

Wpływ ranelinianiu strontu na mineralizację i wytrzymałość mechaniczną kości udowej orchidektomizowanych szczurów

RADOSŁAW P. RADZKI, MAREK BIEŃKO, RAFAŁ FILIP**

Katedra Biochemii i Fizjologii Zwierząt Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR w Lublinie,
ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

**Pracownia Chorób Metabolicznych i Degeneracyjnych Tkanki Kostnej, Instytut Medycyny Wsi,
ul. Jaczewskiego 2, 20-950 Lublin

Radzki R. P., Bieńko M., Filip R.

Influence of strontium ranelate on mineral and mechanical properties of the femur in orchidectomized rats

Summary

The purpose of the study was to determine the effect of Strontium Ranelate (RS) on the mineral density and mechanical properties of the femur in male Wistar rats during experimental osteopenia induced by bilateral gonadectomy. After adaptation, the rats were randomly divided and subjected to sham-operations (SHO) (n = 10) and bilateral orchidectomy (ORX) (n = 20). ORX rats were subsequently divided into the control group (ORX/K) and experimental group treated with RS (ORX/RS), administered by gavage, at a dose of 900 mg/kg b.w. The experiment lasted 60 days and then the animals were killed, blood collected, and femora isolated. Femora were analyzed using peripheral quantitative computed tomography (pQCT) to determine volumetric bone mineral density of the cortical part of the shaft of the column (Ct.vBMD), endosteal and periosteal circumferences, cortical thickness (Ct.Th) and Strength Strain Index (SSI). Measurements were performed on 50% of bone length. The bones were tested using the three-point bending test to estimate ultimate strength and resilience. The activity of alkaline phosphatase (ALP) and concentrations of Ca and P in the blood serum were estimated.

The obtained results indicated that the use of strontium ranelate in orchidectomized rats over a period of 60 days not only inhibited the reabsorbing processes induced by a lack of gonad steroids but also accelerated processes of new bone tissue formation, which improved their mechanical parameters and ultimate strength and maximum elasticity.

Keywords: osteoporosis, strontium ranelate, peripheral quantitative computed tomography (pQCT), orchidectomy

Osteoporoza, *osteoporosis* (*osteon* – kość, *porus* – otwór, ubytek) jest przewlekłą chorobą szkieletu, nazywaną także zrzeszotowaniem kości, charakteryzującą się ich niską masą i zmienioną mikroarchitekturą. Konsekwencją zmian osteoporotycznych jest zwiększone ryzyko złamań i wolniejsze zrastanie się kości po złamaniach (19). Zanikowe zamiany patologiczne układu kostnego dotyczą zarówno ludzi, jak i zwierząt. Jedną z przyczyn ich rozwoju jest obniżenie lub brak aktywności hormonalnej gonad, wynikającej z wieku lub kastracji, podyktowanej wskazaniem lekarskim lub względami hodowlanymi (13, 18). Szczególna intensyfikacja procesów zanikowych tkanki kostnej stwierdzana jest po gonadektomii samców zwierząt towarzyszących człowiekowi, takich jak np. koty i konie (8, 10, 28), u których niecałkowicie rozwinięty układ szkieletowy, pozbawiony wpływu an-

drogenów gonadalnych, ulega powolnym lecz stałym procesom zanikowym (16, 29).

Leczenie osteoporozy jest trudne i polega na hamowaniu procesów osteolitycznych oraz intensyfikowaniu formowania kości. Większość stosowanych leków ogranicza wyłącznie resorpcję tkanki kostnej poprzez bezpośrednie lub pośrednie hamowanie aktywności osteoklastów, spowolnienie metabolizmu tkanki kostnej i w efekcie podwyższenie stopnia jej mineralizacji (24, 27). W terapii osteoporozy idealny byłby lek, który jednocześnie hamowałby osteoklastyczną resorpcję oraz stymulował formowanie nowej tkanki kostnej przez osteoblasty. Takim podwójnym działaniem charakteryzuje się ranelinian strontu (RS) (2). Pod względem chemicznym RS to dwustrontowa sól kwasu tiofenoacetylowego, zwanego też kwasem ranelowym (ranelic acid), cechująca się wysoką biodostępnością,

brakiem objawów ubocznych oraz dobrą tolerancją. W przewodzie pokarmowym wchłaniany jest tylko stront. Jego jelitowa absorpcja zachodzi zarówno w sposób bierny, jak i dzięki transportowi aktywnemu. Czynnikiem stymulującym wchłanianie strontu jest witamina D, zaś wapń obniża jego jelitową absorpcję (22). Ze względu na fizyczne i chemiczne podobieństwo strontu i wapnia, obydwa pierwiastki kumulują się w kośćcu na podobnym poziomie. Stwierdzono jednak zróżnicowanie w rozmieszczeniu strontu w kości. Wyższą jego zawartość wykazano w tkance kostnej gąbczastej niż zbitiej. Wykazano również, że nowo powstała tkanka kostna wykazuje 2-4-krotnie wyższą zawartość strontu niż stara tkanka kostna. Do czynników mających wpływ na zawartość strontu w kościach zaliczyć należy również zaabsorbowaną dawkę oraz czas ekspozycji (5).

Niecałkowicie wyjaśniony jest mechanizm wpływu strontu na tkankę kostną. Przypuszcza się istnienie mechanizmu oddziaływania strontu poprzez receptor wapniowrażliwy CaR (Calcium-Sensing Receptor). Obecność tego receptora wykazana została w różnych komórkach, z osteoblastami włącznie. Pełni on funkcję regulacyjną w odniesieniu do homeostazy wapnia. Stront jest agonistą CaR, niemniej jednak jego powinowactwo do tego receptora jest niższe niż wapnia (6).

Badania *in vitro* wykazały stymulacyjny wpływ RS na wzrost aktywności osteoblastów, a także zwiększenie syntezy kolagenu oraz białek niekolagenowych (7). Badania osteoklastów prowadzone na hodowlach komórkowych, jak i wyizolowanych komórkach wykazały, iż RS zmniejsza różnicowanie, dojrzewanie i aktywność resorpcyjną osteoklastów (9). Badania na zwierzętach zdrowych oraz ze zmianami osteoporotycznymi, które indukowano przez unieruchomienie (u obojga płci) oraz przez owariektomię wykazały, że RS zwiększa wytrzymałość mechaniczną, powiązaną z powiększeniem masy i parametrów objętościowych kości (1, 9, 17).

Mimo iż wyniki dotychczasowych badań są interesujące poznawczo i ważne perspektywicznie, to brak jest danych dotyczących wpływu RS na tkankę kostną samców, ocenianą w badaniu tomograficznym oraz wytrzymałościowym, w warunkach rozwijającej się osteopatii po usunięciu gonad.

Model doświadczalny, z wykorzystaniem gonadektomizowanych szczurów jest uznanym postępowaniem, umożliwiającym ocenę rozwoju zmian osteoporotycznych i ich odniesienie do ludzi, a także innych gatunków zwierząt. Dodatkowo, umożliwia ocenę efektów wpływu różnorodnych związków i leków na metabolizm tkanki kostnej w warunkach rozwijającej się, jak i ustalonej osteopatii (4, 20).

Materiał i metody

Badania, po uzyskaniu akceptacji Lokalnej Komisji Etycznej (nr 5/2003) dla planowanych procedur na zwierzętach, przeprowadzono na 30 samcach szczurów rasy

Wistar o masie ciała ok. 340 g \pm 5 g, w wieku 80 dni. Zwierzęta utrzymywano w typowych dla tego gatunku warunkach ze stałym dostępem do wody i paszy LSM (Agropol, Motycz, Polska), standardowo stosowanej w hodowli zwierząt laboratoryjnych. Po siedmiodniowej adaptacji szczury podzielono na grupę kontrolną, u której wykonano operację rzekomą (sham-operation) – SHO (n = 10), polegającą na wykonaniu nacięć worka mosznowego w sposób uniemożliwiający uszkodzenie tkanki jąder oraz grupę samców, u których po wykonaniu cięć worka mosznowego, a następnie podwiązaniu powrózków nasiennych, jądra zostały usunięte (orchidektomy) – ORX (n = 20). Rany pooperacyjne, zarówno w przebiegu operacji rzekomej, jak i orchidektomii, zostały zaszyte. Zabiegi operacyjne wykonano w znieczuleniu ogólnym, uzyskanym po domięśniowej iniekcji ketaminy (Biowet-Puławy, Polska), atropinum sulphuricum (Polfa-Warszawa, Polska) i rometaru (Leciva, Republika Czeska) w dawkach odpowiednio 10, 2 oraz 0,05 mg/kg m.c. Po 7-dniowej rekonwalescencji zwierzęta po orchidektomii (ORX) podzielono wtórnie na grupę kontrolną (orchidektomia/kontrola – ORX/K), otrzymującą płyn fizjologiczny (n = 10) oraz doświadczalną (orchidektomia/ranelinian strontu – ORX/RS) otrzymującą wodny roztwór ranelinianu strontu (n = 10) w dawce 900 mg/kg m.c. Zastosowana dawka została wybrana w oparciu o wyniki badań Ammanna i wsp. (3), którzy w badaniach prowadzonych na samicach szczurów stwierdzili, iż była ona najbardziej efektywna w oddziaływaniu na metabolizm kości. W badaniach zastosowano preparat Protelos[®] 2 g (Servier, Francja). Zarówno płyn fizjologiczny, jak i RS podawano codziennie sondą dożołądkowo w objętości 0,5 ml/100 g m.c., po uprzednim ważeniu samców. Po 60 dniach zwierzęta uśpiono w atmosferze CO₂, pobrano krew z wkłucia dosercowego i uśmiercono przez dyslokację kręgow szynnych.

Przy zastosowaniu wysokiej rozdzielczości obwodowego ilościowego tomografu komputerowego (pQCT) XCT Research SA Plus (Stratec Medizintechnik GmbH, Pforzheim Niemcy) przeprowadzona została analiza kości udowej, w której określono wolumetryczną gęstość mineralną tkanki kostnej zbitiej (Ct.vBMD) – cortical volumetric bone mineral density), wewnętrzny i zewnętrzny obwód trzonu, grubość warstwy tkanki kostnej zbitiej (Ct.Th – cortical thickness) oraz wskaźnik wytrzymałości mechanicznej (SSI – Strength Strain Index) trzonu kości udowej. Tomograficzną analizę kości udowej wykonano w zakresie połowy (50%) długości kości, przy wielkości voksela 0,07 mm i prędkości skanowania 4 mm/min. Miejsce analizy określano po uprzednim skanowaniu wstępnym (20 mm/s) i przeprowadzeniu pomiarów morfometrycznych kości. Współczynnik progowy, różnicujący tkankę kostną zbitą od gąbczastej, określono na poziomie 0,900 cm⁻¹.

Ocenę wytrzymałościową trzonu kości udowej przeprowadzono w oparciu o metodę trójpunktowego testu ugięcia z wykorzystaniem aparatu obciążeniowego Instron 4302 (11). Kości charakteryzowano parametrami wytrzymałościowymi, takimi jak: wartość siły maksymalnej oraz siły w punkcie przekraczania granicy sprężystości. Uzyskane wyniki przeliczono na moment siły $F \cdot L/4$ (F – działająca siła; L – odległość pomiędzy punktami podporu), a wartości wyrażono jako $N \cdot mm$ (25).

W surowicy krwi określono, metodą spektrofotometryczną, aktywność fosfatazy zasadowej, a także stężenie Ca i P.

Uzyskane wyniki przedstawiono jako średnią i błędy standardowe średniej ($\bar{x} \pm S.E.M.$). Dla wykazania istotnych różnic między grupami przeprowadzono jednoczynnikową analizę wariancji, a następnie test *post hoc* Tukeya dla porównań wielokrotnych. Różnice uznano za istotne statystycznie przy $p \leq 0,05$. Obliczenia statystyczne przeprowadzono z wykorzystaniem programu Statistica (StatSoft, Inc. Tulsa, USA).

Wyniki i omówienie

Trzon kości długich w większości utworzony jest z tkanki kostnej zbitiej. W początkowym okresie, hipofunkcja hormonalna gonad wywiera słabszy wpływ na rozwój metabolicznej osteopatii tkanki kostnej zbitiej niż gąbczastej. W badaniach własnych wykazano, że 67-dniowy okres braku oddziaływania hormonów płciowych męskich pochodzenia gonadalnego obniżył o 11,0% wolumetryczną gęstość mineralną tkanki kostnej zbitiej (Ct.vBMD), mierzoną w połowie (50%) długości kości udowej, w porównaniu z wartościami uzyskanymi w grupie operowanej rzekomo (SHO). Podawanie ranelinianu strontu (RS) zwiększyło natomiast wartość tego parametru do 1384,54 mg/cm³, który był o 13,2% wyższy w porównaniu z orchidektomizowaną grupą kontrolną (ORX/K) ($p < 0,05$) (tab. 1). Wskazuje to nie tylko na zapobieganie przez RS zanikowi kostnemu, ale dowodzi jego wpływu na zwiększanie wolumetrycznej gęstości mineralnej tkanki kostnej zbitiej. Brak wpływu sterydowych hormonów płciowych męskich pochodzenia gonadalnego zaznaczył się również zmniejszeniem (6,7%) grubości tkanki zbitiej kości udowej (Ct.Th) szczurów grupy ORX/K w porównaniu z wartościami zanotowanymi w grupie SHO. Podobnie jak Ct.vBMD, również Ct.Th wzrosła po zastosowaniu RS do 0,79 mm i była o 11,4% większa w porównaniu z grupą ORX/K ($p < 0,05$) (tab. 1). Zmiana grubości ściany kości wynika ze zmian obwodów trzonu kości zarówno zewnętrznego (podokostnowego), jak i wewnętrznego (od strony jamy szpikowej). Zewnętrzny obwód kości udowych orchidektomizowanych szczurów grupy kontrolnej (ORX/K) oraz doświadczalnej (ORX/RS) zwiększyły się w odniesieniu do wartości w grupie rzekomo operowanej

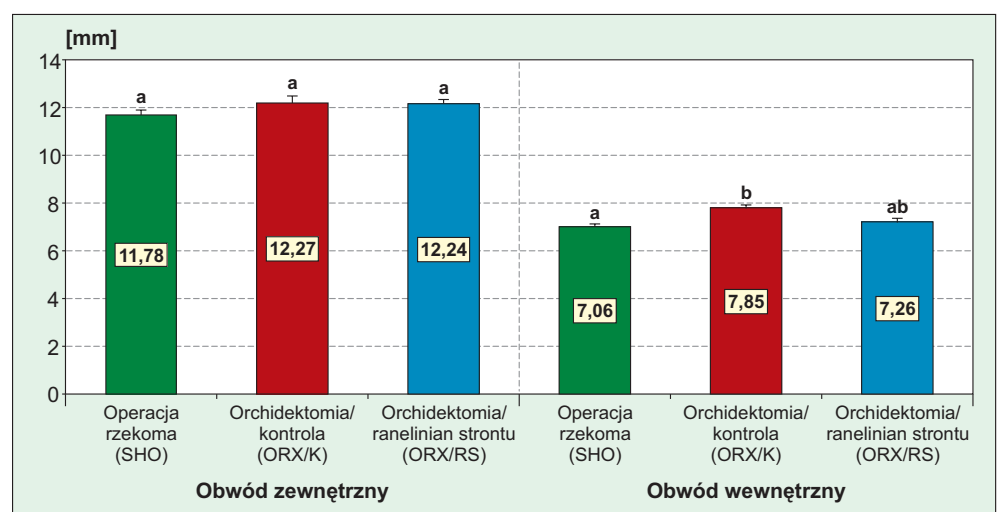
Tab. 1. Wolumetryczna gęstość mineralna tkanki kostnej zbitiej (Ct.vBMD), grubość tkanki kostnej zbitiej (Ct.Th) oraz wskaźnik wytrzymałości mechanicznej (SSI), mierzone w 50% długości kości udowej ($\bar{x} \pm SEM$, n = 10)

Analizowany parametr	Operacja rzekoma (SHO)	Orchidektomia/kontrola (ORX/K)	Orchidektomia/ranelinian strontu (ORX/RS)
Gęstość mineralna tkanki kostnej zbitiej (Ct.vBMD) (mg/mm ³)	1350,21 ± 51,21 ^{ab}	1245,21 ± 43,30 ^a	1384,54 ± 32,61 ^b
Grubość tkanki kostnej zbitiej (Ct.Th) (mm)	0,75 ± 0,03 ^{ab}	0,70 ± 0,02 ^a	0,79 ± 0,02 ^b
Wskaźnik wytrzymałości mechanicznej (SSI) (mm ³)	9,66 ± 0,31 ^{ab}	9,01 ± 0,19 ^a	9,99 ± 0,25 ^b

Objaśnienie: a, b, c – litery oznaczają statystycznie istotne różnice między średnimi grup kontrolnych i doświadczalnej ($p \leq 0,05$)

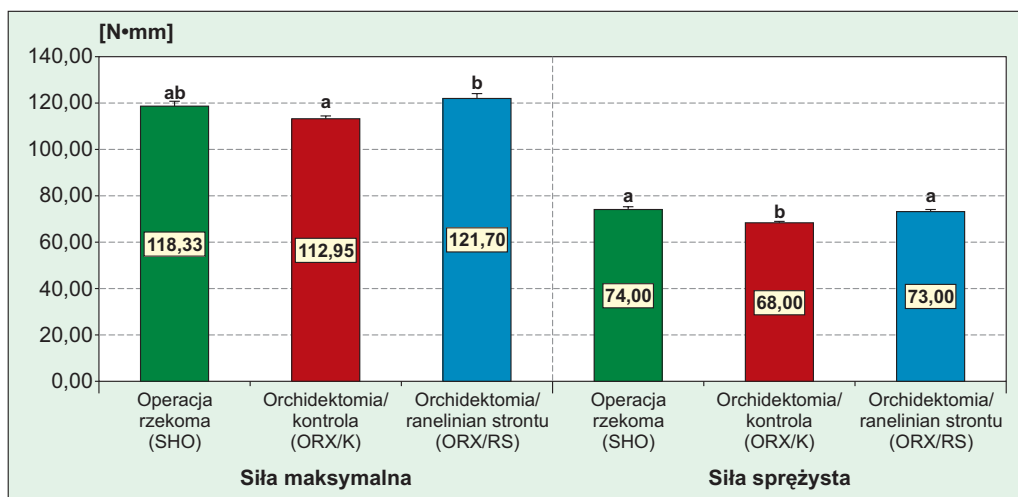
(SHO), odpowiednio o 4,0% oraz 3,8%. Wzrostowi obwodu zewnętrznego w grupie ORX/K towarzyszyło, wynikające ze zintensyfikowanej resorpcji, powiększenie obwodu wewnętrznego (10,1%) ($p < 0,05$), a w konsekwencji objętości kanału szpikowego. Takie zmniejszenie grubości ściany kości jest typowe w przebiegu osteoporozy (15). Mimo zwiększonego zewnętrznego obwodu, sześćdziesięciodniowy okres podawania RS ograniczył powiększenie obwodu wewnętrznego kości udowej gonadektomizowanych samców do wartości 2,8%, w odniesieniu do grupy SHO. Świadczy to o ograniczeniu przez RS śródkostnej resorpcji tkanki w warunkach rozwoju osteopenii po gonadektomii (ryc. 1).

Ocena wytrzymałości mechanicznej kości przeprowadzana jest zazwyczaj w oparciu o trójpunktowy test ugięcia (3, 11, 26). Zastosowanie techniki wysokiej rozdzielczości obwodowej ilościowej tomografii komputerowej (pQCT) umożliwia określenie tzw. wskaźnika wytrzymałości kości SSI (Strength Strain Index). Analizę tego parametru można przeprowadzić nie tylko w materiale izolowanym, ale również przyżyciowo. To nieinwazyjne badanie umożliwia prognozowa-



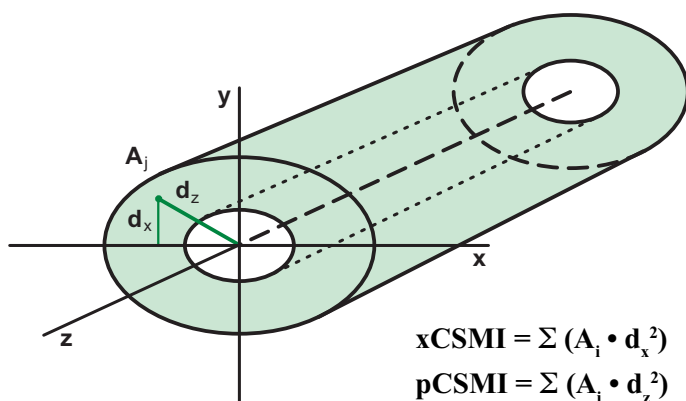
Ryc. 1. Obwód zewnętrzny i wewnętrzny trzonu kości udowej szczurów samców, mierzone w połowie (50%) długości ($\bar{x} \pm SEM$; n = 10)

Objaśnienie: a, b, c – litery oznaczają statystycznie istotne różnice między średnimi grup kontrolnych i doświadczalnej ($p \leq 0,05$)



Ryc. 2. Siła maksymalna oraz sprężystość kości udowej samców szczurów ($\bar{x} \pm \text{SEM}$, $n = 10$)
Objaśnienie: jak na ryc. 1.

nie wytrzymałości mechanicznej kości. Metoda opiera się o założenie, że o wytrzymałości kości długich decydują własności struktury tkanki kostnej zbitiej, a w szczególności jej gęstość i rozmieszczenie na obwodzie przekroju. W pierwszej kolejności określany jest zginający lub skręcający moment bezwładności (CSMI), charakteryzujący geometryczny kształt przekroju względem trójwymiarowego układu współrzędnych przechodzącego przez geometryczny środek kości. Wylczenie polega na określeniu całkowitej sumy powierzchni wokseli (najmniejszy element przestrzeni, odpowiednik piksela w grafice dwuwymiarowej) warstwy tkanki zbitiej pomnożonej przez kwadrat odległości od wybranej osi (ryc. 3). Program do obliczenia wskaźnika wytrzymałości SSI wykorzystuje również, określoną tomograficznie, wolumetryczną gęstość mineralną (vBMD) i promień kości (ryc. 4) (12, 21). W prezentowanych badaniach wskaźnik wytrzymałości kości na zginanie, obliczony został w oparciu o moment bezwładności (xCSMI), którego oś odniesienia odpowiadała kierunkowi badania kości w trójpunktowym teście ugięcia.



Ryc. 3. Schematyczne przedstawienie zginającego (xCSMI) i skręcającego (pCSMI) momentu bezwładności przekroju porzecznego, obliczonego jako suma pola powierzchni wybranych wycinków (wokseli) (A_i) oraz kwadratu odległości do odpowiedniej osi zginającej (d_x) lub skręcającej (d_z) (12)

Uzyskane w doświadczeniu wyniki wskazują, że gonadektomia obniżyła wskaźnik wytrzymałości na zginanie kości udowej orchidektomizowanych samców grupy kontrolnej (ORX/K) w badanym miejscu o 9,1%, zaś podawanie RS zwiększyło wartość tego parametru o 3,3% w odniesieniu do grupy operowanej rzekomo (SHO) (tab. 1).

Prognozowana wytrzymałość kości, oceniana badaniem pQCT, potwierdzona została w trójpunktowym teście ugięcia, który umożli-

liwia określenie rzeczywistej wytrzymałości izolowanych kości na działanie sił odkształcających (14, 23, 25).

Ocenie poddano siłę maksymalną oraz siłę sprężystą. Uzyskane wyniki wskazują na spadek wartości siły maksymalnej, jak i sprężystej kości udowej samców grupy ORX/K w porównaniu z wartościami u samców grupy SHO odpowiednio o 4,5% oraz 8,1%. Podawanie RS zwiększyło wytrzymałość mechaniczną oraz sprężystość kości udowej gonadektomizowanych samców w porównaniu z grupą ORX/K, a uzyskane wyniki były zbliżone do wartości zanotowanych w grupie SHO (ryc. 2).

Alkaliczna fosfataza (ALP) jest enzymem, którego zwiększona aktywność świadczy o intensyfikacji osteoblastycznego formowania kości. Spadek aktywności tego enzymu o 10,3%, w porównaniu z wartościami zanotowanymi w grupie SHO, stwierdzono w osoczu krwi samców grupy ORX/K. Aktywność ALP badana w osoczu krwi samców otrzymujących RS była o 18,4% wyższa w porównaniu z wartościami zanotowanymi w grupie SHO (tab. 2). Stężenie Ca w osoczu krwi nie wykazywało istotnych różnic między poszczególnymi grupami. Brak zmiany aktywności ALP oraz stężenia Ca, po zastosowaniu związku stabilnego strontu, stwierdził w swoich badaniach również Hott i wsp. (17). Stwierdzono natomiast wzrost stężenia P w grupie ORX/K (5,9%) w odniesieniu do grupy SHO. Sto-

$$SSI = \sqrt[3]{\frac{\sum_{n=1}^n \left[A \cdot d^2 \cdot \frac{vBMB}{avBMD} \right]}{EcMx}}$$

Ryc. 4. Wzór na obliczenie wskaźnika wytrzymałości mechanicznej (SSI) kości (21)

Objaśnienia: A – pole wycinka (woksela); d – odległość od środka geometrycznego; vBMD – wolumetryczna gęstość mineralna wycinka (woksela); avBMD – gęstość według norm fizjologicznych (1200 mg/cm³); EcMx – maksymalny promień wzdłuż osi X

Tab. 2. Aktywność fosfatazy zasadowej (ALP) oraz stężenie wapnia i fosforu w surowicy krwi szczurów samców grup kontrolnych i doświadczalnej ($\bar{x} \pm \text{SEM}$, n = 10)

Analizowany parametr	Operacja rzekoma (SHO)	Orchidektomia/kontrola (ORX/K)	Orchidektomia/ranelinian strontu (ORX/RS)
ALP (U/l)	89,2 ± 4,20 ^{ab}	80,0 ± 2,84 ^a	98,0 ± 2,71 ^b
Ca (mg/dl)	9,91 ± 0,41 ^a	9,95 ± 0,25 ^a	10,31 ± 0,38 ^a
P (mg/dl)	9,00 ± 0,53 ^a	9,56 ± 0,69 ^a	6,84 ± 0,35 ^b

Objaśnienie: jak w tab. 1.

sowanie RS zmniejszyło osoczowe stężenie P o 24% w stosunku do grupy SHO ($p < 0,05$) (tab. 2).

Podsumowując podkreślić należy, że codzienne podawanie dożołądkowe ranelinianu strontu (RS) przez okres 60 dni przeciwdziało, wywołanej gonadektomią, utracie masy kostnej samców szczurów, wykazanej na modelu kości udowej. Efektem działania ranelinianu strontu było ograniczenie zarówno procesów zanikowych tkanki kostnej, jak i indukowanie powstawania nowych jej struktur o wyższym stopniu zmineralizowania, co prowadziło do wzrostu wytrzymałości mechanicznej kości na działanie sił odkształcających.

Wyjaśnienie użytych skrótów:

RS – ranelinian strontu

SHO – grupa kontrolna szczurów operowanych rzekomo (sham-operated)

ORX/K – grupa kontrolna szczurów orchidektomizowanych (orchidectomized)

ORX/RS – grupa doświadczalna szczurów orchidektomizowanych

Ct.vBMD – wolumetryczna gęstość mineralna tkanki zbitej kości udowej (cortical volumetric bone mineral density)

Ct.Th – grubość warstwy tkanki zbitej kości udowej (cortical thickness)

SSI – wskaźnik wytrzymałości mechanicznej (strength strain index)

pQCT – obwodowy ilościowy tomograf komputerowy (peripheral quantitative computed tomography)

CSMI – moment bezwładności przekroju poprzecznego (cross sectional moment of inertia)

Piśmiennictwo

1. Ammann P., Shen V., Robin B., Mauras Y., Bonjour J. P., Rizzoli R.: Strontium ranelate improves bone resistance by increasing bone mass and improving architecture in intact female rats. *J. Bone Miner. Res.* 2004, 19, 2012-2020.
2. Anon.: Strontium ranelate for osteoporosis? *Drug Ther. Bull.* 2006, 44, 29-32.
3. Bieńko M., Radzki R. P., Puzio I., Kapica M., Studziński T.: Wpływ podawania siarczynu glinu na wytrzymałość tkanki kostnej kurcząt brojlerów. *Medycyna Wet.* 2005, 61, 950-954.
4. Blouin S., Gallois Y., Moreau M. F., Basle M. F., Chappard D.: Disuse and orchidectomy have additional effects on bone loss in the aged male rat. *Osteop. Int.* 2007, 18, 85-92.
5. Boivin G., Deloffre P., Perrat B., Panczer G., Boudeulle M., Mauras Y., Allain P., Tsouderos Y., Meunier P. J.: Strontium distribution and interactions with bone mineral in monkey iliac bone after strontium salt (S 12911) administration. *J. Bone Miner. Res.* 1996, 11, 1302-1311.
6. Brown E. M.: Is the calcium receptor a molecular target for the actions of strontium on bone? *Osteoporos. Int.* 2003, 14 Suppl 3, S25-S34.
7. Buehler J., Chappuis P., Saffar J. L., Tsouderos Y., Vignery A.: Strontium ranelate inhibits bone resorption while maintaining bone formation in alveolar bone in monkeys (*Macaca fascicularis*). *Bone* 2001, 29, 176-179.
8. Cavani F., Fini M., de T. F., Cadossi M., Ciminelli L., Ortolani S., Cherubini R., De A. D., Giavaresi G., Cadossi R., Cane V.: Effect of trabecular orientation on mechanical resistance and ultrasound propagation in specimens of equine vertebrae. *Ultrasound Med. Biol.* 2003, 29, 1777-1785.
9. Delannoy P., Bazot D., Marie P. J.: Long-term treatment with strontium ranelate increases vertebral bone mass without deleterious effect in mice. *Metabolism* 2002, 51, 906-911.
10. Draper H. H.: Bone loss in animals. *Adv. Nutr. Res.* 1994, 9, 53-71.
11. Ferretti J. L., Capozza R. F., Mondelo N., Zanchetta J. R.: Interrelationships between densitometric, geometric, and mechanical properties of rat femora: inferences concerning mechanical regulation of bone modeling. *J. Bone Miner. Res.* 1993, 8, 1389-1396.
12. Ferretti J. L., Cointy G. R., Capozza R. F.: Noninvasive analysis of bone mass, structure and strength. CRC Press, Boca Raton, Fla 2002.
13. Fukuda S., Iida H.: Effects of orchidectomy on bone metabolism in Beagle dogs. *J. Vet. Med. Sci.* 2000, 62, 69-73.
14. Grell E., Śliwa E., Radzki R. P., Puzio I.: Wpływ fitazy i chromu w mieszanekach z łądzwanem na cechy kości szczurów. *Medycyna Wet.* 1997, 53,
15. Hara K., Kobayashi M., Akiyama Y.: Vitamin K2 (menatetrenone) inhibits bone loss induced by prednisolone partly through enhancement of bone formation in rats. *Bone* 2002, 31, 575-581.
16. Hofbauer L. C., Khosla S.: Androgen effects on bone metabolism: recent progress and controversies. *Eur. J. Endocrinol.* 1999, 140, 271-286.
17. Hott M., Deloffre P., Tsouderos Y., Marie P. J.: S12911-2 reduces bone loss induced by short-term immobilization in rats. *Bone* 2003, 33, 115-123.
18. Iida H., Fukuda S.: Age-related changes in bone mineral density, cross-sectional area and strength at different skeletal sites in male rats. *J. Vet. Med. Sci.* 2002, 64, 29-34.
19. Iqbal M. M., Sobhan T.: Osteoporosis: a review. *Mo. Med.* 2002, 99, 19-24.
20. Lerouxel E., Libouban H., Moreau M. F., Basle M. F., Audran M., Chappard D.: Mandibular bone loss in an animal model of male osteoporosis (orchidectomized rat): A radiographic and densitometric study. *Osteop. Int.* 2004, 15, 814-819.
21. Lorenc R. S., Walecki J.: Diagnostyka osteoporozy. Springer PWN, Warszawa 1998.
22. Marie P. J., Ammann P., Boivin G., Rey C.: Mechanisms of action and therapeutic potential of strontium in bone. *Calcif. Tissue Int.* 2001, 69, 121-129.
23. Śliwa E., Tataru M. R., Kowalik S., Krupski W., Majcher P., Piersiak T., Studziński T.: Wpływ deksametazonu na wzrost i mineralizację układu kostnego w okresie prenatalnym u świń. *Medycyna Wet.* 2005, 61, 1145-1148.
24. Okano T., Hagino H.: Treatment and management of severe osteoporosis. *Clin. Calcium* 2006, 16, 1451-1456.
25. Radzki R. P., Bieńko M., Puzio I., Studziński T.: Wpływ estradiolu i tamoksifenu na właściwości fizyczne kości udowej i ramiennej kurcząt brojlerów. *Medycyna Wet.* 2003, 59, 1090-1094.
26. Radzki R. P., Bieńko M., Kapica M., Puzio I., Dobrowolski P., Filip R.: Effect of b2-adrenergic receptor agonist clenbuterol on the mineralization of tibiae in rats with established osteopenia. *Medycyna Wet.* 2006, 62, 824-826.
27. Rizer M. K.: Osteoporosis. *Prim. Care* 2006, 33, 943-951.
28. Stubbs W. P., Bloomberg M. S., Scruggs S. L., Shille V. M., Lane T. J.: Effects of prepubertal gonadectomy on physical and behavioral development in cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1996, 209, 1864-1871.
29. Syed F., Khosla S.: Mechanisms of sex steroid effects on bone. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2005, 328, 688-696.

Adres autora: dr Radosław P. Radzki, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin;
e-mail: radoslaw.radzki@ar.lublin.pl