6 a prostaglandinu E_2 . Testosteron se metabolizuje enzymem cytochrom-P450-aromatázou, který je přítomen v řadě tkání včetně kostní tkáně v buňkách osteoblastů, na 17β -estradiol [13]. Biologicky dostupný 17β -estradiol je nezávislým prediktorem BMD u starších mužů a je zodpovědný za anabolický účinek androgenů. Estrogen samotný reguluje kostní resorpci, zatímco estrogen a testosteron společně jsou důležité pro kostní novotvorbu u mužů [14].

V našem experimentu jsme sledovali vliv metoprololu na

kostní metabolismus u samců potkanů kmene Wistar po provedené orchidektomii. Kostní metabolismus byl sledován stanovením markerů kostního obratu. Vyšetřovali jsme kostní minerální hustotu a testovali jsme biomechanickou odolnost kostní tkáně.

Materiál a metody

Zvířata

Potkani byli chováni ve viváriu Lékařské fakulty Univerzity Karlovy (LF UK) v Hradci Králové. Protokol pokusu byl schválen Odbornou komisí na ochranu zvířat proti týrání LF UK v Hradci Králové (č. j. 22106/2010-30). V pokusu byli použiti osmitýdenní samci potkanů kmene Wistar (Biotest, s. r. o., Konárovice, ČR). Potkani byli umístěni po 4 v plastových klecích a chováni za standardních podmínek (12 hodin světlo a 12 hodin tma, teplota 22 ± 2 °C, vlhkost vzduchu 30–70 %). Byli krmeni standardní laboratorní dietou (SLD, VELAS, a. s., Lysá nad Labem, ČR) a SLD obohacenou o metoprolol (Albert Weber – SEMED, Praha, ČR) a pitnou vodou *ad libitum*. Hmotnost potkanů byla sledována jednou týdně.

Experiment

Potkani s tělesnou hmotností (BW; 219 ± 8 g) na počátku pokusu byli rozděleni do tří skupin po 8 zvířatech:

1. Skupina SHAM: potkani bez provedené orchidektomie krmeni SLD;
2. Skupina KON: potkani s provedenou orchidektomií krmeni SLD;
3. Skupina MET: potkani s provedenou orchidektomií krmeni SLD obohacenou o metoprolol (27 mg/25 g diety; Egilok, EGIS PHARMACEUTICALS PLC, Budapešť, Maďarsko).

Na začátku pokusu byla potkanům (KON a MET) provedena oboustranná orchidektomie v éterové anestezii. U potkanů SHAM byl proveden pouze operační řez na šourku, který byl následně zašit. Druhý den po operaci se začala podávat experimentálním potkanům (MET) SLD obohacená o metoprolol a skupinám (SHAM a KON) pouze SLD, obě diety *ad libitum*. Po 12 týdnech byla zvířata usmrcena odběrem krve z bifurkace břišní aorty v éterové anestezii. Získané krevní sérum bylo zamraženo na -80 °C. Po usmrcení potkanů byly vyňaty obě tibie a femury, zabaleny do gázy zvlhčené fyziologickým roztokem a zamraženy na -80 °C až do doby analýzy.

Analýzy séra a kostních homogenátů

V krevním séru jsme stanovili koncentraci celkového vápníku na přístroji Modular Roche (Mannheim, Germany) setem (Roche) s využitím o-cresolphtalein komplexonu a hladiny kostních markerů – aminoterminálního propeptidu prokolagenu typu I (PINP), osteoprotegerinu (OPG) a inzulinu podobnému růstovému faktoru I (IGF-I) pomocí metody ELISA (Enzyme – Linked Immuno Sorbent Assay).

V kostním homogenátu byly stanoveny hladiny kostních markerů – karboxyterminálního telopeptidu kolagenu I (CTX-I), kostní formy izoenzymu alkalické fosfatázy (BALP) a kostního morfogenetického proteinu 2 (BMP-2) také metodou ELISA. Homogenát byl připraven z tibie.

Proximální část kosti (0,1 g) jsme homogenizovali v 1,5 ml fosfátového pufru (PBS, PAA Laboratories GmbH, Pasching, Austria) na přístroji MagNA Lyser (Roche) ve třech cyklech při 6 500 rpm po dobu 20 s. Mezi každým cyklem byly vzorky chlazeny v chladícím kruhu (MagNA Lyser Cooling Block). Pro stanovení hladin kostních markerů byly využity kity od firmy Uscn Life Science Inc., Wuhan, Čína (PINP, Procollagen I N-Terminal Propeptide, pg/ml; OPG, Osteoprotegerin, ng/ml; IGF-I Insulin Like Growth Factor I; ng/ml, CTX-I, Cross Linked C-Telopeptide Of Type I Collagen; ng/ml, BALP, Alkaline Phosphatase, Liver/Bone/Kidney; U/l, BMP-2, Bone Morphogenetic Protein 2; ng/ml).

V tibii potkana bylo stanoveno množství vápníku pomocí plamenové fotometrie na plamenovém fotometru EFOX 5053 (Eppendorf-Netheler-Hinz GmbH, Hamburg, Germany).

Analýzy byly provedeny v Ústavu klinické biochemie a diagnostiky LF UK a ve Fakultní nemocnici Hradec Králové.

Denzita kostního minerálu

Potkanům byla změřena denzita kostního minerálu (BMD, g/cm²) pomocí dvouenergie rentgenové absorpciometrie (DXA – Dual Energy X-ray Absorptiometry) na přístroji Hologic Delphi A (Hologic, MA, USA) v Osteocentru Fakultní nemocnice Hradec Králové. BMD celého těla,

v oblasti bederních obratlů a v oblasti femuru byla počítačově vyhodnocena pomocí příslušného softwarového programu pro malá zvířata (DXA, Hologic, MA, USA).

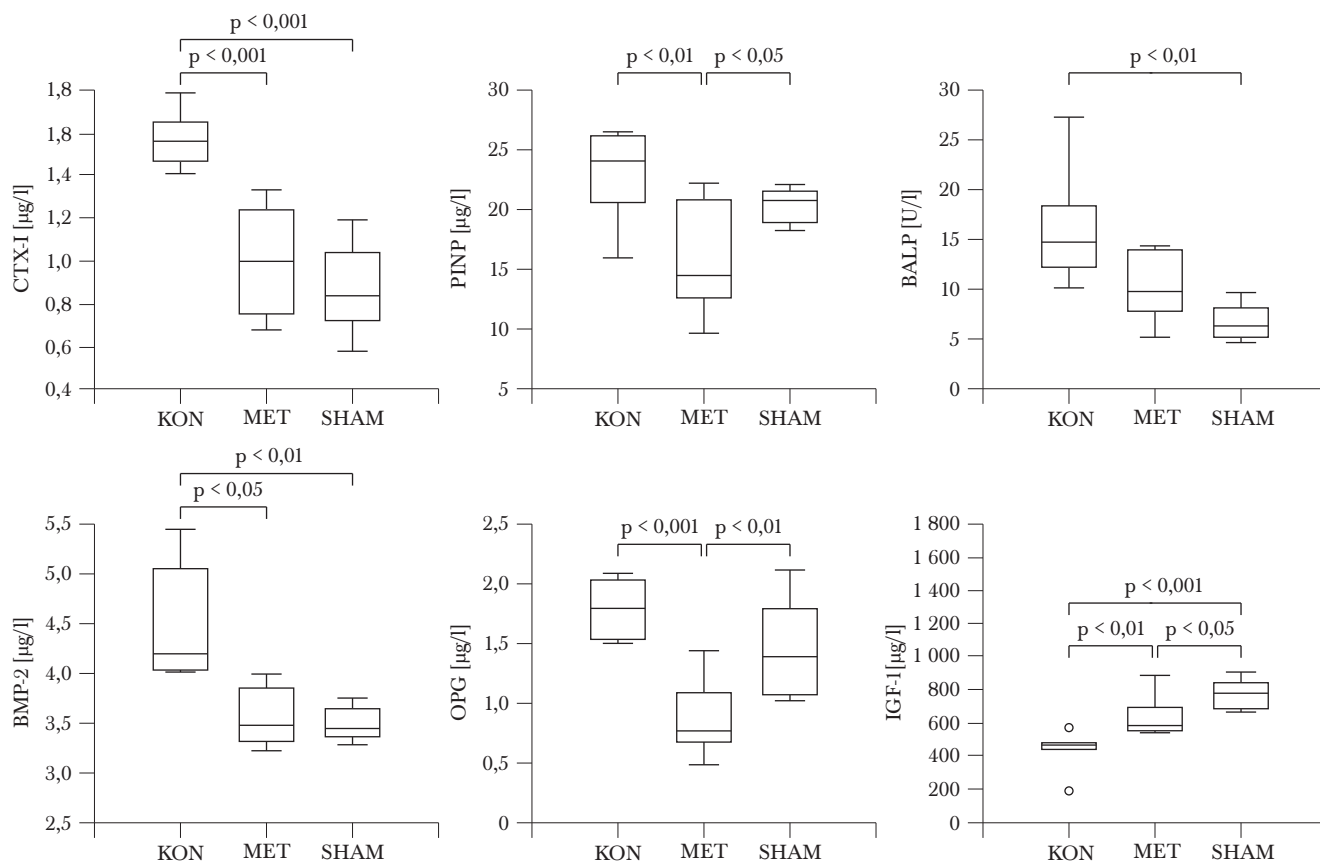
Testování mechanické odolnosti kostní tkáně

Femury byly využity k testování mechanické odolnosti kostní tkáně na speciálním elektromechanickém přístroji (Martin Košek & Pavel Trněčka, Hradec Králové, ČR) pomocí metod three-point bending a tlakové odolnosti krčku femuru, které byly popsány v naší předchozí studii [15]. Po zlomu femuru v oblasti diafýzy byla změřena tloušťka kortikální části kosti pomocí posuvného mikrometru (OXFORD 0-25mm 30DEG POINTED MICROMETER, Victoria Works, Leicester, Velká Británie).

Statistická analýza

Statistická analýza byla provedena pomocí programu NCSS 2007 (Number Cruncher Statistical System, Kay-ville, Utah, USA). Pro porovnání sledovaných parametrů byla použita analýza rozptylu s následným mnohonásobným porovnáním Fisherovým LSD testem a Kruskal-Wallisova neparametrická analýza rozptylu s následným mnohonásobným porovnáním Dunnovým testem (s Bonferoni modifikací). Výsledky jsou vyjádřeny buď jako průměr $\pm$ směrodatná odchylka, nebo jako medián a 25. a 75. percentil. Zvolená hladina významnosti byla $\alpha = 0,05$.

Graf 1
Hodnocení markerů kostního obratu



Výsledky

Orchidektomie způsobila signifikantní pokles hmotnosti u skupiny MET na počátku pokusu v porovnání s SHAM. Hmotnost skupiny KON také klesla, ale statisticky nevýznamně vs. SHAM. Po 12 týdnech podávání metoprololu došlo k signifikantnímu poklesu hmotnosti v porovnání s KON (tab. 1).

U potkanů nedošlo k statisticky významné změně v sérových koncentracích celkového vápníku a ani v množství vápníku v tibii (tab. 2).

Stanovením hladin markerů kostního obratu (CTX-I, BMP-2 a BALP) jsme zjistili signifikantní nárůst u potkanů po provedené orchidektomii vs. SHAM. Hladina PINP a OPG statisticky nevýznamně vzrostla v porovnání s SHAM. Po podávání metoprololu došlo k signifikantnímu poklesu CTX-I, PINP, BMP-2 a OPG, u BALP jsme zaznamenali také patrný pokles, který ale nebyl statisticky významný vs. KON. Sérová hladina IGF-I statisticky významně klesla u KON vs. SHAM. U skupiny MET signifikantně vzrostla v porovnání s KON, ale nedosáhla srovnatelné hladiny s SHAM. Výsledky jsou dány do grafů (graf 1).

U potkanů po provedené orchidektomii jsme prokázali snížení BMD celého těla, v oblasti bederních obratlů a obou femurů v porovnání s SHAM. Po podání metoprololu nedošlo k signifikantní změně vs. KON (tab. 3).

U skupiny KON byla statisticky významně kratší délka, slabší průměr i tloušťka kortikální části levého i pravého femuru v porovnání s SHAM. Po podání metoprololu jsme neprokázali nárůst parametrů femuru vs. KON. Testování biomechanické odolnosti kostní tkáně pomocí three-point bending testu ukázalo statisticky významný pokles tlakové síly u skupiny KON vs. SHAM. Po podání metoprololu nedošlo k signifikantní změně tlakové síly v oblasti diafýzy femurů v porovnání s KON. Testováním tlakové odolnosti krčku femurů jsme neprokázali statisticky významný rozdíl (tab. 3).

Tabulka 1

Hmotnost potkanů (SHAM) a potkanů po provedené orchidektomii (KON, MET) na začátku a na konci experimentu

	SHAM	KON	MET
Hmotnost na začátku pokusu (g)	229 ± 12 ^b	220 ± 9	213 ± 7 ^b
Hmotnost na konci pokusu (g)	569 ± 58 ^{a, b}	496 ± 27 ^{b, c}	450 ± 24 ^{a, c}

^a p < 0,001, ^b p < 0,01, ^c p < 0,05

Výsledky jsou vyjádřeny jako průměr ± směrodatná odchylka.

Tabulka 2

Výsledky množství vápníku v séru a v tibii

	SHAM	KON	MET
Koncentrace vápníku v séru (mmol/l)	2,71 ± 6	2,64 ± 7	2,69 ± 0
Množství vápníku v tibii (umol/g)	621 ± 289	652 ± 468	677 ± 281

Výsledky jsou vyjádřeny jako průměr ± směrodatná odchylka.

Diskuze

V současnosti máme k dispozici několik studií o vlivu beta-blokátorů na kostní metabolismus a převážná většina z nich demonstruje pozitivní vliv na skelet. Bylo zjištěno, že beta-blokátory pravděpodobně zvyšují novotvorbu kostní hmoty [16]. Mnohé práce uvádějí, že užívání beta-blokátorů zlepšuje kostní minerální hustotu [4,5,6,7] a snižuje riziko fraktur [4,6,7,8,9,10]. Naopak Rejnman et al. (2004) ve své práci uvádí, že perimenopauzální ženy léčené beta-blokátory (též metoprololem) měly trojnásobné riziko vzniku fraktury a o 20 % nižší sérový osteokalcin v porovnání s neléčenými ženami [11].

V naší studii jsme sledovali vliv metoprololu na kostní metabolismus u samců potkanů kmene Wistar, který byl narušen vlivem orchidektomie. Lék byl podáván po relativně dlouhou dobu 12 týdnů v dávce srovnatelné s maximální denní dávkou u lidí při zohlednění metabolismu potkana.

Orchidektomie způsobila po 12 týdnech signifikantní pokles tělesné hmotnosti, BMD, zvýšení kostního obratu, zpomalení vývoje kostí a jejich větší lomivost v porovnání s potkany bez provedené orchidektomie. Naše výsledky potvrzují zjištění z předchozích studií, že deficit androgenů u rostoucích potkanů negativně ovlivňuje vývoj kostí a že mladý potkan, který je ve vývinu a po provedené orchidektomii, je vhodným modelem osteopenie [17].

V naší studii došlo u potkanů po orchidektomii k signifikantnímu nárůstu hladin markerů kostní novotvorby BALP, BMP-2 a markeru kostní resorpce CTX-I. Po 12 týdnech podávání metoprololu orchidektomovaným potkanům jsme prokázali snížení kostního obratu. Došlo k signifikantnímu poklesu hladin CTX-I, PINP, BMP-2 a OPG. Kostní alkalická fosfatáza také poklesla, ale bez statistické významnosti.

Je zajímavé, že v našem předchozím experimentu na zdravých dospělých samcích potkanů kmene Wistar, kterým jsme podávali metoprolol v nižší dávce (2 mg/kg tělesné

hmotnosti; BW) a po kratší dobu (8 týdnů), došlo k zvýšení množství růstového faktoru osteoblastů BMP-2 v proximální části tibie [18]. Kostní morfogenetické proteiny (BMP) patří do nadrodiny růstových faktorů TGF-β (Transforming Growth Factor β), které podporují diferenciaci mezenchymálních buněk v chondrocyty a osteoblasty a osteoprogenitorových buněk v osteoblasty [19]. U orchidektomovaných potkanů se hladina BMP-2 v kostním homogenátu po podávání metoprololu signifikantně snížila. Potkani s neporušeným kostním metabolismem reagovali na podání metoprololu v našem předchozím experimentu [18] odlišnou expresí BMP-2 v kostní tkáni než potkani, kteří měli kostní metabolismus narušen vlivem orchidektomie.

Dále výrazně poklesla sérová hladina inzulínu podobného růstového faktoru I u potkanů po orchidektomii (KON). IGF-I je syntetizován mnoha tkáněmi včetně kostní tkáně (růstový faktor

Tabulka 3
Hodnocení kostní minerální hustoty (BMD) celého těla a ve 3 vybraných oblastech skeletu a hodnocení biomechanických vlastností kostní tkáně femuru

Kostní minerální hustota	SHAM	KON	MET
Celé tělo (g/cm ²)	0,18 (0,18-0,19) ^{a, a*}	0,16 (0,16-0,17) ^a	0,16 (0,16-0,17) ^{a*}
Bederní obratle (g/cm ²)	0,23 (0,22-0,26) ^{c, c*}	0,19 (0,19-0,21) ^c	0,21 (0,19-0,22) ^{c*}
Levý femur (LF; g/cm ²)	0,20 (0,19-0,20) ^{b, b*}	0,17 (0,16-0,18) ^b	0,17 (0,16-0,18) ^{b*}
Pravý femur (PF; g/cm ²)	0,22 (0,20-0,22) ^{a, a*}	0,18 (0,17-0,18) ^a	0,17 (0,16-0,17) ^{a*}
Biomechanické testování			
LF délka (mm)	39 (38–39) ^{a, a*}	36 (36–37) ^a	37 (36–38) ^{a*}
PF délka (mm)	39 (38–39) ^{a, c}	36 (36–37) ^a	37 (36–38) ^c
LF průměr (mm)	3,7 (3,5–3,9) ^{b, c}	3,4 (3,4–3,5) ^b	3,5 (3,4–3,6) ^c
PF průměr (mm)	3,7 (3,6–3,8) ^{b, c}	3,5 (3,4–3,6) ^b	3,5 (3,4–3,6) ^c
Tloušťka kortikální části kosti LF (mm)	0,7 (0,7–0,8) ^b	0,7 (0,7–0,7) ^b	0,7 (0,7–0,7)
Tloušťka kortikální části kosti PF (mm)	0,8 (0,7–1,0) ^{c, c*}	0,8 (0,7–0,8) ^c	0,7 (0,7–0,8) ^{c*}
Three-point bending LF (N)	208 (198–227) ^{b, b*}	187 (163–196) ^b	175 (169–205) ^{b*}
Three-point bending PF (N)	212 (205–238) ^{c, c*}	186 (181–203) ^c	187 (163–216) ^{c*}
Max. tlaková síla krčku LF (N)	154 (110–199)	136 (109–169)	149 (127–166)
Max. tlaková síla krčku PF (N)	146 (102–174)	121 (101–138)	112 (91–158)

a, a* $p < 0,001$, b, b* $p < 0,01$, c, c* $p < 0,05$

Výsledky jsou vyjádřeny u BMD jako průměr $\pm$ směrodatná odchylka a u biomechanického testování jako medián (25.–75. percentil).

produkovaný osteoblasty). IGF-I je systémovým i lokálním regulátorem, který ovlivňuje proces kostní novotvorby [20]. Naše výsledky ukazují pozitivní vliv metoprololu zvýšením hladiny IGF-I, která byla vlivem orchidektomie snížena.

Orchidektomie také způsobila signifikantní pokles BMD celého těla, v oblasti bederních obratlů a v oblasti femurů a s tím související zvýšení lomivosti, kterou jsme prokázali pouze v oblasti diafýzy femuru. Tlaková odolnost krčku femuru zůstala nezměněna. Vlivem orchidektomie došlo k zpomalení růstu kostí. Femury byly znatelně kratší a jejich průměr a tloušťka kortikální části kosti signifikantně menší v porovnání se skupinou SHAM. Tento vliv orchidektomie na kosti přikládáme snížené hladině růstového faktoru IGF-I, který pozitivně působí na růst kosti do délky i do šířky a zvyšuje utváření jak její části kortikální, tak trabekulární [21]. V naší předchozí studii metoprolol (2 mg/kg BW) způsobil snížení tlakové odolnosti krčku femuru po 8 týdnech podávání [18]. V této studii metoprolol neovlivnil ani kostní minerální hustotu a ani biomechanické vlastnosti kostí u orchidektomovaných potkanů. Naše výsledky bohužel nepodpořily hypotézu většiny prací, že beta-blokátory zlepšují BMD a snižují riziko vzniku fraktur (tab. 3).

Je pozoruhodné, že výsledky naší předchozí studie na zdravých potkanech a nynější studie na potkanech po provedené orchidektomii se výrazně liší v množství BMP-2 v tibií a ve vlivu na biomechanickou odolnost kostní tkáně. Domníváme se, že efekt metoprololu na kostní metabolismus bude pravděpodobně závislý na jeho dávce a délce podání a také na momentálním stavu kostí, alespoň u potkanů.

Závěr

Výsledky experimentu naznačují, že metoprolol má pozitivní vliv na kostní metabolismus u kastrováných potkanů snížením kostního obratu, jehož nárůst byl způsoben vlivem orchidektomie. Po 12 týdnech podávání beta-blokátoru nedošlo u orchidektomovaných potkanů k statisticky významným změnám v denzitě kostního minerálu a biomechanických vlastnostech femuru.

Lze předpokládat, že podávání metoprololu hypertoniikům s diagnostikovanou osteoporózou, by mohlo mít pozitivní vliv na kostní metabolismus snížením kostního obratu, který bývá u osteoporotických pacientů zvýšen. Pro ověření našich výsledků bude nutno dalších experimentů na potkanech s hypertenzí a indukovanou osteoporózou.

Seznam zkratk:

BALP	kostní forma izoenzymu alkalické fosfatázy (bone alkaline phosphatase)
BMD	kostní minerální hustota (bone mineral density)
BMP-2	kostní morfogenetický protein 2 (bone morphogenetic protein 2)
BW	tělesná hmotnost (body weight)
CTX-I	karboxyterminální telopeptid kolagenu typu I
DXA	dvouenergiová rentgenová absorpciometrie (Dual-Energy X-ray Absorptiometry)
ELISA	enzymová imunoanalýza (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay)
IGF-I	inzulínu podobný růstový faktor I

KON	kontrolní skupina
MET	metoprolol
NCSS	Number Cruncher Statistical System
OPG	osteoprotegerin
PINP	aminoterminální propeptid prokolagenu typu I
RANKL	ligand pro aktivátor nukleárního faktoru kappaB (receptor activator of the nuclear factor-kappaB ligand)
SHAM	falešně operovaný potkan, který podstoupil operaci bez provedené orchidektomie
SLD	standardní laboratorní dieta

Práce byla podpořena výzkumným záměrem MZO 00179906 a grantem SVV-2011-262902 Univerzity Karlovy v Praze.

Literatura

- Vítovec J, Špinar J et al. Farmakoterapie kardiovaskulárních onemocnění. 2. vydání. Praha, Grada, 2004:248.
- Graham S, Hammond-Jones D, Gamie Z, Polyzois I, Tsiridis E, Tsiridis E. The effect of beta-blockers on bone metabolism as potential drugs under investigation for osteoporosis and fracture healing. *Expert Opin Investig Drugs* 2008;17(9):1281–1299.
- Bonnet N, Pierroz DD, Ferrari SL. Adrenergic control of bone remodeling and its implications for the treatment of osteoporosis. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2008;8(2):94–104.
- Pasco JA, Henry MJ, Sanders KM, Kotowicz MA, Seeman E, Nicholson GC. Beta-adrenergic blockers reduce the risk of fracture partly by increasing bone mineral density: Geelong Osteoporosis Study. *J Bone Miner Res* 2004;19(1):19–24.
- Turker S, Karatosun V, Gunal I. Beta-blockers increase bone mineral density. *Clin Orthop Relat Res* 2006;443:73–74.
- Bonnet N, Gadois C, McCloskey E, Lemineur G, Lespessailles E, Courteix D, Benhamou CL. Protective effect of beta blockers in postmenopausal women: influence on fractures, bone density, micro and macroarchitecture. *Bone* 2007;40(5):1209–1216.
- Yang S, Nguyen ND, Center JR, Eisman JA, Nguyen TV. Association between beta-blocker use and fracture risk: the Dubbo Osteoporosis Epidemiology Study. *Bone* 2011;48(3):451–455.
- Schlienger RG, Kraenzlin ME, Jick SS, Meier CR. Use of beta-blockers and risk of fractures. *JAMA* 2004; 292(11):1326–1332.
- Rejnmark L, Vestergaard P, Mosekilde L. Treatment with beta-blockers, ACE inhibitors, and calcium-channel blockers is associated with a reduced fracture risk: a nationwide case-control study. *J Hypertens* 2006;24(3):581–589.
- Meisinger C, Heier M, Lang O, Döring A. Beta-blocker use and risk of fractures in men and women from the general population: the MONICA/KORA Augsburg cohort study. *Osteoporos Int* 2007;18(9):1189–1195.
- Rejnmark L, Vestergaard P, Kassem M, Christoffersen BR, Kolthoff N, Brixen K, Mosekilde L. Fracture risk in perimenopausal women treated with beta-blockers. *Calcif Tissue Int* 2004;75(5):365–372.
- Alexandre C. Androgens and bone metabolism. *Joint Bone Spine* 2005;72(3):202–206.
- Clarke BL, Khosla S. Androgens and bone. *Steroids* 2009;74(3):296–305.
- Růžicková O. Opomíjený problém geriatric: osteoporóza mužů. *Čes ger rev* 2008; 6(2):73–82.
- Gradosova I, Zivna H, Svejkovska K, Palicka V, Tichy A, Zivny P. The role of atorvastatin in bone metabolism in male albino Wistar rats. *Pharmazie* 2011;66(8):606–610.
- Takeda S, Eleftheriou F, Levasseur R, Liu X, Zhao L, Parker KL, Armstrong D, Ducy P, Karsenty G. Leptin regulates bone formation via the sympathetic nervous system. *Cell* 2002;111(3):305–317.
- Erben RG. Skeletal effects of androgen withdrawal. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2001;1(3):225–233.
- Gradošová I, Švejková K, Živná H, Živný P, Čermáková E, Tichý A, Palička V. Vliv metoprololu na kostní tkáň u dospělých samic potkanů kmene Wistar. *Osteologický bulletin* 2011;16(1):3–7.
- Lieberman JR, Daluiski A, Einhorn TA. The role of growth factors in the repair of bone. Biology and clinical applications. *J Bone Joint Surg Am* 2002;84–A(6):1032–1044.
- Kasukawa Y, Miyakoshi N, Mohan S. The anabolic effects of GH/IGF system on bone. *Curr Pharm Des* 2004;10(21):2577–2592.
- Bonjour JP, Chevalley T, Ferrari S, Rizzoli R. The importance and relevance of peak bone mass in the prevalence of osteoporosis. *Salud Publica Mex* 2009; 51(Suppl. 1):5–17.