

Univerzita Karlova v Praze
1. lékařská fakulta

Autoreferát disertační práce



MUDr. Mária Luchavová

**Cirkadiánní rytmus parathormonu a kostní remodelace:
implikace pro léčbu osteoporózy teriparatidem (parathormon [1-34])**

Circadian rhythm of parathyroid hormone and bone remodeling:
implication for the osteoporosis treatment with teriparatide (parathormone [1-34])

Praha 2012

Doktorské studijní programy v biomedicíně

Univerzita Karlova v Praze a Akademie věd České republiky

Studijní obor: Fyziologie a patofyziologie člověka

Předseda oborové rady: prof. MUDr. Jaroslav Pokorný, DrSc.

Místní pracoviště : 3. interní klinika VFN a 1. LF UK

U Nemocnice 1

128 08 Praha 2

Místitel: MUDr. Vít Zikán, Ph.D.

Abstrakt (CZ)

Cirkadiánní rytmus parathormonu (PTH) je dobře dokumentován, ale jeho fyziologická úloha není zcela objasněna. U zdravých osob sledují biochemické markery kostní remodelace podobný cirkadiánní rytmus jako PTH s nočním vzestupem kostní resorpce a novotvorby. Ztráta diurnální variability PTH byla pozorována nejen u pacientů s primární hyperparatyreózou, ale také u pacientek s postmenopauzální osteoporózou. Kontinuálně zvýšené koncentrace PTH vedou k nadměrné stimulaci kostní resorpce, naproti tomu intermitentní podávání PTH má u pacientů s osteoporózou silný osteoanabolický účinek. Zatím nebylo zkoumáno, zdali senzitivita skeletu vůči působení exogenního PTH závisí také na denní době jeho aplikace. Cílem naší práce bylo ověřit hypotézu, že aplikace teriparatidu (TPTD, lidského rekombinantního PTH [1-34]) v určité denní době ovlivňuje fyziologický cirkadiánní rytmus kostní remodelace a také denzitu kostního minerálu (BMD) při dlouhodobé léčbě TPTD.

Do první studie bylo zahrneno 14 žen s postmenopauzální osteoporózou léčených TPTD v dávce 20 µg denně, aplikovaným subkutánně buď ráno před snídaní (~ v 8:00 hod) anebo po večeři (~ ve 20:00 hod). Byly hodnoceny sérové koncentrace C-terminálního telopeptidu kolagenu typu I (CTX), N-terminálního propeptidu prokolagenu typu I (PINP), ionizovaného kalcia (iCa) a koncentrace plazmatického intaktního PTH v průběhu 24 hodin. Výsledky prokázaly signifikantní závislost všech změřených parametrů na denní době. Ve srovnání léčby TPTD signifikantně prohloubila amplitudu cirkadiánního rytmu markeru kostní resorpce

CTX, zatímco ranní aplikace TPTD vedla k opoždění rytmu CTX. Cirkadiánní rytmus markeru kostní novotvorby PINP vykazoval výrazně menší amplitudu než CTX. Změny iCa během 24 hodin pozitivně korelovaly se změnami CTX ($p < 0,001$) a negativně se změnami PTH ($p < 0,001$). K následné ranní léčbě TPTD, který byl aplikován buď ráno před snídaní (~ v 8:00 hod) anebo po večeři (~ ve 20:00 hod), bylo randomizováno celkem 50 pacientek s postmenopauzální osteoporózou. Ve srovnání podávání TPTD vedlo po 6 měsících léčby k významnému vzestupu markeru kostní novotvorby - PINP (+358% vs. +215%) a také markeru kostní resorpce - tartrát rezistentní kyselý fosfatázy isoenzymu 5b (+70% vs. +37%), ve srovnání s ranní aplikací ($p < 0,05$). Po roce léčby TPTD došlo k významnému vzestupu BMD v oblasti bederní páteře v obou skupinách ($p < 0,001$), ale signifikantní vzestup BMD ($p < 0,05$) byl zjištěn po ranním podávání TPTD (+ 9,1 %) v porovnání s veškerým refferencem (+ 4,8%).

Prokázali jsme, že denní doba podání TPTD významně moduluje jak cirkadiánní rytmus kostní remodelace, tak cirkadiánní změny kalcia v séru a endogenního PTH v plazmě u žen s postmenopauzální osteoporózou. Ranní léčba TPTD podávaným ráno vedla k významnému vzestupu BMD v oblasti bederní páteře ve srovnání s veškerým refferencem léčby. Výsledky studie podporují hypotézu, že odpověď skeletu na léčbu TPTD významně ovlivňuje denní doba jeho aplikace. Tyto výsledky mohou mít význam pro zvýšení dlouhodobé účinnosti léčby TPTD.

Klíčová slova: cirkadiánní rytmus, kostní remodelace, osteoporóza, parathormon, teriparatid

Abstract (EN)

Circadian rhythm of parathyroid hormone (PTH) is well documented, but its physiological role is not fully understood. In healthy individuals, biochemical markers of bone remodeling follow a similar circadian rhythm to PTH with a nocturnal rise in bone resorption and formation. The loss of PTH diurnal variation was observed not only in primary hyperparathyroidism, but also in patients with postmenopausal osteoporosis. Continuously elevated concentrations of PTH lead to excessive stimulation of bone resorption, whereas intermittent PTH administration has a strong osteoanabolic effect in patients with osteoporosis. It has not been examined whether the skeletal sensitivity to PTH action depends also on the time of its application.

The aim of our study was to verify the hypothesis that the application of teriparatide (TPTD, recombinant human PTH [1-34]) at different times of the day in the context of its diurnal variability affects the physiological circadian rhythm of bone remodeling and also the skeletal response (bone mineral density, BMD) to long-term TPTD treatment.

Fourteen women with postmenopausal osteoporosis treated with 20 micrograms of TPTD daily, applied subcutaneously either in the morning or evening, were included in the first study. The concentration of serum C-terminal telopeptide of type I collagen (CTX), N-terminal propeptide of type I procollagen (PINP), serum ionized calcium (iCa) and plasma intact PTH concentrations were evaluated within 24 hours. The results showed a significant dependence of all measured parameters on the time of day. Evening TPTD treatment significantly enhanced the amplitude of the circadian rhythm of bone resorption marker

CTX, while morning TPTD applications led to the flattening of CTX rhythm. Circadian rhythm of bone formation marker PINP showed significantly smaller amplitude than seen in CTX. Changes in serum iCa were positively related to changes in serum CTX ($p < 0,001$) and negatively related to changes in PTH ($p < 0,001$).

Fifty women with established postmenopausal osteoporosis were randomized to 12-month treatment with 20 µg of TPTD, administered daily either in the morning (before breakfast, at 8.00 a.m.) or in the evening (after dinner, at 8.00 p.m.). After 6 months, the evening teripartide treatment resulted in a more pronounced increase in bone formation marker - PINP (+358% vs. 215%) as well as bone resorption marker - tartrate-resistant acid phosphatase isoform 5b (+70% vs. +37%) when compared with the morning treatment arm ($p < 0,05$). After 12 months of TPTD treatment, the lumbar spine BMD grew markedly in both treatment groups ($p < 0,001$) with a significantly greater increase in the morning arm (+9,1%) compared to the evening arm (4,8%).

We have shown that timing of TPTD treatment significantly modulates the circadian rhythm of bone turnover markers as well as calcium-parathyroid axis in women with postmenopausal osteoporosis. 12-month morning administration of TPTD resulted in a larger increase in the lumbar spine BMD than the evening application. These results support the hypothesis that timing of TPTD administration significantly affects the skeletal response to TPTD treatment. Timing of TPTD treatment can be important for increasing its long-term efficacy.

Keywords: circadian rhythm, bone remodeling, osteoporosis, parathyroid hormone, teriparatide

1. Úvod

Studie zabývající se variabilitou intaktního parathormonu (PTH) potvrdily dvoufázový rytmus PTH s menším vzestupem koncentrace mezi 16:00 a 19:00 hod a s druhým v tším vrcholem mezi 02:00 a 06:00 hod ranní (el Hajj Fulehain *et al.*, 1997). Bylo dokumentováno, že cirkadiánní změny v sekreci PTH jsou synchronizovány s hladinou vápníku, fosfát a marker kostní remodelace (Joseph *et al.*, 2007). Základní složka cirkadiánního rytmu PTH je endogenní (el Hajj Fulehain *et al.*, 1997) a vnější faktory, například nutriční (Blumsohn *et al.*, 1994; Calvo *et al.*, 1990; Fraser *et al.*, 1994), endokrinní, neuroendokrinní nebo neurální, modulují jeho amplitudu (Joseph *et al.*, 2008; Logue *et al.*, 1992; Schmitt *et al.*, 2003). Fyziologická funkce cirkadiánního rytmu PTH zatím nebyla zcela objasněna. Změny v endogenní sekreci PTH se vyskytují u některých endokrinních onemocnění, jako je primární (Logue *et al.*, 1990) nebo sekundární hyperparatyreóza, akromegalie (White *et al.*, 2006) a nedostatek růstového hormonu v dospělosti (White *et al.*, 2005), kde ovlivňují proces kostní remodelace a mohou přispívat ke vzniku osteoporózy. Také u žen s postmenopauzální osteoporózou byla popsána ztráta cirkadiánního rytmu PTH a byly pozorovány další abnormality v sekreci PTH (Eastell *et al.*, 1992; Fraser *et al.*, 1998; Ledger *et al.*, 1994). Přítomnost abnormalit v sekreci PTH u pacientů s osteoporózou zatím nebyly vysvětleny.

Léčba exogenním PTH má na kost anabolické i katabolické účinky v závislosti na koncentraci a délce expozice (Dobnig *et al.*, 1997). Delší expozice PTH například v případě kontinuální infuze (Hock a Gera, 1992) nebo trvale zvýšené koncentrace endogenního PTH u pacientů s primární hyperparatyreózou vede k nadměrné stimulaci osteoresorpce (Mosekilde, 2008). Naproti tomu krátkodobá expozice PTH například po jednorázové subkutánní aplikaci, vede k větší stimulaci kostní novotvorby (Podbesek *et al.*, 1983). Existence fyziologického cirkadiánního rytmu kostní remodelace (Wichers *et al.*, 1999; Qvist *et al.*, 2002; Eastell *et al.*, 1992; Nielsen *et al.*, 1991), který u zdravých osob koreluje s cirkadiánními změnami endogenního PTH a fosfát v séru (Joseph *et al.*, 2007), svědčí pro vzájemnou souhru kostního a fosfokalciového metabolismu. Byla formulována hypotéza, že cirkadiánní variabilita endogenního PTH by mohla být důležitá pro stimulaci kostní novotvorby. Snaha o restauraci fyziologického cirkadiánního rytmu PTH a/nebo obnovení citlivosti kostních buněk k účinkům PTH může vytvořit novou strategii v léčbě osteoporózy (Fraser *et al.*, 2004). Účinek léčby PTH nebo jeho N-terminálního fragmentu, teriparatidu (TPTD) na kostní remodelaci se může lišit v závislosti na denní době jeho aplikace. Tato otázka ale zatím nebyla u lidí zkoumána a je cílem naší práce.

2. Cíle práce

Cílem práce bylo ověřit hypotézu, že odezva kostních buněk na léčbu TPTD závisí na denní době jeho podání.

Studie I

Cílem první studie bylo posoudit, zdali denní doba aplikace TPTD má vliv na cirkadiánní rytmus kostní remodelace, endogenního PTH a ionizovaného kalcia (iCa) u pacientek s postmenopauzální osteoporózou.

Studie II

Cílem druhé studie bylo zhodnotit dlouhodobé změny kostních markerů a denzity kostního minerálu (BMD) u pacientek s postmenopauzální osteoporózou léčených TPTD podávaným buď ráno před snídaní (~ v 8 hod) anebo po večeři (~ ve 20 hod).

3. Metodika

Studie I

Do první studie bylo zahrnuto 14 žen s postmenopauzální osteoporózou (ve věku $72,4 \pm 9,3$ let) léčených TPTD v dávce 20 g denně (*Forsteo*®, *Eli Lilly and Co*), aplikovaným subkutánně buď ráno před snídaní (~ v 8:00 hod) anebo po večeři (~ ve 20:00 hod). Do studie byly zahrnuty postmenopauzální ženy (nejméně 5 let po menopauze), u kterých byla denzitometricky diagnostikována osteoporóza (T- skóre $< - 2,5$ v oblasti bederní páteře nebo krku femuru) a zároveň byla přítomna osteoporotická zlomenina. U všech pacientek byla souasně zajištěna suplementace vitamínem D3 (v dávce 800 -1000 IU denně) a kalcíem (celkový příjem vápníku nejméně 1000 mg denně). Do studie nebyly zahrnuty pacientky s abnormální koncentrací kalcia v séru či v moči, s deficitem vitamínu D (sérové koncentrace 25- hydroxyvitamínu D < 50 nmol/l), či s jiným onemocněním (kromě osteoporózy) zasahujícím do kostního metabolismu. Základní charakteristika pacientek je uvedena v tabulce 1.

Den před zahájením studie pacientky pokračovaly léčené TPTD, vápníkem a vitamínem D a noc před začátkem studie lžily. V den studie byla podávána standardizovaná strava v úse od 8:00 do 8:30 hod, 11:30 do 12:00 hod a 17:30 do 18:00 hod, byl vymezen také příjem tekutin. Doba spánku a bdění nebyla porušena. TPTD byl podán buď ráno (~ v 8:00 hod, před snídaní) nebo večer (~ ve 20:00 hod, po večeři). V 08:00 hod (před podáním TPTD) byla pacientkám zavedena intravenózní kanylka a následně byl proveden 1. odběr krve. V průběhu dalších 24 hodin byly odebrány krevní vzorky (sérum a plazma) v intervalu 3 hodin.

Biochemická analýza

Koncentrace ionizovaného kalcia (iCa) v séru byla měřena pomocí iontové selektivní elektrody s AVL 9180 (Roche Diagnostics GmbH, Německo). Plazmatické koncentrace imunoreaktivního intaktního parathormonu (PTH) a sérové koncentrace C-terminálního telopeptidu kolagenu typu I (CTX) byly měřeny pomocí elektrochemiluminiscenční imunoanalýzy (analýzátor Elecsys 1010, Roche Diagnostics, Německo). Sérové koncentrace intaktního N-terminálního propeptidu prokolagenu typu I (PINP) byly stanoveny radioimunoanalýzou (Procollagen Intact PINP, Orion Diagnostica, Finsko). Sérové koncentrace 25 - hydroxyvitamínu D (25-OHD) byly stanoveny pomocí enzymatické imunoanalýzy (OCTEIA-25-Hydroxy Vitamin D, Immunodiagnostic Systems Limited, Boldon, Velká Británie).

Statistická analýza

K posouzení 24 hodinových cyklických změn měřených veličin byl použit lineární model s opakovaným měřením (GLM RM, General Linear Model Repeated Measured Variant). GLM RM jsme uřídili kromě testování významnosti zaznamenaných hodnot vybraných proměnných (čas, skupina, interakce mezi časem a skupinou) rovněž pro porovnání měřených parametrů v rámci jedné skupiny a také pro odhad podílu variability, a tím zhodnocení velikosti účinku (size effect) této závislosti (η^2). Cohenova konvence označuje silný vliv při $\eta^2 > 0,137$, střední silný vliv při $0,137 > \eta^2 > 0,0588$ a slabý vliv při $0,0588 > \eta^2 > 0,0099$. Použitím Pearsonova korelačního koeficientu byl zkoumán vztah mezi změnami v úrovni hladiny CTX nebo iCa a PTH mezi jednotlivými odběry (rozdíl 3 hodin). Jako alternativu k GLM RM jsme uřídili Cosinor model. Všechny statistické testy byly provedeny pomocí programu SPSS, software pro Windows, verze 16.0. (SPSS Inc, Chicago, IL, USA).

Tabulka 1 Vstupní charakteristika pacientů studie I

	ranní TPTD	večerní TPTD	p
Počet pacientů	7	7	-
Věk (roky)	69,7 ± 9,2	75,1 ± 9,1	ns
Váha (kg)	68,6 ± 7,0	53,9 ± 4,1	0,004
Výška (m)	1,65 ± 0,06	1,53 ± 0,06	0,006
BMI (kg/m ²)	25,6 ± 2,6	23,0 ± 1,1	ns
BMD bederní páteře (T-score)	-3,2 ± 0,7	-3,1 ± 0,8	ns
BMD celkový proximální femur (T-score)	-2,1 ± 0,9	-2,4 ± 0,7	ns
Doba léčby TPTD (měsíce)	9,4 ± 1,8	11,9 ± 2,3	ns
S-iCa (mmol/l)	1,29 ± 0,05	1,31 ± 0,05	ns
P-PTH (ng/l)	28,9 ± 7,4	25,8 ± 11,3	ns
S-CTX (ng/l)	662,5 ± 168	940,1 ± 461	ns
S-PINP (μg/l)	118,3 ± 39	169,9 ± 92	ns

Data jsou uvedena v průměrných hodnotách ± SD. Rozdíly mezi skupinami byly analyzovány nepárovým t-testem.

Zkratky: p: hladina významnosti; ns: nesignifikantní rozdíl mezi skupinami;

TPTD: Teriparatid (rekombinantní lidský N-terminální fragment molekuly parathormonu,

PTH 1-34); BMI: body mass index; BMD: bone mineral density (densita kostního minerálu);

S-iCa: ionizované kalcium v séru; P-PTH: plazmatický intaktní PTH; S-CTX: C-terminální

telepeptid kolagenu typu I v séru; S-PINP: N-terminální propeptid prokolagenu typu I v séru

Studie II

Do studie byly zahrnuty ambulantní pacientky s prokázanou postmenopauzální osteoporózou ve věku 60 až 85 let. Vstupní kritéria splňovaly postmenopauzální ženy s alespoň jednou osteoporotickou zlomeninou obratle a denzitometrickým nálezem s T-skóre < -2,9 v oblasti celkového proximálního femuru nebo krčnímu femuru. Do studie nebyly zahrnuty pacientky s koncentrací 25-OHD v séru pod 50 nmol/l, abnormální koncentrací kalcia v séru (hyperkalcémie), nebo pacientky s jiným chronickým onemocněním ovlivňujícím kostní metabolismus. Základní charakteristika pacientek je shrnuta v tabulce 2.

Pacientky byly léčeny subkutánní injekcí TPTD v dávce 20 mg denně (*Forsteo*®, *Eli Lilly and Co.*) aplikovaným buď ráno (~ v 08:00 hod., před snídaní) anebo večer (~ ve 20:00 hod., po večeři). Všechny pacientky měly celkový denní příjem vápníku nejméně 1000 mg, a to buď prostřednictvím potravy nebo stravy obohacené o doplňky uhličitanu vápenatého (500 mg elementárního kalcia dvakrát denně, po snídani a po večeři). Po celou dobu léčby byla podávána suplementace vitamínem D3 v dávce 800 - 1000 IU denně. Při vstupní, 6 a 12 měsíční kontrole bylo provedeno kontrolní měření BMD a odběr krve pro předchozí onemocnění. Následně byla provedena laboratorní analýza (markery kostní remodelace, kalcemie a rutinní biochemické vyšetření krve a moče).

Biochemická analýza

Pro analýzu sérové koncentrace 25-OH D, CTX, PINP a plazmatické koncentrace intaktního PTH byly použity metody popsané v metodice studie I. Sérové koncentrace 5b izoformy tartarát rezistentní kyselý fosfatázy (TRAP 5b) byly měřeny enzymatickou imunanalýzou (Bone TRAP Assay, Immunodiagnostic Systems Limited, Boldon, Velká Británie).

Sérové koncentrace celkového kalcia, kreatininu a fosfátů v séru byly měřeny pomocí automatického analyzátoru (Modular, Roche Diagnostics, Německo).

Měření kostní denzitometrie

Denzita kostního minerálu byla měřena před zahájením léčby TPTD, dále po 6 a 12 měsících léčby, pomocí dvouenergievé rentgenové absorpciometrie (DXA; denzitometr QDR 4500, Hologic Inc, Waltham, MA, USA, software v. APEX 3,0).

Statistická analýza

Pro statistickou analýzu byly užitý absolutní hodnoty biochemických parametrů a BMD a rovněž procentuální změny BMD oproti výchozím hodnotám. Srovnání dat v rámci jednotlivých skupin a mezi skupinami bylo provedeno pomocí GLM-RM. GLM-RM jsme užití rovněž pro odhad podílu vysvětlené variability, a tím i velikosti úniku této závislosti (r^2). Kromě toho byl užit Mann-Whitney test k testování rozdílů mezi skupinami. Všechny statistické testy byly provedeny pomocí programu SPSS pro Windows, verze 16.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA).

Tabulka 2 Vstupní charakteristika pacientů studie II

	ranní TPTD	večerní TPTD	p
Počet pacientů	26	24	
Věk (roky)	72 ± 5,1	73 ± 9	ns
Roky po menopauze	26,5 ± 6,8	23,4 ± 6,4	ns
Výška (m)	1,59 ± 0,06	1,53 ± 8	ns
Váha (kg)	61,2 ± 8	58,8 ± 9	ns
BMI (kg/m ²)	24,2 ± 3	25,2 ± 3,8	ns
BMD bederní páteř (g/cm ²)	0,652 ± 0,08	0,723 ± 0,15	ns
BMD celkový proximální femur	0,639 ± 0,09	0,608 ± 0,09	ns
BMD krček femuru	0,487 ± 0,07	0,513 ± 0,07	ns
BMD 1/3 radia	0,497 ± 0,06	0,495 ± 0,06	ns
Počet pacientů s prevalentní zlomeninou:			
obratel	26	24	ns
krček femuru	1	2	ns
humerus	3	1	ns
zápěstí	8	7	ns
jiná nízkozátělová zlomenina	6	7	ns

Data jsou uvedena v průměrných hodnotách ± SD

Zkratky: p: hladina významnosti; ns: nesignifikantní rozdíl mezi skupinami; BMI: body mass index; BMD: bone mineral density (densita kostního minerálu); TPTD: teriparatid (rekombinantní lidský N-terminální fragment molekuly parathormonu, PTH 1-34)

4. Výsledky

Výsledky studie I

Analýza změn sérové koncentrace CTX ukázala významný vliv denní doby na naměřené hodnoty (čas, $p < 0,001$, $\eta^2 = 0,492$, velmi silný účinek podle konvence Cohena). Tyto výsledky naznačují, že hodnoty CTX tvoří charakteristickou křivku, která je vlastní v-ém pacientům a vysvětluje 49,2% interindividuální variability měřených hodnot CTX. Další analýzy ukázaly ještě silnější model, který charakterizují dvě křivky pro každou skupinu zvlášť (interakce času vs. skupiny, $p < 0,001$, $\eta^2 = 0,496$). Ve skupině pacientů léčených TPTD aplikovaným ~ ve 20:00 hod sledovaly sérové koncentrace CTX cirkadiánní rytmus, zatímco ve skupině pacientů léčených TPTD aplikovaným ráno křivka ukázala spíše cirkasemidiánní (dvouvrcholový) rytmus s významně nižší amplitudou. Analýza průběhu křivek po 12 hodinách ukázala významně vyšší denní průměrnou hodnotu sérového CTX (mezi 20:00 - 08:00) ve večerní skupině, ve srovnání s ranní skupinou ($p = 0,033$, $\eta^2 = 0,326$).

GLM-RM analýza průběhu změn PINP vycházející ze dvou křivek (každá skupina zvlášť) prokázala významně odlišné rytmy PINP (interakce času a skupiny, $p < 0,001$, $\eta^2 = 0,248$), ovšem s mnohem menší amplitudou než u markeru kostní resorpce. Nebyly zjištěny rozdíly ve 24 h průměrných hodnotách mezi ranní a večerní TPTD skupinou, pravděpodobně vzhledem k velké interindividuální variabilitě sérové koncentrace PINP.

Analýza změn ionizovaného kalcia prokázala významný vliv času ($p = 0,021$), interakce času a skupiny ($p < 0,001$) a velmi silný účinek podle konvence Cohena (vliv času $\eta^2 = 0,180$, interakce času a skupiny $\eta^2 = 0,423$). Rozdíl ve 24 hodinové nebo 12 hodinové průměrné koncentraci mezi oběma skupinami byl nevýznamný ($p = 0,973$), avšak síly testů byly extrémně nízké (0,050). Sérové koncentrace iCa ale významně korelovaly s markerem kostní resorpce CTX ($p < 0,001$).

Analýza variability endogenního plazmatického PTH prokázala jak významný vliv času ($p = 0,038$), tak interakce času a skupiny ($p < 0,001$) a velmi silný účinek podle konvence Cohena: vliv času $\eta^2 = 0,152$, interakce času a skupiny $\eta^2 = 0,283$. Významná negativní korelace byla nalezena mezi změnami iCa a PTH ($p < 0,001$). Průměrné denní hodnoty PTH se nelišily mezi skupinami ($p = 0,572$), ale síla testu byla extrémně nízká (0,083).

Výsledky studie II

Do studie bylo zahrnuto celkem 52 pacientek. Dvě pacientky ve veškeré skupině přerušily léčbu před 6 měsíci sice léčby (jedna z osobních důvodů, druhá z důvodu hypertyreózy způsobené polynodózní toxickou strumou, která nesouvisela s léčbou TPTD). Všechny ostatní pacientky dokončily 12-měsíční sledování. Léčba TPTD byla dobře tolerována u obou léčebných skupin, nebyly zaznamenány žádné změny denní doby podání léčby. Compliance k léčbě byla > než 85% v obou léčebných skupinách.

Denzita kostního minerálu (BMD)

Když byly hodnoceny obě léčebné skupiny společně, léčba TPTD vedla k významnému zvýšení BMD v oblasti bederní páteře (GLM-RM, $p < 0,001$; $\eta^2 = 0,549$). V oblasti celkového proximálního femuru a krčku femuru nebyly zjištěny významné změny BMD, zatímco BMD v oblasti distálního radia významně klesla (GLM-RM, $p < 0,001$; $\eta^2 = 0,274$). V rané skupině pacientů došlo k významnému vztupu nárůstu BMD v oblasti bederní páteře ve srovnání s veškerou skupinou ($p < 0,05$). Dále byl zjištěn významný rozdíl mezi léčebnými skupinami při hodnocení směrnic kivek vyjadřujících změnu BMD v oblasti bederní páteře (GLM-RM, efekt v rámci skupiny, $p = 0,029$, $\eta^2 = 0,081$), stejně jako významný rozdíl v profilech obou kivek (GLM-RM, lineární kontrast v rámci skupiny, $p = 0,018$; $\eta^2 = 0,126$). Změny BMD v ostatních měřených oblastech zájmu se mezi skupinami významně nelišily.

Biochemické markery kostní remodelace

Když byly hodnoceny obě léčebné skupiny společně, 6 měsíční léčba TPTD vedla k významnému zvýšení sérové koncentrace CTX (GLM-RM, $p < 0,001$; $\eta^2 = 0,504$), sérové koncentrace TRAP 5b (GLM-RM, $p < 0,001$; $\eta^2 = 0,372$) a sérové koncentrace PINP (GLM-RM, $p < 0,001$; $\eta^2 = 0,549$). Charakteristický průběh kivek pro příslušné kostní markery, který je vlastní v obou léčebných skupinách, vysvětluje velkou část interindividuální variability měřených kostních markerů (+50,4% pro CTX, 37,2% pro TRAP 5b a 54,9% pro PINP). Nebyly zjištěny významné rozdíly ve směrnících kivek mezi léčebnými skupinami (GLM-RM). Při hodnocení rozdílů mezi profilem kivek (GLM-RM, lineární kontrast v rámci skupiny), byl zjištěn významný vztup nárůst PINP a TRAP 5b během prvních 6 měsíců léčby TPTD ve veškeré léčebné skupině ve srovnání s ranou léčebnou skupinou (GLM-RM, pro PINP $p = 0,041$; $\eta^2 = 0,058$ a pro TRAP 5b $p = 0,040$; $\eta^2 = 0,115$). Po 12 měsících léčby TPTD nebyly prokazatelné rozdíly v sérové koncentraci PINP mezi léčebnými skupinami. Naopak, sérová koncentrace TRAP 5b měla tendenci být vyšší i po 12 měsících léčby TPTD

ve ve erní lé ebne skupin ve srovnání s ranní skupinou. Nebyl pozorován fládný významný rozdíl v sérové koncentraci CTX mezi lé ebnyými skupinami.

Vápník a fosfor

P i hodnocení obou lé ebných skupin pacientek jak spole n , tak samostatn , nebyly pozorovány fládné signifikantní zm ny v sérové koncentraci kalcia a fosfát . Hyperkalcémii jsme nezaznamenali u fládné pacientky.

5. Diskuze

Cílem na-í práce bylo ov ít hypotézu, fle ú inek lé by TPTD na skelet je ovlivn n denní dobou jeho podání. V první pilotní studii u flen s postmenopauzální osteoporózou jsme zjistili, fle denní doba aplikace TPTD je schopna výrazn ovlivnit cirkadiánní variabilitu marker kostního obratu, sérového kalcia i endogenního PTH. P i lé b TPTD aplikovaným ve er (~ ve 20:00 hod) se zm ny markeru kostní resorpce (CTX) blíflily fyziologickému cirkadiánnímu rytmu a dosahovaly nejniž-ích hodnot mezi 11:00- 14:00 hod a vrcholu mezi 23:00 - 02:00 hod ranní. Ranní podávání TPTD (~ v 08:00 hod) m lo za následek výrazné snížení amplitudy rytmu se zvý-éním CTX mezi 08:00 - 14:00 hod a následným snížením koncentrací afl do 20:00 hod a pak op t s nár stem CTX b hem no ních hodin. Paralelní zm ny koncentrace iCa a CTX, nazna ují, fle zm ny v sérové koncentraci iCa mohou odrálet zm ny v resorp ní aktivit osteoklast . Plazmatické koncentrace endogenního PTH se výrazn snížily 3-6 hodin po podání TPTD a profily sérového iCa a endogenního PTH byly signifikantn nep ímo úm rné, cofl nazna uje, fle funkce p í-títných t lísek je b hem lé by TPTD zachována.

Na-e výsledky ukazují, fle citlivost osteoklast na lé bu TPTD se li-í v závislosti na denní dob podání TPTD. Mechanismy, které by vysv tily rozdílnou citlivost skeletu v závislosti na denní dob aplikace TPTD nejsou v sou asné dob objasn ny. Na bun né úrovni se zvý-ení kostní resorpce po podání PTH vysv tluje nep ímým p sobením PTH na osteoklasty ovlivn ním tvorby lokálních faktor , zejména RANKL (ligand pro receptor aktivující nukleární faktor kappa B) v osteoblastech a sou asn p echodným poklesem v produkci osteoprotegerinu (OPG), který p sobí jako solubilní receptor pro RANKL (Onyia *et al.*, 2000; Ma *et al.*, 2001). V recentní studii byla dokumentována existence cirkadiánního rytmu cirkulujícího OPG s denním vzestupem a no ním poklesem koncentrace OPG u zdravých osob. Navíc, zm ny cirkulujícího OPG byly nep ímo-úm rné sekreci endogenního PTH a koncentracím CTX v

průběhu 24 hodin (Joseph *et al.*, 2007). Lze předpokládat, že cirkadiánní změny v sekreci OPG mohou alespoň částečně modulovat efekt léčby TPTD na resorpční aktivitu osteoklastů. Úinek léčby PTH na osteoklasty může být v ranních hodinách utlumen také příjmem potravy, která potlačuje resorpční aktivitu osteoklastů (Clowes *et al.*, 2002). Rovněž koncentrace markeru kostní novotvorby (PINP) se výrazně lišily v závislosti na době podání TPTD ($p = 0,001$), ale rozdíly byly mnohem menší, nežli změny markeru kostní resorpce CTX. Sérové koncentrace PINP mírně, ale signifikantně ($p < 0,05$) klesly po 6 hodinách po ranním i ve večerním podání TPTD, s následným mírným vzestupem koncentrací PINP v obou skupinách. Celková průměrná hodnota PINP za 24 hodin se mezi skupinami významně nelišila, pravděpodobně vzhledem k velké interindividuální variabilitě.

Tato studie prokázala, že se cirkadiánní změny kostní remodelace, zejména kostní resorpce, iCa i endogenního PTH významně liší v závislosti na denní době podání TPTD. Výsledky podporují hypotézu, že odezva kostních buněk na léčbu TPTD se liší v závislosti na denní době jeho podání. Další studium je nezbytné k objasnění mechanismů rozdílné odpovědi kostních buněk na léčbu TPTD během dne. Otázku, zda denní doba podání TPTD má i dlouhodobý dopad na změny BMD, jsme řešili v následující studii.

Studie II

Studie II je první pilotní prací, která ukázala, že denní doba aplikace TPTD má význam pro dlouhodobé změny markerů kostní remodelace a BMD u pacientek s postmenopauzální osteoporózou. Ranní aplikace TPTD po dobu 12 měsíců vedla k signifikantnímu nárůstu BMD v oblasti bederní páteře ve srovnání s večerní aplikací TPTD. Tyto výsledky mohou být vysvětleny odlišnou citlivostí kostních buněk na TPTD v závislosti na denní době jeho podání. Během prvních 6 měsíců léčby TPTD jsme prokázali významný nárůst koncentrací TRAP 5b ve večerní léčebné skupině ve srovnání s ranní léčebnou skupinou, na rozdíl od CTX, kde jsme rozdíly mezi skupinami neprokázali. Koncentrace TRAP 5b totiž na rozdíl od CTX, odráží spíše počet osteoklastů než jejich aktivitu a TRAP 5b rovněž nevykazuje cirkadiánní variabilitu (Henriksen *et al.*, 2007). Naše výsledky v studii I již naznačily, že večerní podávání TPTD nadměrně stimuluje i noční vrchol aktivity osteoklastické kostní resorpce (CTX), a tím může zpomalit nárůst BMD. Proto vyšší kostní resorpce pozorována v 6. měsíci léčby ve večerní léčebné skupině může být jedním z možných vysvětlení pro nižší nárůst BMD v oblasti bederní páteře po roce léčby TPTD u této skupiny pacientek. Naopak podávání antiresorpčního přípravku ve večer by mohlo oslabit noční nárůst kostní resorpce.

Vzhledem k tzv. fenoménu spáření (coupling) je nárůst kostní resorpce po vešné aplikaci TPTD spojen také se zvýšením koncentrace PINP. Zdá se však, že v t-í vzestup kostní formace ve vešné léčebné skupině nedostačuje k vyrovnání úniku nadměrně zvýšené kostní resorpce během nočních hodin. Vyšší nárůst BMD v ranní skupině byl spojen s nižším nárůstem PINP ve srovnání s vešnou skupinou. Vzhledem k tomu, že činnost osteoklastů a osteoblastů je propojena prostřednictvím normálního procesu kostní remodelace (Parfitt *et al.*, 1982), může být v t-í nárůst PINP ve vešné léčebné skupině (studie I) způsoben v t-í kostní resorpcí a kostní remodelací ve srovnání s ranní skupinou pacientů. Skutečně byla zjištěna silná pozitivní korelace mezi změnami koncentrací TRAP 5b, stejně jako CTX s PINP po 6 měsících léčby TPTD ($r=0,621$ a $r = 0,750$ pro TRAP 5b a CTX resp., $p < 0,0001$ pro oba). Avšak zatímco rozdíly ve změnách PINP mezi oběma skupinami vymizely po 12 měsících léčby TPTD, sérové koncentrace TRAP 5b měly tendenci být vyšší i po 12 měsících léčby ve vešné léčebné skupině ve srovnání s ranní skupinou.

Změny plošné BMD během prvních 12 měsíců léčby TPTD souvisí zejména s pokračující mineralizací nové kostní matrix, tedy menší změna plošné BMD nemusí nutně znamenat nižší osteoanabolický efekt léčby. Ve skutečnosti může plošná BMD podhodnocovat zlepšení kostní hmoty v důsledku zvýšeného objemu relativně nemineralizovaného osteoidu. Ke studiu anabolických účinků nových léčebných režimů TPTD na kosti lidí jsou proto potřebné i další metody, jako například transiliakální kostní biopsie nebo využití vysoce rozlišujícího CT a MRI. Zajímavé výsledky by mohly přinést i nové aplikace DXA, například tzv. TBS (Trabecular Bone Score). BMD v oblasti distálního radia výrazně klesala v obou léčebných skupinách pacientů bez významných rozdílů. Pokles plošné BMD v oblasti distálního radia odráží pravděpodobně velmi aktivní endokortikální a intrakortikální kostní remodelaci (Foldes *et al.*, 1991). Biomechanické studie prokázaly, že pevnost kosti i přes pokles BMD při léčbě TPTD neklesá (Delmas *et al.*, 2006).

Následná studie ukázala, že rovněž léčba TPTD při denní aplikaci ráno vedla k významnému v-tím nárůstu BMD v oblasti bederní páteře ve srovnání s vešným režimem léčby. Výsledky studie podporují hypotézu, že odpověď skeletu na léčbu TPTD významně ovlivňuje denní doba její aplikace. Tyto výsledky mohou mít význam pro zvýšení dlouhodobé účinnosti léčby TPTD, ale další výzkum je nezbytný pro zjištění mechanismů rozdílné odpovědi kostních buněk na TPTD během dne.

6. Záv ry

Výsledky naší práce lze shrnout následovně :

- Denní doba podání TPTD statisticky významně ovlivňuje cirkadiánní rytmus markerů kostní remodelace, ionizovaného kalcia a endogenního PTH. Aplikace TPTD po veškeré (v ~ 20 hod) prohloubila fyziologický cirkadiánní rytmus kostní resorpce (CTX) se signifikantním nárůstem CTX v noci a s poklesem jeho koncentrací dopoledne, zatímco ranní léčba TPTD (aplikace před snídaní ~ v 8 hod) vedla k signifikantnímu oproti ní amplitudy CTX. Cirkadiánní změny PINP vykazovaly mnohem menší amplitudu než CTX a po aplikaci TPTD jsme zaznamenali podobný, ale významný pokles koncentrace PINP (na rozdíl od CTX, kde jsme po aplikaci TPTD pozorovali nárůst koncentrace).
- Ranní léčba TPTD podávaná před snídaní (~ v 8 hod) vedla ke statisticky významnému vztupu BMD v oblasti bederní páteře ve srovnání s veškerou aplikací TPTD (~ ve 20 hod). Změny markeru kostní resorpce TRAP 5b a markeru novotvorby PINP v séru vykazovaly podobný trend s vztupem vzestupem obou markerů ve skupině s veškerou aplikací TPTD. Nadměrný vzestup kostní resorpce během noci pravděpodobně vysvětluje menší nárůst BMD ve veškeré TPTD skupině. Naproti tomu ranní vzestup kostní resorpce je oslaben vzhledem k inhibičnímu účinku potravy na kostní resorpci, zejména během ranních a dopoledních hodin. Zdá se, že vyšší nárůst BMD po ranní aplikaci TPTD v souladu s vztupem osteoanabolickým účinkem TPTD (vztupem osteoidu) vyžaduje další ověření.

Obě studie jsou prvními pilotními projekty, které zkoumaly vliv denní doby aplikace TPTD na BMD a biochemické markery kostního obrátu u pacientek s postmenopauzální osteoporózou. Výsledky jsou v souladu s naší hypotézou, že odezva kostních buněk na léčbu TPTD závisí na době jejího podání. Denní doba aplikace TPTD může být důležitá pro dlouhodobou účinnost této léčby. Ověření našich výsledků a vysvětlení mechanismů rozdílné odpovědi kostních buněk na TPTD vyžaduje další výzkum.

7. Seznam literatury

1. BLUMSOHN, A., K. HERRINGTON, R.A. HANNON, P. SHAO, D.R. EYRE A R. EASTELL. The effect of calcium supplementation on the circadian rhythm of bone resorption. *J Clin Endocrinol Metab.* 1994, ro . 79, . 3, s. 730-735.
2. CALVO, M.S., R. KUMAR a H. HEATH. Persistently elevated parathyroid hormone secretion and action in young women after four weeks of ingesting high phosphorus, low calcium diets. *J Clin Endocrinol Metab.* 1990, ro . 70, . 5, s. 1334-1340.
3. CLOWES, J.A., R.A. HANNON, T.S. YAP, N.R. HOYLE, A. BLUMSOHN a R. EASTELL. Effect of feeding on bone turnover markers and its impact on biological variability of measurements. *Bone.* 2002, ro . 30, . 6, s. 886-890.
4. DELMAS, P.D., A.A. LICATA, J.Y. REGINSTER, G.C. CRANS, P. CHEN, D.A. MISURSKI, R.B. WAGMAN a B.H. MITLAK. Fracture risk reduction during treatment with teriparatide is independent of pretreatment bone turnover. *Bone.* 2006, ro . 39, . 2, s. 237-243.
5. DOBNIG, H. a R.T. TURNER. The effects of programmed administration of human parathyroid hormone fragment (1-34) on bone histomorphometry and serum chemistry in rats. *Endocrinology.* 1997, ro . 138, . 11, s. 4607 - 4612.
6. EASTELL, R., M.S. CALVO, M.F. BURRIT, K.P. OFFORD, R.G. RUSSELL a B.L. RIGGS. Abnormalities in circadian patterns of bone resorption and renal calcium conservation in type I osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab.* 1992, ro . 74, . 3, s. 487-494.
7. EL-HAJJ FULEIHAN, G., E.B. KLERMAN, E.N. BROWN, Y. CHOE, E.M. BROWN a C.A. CZEISLER. The parathyroid hormone circadian rhythm is truly endogenous--a general clinical research center study. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997, ro . 82, . 1, s. 281-286.
8. FOLDES, J., A.M. PARFITT, M.S. SHIH, D.S. RAO a M. KLEEREKOPER. Structural and geometric changes in iliac bone: relationship to normal aging and osteoporosis. *J Bone Miner Res.* 1991, ro . 6, . 7, s. 759-766.
9. FRASER, W.D., F.C. LOGUE, J.P. CHRISTIE, D.A. CAMERON, D.S. O'REILLY a G.H. BEASTALL. Alteration of the circadian rhythm of intact parathyroid hormone following a 96-hour fast. *Clin Endocrinol.* 1994, ro . 40, . 4, s. 523-528.
10. FRASER, W.D., F.C. LOGUE, J.P. CHRISTIE, S.J. GALLACHER, D. CAMERON, D. S. O'REILLY, G.H. BEASTALL a I.T. BOYLE. Alteration of the circadian rhythm of intact parathyroid hormone and serum phosphate in women with established postmenopausal osteoporosis. *Osteoporos Int.* 1998, ro . 8, . 2, s. 121-126.
11. FRASER, W.D., A.M. AHMAD a J.P. VORA. The physiology of the circadian rhythm of parathyroid hormone and its potential as a treatment for osteoporosis. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2004, ro . 13, . 4, s. 437-444.
12. HENRIKSEN, K., L.B. TANKO, P. QVIST, P.D. DELMAS, C. CHRISTIANSEN a M.A. KARSDAL. Assessment of osteoclast number and function: application in the development of new and improved treatment modalities for bone diseases. *Osteoporos Int.* 2007, ro . 18, . 5, s. 681-685.
13. HOCK, J.M. a I. GERA. Effects of continuous and intermittent administration and inhibition of resorption on the anabolic response of bone to parathyroid hormone. *J Bone Miner Res.* 1992, ro . 7, . 1, s. 65-72.
14. JOSEPH, F., B.Y. CHAN, B.H. DURHAM, A.M. AHMAD, S. VINJAMURI, J.A. GALLAGHER, J.P. VORA a W.D. FRASER. The circadian rhythm of osteoprotegerin

- and its association with parathyroid hormone secretion. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007, ro . 92, . 8, s. 3230-3238.
15. JOSEPH, F., A.M. AHMAD, M. UL-HAQ, B.H. DURHAM, P. WHITTINGHAM, W.D. FRASER a J.P. VORA. Effects of growth hormone administration on bone mineral metabolism, PTH sensitivity and PTH secretory rhythm in postmenopausal women with established osteoporosis. *J Bone Miner Res.* 2008, ro . 23, . 5, s. 721-729.
 16. LEDGER, G.A., M.F. BURRITT, P.C. KAO, W.M. O'FALLON, B.L. RIGGS a S. KHOSLA. Abnormalities of parathyroid hormone secretion in elderly women that are reversible by short term therapy with 1,25-dihydroxyvitamin D3. *J Clin Endocrinol Metab.* 1994, ro . 79, . 1, s. 211-216.
 17. LOGUE, F.C., W.D. FRASER, S.J. GALLACHER, D.A. CAMERON, D.S. O'REILLY, G.H. BEASTALL, U. PATEL a I.T. BOYLE. The loss of circadian rhythm for intact parathyroid hormone and nephrogenous cyclic AMP in patients with primary hyperparathyroidism. *Clin Endocrinol.* 1990, ro . 32, . 4, s. 475- 483.
 18. LOGUE, F.C., W.D. FRASER, D.S. O'REILLY, J. CHRISTIE, D.A. CAMERON, D.C. WALLACE a G.H. BEASTALL. Sleep shift dissociates the nocturnal peaks of parathyroid hormone (1-84), nephrogenous cyclic adenosine monophosphate, and prolactin in normal men. *J Clin Endocrinol Metab.* 1992, ro . 75, . 1, s. 25-29.
 19. MA, Y.L., R.L. CAIN, D.L. HALLADAY, X. YANG, Q. ZENG, R.R. MILES, S. CHANDRASEKHAR, T.J. MARTIN a J.E. ONYIA. Catabolic effects of continuous human PTH (1--38) in vivo is associated with sustained stimulation of RANKL and inhibition of osteoprotegerin and gene-associated bone formation. *Endocrinology.* 2001, ro . 142, . 9, s. 4047- 4054.
 20. MOSEKILDE, L. Primary hyperparathyroidism and the skeleton. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2008, ro .69, . 1, str. 1-19. *Endocrinol (Oxf).* 2008, ro .69, . 1, str. 1-19.
 21. NIELSEN, H.K., K. BRIKEN, M. KASSEM, S.E. CHRISTENSEN a L. MOSEKILDE. Diurnal rhythm in serum osteocalcin: relation with sleep, growth hormone, and PTH(1-84). *Calcified Tissue International.* 1991, ro . 49, . 6, s. 373-377.
 22. ONYIA, J.E., R.R. MILES, X. YANG, D.L. HALLADAY, J. HALE, A. GLASEBROOK, D. MCCLURE, G. SENO, L. CHURGAY, S. CHANDRASEKHAR a T.J. MARTIN. In vivo demonstration that human parathyroid hormone 1-38 inhibits the expression of osteoprotegerin in bone with the kinetics of an immediate early gene. *J Bone Miner Res.* 2000, ro . 15, . 5, s. 863-871.
 23. PARFITT, A.M. The coupling of bone formation to bone resorption: a critical analysis of the concept and of its relevance to the pathogenesis of osteoporosis. *Metab Bone Dis Relat Res.* 1982, ro . 4, . 1, s. 1-6.
 24. PODBESEK R, EDOUARD C, MEUNIER PJ, PARSONS JA, REEVE J, STEVENSON RW, ZANELLI JM. Effects of two treatment regimes with synthetic human parathyroid hormone fragment on bone formation and the tissue balance of trabecular bone in greyhounds. *Endocrinology.* 1983, ro . 112, . 3, s. 1000-1006.
 25. QVIST, P., S. CHRISTGAU, B.J. PEDERSEN, A. SCHLEMMER a C. CHRISTIANSEN. Circadian variation in the serum concentration of C-terminal telopeptide of type I collagen (serum CTx): effects of gender, age, menopausal status, posture, daylight, serum cortisol, and fasting. *Bone.* 2002, ro . 31, . 1, s. 57-61.
 26. SCHMITT, C.P., J. OBRY, R. FENEBERG, J.D. VELDHUIS, O. MEHLS, E. RITZ a F. SCHAEFER. Beta 1-adrenergic blockade augments pulsatile PTH secretion in humans. *J Am Soc Nephrol.* 2003, ro . 14, . 12, s. 325-350.
 27. WHITE, H.D., A.M. AHMAD, B.H. DURHAM, A. PATWALA, P. WHITTINGHAM, W.D. FRASER a J.P. VORA. Growth hormone replacement is important for the restoration of parathyroid hormone sensitivity and improvement in bone metabolism in

older adult growth hormone-deficient patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005, ro . 90, . 6, s. 3371-3380.

28. WHITE, H.D., A.M. AHMAD, B.H. DURHAM, S. CHANDRAN, A. PATWALA, W.D. FRASER a J.P. VORA. Effect of active acromegaly and its treatment on parathyroid circadian rhythmicity and parathyroid target-organ sensitivity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006, ro . 91, . 3, s. 913-919.
29. WICHERS, M., E. SCHMIDT, F. BIDLINGMAIER a D. KLINGMÜLLER. Diurnal rhythm of CrossLaps in human serum. *Clinical Chemistry*, 1999, ro . 45, . 10, s. 1858-1860.

8. Seznam publikací autora

Publikace se vztahem k tématu disertace s IF:

LUCHAVOVA, M., V. ZIKAN, D. MICHALSKA, I. RASKA Jr., A.A. KUBENA a J.J. STEPAN. The effect of timing of teriparatide treatment on the circadian rhythm of bone turnover in postmenopausal osteoporosis. *Eur J Endocrinol.* 2011, ro . 164, . 4, s. 643-648. IF 3,482

- ud lena 1. cena v Sout ěi o nejlep-í práci z oboru Klinická farmakologie uve ejn nou v r. 2011

MICHALSKA, D., M. LUCHAVOVA ,V. ZIKAN , I RASKA Jr, A.A. KUBENA a J.J. STEPAN. Effects of morning vs. evening teriparatide injection on bone mineral density and bone turnover markers in postmenopausal osteoporosis. *Osteoporos Int.* 2012 Mar 17, [Epub ahead of print] IF 4,859

Publikace bez IF se vztahem k tématu disertace:

LUCHAVOVÁ, M. a V. ZIKÁN. The parathyroid hormone circadian rhythm and its role in bone metabolism. *Osteologický Bulletin.* 2010, . 3, s. 95-100

Publikace bez vztahu k tématu disertace s IF:

ZIKÁN, V., M. TÝBLOVÁ, I. RA^TKA Jr, E. HAVRDOVÁ , M. LUCHAVOVÁ, D. MICHALSKÁ a A.A. KUB NA. Bone mineral density and body composition in men with multiple sclerosis chronically treated with low-dose glucocorticoids. *Physiol Res.* 2012 Jun 6. [Epub ahead of print] IF 1,646

Publikace bez vztahu k tématu disertace bez IF:

LUCHAVOVÁ, M. A I. RA^TKA Jr. Novinky a možnosti prevence a lé by osteoporózy v ambulanci praktického léka e. *Medicina Pro Praxi.* 2010, ro . 7, . 12, s. 455-460.

8.1. Prezentace na kongresech a sympoziích

1. Postgraduální seminá Endokrinologického ústavu. LUCHAVOVÁ, M. Kvalita kosti ó ú inky parathormonu. 31. 3. 2008
2. XIII. Celostátní konference sekundární osteoporóza v Plzni. LUCHAVOVÁ, M. Cushing v syndrom a kost. 18. - 19. 4. 2008

3. IX. Studentská v deká konferencie 1. LF UK. LUCHAVOVÁ, M. a D. MICHALSKÁ. Heterogenita v odpov di skeletu na lé bu teriparatidem u flien s postmenopauzální osteoporózou. 21. 5. 2008
4. XXVII. Dny mladých internist v Martine. LUCHAVOVÁ, M., D. MICHALSKÁ a V. Zikán. Heterogenita v odpovedi skeletu na lie bu teriparatidom u flien s postmenopauzálnou osteoporózou. 22. - 23. 5. 2008
5. XI. Mezinárodní kongres eských slovenských osteolog v Pie– anech. LUCHAVOVÁ, M. a V. ZIKÁN. Cyklické zmeny kostnej denzity u zdravých flien po menopauze. 9. 10. 2008
6. XXVIII. Dny mladých internist v Olomouci. LUCHAVOVÁ, M., V. ZIKÁN, I. RA^TKA Jr. a D. MICHALSKÁ. Denní doba aplikace teriparatidu významn moduluje cirkadiánní rytmus kostní resorpce a kalcémie. 4. - 5. 6. 2009
7. XXXII. Endokrinologické dny v eském Krumlov . LUCHAVOVÁ, M. Hyperkortisolismus a kost. 24. 9. 2009
8. XII Mezinárodní kongres eských slovenských osteolog v Ostrav . LUCHAVOVÁ, M., I. RA^TKA JR., D. MICHALSKÁ a V. ZIKÁN. Denní doba aplikace teriparatidu moduluje cirkadiánní rytmus kostní resorpce. 2. 10. 2009
9. XI. Studentská v deká konferencie. LUCHAVOVÁ, M., I. RA^TKA Jr., D. MICHALSKÁ a V. ZIKÁN. Cirkadiánní rytmus parathormonu a kostní remodelace: implikace pro lé bu osteoporózy teriparatidem (PTH 1-34). 19. 5. 2010
10. X. Celostátní konference sekundární osteoporóza v Plzni. LUCHAVOVÁ, M., D. MICHALSKÁ, I. RA^TKA Jr. a V. ZIKÁN. Omezená schopnost ch ze významn p ispívá k úbytku kostní denzity v proximálním femuru u pacient s roztrou– enou sklerózou substituovaných vitaminem D a vápníkem nebo lé ených risedronátem. 16. 4. 2012

8.2. Abstrakta

1. ECTS 36th European Symposium on Calcified Tissues, 2009, Vienna. MICHALSKA, D., V. ZIKAN, M. LUCHAVOVA a J.J. STEPAN. Changes of bone turnover markers after 6 months treatment with either morning or evening teriparatide administration in women with severe postmenopausal osteoporosis. 24. 5. 2009, P458
2. European Congress of Endocrinology 2010, Praha. LUCHAVOVA, M., I. RASKA Jr., D. MICHALSKA a V. ZIKAN. The circadian rhythm of bone resorption: comparison between patients treated with teriparatide and patients with primary hyperparathyroidism. 24.-28. 4. 2010, Endocrine Abstracts (2010) **22** P121.
3. IOF World Congress on Osteoporosis and 10th European Congress on Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis and Osteoarthritis, Florence. RASKA, I. Jr, M. LUCHAVOVA, D. MICHALSKA a V. ZIKAN. The effect of teriparatide treatment on bone remodeling markers and 1,25- dihydroxy vitamin D3. 5. - 8. 10. 2010, WCO- ECCEO10 - ABS-1412
4. American Society for Bone and Mineral Research 2010 Annual Meeting, Toronto. ZIKAN, V., M. TÝBLOVÁ, I. RASKA Jr., E. HAVRDOVÁ, D. MICHALSKÁ a M. LUCHAVOVÁ. Body Composition and Bone Mineral Density in Patients with Multiple Sclerosis Treated with Low Dose Glucocorticoids. 15 ó 19. 10. 2010.