



## Influence of pinealectomy and long-term melatonin administration on bone metabolism in orchidectomized rats

Zofia Ostrowska<sup>1</sup>, Beata Kos-Kudła<sup>2</sup>, Elżbieta Świętochowska<sup>1</sup>, Bogdan Marek<sup>2</sup>, Dariusz Kajdaniuk<sup>2</sup>, Mariusz Nowak<sup>2</sup>, Andrzej Kobielski<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Clinical Biochemistry, Silesian Medical University, Zabrze

<sup>2</sup>Department of Pathophysiology and Endocrinology, Silesian Medical University, Zabrze

<sup>3</sup>Clinical Department of General and Vascular Surgery, Hospital No2, Zabrze

### Abstract

**Introduction:** The aim of the study was to demonstrate whether pinealectomy and long-term MEL administration can affect bone metabolism (as evaluated on the basis of serum concentrations of PICP and ICTP) in orchidectomized rats.

**Material and methods:** The study included 248 adult male Wistar rats; 6 remained intact, 120 were orchidectomized (Orch), and the remaining ones underwent a sham operation (SOrch). Two weeks after surgery, the rats were divided into 8 groups: 1) SOrch + SPx; 2) SOrch + SPx + MEL; 3) Orch + SPx; 4) Orch + SPx + MEL; 5) SOrch + Px; 6) SOrch + Px + MEL; 7) Orch + Px; 8) Orch + Px + MEL. Animals from 5<sup>th</sup>, 6<sup>th</sup>, 7<sup>th</sup> and 8<sup>th</sup> groups were pinealectomized (Px) while the remaining ones underwent a sham operation (SPx). Two weeks after surgery rats in the 2<sup>nd</sup>, 4<sup>th</sup>, 6<sup>th</sup> and 8<sup>th</sup> groups were administered MEL (50 µg/100 g of bm) intraperitoneally while the remaining animals were administered solvent only (daily between 5 and 6 pm during a month). The animals were decapitated before the experiment (intact rats), after 2 weeks from Orch and SOrch, Px and SPx, after 4 weeks from MEL or solvent administration and after 4 and 8 weeks from discontinuing administration of MEL, and blood was collected for PICP and ICTP concentrations assays with the use of RIA method.

**Discussion:** In Orch rats, a distinct tendency to increase the studied bone markers, especially ICTP was shown. Pinealectomy had inducing, while MEL suppressing effect upon the level of PICP and ICTP; these changes were more pronounced in Orch + Px and SOrch + Px + MEL groups, respectively. After discontinuing administration of MEL distinct tendency to increase of PICP and ICTP level was shown.

**Conclusions:** Our findings indicate that MEL is an important modulator of bone tissue metabolism in male rats and that deficiency of MEL concentration may be a co-factor in osteoporosis development.

(*Pol J Endocrinol* 2006; 1 (57): 7-14)

**Key words:** orchidectomy, pinealectomy, melatonin, PICP, ICTP, rats



Zofia Ostrowska, M.D., Ph.D.  
Department of Clinical Biochemistry,  
Silesian Medical University, Zabrze, Poland  
ul. Jordana 19, 41-808 Zabrze-Rokitnica  
e-mail: ozdrasiek@poczta.onet.pl



## Wpływ pinealektomii i długotrwałego podawania melatoniny na metabolizm kostny u szczurów poddanych orchidektomii

Zofia Ostrowska<sup>1</sup>, Beata Kos-Kudła<sup>2</sup>, Elżbieta Świętochowska<sup>1</sup>, Bogdan Marek<sup>2</sup>, Dariusz Kajdaniuk<sup>2</sup>, Mariusz Nowak<sup>2</sup>, Andrzej Kobielski<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Zakład Biochemii Klinicznej Śląskiej Akademii Medycznej, Zabrze

<sup>2</sup>Katedra Patofizjologii i Endokrynologii Śląskiej Akademii Medycznej, Zabrze

<sup>3</sup>Kliniczny Oddział Chirurgii Ogólnej i Naczyń Szpitala Specjalistycznego nr 2, Zabrze

### Streszczenie

**Wstęp:** Celem pracy było ustalenie czy usunięcie szyszynki i długotrwałe podawanie melatoniny (MEL, *melatonin*) szczurom po orchidektomii wpływa na metabolizm kostny, oceniany na podstawie oznaczeń stężenia w surowicy PICP (*carboxy-terminal propeptide of type I procollagen*) i ICTP (*carboxyterminal telopeptide located at the C end of collagen type I*).

**Materiał i metody:** Badaniami objęto 248 dojrzałych płciowo szczurów szczepu Wistar; 6 pozostało nietkniętych, u 120 wykonano orchidektomię (Orch), a u pozostałych operację pozorną (SORch). Po 2 tygodniach od zabiegu zwierzęta podzielono na 8 grup: 1) SORch + SPx; 2) SORch + SPx + MEL; 3) Orch + SPx; 4) Orch + SPx + MEL; 5) SORch + Px; 6) SORch + Px + MEL; 7) Orch + Px; 8) Orch + Px + MEL. Szczury z grup 5.–8. poddano pinealektomii (Px), a pozostałe pozornej operacji (SPx). Po 2 tygodniach od zabiegu szczurom z grup 2., 4., 6. i 8. podawano dootrzewnowo MEL (50 µg/100 g m.c.), a pozostałym — rozpuszczalnik (codziennie, między 17.00 a 18.00, przez miesiąc). Dekapitację wykonywano w czasie 0 (szczury nietknięte), po 2 tygodniach od Orch lub SORch, Px lub SPx, po 4 tygodniach podawania MEL lub rozpuszczalnika i po 4 i 8 tygodniach od odstawienia MEL. Pobraną krew odwirowywano, a w surowicy oznaczano stężenia PICP i ICTP metodą RIA.

**Dyskusja:** U szczurów poddanych Orch wykazano tendencję do wzrostu stężeń wskaźników kostnych, zwłaszcza ICTP. Usunięcie szyszynki wpłynęło pobudzająco, a podawanie MEL supresyjnie na metabolizm kostny; zmiany były największe odpowiednio u szczurów grupy Orch + Px i SORch + Px + MEL. Po zaprzestaniu podawania MEL obserwowano tendencję do wzrostu stężeń PICP i ICTP w surowicy.

**Wnioski:** Uzyskane wyniki wskazują, że MEL jest ważnym modulatorem metabolizmu kostnego u samców szczurów, a jej niedobór może mieć pewien udział w wywołaniu osteoporozy.

(*Endokrynol Pol* 2006; 1 (57): 7–14)

**Słowa kluczowe:** orchidektomia, pinealektomia, melatonina, PICP, ICTP, szczury



Dr hab. Zofia Ostrowska  
Zakład Biochemii Klinicznej, ŚAM  
ul. Jordana 19, 41-808 Zabrze-Rokitnica  
e-mail: ozdrasiek@poczta.onet.pl

### Wstęp

Patogeneza osteoporozy jest złożona, wieloczynnikowa i nie do końca poznana [1, 2]. Wyniki najnowszych badań sugerują, że oprócz ujawniającego się z wiekiem niedoboru steroidów płciowych oraz zmian w stężeniach wielu innych, dobrze poznanych czynników miejscowych i systemowych [1–3], także niedobór melatoniny (MEL, *melatonin*) może mieć pewien udział w patogenezie osteoporozy. Koncepcja ta jest oparta na spostrzeżeniach, że MEL może bezpośrednio [4–7] i/lub pośrednio wpływać na stan kośćca [6–10]. Wykazano bowiem, że warunki oświetlenia, usunięcie szyszynki i długotrwałe podawanie MEL modyfikują okołodobowy metabolizm kostny u samców szczurów, a w me-

chanizmie tym istotną rolę odgrywają zmiany w stężeniach MEL endogennej [9, 10]. Stwierdzono również, że usunięcie szyszynki i długotrwałe podawanie MEL wpływają na procesy osteoporozy, wywołanej usunięciem jajników u samic szczurów [11–13]. Dowiedziano także, że skuteczność estradiolu podawanego w celu niwelowania zmian w kościach, wywołanych po usunięciu jajników u samic szczurów, ulega wyraźnemu zwiększeniu przy jednoczesnym podawaniu MEL [14]. Cardinali i wsp. [6] sugerują, że korzystne działanie MEL w osteoporozie może wynikać z bezpośredniego, zależnego od ilości estrogenów, działania hormonu nie tylko na osteoklasty, ale również na osteoblasty oraz działania pośredniego (poprzez czynniki endogenne, głównie hormonalne).

Badania kliniczne potwierdzają koncepcję, że charakterystyczne dla osteoporozy zmiany masy kostnej mogą mieć związek z MEL. Wydzielanie MEL maleje wraz z wiekiem, a menopauza i andropauza czasowo wiążą się z istotnym zmniejszeniem wydzielania MEL [15] oraz nasileniem tempa szyszynkowej kalcyfikacji [16]. Wykazano, że gwałtowne obniżenie stężenia MEL we wczesnym okresie menopauzy może być istotnym czynnikiem sprzyjającym rozwojowi osteoporozy [17]. Natomiast zwiększone wydzielanie MEL, często występujące u otyłych kobiet po menopauzie, może korzystnie wpływać na tkankę kostną [18]; efekt ten jest najprawdopodobniej realizowany poprzez hamowanie resorpcji za pośrednictwem cytokin systemu OPG/RANKL (osteoprotegeryna/ligand receptora aktywującego czynnik transkrypcyjny NF-kappa B) [19]. U kobiet, które w celu łagodzenia dolegliwości związanych z klimakterium zażywały tabletki antykoncepcyjne Oval-B (zawierające 75 mg MEL), stwierdzono wyraźne zwiększenie gęstości kości [20]. Wstępne badania u mężczyzn w starszym wieku wskazują na istnienie odwrotnie proporcjonalnej zależności między MEL a tempem obrotu metabolicznego tkanki kostnej [21].

Ponieważ w piśmiennictwie brak jest prac dotyczących wpływu MEL na metabolizm kostny u samców szczurów poddanych orchidektomii (model osteoporozy doświadczalnej), autorzy niniejszej pracy podjęli badania, których celem było ustalenie, czy usunięcie szyszynki i długotrwałe podawanie MEL szczurom poddanym orchidektomii wpływa na metabolizm kostny, oceniany na podstawie oznaczeń w surowicy krwi wybranych, biochemicznych wskaźników kościotworzenia — karboksyterminalnego propeptydu prokolagenu typu I (PICP, *carboxy-terminal propeptide of type I procollagen*) i resorpcji kostnej — karboksyterminalnego telopeptydu kolagenu typu I (ICTP, *carboxyterminal telopeptide located at the C end of collagen type I*).

## Material i metody

Badaniami objęto 248 dojrzałych płciowo samców szczurów szczepu Wistar o początkowej masie ciała około 140 g; 6 z nich pozostało nietkniętych, u 120 wykonano orchidektomię (Orch), a u pozostałych operację pozorną (SOrch). Po 2 tygodniach od zabiegu szczury podzielono na 8 grup (po 30 zwierząt w każdej): 1) SOrch + SPx; 2) SOrch + SPx + MEL; 3) Orch + SPx; 4) Orch + SPx + MEL; 5) SOrch + Px; 6) SOrch + Px + MEL; 7) Orch + Px; 8) Orch + Px + MEL. Szczury z grup 5.–8. poddano pinealektomii (Px) metodą Kuszaka i Rodina [22], natomiast pozostałe zwierzęta po-

zornej operacji (SPx). Po 2 tygodniach od zabiegu szczerom grup 2., 4., 6. i 8. podawano dootrzewnowo roztwór MEL (firmy Sigma) w ilości 50 µg/100 g m.c., a zwierzętom grup 1., 3., 5. i 7. rozpuszczalnik (5% roztwór etanolu w soli fizjologicznej), codziennie między godziną 17.00 a 18.00, przez miesiąc. Szczury uśmiercano przez dekapitację (o godz. 8.00). Zwierzęta nietknięte uśmiercano przed rozpoczęciem doświadczenia, zwierzęta poddane Orch lub SOrch, Px lub SPx — po 2 tygodniach od zabiegu (podgrupy czasowe 2 i 4), natomiast u szczurów otrzymujących MEL lub rozpuszczalnik dekapitację wykonywano po 4 tygodniach ich podawania (podgrupa czasowa 8) oraz po 4 i 8 tygodniach od ich odstawienia (podgrupy czasowe 12 i 16). Pobraną krew odwirowywano, a w otrzymanej surowicy oznaczono stężenia PICP i ICTP z użyciem zestawów RIA firmy Farnos (Finlandia). Czułość metody oraz błędy wewnątrz- i międzyseryjne dla oznaczeń stężenia PICP wynosiły odpowiednio: 1,2 µg/l, 3,1 i 5,8%, a dla ICTP — 0,34 µg/l, 4,5 i 6%.

Wyniki oznaczeń poddano ocenie statystycznej, stosując analizę wariancji dla testów parametrycznych. Po odrzuceniu hipotezy o jednorodności wariancji, analizę istotności różnic między poszczególnymi grupami przeprowadzono przy użyciu testu *t*-Studenta.

## Wyniki

U szczurów po Orch wykazano tendencję do wzrostu stężeń PICP w surowicy. Różnice były istotne w odniesieniu do grupy kontrolnej jedynie u zwierząt równocześnie poddanych Px (Orch + Px). Istotny wzrost stężeń ICTP w surowicy stwierdzono w obu grupach zwierząt poddanych Orch (zarówno z zachowaną — Orch + SPx, jak i usuniętą szyszynką — Orch + Px). Zmiany w odniesieniu do grupy kontrolnej były większe u szczurów po Px (tab. I, ryc. 1 i 2).

Usunięcie szyszynki u szczurów spowodowało wzrost stężeń PICP w surowicy w stosunku do kontroli, jednak znamienny był on tylko w przypadku zwierząt równocześnie poddanych Orch (Orch + Px). Wykazano istotny wzrost stężeń ICTP w obu grupach zwierząt poddanych Px (zarówno z zachowanymi — SOrch + Px, jak i z usuniętymi jądrami — Orch + Px). Różnice w porównaniu z grupą kontrolną były większe u zwierząt poddanych Orch (tab. I, ryc. 1, 2).

Podawanie MEL wywołało u szczurów znamienne obniżenie stężeń PICP i ICTP w surowicy; efekt był większy w przypadku ICTP. Największe zmiany stężeń PICP i ICTP stwierdzono u szczurów z zachowanymi jądrami, poddanych Px. Po zakończeniu podawania MEL u zwierząt obserwowano stopniowy wzrost stężeń PICP i ICTP w surowicy (tab. I, ryc. 1, 2).

Tabela I

Średnie stężenia karboksyterminalnego propeptydu prokolagenu typu I (PICP) i karboksyterminalnego telopeptydu kolagenu typu I (ICTP) w surowicy szczurów nietkniętych, poddanych orchidektomii — Orch lub pozornej orchidektomii — SOrch (podgrupa czasowa 2) i pinealektomii — Px lub pozornej pinealektomii — SPx (podgrupa czasowa 4) otrzymujących MEL lub rozpuszczalnik (podgrupa czasowa 8) i po ich odstawieniu (podgrupy czasowe 12 i 16)

Table I

Mean carboxy-terminal propeptide of type I procollagen (PICP) and carboxyterminal telopeptide located at the C end of collagen type I (ICTP) serum concentration of intact rats (subgroup 0), after orchidectomy — Orch or after sham operation — SOrch (subgroup 2) and pinealectomy — Px or after sham operation SPx (subgroup 4) with administration of MEL or solvent (subgroup 8) and after discontinuing administration (subgroup 12 and 16)

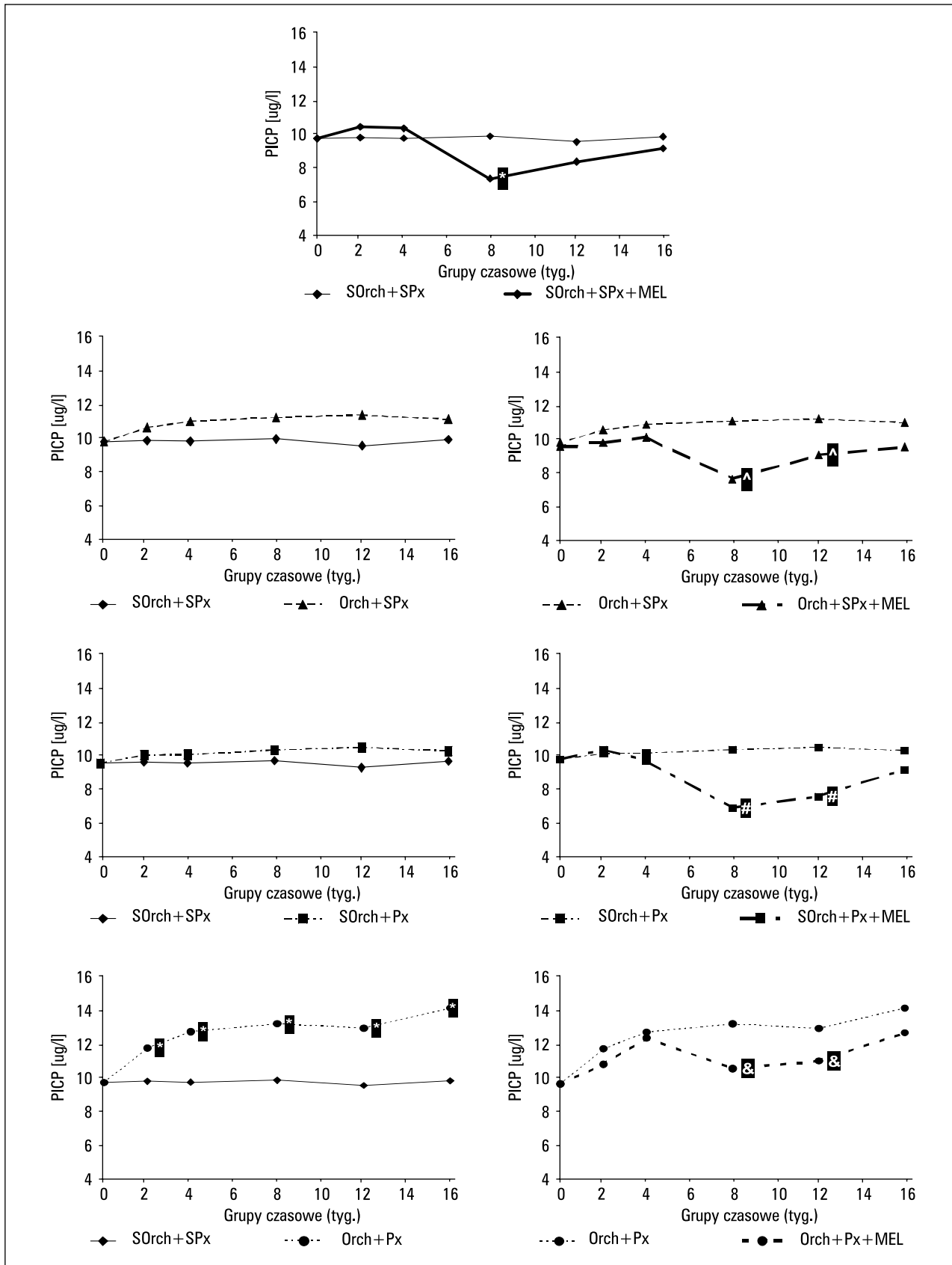
Zmienne	Szczury nietknięte	Grupy doświadczalne	Podrupy czasowe (tyg.)				
			2	4	8	12	16
			Orch lub SOrch	Orch lub SOrch Px lub SPx	Orch lub SOrch Px lub SPx MEL lub rozpuszczalnik	Odstawienie MEL lub rozpuszczalnika	
PICP [μg/l]	9,70 ± 1,21	1. SOrch + SPx	9,75 ± 1,23	9,71 ± 0,75	9,82 ± 0,91	9,52 ± 0,85	9,79 ± 0,89
		2. SOrch + SPx + MEL	10,33 ± 0,97	10,25 ± 0,94	7,54 ± 0,85*	8,45 ± 0,95	9,17 ± 0,92
		3. Orch + SPx	10,32 ± 1,08	10,60 ± 1,14	10,76 ± 0,90	10,87 ± 1,14	10,68 ± 1,23
		4. Orch + SPx + MEL	9,69 ± 0,99	9,97 ± 1,42	7,90 ± 0,69 <sup>^</sup>	9,09 ± 0,97 <sup>^</sup>	9,48 ± 1,07
		5. SOrch + Px	10,06 ± 1,32	10,08 ± 0,95	10,28 ± 1,10	10,40 ± 1,13	10,23 ± 0,81
		6. SOrch + Px + MEL	10,29 ± 1,24	9,63 ± 0,81	6,89 ± 0,97#	7,55 ± 0,98#	9,12 ± 0,88
		7. Orch + Px	11,75 ± 1,33*	12,73 ± 1,41*	13,20 ± 0,77*	12,94 ± 1,34*	14,13 ± 1,31*
		8. Orch + Px + MEL	10,84 ± 0,83	12,38 ± 0,90	10,59 ± 1,05&	11,04 ± 0,86&	12,22 ± 1,22
ICTP [μg/l]	14,69 ± 1,02	1. SOrch + SPx	16,44 ± 0,76	14,44 ± 1,23	14,99 ± 0,97	15,21 ± 0,90	16,00 ± 1,89
		2. SOrch + SPx + MEL	15,06 ± 0,99	14,00 ± 1,45	11,45 ± 0,77*	14,24 ± 1,32	14,31 ± 0,83
		3. Orch + SPx	18,40 ± 1,05*	19,78 ± 0,98*	21,04 ± 0,84*	21,22 ± 1,06*	21,18 ± 1,32*
		4. Orch + SPx + MEL	19,20 ± 0,86	19,20 ± 0,88	16,29 ± 1,03 <sup>^</sup>	17,74 ± 0,98 <sup>^</sup>	17,31 ± 1,11 <sup>^</sup>
		5. SOrch + Px	18,67 ± 0,56*	19,50 ± 1,52*	21,81 ± 1,22*	20,69 ± 1,26*	20,60 ± 1,28*
		6. SOrch + Px + MEL	16,99 ± 0,70	18,80 ± 1,33	13,20 ± 0,95#	15,11 ± 0,79#	18,19 ± 1,93
		7. Orch + Px	21,25 ± 1,12*	22,00 ± 1,07*	21,68 ± 0,90*	22,41 ± 0,84*	22,26 ± 1,42*
		8. Orch + Px + MEL	19,35 ± 1,34	20,55 ± 1,48	15,63 ± 1,21&	16,00 ± 0,92&	17,52 ± 0,96&

\*p ≤ 0,05 w porównaniu do grupy SOrch + SPx; <sup>^</sup>p ≤ 0,05 w porównaniu do grupy Orch + SPx; #p ≤ 0,05 w porównaniu do grupy SOrch + Px; &p ≤ 0,05 w porównaniu do grupy Orch + Px; PICP (carboxy-terminal propeptide of type I procollagen) — karboksyterminalny propeptyd prokolagenu typu I; ICTP (carboxyterminal telopeptide located at the C end of collagen type I) — karboksyterminalny telopeptyd kolagenu typu I

## Dyskusja

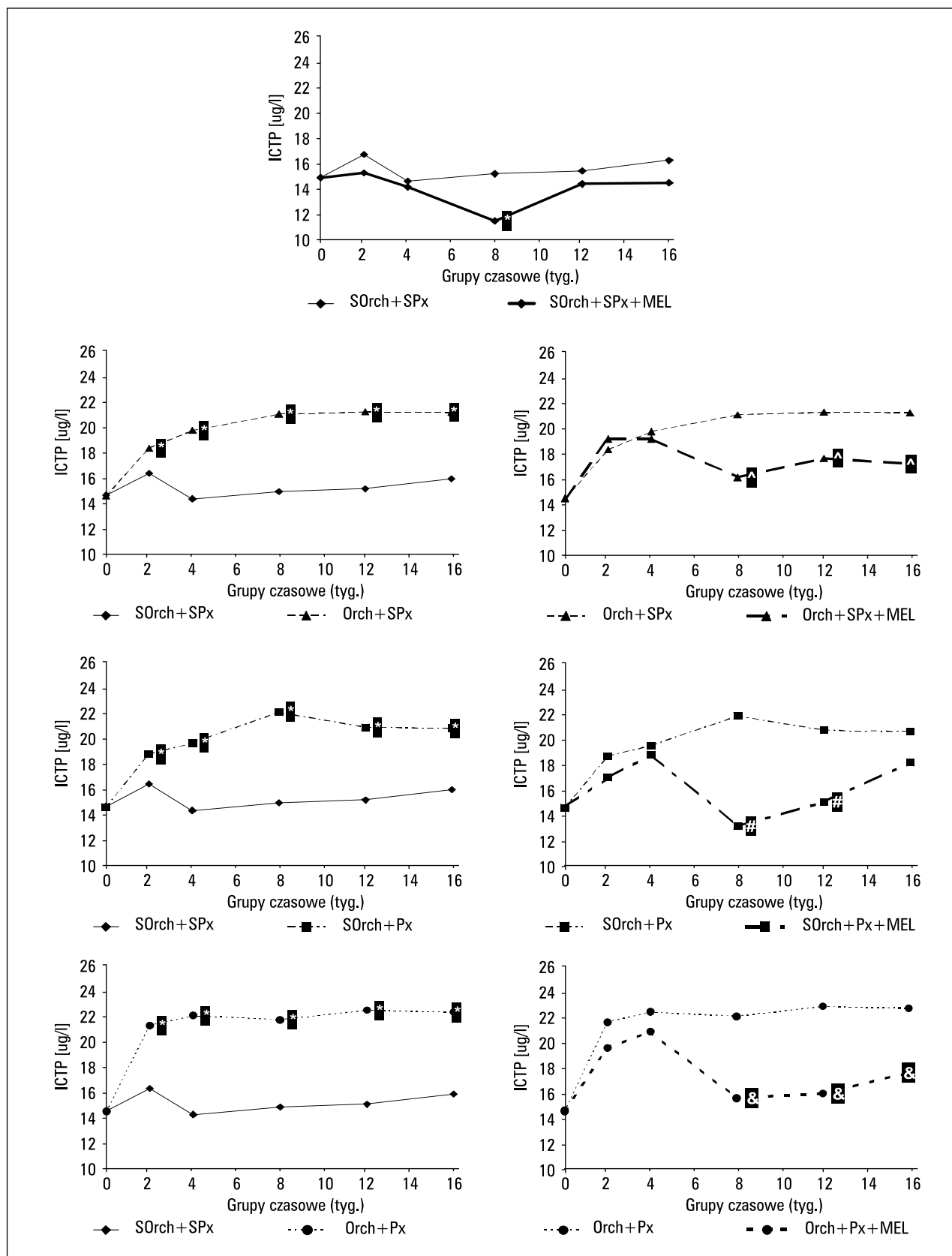
U szczurów poddanych Orch wykazano tendencję do wzrostu stężeń wskaźników kostnych w surowicy; efekt był bardziej nasilony w odniesieniu do ICTP. Uzyskane wyniki sugerują, że wywołany przez usunięcie jąder u samców szczurów niedobór androgenów może być istotnym czynnikiem prowadzącym do zwiększenia metabolizmu kostnego. Vanderschuren i wsp. [23] wykazali, że krótkotrwały niedobór androgenów u samców szczurów powoduje wzrost stężenia osteokalcyny oraz parametrów histomorfometrycznych metabolizmu kostnego, bez istotnych zmian masy kostnej. Natomiast długotrwały niedobór androgenów prowadzi do zmniejszenia gęstości i części korowej kości [23, 24]. Masa kostna u samców szczurów zmniejsza się po

4 miesiącach od usunięcia jąder, a obniżenie to jest poprzedzone wcześniejszym wzrostem obrotu kostnego. Podawanie androgenów oraz estrogenów szczurom po Orch zapobiega zarówno zmianom metabolizmu kostnego, jak i następującemu później zmniejszeniu masy kostnej [23, 24]. W świetle najnowszych badań [25–28] można przypuszczać, że wywołany przez usunięcie jąder u szczurów niedobór androgenów może prowadzić do zachwiania równowagi między kluczowymi molekułami wpływającymi na osteoklastogenezę i aktywność osteoklastów: osteoprotegeryny (OPG, osteoprotegerin) i ligandu aktywatora receptora czynnika jądrowego kappa-B (RANKL, receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand), na rzecz RANKL, co w konsekwencji powoduje wzrost resorpcji kości. Znajduje to odzwierciedlenie w wykazanym po usunięciu jąder u szczurów,



**Rycina 1.** Średnie stężenia karboksyterminalnego propeptydu prokolagenu typu I (PICP) w surowicy szczurów niekniętych (podgrupa czasowa 0), poddanych orchidektomii — Orch lub pozornej orchidektomii — SOrch (podgrupa czasowa 2) i pinealektomii — Px lub pozornej pinealektomii — SPx (podgrupa czasowa 4) otrzymujących MEL lub rozpuszczalnik (podgrupa czasowa 8) i po ich odstawieniu (podgrupy czasowe 12 i 16)

**Figure 1.** Mean carboxy-terminal propeptide of type I procollagen (PICP) serum concentration of intact rats (subgroup 0), after orchidectomy — Orch or after sham operation — SOrch (subgroup 2) and pinealectomy — Px or after sham operation SPx (subgroup 4) with administration of MEL or solvent (subgroup 8) and after discontinuing administration (subgroup 12 and 16)



**Rycina 2.** Średnie stężenia karboksyterminalnego telopeptydu kolagenu typu I (ICTP) w surowicy szczurów nietkniętych (podgrupa czasowa 0), poddanych orchidektomii — Orch lub pozornej orchidektomii — SOrch (podgrupa czasowa 2) i pinealektomii — Px lub pozornej pinealektomii — SPx (podgrupa czasowa 4) otrzymujących melatoninę — MEL lub rozpuszczalnik (podgrupa czasowa 8) i po ich odstawieniu (podgrupy czasowe 12 i 16)

**Figure 2.** Mean carboxyterminal telopeptide located at the C end of collagen type I (ICTP) serum concentration of intact rats (subgroup 0), after orchidectomy — Orch or after sham operation — SOrch (subgroup 2) and pinealectomy — Px or after sham operation SPx (subgroup 4) with administration of MEL or solvent (subgroup 8) and after discontinuing administration (subgroup 12 and 16)

zależnym od obecności szyszynki, wzroście stężenia swoistego wskaźnika resorpcji kości — ICTP. Kus i wsp. [29] stwierdzili, że Px i Orch prowadzą, odpowiednio, do zwiększenia reaktywności komórek Leydiga i pinealocytów u samców szczurów, co świadczy o istnieniu obustronnej współzależności między szyszynką a jądrami.

We wcześniejszych badaniach wykazano, że usunięcie szyszynki u samców szczurów powoduje, podobnie jak długi cykl świetlny, zależne od pory doby, zmiany w okołodobowym metabolizmie kostnym [9, 10]. Wyniki niniejszej pracy wskazują, że wywołany przez Px u samców szczurów niedobór MEL może być jednym z czynników współuczestniczących w wywołaniu zaburzeń metabolizmu kostnego. Efekt ten, jak wynika z przeprowadzonych badań, zależy od stężenia endogennych androgenów. Nie można jednak wykluczyć udziału w tym mechanizmie innych czynników systemowych i miejscowych, odgrywających istotną rolę w regulacji metabolizmu kostnego [3], na produkcję których wpływa szyszynka [30]. Niedobór MEL może powodować zmiany ich stężeń w krążeniu, co w konsekwencji wtórnie zmienia metabolizm kostny.

Długotrwałe podawanie MEL wywołało u szczurów znamienne obniżenie stężeń PICP i ICTP w surowicy; efekt był większy w przypadku ICTP, zwłaszcza u zwierząt z zachowanymi jądrami i usuniętą szyszynką. Wyniki te potwierdzają istnienie interakcji między MEL a tkanką kostną [8–10, 12, 13] i wskazują, że efekt działania hormonu w dużej mierze zależy od stężenia endogennych androgenów i od obecności szyszynki. Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że niedobór hormonów płciowych męskich osłabia, a wzrost ich stężenia potęguje efekt działania MEL na tkankę kostną. Androgeny mogą modyfikować działanie MEL endo- i egzogennej, na co wskazują badania przeprowadzone wśród zwierząt doświadczalnych. Zisapel i Anis [31] wykazali, że kastracja i podawanie testosteronu wpływają na gęstość receptorów MEL w mózgu szczurów. Po usunięciu jąder u szczurów stwierdzono znaczną, niwelowaną przez podawanie testosteronu, redukcję wiązania  $^{125}\text{I}$ -MEL w mózgu, zwłaszcza w podwzgórzu i hipokampie. Kastracja zmienia również gęstość receptorów MEL w przednim płacie przysadki [32]. U samców szczurów poddanych kastracji obserwowano obniżenie szczytu aktywności N-acetylotransferazy (NAT, *N-acetyl-transferase*) i transferazy hydroksyindolo-O-metylowej (HIOMT, *hydroxyindole-O-methyltransferase*) odpowiednio o 30 i 40% [33]; efekt ten ulegał odwróceniu po jednorazowym podaniu androgenów. Fakt, że u szczurów z zachowaną szyszynką efekt działania MEL był słabszy, pozwala przypuszczać, że sama szyszynka (będąc narządem docelowym dla MEL) może modulować efekty własnego działania za pośrednictwem swoście wiążących ją receptorów [34].

Mechanizm działania MEL na poziomie molekularnym nie jest jednoznacznie wyjaśniony. Przyjmuje się, że MEL może działać bezpośrednio i/lub pośrednio na osteoklasty, a prawdopodobnie również na osteoblasty. W badaniach *in vitro* wykazano, że MEL stymuluje różnicowanie osteoblastów oraz mineralizację macierzy kostnej, a ponadto zwiększa syntezę kolagenowych i niekolagenowych białek macierzy kostnej [4, 5]. W badaniach *in vivo* u młodych myszy wykazano jednak, że długotrwałe podawanie MEL prowadzi do wzrostu gęstości mineralnej kości (BMD, *bone mineral density*) i masy kostnej w wyniku hamowania resorpcji kości, a nie, jak sądzono, w następstwie pobudzenia kościotworzenia [35]. Natomiast po długotrwałym podawaniu MEL dojrzałym płciowo samcom szczurów wykazano niewielką supresję kościotworzenia i znaczną resorpcję kości [10]. Różnice w efektach działania MEL na tkankę kostną, zwłaszcza na jej tworzenie, mogą zależeć od wieku, gatunku i płci zwierząt użytych do badań, a także od dawki, sposobu i czasu podawania hormonu [6, 9, 10, 12, 13, 30, 35]. W świetle najnowszych danych [19, 25–28, 35] można przypuszczać, że MEL wpływa głównie na osteoklastogenezę i aktywność osteoklastów, nie bezpośrednio, ale za pośrednictwem systemu OPG/RANKL. Wykazano, że MEL *in vitro* hamuje ekspresję RANKL i zwiększa ekspresję OPG w preosteoblastach [35]. Ponadto wpływa na syntezę i uwalnianie wielu czynników endogennych, głównie hormonalnych [6–10, 30], które poprzez system OPG/RANKL mogą pobudzać i/lub hamować resorpcję kości [19, 26, 35].

Po zakończeniu podawania MEL u szczurów obserwowano stopniowy wzrost wartości wskaźników kostnych w surowicy, zwłaszcza ICTP. Na tej podstawie wysunięto koncepcję, że podawanie MEL może częściowo zapobiegać zmianom metabolizmu kostnego wywołanym przez zabieg orchidektomii u samców szczurów.

## Wniosek

Uzyskane wyniki pozwalają na wysunięcie koncepcji, że melatonina jest ważnym modulatorem metabolizmu kostnego u samców szczurów, a jej niedobór może w pewnym stopniu wpływać na rozwój osteoporozy.

## Piśmiennictwo

1. Badurski J, Sawicki A, Boczoń S. Osteoporoza. Osteoprint 1994.
2. Galus K. Choroby metaboliczne kości. Med. Tur Pres International, Warszawa 1995.
3. Głogowska-Szeląg J, Kos-Kudła B. Osteoporoza u mężczyzn. Twój Mag Med — Osteoporoza 2001; 6 (37): 25–30.
4. Nakade O, Koyama H, Arijji H i wsp. Melatonin stimulates proliferation and type I collagen synthesis in human cells *in vitro*. J Pineal Res 1999; 27: 106–110.

5. Roth JA, Kim BG, Lin WL i wsp. Melatonin promotes osteoblast differentiation and bone formation. *J Biol Chem* 1999; 274: 22 041–22 047.
6. Cardinali DP, Ladizesky MG, Boggio V i wsp. Melatonin effects on bone: experimental facts and clinical perspectives. *J Pineal Res* 2003; 34: 81–87.
7. Ostrowska Z, Kos-Kudła B, Marek B i wsp. Perspektywy stosowania melatoniny w profilaktyce i leczeniu osteoporozy. *Przegl Menop* 2003; 5: 43–46.
8. Ostrowska Z, Kos-Kudła B, Marek B i wsp. The relationship between daily profile of chosen biochemical markers of bone metabolism and melatonin and other hormone secretion in rats under physiological conditions. *Neuroendocrinol Lett* 2002; 23: 417–425.
9. Ostrowska Z, Kos-Kudła B, Marek B i wsp. Influence of lighting conditions on daily rhythmicity of bone metabolism in rats and possible involvement of melatonin and other hormones in this process. *Endocr Regul* 2003; 37: 163–174.
10. Ostrowska Z, Kos-Kudła B, Nowak M i wsp. The relationship between bone metabolism, melatonin and other hormones in sham-operated and pinealectomized rats. *Endocr Regul* 2003; 37: 211–224.
11. Ladizesky MG, Cutrera RA, Boggio V i wsp. Effect of melatonin on bone metabolism in ovariectomized rats. *Life Sci* 2001; 70: 557–565.
12. Ostrowska Z, Kos-Kudła B, Świętochowska E i wsp. Assessment of the relationship between dynamic pattern of nighttime levels of melatonin and chosen biochemical markers of bone metabolism in a rat model of postmenopausal osteoporosis. *Neuroendocrinol Lett* 2001; 22: 131–138.
13. Ostrowska Z, Kos-Kudła B, Marek B i wsp. The influence of pinealectomy and melatonin administration on the dynamic pattern of biochemical markers of bone metabolism in experimental osteoporosis in the rat. *Neuroendocrinol Lett* 2002; 23 (supl. 1): 104–109.
14. Ladizesky MG, Boggio V, Albornoz LE i wsp. Melatonin increases oestradiol-induced bone formation in ovariectomized rats. *J Pineal Res* 2003; 34: 143–151.
15. Karasek M, Reiter RJ. Melatonin and aging. *Neuroendocrinol Lett* 2002; 23 (supl. 1): 14–16.
16. Schmidt HA, Requintina PJ, Oxenkurg GF i wsp. Calcium, calcification, and melatonin biosynthesis in the human pineal gland: a postmortem study into age-related factors. *J Pineal Res* 1994; 16: 178–183.
17. Sandyk R, Anastasiadis PG, Annimos PA i wsp. Is postmenopausal osteoporosis related to pineal gland functions? *Int J Neurosc* 1992; 62: 215–225.
18. Ostrowska Z, Kos-Kudła B, Marek B i wsp. Assessment of the relationship between circadian variations of salivary melatonin levels and type I collagen metabolism in postmenopausal obese women. *Neuroendocrinol Lett* 2001; 22: 121–127.
19. Ostrowska Z, Kos-Kudła B, Marek B i wsp. Gęstość mineralna kości a dobowe stężenia melatoniny, osteoprotegeryny i RANKL u otyłych kobiet po menopauzie. 35 Zjazd Towarzystwa Internistów Polskich, 9–12 września 2004, Katowice. *Pol Arch Med Wewn* 2004; 112 (supl. 1): 413.
20. Cohen M, van Heusden AM, Verdok HER i wsp. Melatonin/noretisterone contraception. W: Touitou Y, Arendt J, Pevet P, (red.). *Melatonin and the pineal gland — from basic science to clinical application* Elsevier, Amsterdam 1993; 339–345.
21. Ostrowska Z, Kos-Kudła B, Marek B i wsp. Assessment of the relationship between daily oscillations of melatonin and chosen biochemical bone metabolism markers in elderly men. 6<sup>th</sup> European Congress of Endocrinology, Lyon, France, 26–30 April 2003 (Abstract Book, P0556).
22. Kuszak J, Rodin M. A new technique of pinealectomy for adult rats. *Experientia (Basel)* 1977; 33: 283–284.
23. Vanderschuren D, van Herck E, Suiker AM i wsp. Bone and mineral metabolism in aged male rats: short and long term effects on androgen deficiency. *Endocrinology* 1992; 130: 2906–2916.
24. Danielsen CC, Mosekilde L, Andreassen TT. Long-term effect of orchidectomy on cortical bone from rat femur: bone mass and mechanical properties. *Calcif Tissue Int* 1992; 50: 167–174.
25. Suda T, Nakamura I, Jimi E i wsp. Regulation of osteoclast function. *J Bone Miner Res* 1997; 12: 869–879.
26. Tsukii K, Shima N, Mochizuki S i wsp. Osteoclast differentiation factor mediates an essential signal for bone resorption induced by 1,α25-dihydrovitamin D<sub>3</sub>, prostaglandin E<sub>2</sub> or parathyroid hormone in the microenvironment of bone. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 246: 337–41.
27. Yasuda H, Shima N, Nakagawa N i wsp. Identification of osteoclastogenesis-inhibitory factor (OCIF) and osteoprotegerin (OPG): A mechanism by which OPG/OCIF inhibits osteoclastogenesis *in vitro*. *Endocrinology* 1998; 139: 1329–1337.
28. Hsu H, Lacey DL, Dnstan CR i wsp. Tumor necrosis factor receptor family member RANK mediates osteoclast differentiation and activation induced by osteoprotegerin ligand. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 3540–3545.
29. Kus I, Sarsilmaz M, Ogeturk M i wsp. Ultrastructural interrelationship between the pineal gland and the testis in the male. *Arch Androl* 2000; 45: 119–124.
30. Karasek M. *Szyszynka i melatonina*. PWN, Warszawa-Łódź 1997.
31. Zisapel N, Anis Y. Impact of circulating testosterone on iodomelatonin binding sites in the male rat brain. *Mol Cell Endocrinol* 1988; 60: 119–126.
32. Vanecek J, Kosar E, Vorlicek J. Daily changes in melatonin binding sites and the effect of castration. *Mol Cell Endocrinol* 1990; 22: 165–170.
33. Pavlikov SA, Isachenkov VA. Effect of androgens (testosterone, 5 alpha-dihydrotestosterone, 3 alpha activity of N-acetylserotonin methyltransferase and hydroxyindole O-methyltransferase in the pineal body of castrated rats. *Probl Endokrinol (Mosk)* 1979; 25: 72–77.
34. Morgan PJ, Barret P, Howell E i wsp. Melatonin receptors: localization, molecular pharmacology and physiological significance. *Neurochem Int* 1994; 24: 101–146.
35. Kayoma H, Nakade O, Takada Y i wsp. Melatonin at pharmacologic doses increases bone mass by suppressing resorption through down-regulation of the RANKL-mediated osteoclast formation and activation. *J. Bone Mineral Res* 2002; 17: 1219–1229.