

Vliv argininu na kvalitu kostní tkáně u potkanů

H. ŽIVNÁ¹, P. ŽIVNÝ², K. ŠVEJKOVSKÁ², S. FEKETE², M. HOLEČEK³

¹Radioizotopové laboratoře a vivárium, Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta v Hradci Králové,

²Ústav klinické biochemie a diagnostiky, Lékařské fakulty v Hradci Králové, Univerzita Karlova v Praze,

³Ústav fyziologie, Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta v Hradci Králové

SOUHRN

Živná H., Živný P., Švejkovská K., Fekete S., Holeček M.: **Vliv argininu na kvalitu kostní tkáně u potkanů**

Cíl práce: V experimentu jsme sledovali vliv argininu podávaného v dietě po dobu 12 týdnů na kostní metabolismus u intaktních potkanů samců kmene Wistar (n = 20).

Materiál a metody: Potkani byli rozděleni do 2 skupin: 1. skupina **ST1-S** (n = 10) – byla živena standardní laboratorní dietou *ad libitum* (ST1). 2. skupina **Arg-S** (n = 10) – byla živena ST1 obohacenou o 10 % argininu *ad libitum* (Arg) po celou dobu trvání pokusu. Potkani byli usmrceni vykrvácením z břišní aorty, poté byla u potkanů stanovena kostní minerální hustota (BMD; g/cm²) a složení těla dvouenergií rentgenovou absorpciometrií (Hologic Delphi A, Osteocentrum FN HK). Biomechanická odolnost kostí byla měřena přístrojem vyrobeným na zakázku (Košek a Trnečka, Hradec Králové). V homogenátu kostí byly stanoveny ukazatele kostního obrátu: N terminální propeptid prokolagenu (PINP; pg/ml), kostní frakce alkalické fosfatázy (BALP; ng/ml), kostní morfogenetický protein 2 (BMP2; pg/ml), karboxyterminální telopeptid kolagenu (CTX; pg/ml) a insulin like growth factor (IGF; pg/ml) pomocí metody EIA. Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměr nebo medián. Statistické zpracování bylo provedeno s využitím software SigmaStat Jandel Scientific.

Výsledky: V hodnotách BMD nebyly významné rozdíly mezi skupinami, nižší množství tukové tkáně bylo u skupiny Arg-S. Síly nezbytné ke zlomení tibií byly nevýznamně slabší u potkanů živených dietou obohacenou o arginin (tříbodové lámání 1. sk. 131 N; 2. sk. 109 N; torze 1. sk. 297 N/m; 2. sk. 272 N/m).

Závěr: Vliv diety obohacené o arginin pouze nevýznamně snížil odolnost tibie k tříbodovému zlomení.

Klíčová slova: arginin, kostní markery, hustota kostního minerálu, biomechanické testování

SUMMARY

Živná H., Živný P., Švejkovská K., Fekete S., Holeček M.: **Effect of arginine on the quality of bone tissue in rats**

Objective: We investigated the effect of arginine administered in the diet for 12 weeks on bone metabolism in intact male Wistar rats (n = 20).

Material and Methods: Rats were divided into two groups. The first ST1-S group (n = 10) was fed a standard laboratory diet *ad libitum* (ST1). The second Arg-S group (n = 10) was fed the ST1 diet enriched with 10 % arginine (Arg) *ad libitum*. Rats were killed by exsanguination from the abdominal aorta and bone mineral density (BMD; g/cm²) and body composition were determined using dual-energy X-ray absorptiometry (Hologic Delphi A device). Biomechanical bone resistance was measured with a custom-made device (Kosek and Trnečka, Hradec Kralove). The following markers of bone turnover were determined in bone homogenates: procollagen type I N-terminal propeptide (PINP; pg/ml), bone-specific alkaline phosphatase (BALP; ng/ml), bone morphogenetic protein 2 (BMP-2; pg/ml), carboxy-terminal collagen crosslinks (CTX; pg/ml) and insulin-like growth factor 1 (IGF-1; pg/ml) by EIA. Values are expressed as the mean or median. Statistical analysis was performed using SigmaStat software (Jandel Scientific).

Results: There were no significant differences in BMD between the groups; a lower amount of adipose tissue was found in the Arg-S group. The forces necessary to fracture the tibia were nonsignificantly weaker in rats fed the diet enriched with arginine (3-point fracture 1st group 131 N; 2nd group 109 N; torsion 1st group 297 N/m; 2nd group 272 N/m).

Conclusion: The effect of the diet enriched with arginine only nonsignificantly decreased resistance of the tibia to 3-point fracture.

Keywords: arginine, bone markers, bone mineral density, biomechanical testing

Osteologický bulletin 2014;19(4):97–102

Adresa: Doc. MUDr. Pavel Živný, CSc., Fakultní nemocnice, Ústav klinické biochemie a diagnostiky, Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové, e-mail: zivny@lfhk.cuni.cz

Došlo do redakce: 11. 9. 2014

Přijato k tisku: 12. 12. 2014

Úvod

Arginin je nejbazičtější aminokyselinou, která je prekurzorem pro syntézu řady významných látek, jako je oxid dusnatý, kreatin, polyaminy spermidin a spermin. Arginin je podmíněně esenciální, je nezbytný u dětí v období růstu, v době zvýšené aktivity fagocytů a při spermatogenezi. V ostatních situacích je tvořen v močovinovém cyklu z exogenních nebo endogenních bílkovin.

Před 25 lety se arginin stal populární mezi sportovci pro své pozitivní účinky na fyzickou sílu a oddálení pocitu únavy [1]. Lewis [2] sledoval vedlejší účinky různých dávek podávaného argininu. Při dávkách nad 21 g denně se objevil průjem, únava a krvácení z nosu, bolesti hlavy a pocit sucha v ústech. Při nižších dávkách nebyly tyto vedlejší účinky pozorovány.

Suplementace argininem vedla ke zvýšení koncentrace růstového hormonu během fyzické aktivity [3], ale v klidu se tento efekt neprojevil [4,5]. Podání argininu intravenózně vede k periferní vazodilataci, inhibici agregace krevních destiček, zlepšení vazodilatační odpovědi závislé na endotelu, redukcii adheze makrofágů k endotelu, snižuje krevní tlak a kompenzačně zvyšuje tepovou frekvenci [6], dále zvyšuje sérovou koncentraci inzulínu, glukagonu, růstového hormonu, prolaktinu, adrenalinu a noradrenalinu. Naproti tomu arginin podávaný perorálně má mnohem menší účinky, neboť je metabolizován již v intestinální mukóze, nevede ke zvýšení koncentrace inzulínu v plazmě [7]. Dlouhodobě podávaný arginin perorálně snižuje rizika kardiovaskulárních onemocnění a zvyšuje plazmatickou koncentraci L-argininu a cyklického guanosin-monofosfátu [8]. U kardiaků zlepšuje suplementace argininem kapacitu při aerobním cvičení pravděpodobně zvýšením produkce oxidu dusnatého (NO). U zdravých osob je tento účinek minimální.

NO, který vzniká z argininu působením syntázy oxidu dusnatého (NOS), je významná signální molekula. Přítomnost NOS byla prokázána také v kosti [9]. Některé studie prokázaly, že vysoké hladiny vedou ke kostní resorpci [10]. Naopak nízké hodnoty potlačují resorpci kosti a aktivují kostní novotvorbu, např. zvýšením sérové koncentrace insulin-like růstového faktoru-1 (IGF-1), který ovlivňuje diferenciaci osteoblastů a jeho koncentrace koreluje s hodnotou kostní minerální denzity (BMD) [11].

Baecker [12] podával zdravým postmenopauzálním ženám orálně arginin (L-arginin hydrochlorid) v dávce 14,8 g/den po dobu 6 měsíců. V této studii byl prokázán statisticky významný nárůst koncentrace C-terminálního propeptidu kolagenu I (PICP), zvýšilo se vylučování dusíku, nedošlo však ke změnám v koncentracích IGF-I, hodnotách BMD ani v obsahu minerálu v kostech (BMC). Autoři se domnívají, že tento negativní výsledek je způsoben formou podávaného argininu, příliš pevnou chemickou vazbou argininu na hydrochlorid.

Užívání doplňků stravy k podpoře růstu svalové hmoty, ať již výše zmíněných, nebo jiných, se v posledních letech stalo velmi populární mezi všemi věkovými kategoriemi, a to více u mužů než u žen. Zatímco proteokatabolické stavy při vážných chorobných stavech je nutné řešit u obou pohlaví. Pro zjištění účinku samotného argininu byli v této studii použiti zdraví samci potkanů, u kterých není metabolismus kostí negativně ovlivněn ani nedostatkem anabolických hormonů, ani jiným patologickým stavem. Cílem této studie bylo zodpovědět, zda přídavek L-argininu bude pro kostní tkáň prospěšný či naopak škodlivý.

Kostní metabolismus je nejčastěji hodnocen z koncentrací ukazatelů kostního obrátu. Mezi specifické markery odrážející kostní metabolismus patří kostní alkalická fosfatáza, (BALP), osteokalcin (OC) a N- a C-terminální propeptid prokolagenu typu I (PINP, PICP). BALP je lokalizována v membránách osteoblastů [13]. OC je produkovaný osteoblasty, závislý na vitamínu D a K a je vázaný na hydroxyapatit extracelulární matrix [14]. PINP je propeptid z prokolagenu I před jeho zabudováním do kostní hmoty ve formě kolagenu I [15]. Naopak při odbourávání kolagenu I se uvolňuje C-terminální telopeptid kolagenu I (CTX-I), což vypovídá o resorpci kostní tkáně [16]. Další z faktorů, který ovlivňuje kostní tkáň, je kostní morfogenetický protein (BMP-2), který umožňuje zvýšení exprese a diferenciaci osteoblastů a následné zvýšení kostní novotvorby [17].

Materiál a metody

Dieta:

Dieta byla připravena ze sypké standardní diety pro hlodavce (ST-1, VELAS, Lysá nad Labem) přidáním argininu

Tabulka 1
Biomechanické vlastnosti levých a pravých tibíí (LT a PT), tj. délka, průměr a tloušťka kosti (mm), dále třibodové ohýbání kostí a lámání torzí (N, N/m)

		Délka	Průměr	Tloušťka	3b lámání	Torze
LT	ST1-S	40,73 ± 1,51	2,75 ± 0,37	0,521 ± 0,009	130,50 ± 18,43	neprovedeno
	Arg-S	40,74 ± 0,91	2,58 ± 0,09	0,515 ± 0,012	109,40 ± 11,54 vs. ST1-S p = 0,007	neprovedeno
PT	ST1-S	39,71 ± 0,37	2,90 ± 0,28	0,541 ± 0,094	neprovedeno	297,44 ± 13,28
	Arg-S	40,91 ± 0,82	2,73 ± 0,09 vs. ST1-S p = 0,045	0,534 ± 0,012	neprovedeno	272,10 ± 46,98

ve výsledné koncentraci 10 %. V mlýnku byly vytvořeny pelety, které byly sušeny v sušičce při teplotě 55 °C. Takto připravená dieta byla skladována na chladném a suchém místě.

Zvřřata:

Studie byla provedena podle projektů pokusů schváleného Odbornou komisí na ochranu zvířat proti týrání LF UK-HK (č.j. 30793/2010-30 a 8593/2008-30). Byli použiti dospělí samci potkanů kmene Wistar (Biotest, s. r. o., Konárovice) s tělesnou hmotností 234 ± 12 g na začátku pokusu. Potkani byli ve viváriu Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Hradci Králové (LF UK-HK) umístěni po 5 v plastických klecích a chováni za standardních podmínek (12 hodin světlo a 12 hodin tma, teplota 22 ± 2 °C, vlhkost vzduchu 30–70 %). Byli krmeni *ad libitum* standardní laboratorní dietou (ST-1, VELAS, a. s., Lysá nad Labem) nebo dietou ST-1 s 10 % argininu (Arg-S), dále pitnou vodou *ad libitum*. Tělesná hmotnost potkanů a spotřeba diety byla sledována jednou týdně.

Experiment:

Potkani byli rozděleni do dvou skupin po 10 zvířatech:

1. skupina **ST1-S** byla živena standardní laboratorní dietou *ad libitum* (ST-1) po dobu trvání pokusu. 2. skupina **Arg-S** byla živena ST-1 obohacenou o 10 % argininu *ad libitum* (Arg) po celou dobu trvání pokusu. Po 12 týdnech byla zvířata usmrcena odběrem krve z bifurkace břišní aorty v éterové anestézii.

Hustota kostního minerálu:

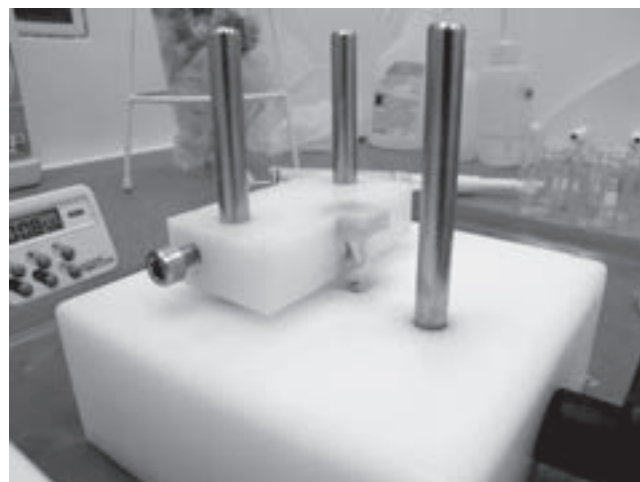
Potkanům byla po jejich usmrcení změřena kostní minerální hustota (BMD, g/cm²) pomocí dvouenergievé rentgenové absorpciometrie (DXA – Dual Energy X-ray Absorptiometry) na přístroji Hologic Delphi A (Hologic, MA, USA) v Osteocentru Fakultní nemocnice Hradec Králové. Kostní minerální hustota celého těla, 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:

Vyňaté tibie byly zamrazeny na –80 °C do další analýzy. Tibie byly využity k testování mechanické odolnosti kostní tkáně na speciálním elektromechanickém přístroji (Martin Košek & Pavel Trněčka, Hradec Králové, ČR) podle metodiky popsané dříve [18,19]. Před testováním jsme změřili délku a průměr vyšetřovaných kostí. Tibie byly lámány ve středu diafýzy pomocí tříbodového testování (three-point bending). Kost byla položena na dva podpůrné body, vzdálené od sebe 18 mm v anteroposteriorním směru, poté byla vystavena počáteční síle do 10 N a byl spuštěn elektromotor snižující nerezový váleček konstantní rychlostí 6 mm/min. Po zlomu jsme změřili tloušťku kortikální části kosti pomocí posuvného mikrometru (OXFORD 0–25MM 30DEG POINTED MICROMETER, Victoria Works, Leicester, Velká Británie). Maximální vynaložená síla (v tlaku N, v torzi N/m) ke zlomení kosti byla zaznamenána měřicí jednotkou (Digitalanzeiger 9180, Burster praezisionsmesstechnik GmbH, Gernsbach, Německo).

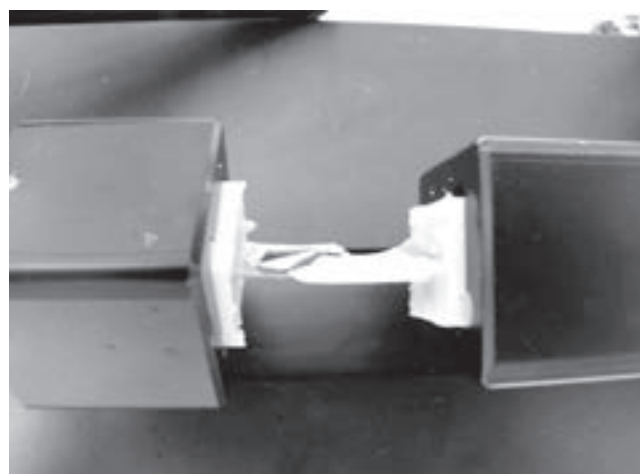
Obr. 1

Zalítí konců tibie do metylmetakrylátu před torzí



Obr. 2

Tibie potkana zlomená torzí



Při přípravě k torzi se konec tibie svisle fixuje ve formě a zalije se samopolymerující adhezivní pryskyřicí na bázi metakrylátu (Spofacryl-SpofaDental, a. s.; Jičín) ve speciální nádobce. Po pěti minutách metylmetakrylát ztuhne a postup se opakuje s druhým koncem tibie. Střed kosti je obalen gázou namočenou ve fyziologickém roztoku (obr. 1). Upravené konce kostí se zasunou do držáků přístroje. Po spuštění přístroje se začne jedna jeho část otáčet rychlostí (24°/min) až dojde ke zlomení tibie (obr. 2).

Analýza kostních homogenátů:

Homogenát kosti byl připraven z proximální části tibie (0,15 g) v 1,5 ml fosfátového pufru (PBS, PAA Laboratories GmbH, Pasching, Austria) na přístroji MagNA Lyser (Roche) ve třech cyklech při 6500 rpm po dobu 20 sekund. Mezi každým cyklem byly vzorky chlazeny v chladicím kruhu (MagNA Lyser Cooling Block). V kostním homoge-

nátu byly stanoveny koncentrace kostních markerů: N-terminální propeptid prokolagenu I (PINP; pg/ml), C-terminální telopeptid kolagenu I (CTX-I; pg/ml), kostní forma izoenzymu alkalické fosfatázy (BALP; ng/ml), kostní morfogenetický faktor 2 (BMP-2; pg/ml) a Insulin Like Growth Factor I (IGF-I; pg/ml) metodou ELISA s využitím kitů od firmy Usen Life Science Inc., Wuhan, Čína. Analýzy byly provedeny na Ústavu klinické biochemie a diagnostiky Fakultní nemocnice Hradec Králové.

Statistická analýza:

Výsledky byly statisticky zpracovány programem Sigma Stat 3.1 Jandel Scientific® (San Rafael, CA, USA) pomocí nepárového *t*-testu a Mann-Whitney testu. Výsledky jsou vyjádřeny jako průměr $\pm$ směrodatná odchylka (SD), v případě neparametrických hodnot jako medián a 25. a 75. percentil. Hodnoty $p < 0,05$ byly považovány za signifikantní.

Výsledky

Potkani, kteří byli 12 týdnů živení dietou obohacenou o 10 % argininu, se v nárůstu tělesné hmotnosti nelišili statisticky významně od kontrol živených standardní laboratorní dietou. Na počátku pokusu měli všichni potkani zařazení do pokusu tělesnou hmotnost v rozpětí 234 ± 12 g. Na konci experimentu měli kontrolní potkani ST1-S tělesnou hmotnost 515 ± 13 g a ve skupině Arg-S byla tělesná hmotnost 491 ± 18 g. Podobně i spotřeba diety na potkana a den byla v průběhu pokusu u obou skupin prakticky stejná 28–32 g (data nejsou prezentována).

Levé tibie potkanů živených Arg-S byly statisticky nevýznamně slabší včetně tloušťky kostní kompakty v místě zlomení. Pravé tibie potkanů skupiny Arg-S byly statisticky významně slabší ve svém průměru a jen nevýznamně slabší tloušťky kompakty v místě torze. Zjistili jsme nevýznamně nižší hodnoty síly nezbytné ke zlomení tibií torzí u skupiny Arg-S ve srovnání se skupinou kontrolní (tab. 1).

V kostním homogenátu u potkanů s dietou obohacenou o arginin jsme zjistili, že došlo ke statisticky významnému poklesu PINP. Pokles u potkanů skupiny Arg-S byl nalezen i u BALP a IGF-I, ale statisticky nevýznamně. Statisticky nevýznamné bylo i zvýšení CTX-I u potkanů skupiny Arg-S (tab. 2).

Hodnoty kostní minerální denzity byly statisticky nevýznamně nižší ve všech sledovaných oddílech těla u skupiny potkanů Arg-S ve srovnání se skupinou ST1-S (tab. 3). Z vyhodnocení složení těla u potkanů vyplývá, že potkani živení dietou obohacenou o arginin měli statisticky významně nižší množství tukové tkáně ve srovnání s kontrolní skupinou (tab. 4).

Diskuze

V našem experimentu jsme podávali potkanům 12 týdnů dietu obohacenou o 10 % chemicky čistého argininu, abychom mohli sledovat jeho účinky v organismu. Nedostatek argininu vede k poruše metabolismu tuků. Pokusy Fouada [20] na kuřatech ukázaly, že příjem L-argininu v potravě snižuje obsah břišního tuku, hladinu cholesterolu a triglyceridů. Autor prokázal, že za tento pozitivní efekt může snížení exprese jaterní HMG-CoA reduktázy a naopak zvýšení srdeční karnitin-palmitoyl transferázy a 13-hydroxyacyl-CoA dehydrogenázy. Zvýšený příjem L-argininu v potravě může také vést ke zvýšení hmotnosti a svalové hmoty.

Baecker [21] předpokládal, že L-arginin, přirozený prekurzor NO [22], může zvýšit produkci NO a pozitivně ovlivnit metabolismus kostí, neboť existují studie, které ukazují, že NO působí anabolicky na kostní aktivitu buněk [23]. Baecker podával 3× denně 18 g L-arginin-hydrochlorid po 6 měsíců postmenopauzálním ženám. Sice jim vzrostly koncentrace PICP, ale výsledky z periferní kvantitativní počítačové tomografie (pQCT) neprokázaly žádné významné změny. Autoři neočekávali, že L-arginin neovlivní IGF-I v séru, protože je dobře známo, že L-arginin indukuje uvolňování růstového hormonu, což následně vede ke zvýšení IGF-I v séru [11,24]. Hurson [11] ale používal L-arginin aspartát a Blum [24] používal L-arginin v čisté formě (9 g denně po dobu 1 měsíce).

V naší studii jsme použili čistou formu L-argininu, přesto se naše výsledky neshodují s nálezy Bluma (2000). Přesto nemůžeme vyloučit možnost, že chemická vazba hraje roli v působení L-argininu na NO syntézu.

Wimalawansa [25] použil náplasti s 15 mg nitroglycerinu jednou denně po dobu 1 roku a prokázal, že je stejně účinná jako estrogen v prevenci úbytku kostní hmoty u ovarektomovaných žen podle BMD. Poklesly také koncentrace močových N-terminálních telopeptidů (NTX) a zvýšila se

Tabulka 2
Koncentrace kostních markerů v homogenátu kostí
(PINP – pg/ml; BALP – ng/ml; BMP2 – pg/ml; CTX – ng/ml a IGF-1 – pg/ml)

	PINP	BALP	BMP2	CTX-I	IGF
ST1-S	165,9 $\pm$ 40,7	5,27 (3,80–5,48)	22,00 (20,02–24,08)	7 283 $\pm$ 2 791	1 387 (1 096–2 849)
Arg-S	137,3 $\pm$ 22,1	3,74 (1,94–6,47)	22,41 (17,80–26,25)	8 060 $\pm$ 4 595	905 (592–2 094)
	vs. ST1-S p = 0,030	vs. ST1-S p = 0,345	vs. ST1-S p = 0,970	vs. ST1-S p = 0,653	vs. ST1-S p = 0,163

novotvorba kostí (OC, BALP). Naše zjištění jsou v rozporu s jeho nálezy. Proto se domníváme, že NO syntéza indukovaná nitroglycerinem je účinnější než suplementace přirozeným prekurzorem L-argininem. Dalším důvodem, proč jsme nedosáhli pozitivních výsledků, může být fakt, že se více osvědčilo jednorázové dávkování než kontinuální přidávání L-argininu do stravy. Neboť Wimalawansa [26] dosáhl na ovariectomovaných potkaních samicích lepší efekt na kosti po jedné denní dávce nitroglycerinu než po dvou nebo třech denních dávkách. Důvodem pro tuto neúčinnost je vývoj tolerance k nitroglycerinu [25]. Je možné, že L-arginin vyžaduje pulzní podání [27], aby došlo k sekreci hormonů štítné žlázy a růstového hormonu.

Corbett se spoluautory [28] našli vyšší koncentrace NO provázené vasodilací cév v oblasti zlomené kosti v časně fázi hojení. V pozdější fázi hojení NO účinkoval i v nově vytvořených cévách.

U skupiny sportovkyň s amenoreou byly nalezeny nižší hladiny NO, současně i nižší hodnoty BMD v páteři a také nižší OC a BALP ve srovnání s menstruuujícími sportovkyněmi [29].

Dieta obohacená o arginin neovlivnila růst potkanů, protože potkani po 12 týdnech příjmu této diety se nelišili v tělesné hmotnosti od kontrolních potkanů. Z hodnocení stejné spotřeby diety oběma skupinami se domníváme, že chutností se diety od sebe také nelišily. Naopak po vyhodnocení složení těla jsme zjistili, že podávání diety s argininem nepodpořilo tvorbu tukové tkáně. Toto zjištění podporuje důvody, pro které jsou doplňky stravy obohacené o arginin užívány kulturisty. V takovémto případě by kulturisté nemuseli omezit příjem potravy, přesto by v jejich těle byla preferována tvorba svalů před tukovou tkání.

Pod vlivem diety obohacené o arginin jsme u potkanů zjistili, že jejich kosti jsou ve svém průměru slabší než u kontrolních potkanů. S menším průměrem kostí korespondují i nálezy hodnotící metabolický obrát v kostech. U potkanů s dietou bohatou na arginin byla rovnováha v metabolismu kosti posunuta spíše k odbourávání, především poklesem PINP.

Neshodujeme se s pracemi dalších autorů, kde za rozdíl ve výsledcích může být zodpovědné pohlaví potkanů [30], nebo zdravotní stav potkanů [31]. Choi [30] zjistil, že u velmi mladých rostoucích samic (75 ± 5 g) dieta obohacená o arginin a taurin zlepšuje kostní novotvorbu s pozitivním odrazem na kostní minerální denzitu. Samotná dieta s argininem pouze zvýšila BMD v páteři, další pozitivní efekt již neměla. Pennisi se spoluautory [31] sledovali, zda po 6 týdnech podávání L-argininu může zabránit poklesu BMD a BMC, ke kterému dochází u potkanů během vývoje *diabetes mellitus* po podání streptozotocinu. Autoři předpokládali, že L-arginin je zdrojem NO a svými vazodilatačními účinky podpoří i metabolismus kostí. Skutečně zjistili, že

Tabulka 3
DEXA (g/cm²)

	DEXA total	Th páteř	Levý femur	Pravý femur
ST1-S	0,170 $\pm$ 0,028	0,225 $\pm$ 0,091	0,203 $\pm$ 0,132	0,201 $\pm$ 0,161
Arg-S	0,167 $\pm$ 0,056	0,216 $\pm$ 0,123	0,183 $\pm$ 0,101	0,180 $\pm$ 0,113

Tabulka 4
Celotělová denzitometrie (g; %)

M $\pm$ SD	Tuk (g)	Lean BMC (g)	Total (g)	Tuk (%)
ST1-S	75 $\pm$ 18	342 $\pm$ 28	417 $\pm$ 37	17,8 $\pm$ 4,1
Arg-S	57 $\pm$ 22	348 $\pm$ 31	406 $\pm$ 50	13,8 $\pm$ 3,7 vs. ST-1 p = 0,036

u těchto potkanů pod vlivem L-argininu nedošlo k výraznému poklesu OC a nárůstu CTX-I. Domnívají se, že by arginin mohl být dobrou léčebnou pomůckou u diabetických pacientů.

L-arginin může uvolňovat růstový hormon, zvláště nalačno, proto se nedoporučuje jej podávat rostoucím mladým lidem [32].

Závěr

Potkani živení dietou obohacenou o arginin ve srovnání s kontrolními potkany měli sníženou odolnost kostí ke zlomení. Tyto změny by mohly být následkem snížené novotvorby a zvýšeného odbourávání kostí a s tím souvisejících změn v mineralizaci kostní tkáně. Tyto změny mohou souviset s nižšími zásobami tukové tkáně v organismu potkanů. Klíčovým momentem pro experiment zůstává celková doba podávání diety, způsob (intermitentní vs. kontinuální) a použitá chemická substance podávaného argininu.

Poděkování:

Tato studie byla podpořena granty Prvok P37/05 a SVV-2013. Dále autoři děkují pracovnícím Radioizotopových laboratoří a vivária Lékařské fakulty v Hradci Králové Dagmar Ježkové, Kateřině Šildbergerové, Ivě Zadrobílkové a Romaně Vaňoučkové za přípravu diet a za pomoc při experimentu.

Literatura

1. Imanipour V, Naderi A, Mahdi F et al. The Effects of Supplementary L-Arginine Dietary on Metabolism and Performance in Anaerobic Exercise. *J Basic Appl Sci Res* 2012;2:759–762.
2. Lewis TV, Dart AM, Chin-Dusting JP et al. Exercise training increases basal nitric oxide production from the forearm in hypercholesterolemic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:2782–2787.
3. Colombani PC, Bitzi R, Frey-Rindova P et al. Chronic arginine aspartate supplementation in runners reduces total plasma amino acid level at rest and during a marathon. *Eur J Nutr* 1999;38:263–270.

4. Fogelholm GM, Naveri HK, Kiilavuori KT et al. Low-dose amino acid supplementation: no effects on serum human growth hormone and insulin in male weightlifters. *Int J Sport Nutr* 1993;3:290–297.
5. Lambert MI, Hefer JA, Millar RP et al. Failure of commercial oral amino acid supplements to increase serum growth hormone concentrations in male body-builders. *Int J Sport Nutr* 1993;3:298–305.
6. McConnell GK. Effects of L-arginine supplementation on exercise metabolism. *Clinical Nutrition and Metabolic Care* 2007;10:46–51.
7. Bode-Boger SM, Boger RH, Galland A et al. L-Arginine-induced vasodilation in healthy humans: pharmacokinetic-pharmacodynamic relationship. *Br J Clin Pharmacol* 1998;46:489–497.
8. Pallosi A, Fragasso G, Piatti P et al. Effect of oral L-arginine on blood pressure and symptoms and endothelial function in patients with systemic hypertension, positive exercise tests, and normal coronary arteries. *Am J Cardiol*. 2004;93: 933–935.
9. Helfrich MH, Evans DE, Grabowski PS et al. Expression of nitric oxide synthase isoforms in bone and bone cell cultures. *J Bone Miner Res* 1997;12:1108–1115.
10. Joiner DM, Tayim RJ, McElderry JD et al. Aged male rats regenerate cortical bone with reduced osteocyte density and reduced secretion of nitric oxide after mechanical stimulation. *Calcif Tissue Int* 2014;94:484–494.
11. Hurson M, Regan M, Kirk S et al. Metabolic effects of arginine in a healthy elderly population. *J Parenter Enteral Nutr* 1995;19:227–230.
12. Baecker N, Boese A, Schoenau E et al. L-arginine, the natural precursor of NO, is not effective for preventing bone loss in postmenopausal women. *J Bone Miner Res* 2005;20:471–479.
13. Brown JP, Albert C, Nassar BA et al. Bone turnover markers in the management of postmenopausal osteoporosis. *Clin Biochem* 2009;42:929–942.
14. Lee AJ, Hodges S, Eastell R. Measurement of osteocalcin. *Ann Clin Biochem* 2000;37:432–446.
15. Garnerio P, Vergnaud P, Hoyle N. Evaluation of a fully automated serum assay for total N-terminal propeptide of type I collagen in postmenopausal osteoporosis. *Clin Chem* 2008;54:188–196.
16. Herrmann M, Seidel MJ. The amino- and carboxyterminal cross-linked telopeptides of collagen type I, NTX-I and CTX-I: a comparative review. *Clin Chim Acta* 2008;393:57–75.
17. Jadhav SB, Jain GK. Statins and osteoporosis: new role for old drugs. *J Pharm Pharmacol* 2006;58:3–18.
18. Gradosova I, Zivna H, Svejkovska K et al. The role of atorvastatin in bone metabolism in male albino Wistar rats. *Pharmazie* 2011;66:606–610.
19. Živný P, Švejkovská K, Gradošová I et al. Možnosti určení mechanické odolnosti kosti v experimentu – souhrn poznatků. *Osteologický bulletin* 2011;16:132–136.
20. Fouad AM, El-Senousey HK, Yang XJ et al. Dietary L-arginine supplementation reduces abdominal fat content by modulating lipid metabolism in broiler chickens. *Animal* 2013;7:1239–1245.
21. Baecker N, Boese A, Schoenau E et al. L-arginine, the natural precursor of NO, is not effective for preventing bone loss in postmenopausal women. *J Bone Miner Res* 2005;20:471–479.
22. Castillo L, deRojas TC, Chapman TE et al. Splanchnic metabolism of dietary arginine in relation to nitric oxide synthesis in normal adult man. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:193–197.
23. Jamal SA, Browner WS, Bauer DC et al. Intermittent use of nitrates increases bone mineral density: The study of osteoporotic fractures. *J Bone Miner Res* 1998;13: 1755–1759.
24. Blum A, Cannon RO III, Costello R et al. Endocrine and lipid effects of oral L-arginine treatment in healthy postmenopausal women. *J Lab Clin Med* 2000;135: 231–237.
25. Wimalawansa S, Chapa T, Fang L et al. Frequency-dependent effect of nitric oxide donor nitroglycerin on bone. *J Bone Miner Res* 2000;15:1119–1125.
26. Wimalawansa SJ, Chapa MT, Yallampalli C et al. Prevention of corticosteroid-induced bone loss with nitric oxide donor nitroglycerin in male rats. *Bone* 1997;21: 275–280.
27. Pohlenz C, Buentello A, Miller T et al. Effects of dietary arginine on endocrine growth factors of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 2013;166:215–221.
28. Corbett SA, McCarthy ID, Batten J, Hukkanen M, Polak JM, Hughes SP. Nitric oxide mediated vasoreactivity during fracture repair. *Clin Orthop Relat Res* 1999; 365:247–253.
29. Stacey E, Korkia P, Hukkanen MV et al. Decreased Nitric Oxide Levels and Bone Turnover in Amenorrheic Athletes with Spinal Osteopenia. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:3056–3061.
30. Choi MJ, Chang KJ. Effect of dietary taurine and arginine supplementation on bone mineral density in growing female rats. *Adv Exp Med Biol* 2013;776:335–345.
31. Pennisi P, Clementi G, Prato A et al. L-arginine supplementation normalizes bone turnover and preserves bone mass in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Endocrinol Invest* 2009;32:546–451.
32. da Silva DV, Conte-Junior CA, Paschoalin VM et al. Hormonal response to L-arginine supplementation in physically active individuals. *Food Nutr Res* 2014; 25:58.