

UNIVERZITA KARLOVA

1. lékařská fakulta



Skelet a roztroušená skleróza

Habilitační práce

MUDr. Vít Zikán, Ph.D.

Praha 2017

Poděkování

Na tomto místě bych rád poděkoval všem, kteří se svou prací a pomocí podíleli na vzniku předkládané habilitační práce.

Poděkování patří především prof. MUDr. Janu Štěpánovi, DrSc., který mě uvedl do oboru klinické osteologie a vytvářel vynikající podmínky pro výzkumnou práci. Děkuji prof. Štěpánovi nejen za odborné vedení v počátcích mé práce, ale především za trvalý zájem, trpělivost a porozumění.

Rád bych též poděkoval svým nejbližším spolupracovníkům - MUDr. Daně Michalské, Ph.D., MUDr. Ivanu Raškovi Jr., Ph.D. a MUDr. Márii Raškové, Ph.D., dále současnému přednostovi 3. interní kliniky 1. LF UK a VFN prof. MUDr. Štěpánu Svačinovi, DrSc., MBA, a ostatním pracovníkům 3. interní kliniky, bez jejichž všestranné podpory by tato práce nemohla vzniknout.

Poděkování patří dále MUDr. Michaele Týblové a dalším spolupracovníkům z Neurologické kliniky 1. LF UK a VFN, s nimiž osteologická skupina na 3. interní klinice dlouhá léta spolupracuje. Spolupráce s Centrem pro roztroušenou sklerózu vedeným prof. MUDr. Evou Havrdovou, CSc. vyústila v řadu publikací a úspěšně řešených výzkumných úkolů.

Po celou dobu mé klinické i vědecké práce jsem přijímal velkou podporu ve své rodině. Děkuji proto na tomto místě především své ženě Drahomíře.

Obsah

1. Úvod	5
2. Osteoporóza a roztroušená skleróza.....	6
2.1 Definice roztroušené sklerózy (RS).....	6
2.2 Epidemiologie osteoporózy a zlomenin při RS	6
2.3 Patogeneze a rizikové faktory osteoporózy a zlomenin u RS.....	7
2.3.1 Motorický deficit a snížená fyzická aktivita	8
2.3.2 Riziko pádů	16
2.3.3 Nedostatek vitamínu D	17
2.3.4 Glukokortikoidy	18
2.3.5 Imunitní systém, cytokiny.....	20
2.3.6 Deprese a antidepresiva	21
2.3.7 Poruchy centrální a neurální regulace kostní remodelace	22
2.3.8 Hodnocení klinických faktorů rizika zlomenin.....	27
2.4 Diagnostika, prevence a léčba osteoporózy u RS.....	33
2.4.1 Diagnostický algoritmus	33
2.4.2 Monitorování stavu skeletu.....	34
2.4.3 Prevence osteoporózy	35
2.4.4 Farmakologická léčba osteoporózy	38
3. Cíle vlastní práce.....	44
4. Původní práce.....	45
4.1 Osteoporóza a tělesné složení u pacientů s RS	45
4.2 Riziko zlomenin a osteoporózy u pacientů s RS.....	52
4.3 Vliv hybného deficitu na kostní remodelaci u RS	56
4.4 Vliv substituce vitamínem D s vápníkem a léčby risedronátem na BMD a kostní remodelaci u žen s RS léčených glukokortikoidy.....	68
4.4 Srovnání léčby risedronátem a teriparatidem u osteoporotických žen s RS léčených glukokortikoidy.....	72
5. Závěry	77
6. Literatura	81
7. Literatura autora se vztahem k tématu práce.....	100

Seznam vybraných zkratek

BMD	Bone Mineral Density (denzita kostního minerálu, g/cm ²)
BMC	Bone Mineral Content (obsah kostního minerálu, g)
BTM	Bone Turnover Markers (biochemické markery kostního obratu)
BP	Aminobisfosfonáty
βCTX	C-terminální fragment kolagenu typu I (βCrossLaps)
SNS	Sympatický nervový systém
SCN	Suprachiasmatická jádra hypotalamu
GIO	Glukokortikoidy indukovaná osteoporóza
GK	Glukokortikoidy
IGF 1	Insulin-like growth factor 1 (inzulínu podobný růstový faktor 1)
LM	Lean Mass (svalová hmota, beztuková tělesná hmota)
LM%	index celkové svalové hmoty (% celkové LM z celkové tělesné hmoty)
Leg LM%	index svalové hmoty dolních končetin (% LM dolních končetin z celkové LM)
MBU	Muscle Bone Unit (svalově kostní jednotka)
25OHD	25-hydroxyvitamin D
PINP	N-terminální propeptid prokolagenu typu I
PTH	Parathormon
RANKL	Ligand pro receptor aktivující nukleární faktor κB
RS (MS)	Roztroušená skleróza (multiple sclerosis)
TBBMC	Total Body Bone Mineral Content (celotělový BMC)
TPTD	Teriparatid (rekombinantní lidský N-terminální fragment 1-34 molekuly PTH)

EDSS Expanded Disability Status Scale (Kurtzkeho škála, rozšířená stupnice stavu disability)

1. Úvod

Kost je během celého života metabolicky aktivním orgánem. Kostní remodelace je dynamický a vysoce koordinovaný proces kostní resorpce a následné tvorby nové kosti, který zajišťuje adaptaci kosti na mechanickou zátěž, reparaci drobných poškození kosti a náhradu staré kostní hmoty za novou (Štěpán 1997, Manolagas 2000). Poruchy kostní remodelace se uplatňují v různém rozsahu při všech kostních onemocněních. Osteoporóza se rozvíjí v případech, že je dlouhodobě porušena rovnováha mezi tvorbou nové kostní hmoty a jejím odbouráváním (Štěpán et al. 1987). Tématem mé doktorandské disertační práce bylo studium biochemických markerů kostní remodelace ve vztahu k akutním změnám kostní resorpce (Zikán 2003). Prokázali jsme, že C-terminální příčně vázaný telopeptid kolagenu typu I (oktapeptid, Glu-Lys-Ala-His- β Asp-Gly-Gly-Arg; β CTX) měřený v séru nebo v plazmě je velmi citlivý ukazatel pro hodnocení okamžitých změn resorpční aktivity osteoklastů (Zikán et al. 2001a, Zikán et al. 2001b, Zikán et al. 2002, Zikán a Štěpán 2002, Zikán a Štěpán 2004). V další práci jsme ověřili, že β CTX a další biochemické markery kostní remodelace jsou vhodným nástrojem pro hodnocení metabolických účinků nejen antiosteoresorpční (Štěpán a Zikán 2003), ale i osteoanabolické léčby osteoporózy (Zikán a Štěpán 2008, Zikán a Štěpán 2009, Luchavová et al. 2011, Michalská et al. 2012). Biochemické ukazatele kostní remodelace v současné době využíváme jednak pro sledování účinnosti farmakologické léčby osteoporózy (Michalská et al. 2012, Raška et al. 2012, Michalská et al. 2015), jednak pro studium patogeneze sekundární osteoporózy např. při diabetes mellitus (Raška et al. 2016) nebo při roztroušené skleróze (Štěpán et al. 2004).

Předkládaná habilitační práce se zabývá patogenezí a rizikovými faktory osteoporózy a zlomenin u roztroušené sklerózy (RS). Osteoporóza a zlomeniny se u pacientů s RS vyskytují častěji než v běžné populaci. I přes pokroky v poznání patofyziologie osteoporózy u RS, zatím chybí ověřené preventivní a léčebné postupy ke snížení rizika zlomenin. V obecném úvodu práce jsou shrnuty aktuální poznatky dané problematiky. Jednotlivé kapitoly vlastní práce začínají krátkým úvodem a následují vlastní výsledky v podobě přiložených publikací s diskuzí dosažených výsledků. V závěru shrnuji nejdůležitější získané poznatky a rovněž uvádím otázky, které vyžadují další výzkum.

2. Osteoporóza a roztroušená skleróza

V této úvodní kapitole habilitační práce podávám přehled epidemiologie, patogeneze a rizikových faktorů osteoporózy a zlomenin u pacientů s roztroušenou sklerózou (RS). Cílem není detailní a úplný rozbor patofyziologie onemocnění, ale zasazení vlastní práce do širšího kontextu dalších oblastí výzkumu a klinických souvislostí. Rovněž se zabývám diagnostikou osteoporózy a jejími současnými preventivními a léčebnými postupy a je navržen algoritmus, jak v péči o pacienty s RS postupovat v klinické praxi.

2.1 Definice roztroušené sklerózy (RS)

Roztroušená skleróza je chronické zánětlivé onemocnění centrálního nervového systému, v jehož patogenezi se uplatňují jak autoimunitní děje, tak následná neurodegenerace. Tři hlavní průběhy onemocnění jsou: relabující - remitentní, sekundárně progresivní a primárně progresivní RS (Havrdová 2009). Přibližně 65 % pacientů s relaps-remitentní formou RS vstoupí do sekundárně progresivní fáze, zatímco u přibližně 20 % je průběh onemocnění progresivní od začátku (Compston a Coles 2008). Incidence RS se udává 3 až 7 osob na 100 000 obyvatel a prevalence 100-120 osob na 100 000 obyvatel (Pugliati et al. 2002, Bláhová - Dušánková et al. 2012). Klinická symptomatologie je u pacientů s RS velmi rozmanitá: poruchy zraku, poruchy rovnováhy a sfinkterů, kognitivní deficit, poruchy čítí a hybnosti s postupným rozvojem poruchy chůze a imobilizace (Compston a Coles 2008, Havrdová 2009).

2.2 Epidemiologie osteoporózy a zlomenin při RS

Osteoporóza je chronické systémové metabolické onemocnění skeletu, charakterizované sníženou pevností kosti (sníženým množstvím kostní hmoty a poruchou její kvality, např. poruchou mikroarchitektury) a v důsledku toho zvýšeným rizikem zlomenin (Kanis a Glüer 2000). Osteoporotické zlomeniny jsou spojeny s významně sníženou kvalitou života, nesoběstačností a zvyšují morbiditu a také mortalitu u žen i u mužů (Melton et al. 2013). Nezanedbatelné jsou i vysoké přímé a nepřímé náklady na léčbu zlomenin (Štěpán et al. 1998, Becker et al. 2010). Osteoporóza a zlomeniny se vyskytují u pacientů s RS častěji než ve zdravé populaci (Cosman et al. 1998, Weinstock-Guttman et al. 2004, Bazelier et al.

2011, Dobson et al. 2012, Dong et al. 2015, Bhattacharya et al. 2014). U pacientů s RS ubývá kostní denzita (BMD) zejména v proximálním femuru (Cosman et al. 1994, Cosman et al. 1998, Weinstock-Guttman et al. 2004, Hearn a Silber 2010, Marrie et al. 2009). Zlomeniny jsou přitom u pacientů s RS zvláště závažné, jelikož mají za následek další zhoršení hybnosti i kvality života a dále prohlubují závislost postižených osob na dopomoci. Retrospektivní kohortová studie, která hodnotila údaje z databáze britských praktických lékařů (UK General Practice Research Database v letech 1996–2007) zjistila, že pacienti s RS mají téměř 3 krát vyšší riziko zlomenin kyčle ve srovnání s kontrolní skupinou osob bez RS (HR = 2,79; 95% CI: 1,83–4,26; Bazelier et al. 2011). Riziko všech osteoporotických zlomenin bylo zvýšeno 1,4 krát (HR = 1,35; 95% CI: 1,13–1,62) a u pacientů, kteří v posledním půlroce užívali p. o. nebo i. v. GK bylo riziko zlomenin zvýšeno 1,9 krát (HR = 1,85; 95% CI: 1,14–2,98). Rovněž užívání antidepressiv v posledních 6 měsících vedlo ke zvýšení rizika zlomenin přibližně 1,8 krát (HR = 1,79; 95 CI: 1,37–2,35; Bazelier et al. 2011). Téměř 2 krát vyšší riziko zlomenin kyčle u pacientů s RS (adj. HR: 1,9; 95% CI: 1,1–3,4) dokumentovali Bazelier a spol. také v populační kohortové studii v dánské populaci (Danish National Health Registers a Danish MS Registry; Bazelier et al. 2012a). Navíc zde bylo zjištěno, že pacienti s vyšším stupněm disability s EDSS ≥ 6 měli 2,6 krát vyšší riziko osteoporotické zlomeniny ve srovnání s pacienty s EDSS ≤ 3 (adj. OR: 2,6; 95% CI: 1,0 - 6,6; Bazelier et al. 2012a). Podobně i průřezová studie autorů Marrie a spol. zjistila nárůst zlomenin s rostoucím stupněm motorického deficitu u nemocných s RS (Marrie et al. 2009). Prevalence zlomenin obratlů, kyčle nebo zápěstí byla po 13 letech 11,2 % u pacientů bez významného omezení v chůzi (~ EDSS ≤ 3), 17,1 % u pacientů se středně těžkým motorickým deficitem (~ EDSS 4–5,5) a 20,3 % u pacientů s EDSS ≥ 6 (Marrie et al. 2009). V prospektivní, observační multicentrické studii GLOW (Global Longitudinal Study of Osteoporosis in Women), do které bylo zařazeno více než 60 000 žen ve věku nad 55 let, byla u žen s RS zjištěna tříletá incidence zlomenin ~15% (Gregson et al. 2014).

2.3 Patogeneze a rizikové faktory osteoporózy a zlomenin u RS

Kvalita a množství kostní hmoty u dospělých osob závisí na věku, genetické dispozici a dalších převážně modifikovatelných faktorech, jako jsou fyzická aktivita, tělesná váha, výživa, hormonální stav nebo toxické vlivy prostředí. U dospělých pacientů s RS přispívá k rozvoji sekundární osteoporózy zejména progredující porucha hybnosti (Logan et al. 2008,

Marrie et al. 2009, Havrdová et al. 2004), ale pravděpodobně se uplatňují i další vlivy: nedostatek vitamínu D (Nieves et al. 1994, Van der Mei et al. 2007, Gupta et al. 2014), dlouhodobá léčba glukokortikoidy (Formica et al. 1997), deficit estrogenů a další faktory (Hearn et al. 2010, Moen et al. 2011). V patogenezi osteoporózy a zlomenin se u pacientů s RS nepochybně uplatňují i centrální zánětlivé a neurodegenerativní procesy, které zasahují do centrální neurální a neurohumorální regulace kostní remodelace (Dimitri a Rosen 2016, Elefteriou et al. 2014). Stále více pozornosti je věnováno i hlubšímu studiu vzájemných interakcí mezi svalovou a kostní tkání a definují se regulační mechanizmy tzv. svalově-kostní jednotky („muscle bone unit“) (Laurent et al. 2016, Zhou a Bonewald 2015). Osteoporóza se rozvíjí v případě, že je dlouhodobě porušená rovnováha mezi tvorbou nové kostní hmoty a jejím odbouráváním (Štěpán et al. 1987). Zjednodušený přehled regulačních faktorů kostní remodelace na úrovni kostní mnohobuněčné jednotky (bone multicellular unit), které se mohou uplatňovat i u RS je uveden na obrázku 1. Pro podrobnější popis mechanismů regulace kostní remodelace odkazují na svoji disertační práci (Zikán 2003) a novější přehledné práce (Jensen et al. 2014). V následující části uvádím přehled patogeneze a rizikových faktorů osteoporózy a zlomenin, které se uplatňují nebo mohou uplatňovat u pacientů s RS.

2.3.1 Motorický deficit a snížená fyzická aktivita

Ztráta svalové hmoty a síly a fyzická inaktivita u pacientů s RS vede ke snížení mechanického zatížení skeletu a k navození negativní nerovnováhy v kostní remodelaci s následným rozvojem osteoporózy a zlomenin (Hughes a Petit 2010). Pro hodnocení motorického deficitu, zejména schopnosti chůze se u pacientů s RS standardně užívá tzv. Kurtzkeho rozšířená stupnice stavu invalidity (disability) – EDSS (Expanded Disability Status Scale; Kurtzke 1983). Při EDSS < 3,5 není omezení v chůzi a hodnocen je hlavně neurologický deficit, EDSS od 4 do 5,5 je definováno jako chůze bez asistence, ale s limitací vzdálenosti, kterou pacient ujde bez odpočinku na 100–500 m, přičemž EDSS 4 je omezení na vzdálenost 500 m a u EDSS 5,5 na vzdálenost 100 m. Pacienti s hodnotami EDSS 6,0 potřebují jednostrannou oporu a délka chůze je alespoň 100 m a při EDSS 6,5 je nutná bilaterální opora a délka chůze je alespoň 20 m. Nemocní s EDSS \geq 7 nejsou schopni samostatné chůze (pouze přesunu z lůžka na vozík).

Bylo zjištěno, že EDSS negativně koreluje s BMD, zejména v oblasti proximálního

femuru (Nieves et al. 1994, Cosman et al. 1994, Cosman et al. 1998, Weinstock-Guttman et al. 2004, Schwid et al. 1996, Ozgocmen et al. 2005, Hotermans et al. 2006, Terzi et al. 2010). U pacientů s dobrou fyzickou aktivitou a s nízkým EDSS skóre (< 3,5) bývá BMD v normě (Ozgocmen et al. 2005), i když některé recentní práce dokumentovaly úbytek BMD i u pacientů s minimálním motorickým deficitem (Moen et al. 2011). Větší ztráta BMD v proximálním femuru u pacientů s RS pravděpodobně odpovídá nižšímu zatížení dolních končetin na rozdíl od páteře, na kterou působí relativně větší síly při pohybech trupem a horními končetinami i u pacientů s omezením chůze. S tímto typem úbytku BMD se setkáváme také u pacientů s centrální míšní lézí (Jiang et al. 2006, Slade et al. 2005) nebo po cévní mozkové příhodě (Jorgensen et al. 2000).

2.3.1.1 Osteocyty jako „mechanosenzory“ kosti

Osteocyty nemusejí správně pracovat při reparaci drobných poškození skeletu v případě, že skeletu chybí fyziologická mechanická zátěž (Waldorff et al. 2010). Osteocyty slouží v kosti jako velmi citlivé mechanosenzory. K zajištění této funkce osteocytů je nezbytná těsná interakce mezi osteocyty a extracelulární kostní matrix. Osteocyty komunikují s kostní matrix pomocí specializovaných míst na svých membránách, které jsou bohaté na integriny a vinculin a také pomocí dalších molekul, které zajišťují ukotvení osteocytu (Rochefort et al. 2010, Bonewald 2017). Pohyb extracelulární tekutiny v kostěných kanálcích v závislosti na mechanické zátěži způsobuje deformaci a změny povrchové napětí membrán osteocytů, které mechanický signál dále transformují. Dochází ke shlukování integrinů a jejich interakci s cytoskeletem a změnám FAK (focal adhesion kinase) a Src kináz, což vede k aktivaci ERK dráhy (extracellular signal-regulated kinase) a k útlumu apoptózy osteocytů (Plotkin et al. 2005). Naopak, snížení mechanické zátěže kosti urychluje apoptózu osteocytů (Bakker et al. 2004). Imobilizací indukovaná apoptóza osteocytů stimuluje osteoklastogenezi a kostní resorpci (Aguirre a Plotkin 2006, Cabahug-Zuckerman et al. 2016) a dlouhodobě vede k útlumu kostní novotvorby (Shigematsu et al. 1997, Lin et al. 2009). V experimentálních studiích u hlodavců je apoptóza osteocytů (jak v kortikální, tak v trabekulární kosti) následována do 3 dnů nárůstem počtu osteoklastů a později zvýšením porozity kortikální kosti, ztenčením trabekul a tloušťky kortikální kosti a snížením pevnosti kosti (Jilka et al. 2013). Důležité je zjištění, že zatímco u pohybujících se zvířat jsou apoptotické osteocyty difuzně rozmístěny, v případě imobilizace se apoptotické osteocyty nacházejí zejména na endosteálním povrchu kortikální kosti, kde následně probíhá i kostní

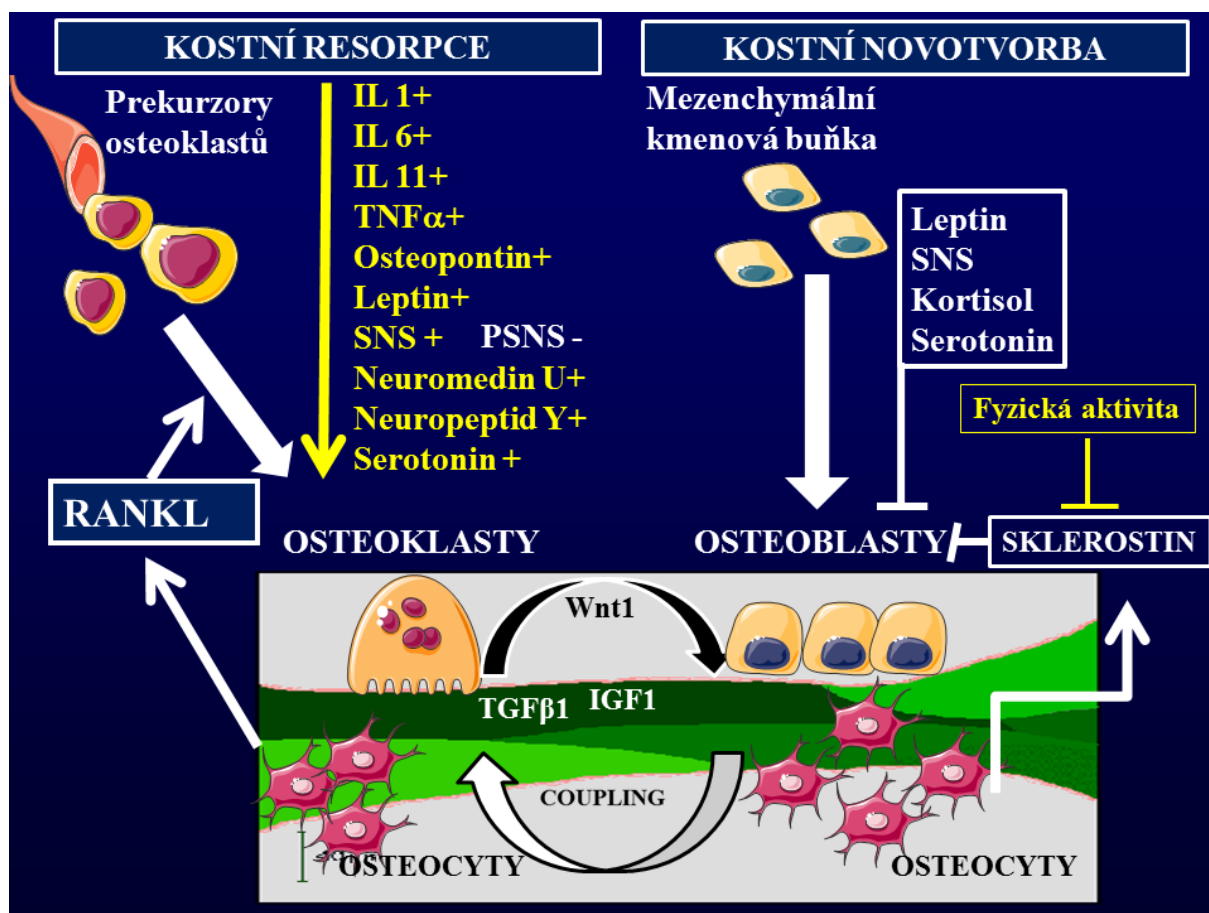
resorpce (Jilka et al. 2013). Léčba inhibitory apoptózy blokuje imobilizací indukovanou apoptózu osteocytů a zvýšenou intrakortikální resorpci kosti (Cardoso et al. 2009). Bylo zjištěno, že pro mechanickou zátěží indukovanou aktivací ERK dráhy a útlum apoptózy osteocytů je nezbytná aktivace estrogenových receptorů (Cardoso et al. 2009). U myši, kterým chybí estrogenové receptory α nebo β je odpověď skeletu na mechanickou zátěž výrazně snižená (Lee et al. 2003). Molekulární mechanismy zodpovědné za imobilizací navozenou apoptózu osteocytů zatím zůstávají nejasné, ale diskutuje se význam oxidu dusnatého a prostaglandinů (Komori 2016).

Na molekulární úrovni bylo zjištěno, že imobilizace je spojena se zvýšenou produkcí sklerostinu (Lin et al. 2009) a RANK ligandu osteocyty (Cabahug-Zuckerman et al. 2016) (Obr.1). V patogenezi imobilizační osteoporózy má pravděpodobně významnou úlohu sklerostin, inhibitor Wnt/ β -katenin signální dráhy (Li et al. 2005), která je klíčová pro kostní novotvorbu (v přehledu Zikán 2010). Sklerostin (glykoprotein o 213 aminokyselinách, produkt genu SOST) je tvořen téměř výlučně v osteocytech (van Bezooijen et al. 2004). Mutace způsobující ztrátu funkce SOST genu vedou k tzv. sklerostóze (OMIM 269500) a van Buchemově chorobě (OMIM 239100), které se vyznačují nadprůměrným množstvím kvalitní kostní hmoty. Myši s deficitem sklerostinu (Sost $-/-$) byly odolné proti úbytku kostní hmoty vyvolané imobilizací (Qin et al. 2016). Také podání sklerostin neutralizačních protilátek v experimentálním modelu imobilizace navodilo dramatické zvýšení kostní novotvorby a snížení osteoresorpce (Qin et al. 2015).

Význam sklerostinu v patogenezi imobilizační osteoporózy podporují i klinické studie. Gaudio a spol. zjistili, že postmenopauzální ženy po CMP měly vyšší hladinu sklerostinu než zdravé kontroly (Gaudio et al. 2010). Amrein a spol. dokumentovali vztahy mezi cirkulujícími hladinami sklerostinu a fyzickou aktivitou u zdravých dospělých osob, kdy osoby s nejnižší mírou pohybové aktivity měly významně vyšší hladiny sklerostinu ve srovnání s více aktivními jedinci (Amrein et al. 2012). U mladých zdravých mužů, kteří měli přechodně omezený pohyb na lůžku, se koncentrace sklerostinu v séru významně zvýšily z výchozí hodnoty již během 14 dnů (Frings-Meuthen et al. 2013). Zvýšené hladiny sklerostinu byly u zdravých mužů s omezeným pohybem na lůžku pozorovány i po 60 dnech (Spatz et al. 2012). Také pacienti, kteří byli upoutáni k lůžku po míšním poranění (SCI) měli významně zvýšené hladiny sklerostinu v séru v prvních 5 letech od úrazu. V průběhu 5 let ale koncentrace sklerostinu v séru postupně klesaly (Battaglino et al. 2012). U pacientů s chronickým SCI (> 5

let) byly nižší koncentrace sklerostinu spojeny s nižší BMD (a BMC), což naznačuje, že při dlouhodobé imobilizaci je pokles sklerostinu spojen více s úbytkem BMD a pokles sklerostinu tak odráží spíše snížení celkového počtu osteocytů (Battaglini et al. 2012, Morse et al. 2013). U pacientů s RS nebyly koncentrace sklerostinu zatím hodnoceny.

Obr. 1 Zjednodušený přehled regulačních faktorů kostní remodelace (kostní mnohobuněčná jednotka na kostním tráměčku).



Vysvětlivky: IL: interleukiny; TNF: tumor necrosis factor; SNS: sympatický nervový systém; PSNS: parasympatický nervový systém; RANKL: ligand pro receptor aktivující nukleární faktor κ B; IGF: insulin like growth factor; TGF: transforming growth factor; Wnt1: wntless-type, member 1; Coupling: spřažení činnosti osteoblastů, osteocytů a osteoklastů v rámci kostní mnohobuněčné jednotky v procesu kostní remodelace;

⊖ inhibiční vliv; → stimulační vliv;

Regulační mechanizmy kostní remodelace v přehledu: Zikán V. Doktorandská disertační práce, 1. LF UK, Praha, 2003; Zikán V. Osteologický bulletin, 2010, 15: 48-50; Jensen et al. Biochem Biophys Res Commun, 2014, 443:694–699.

2.3.1.2 Svalově - kostní jednotka („muscle - bone unit“)

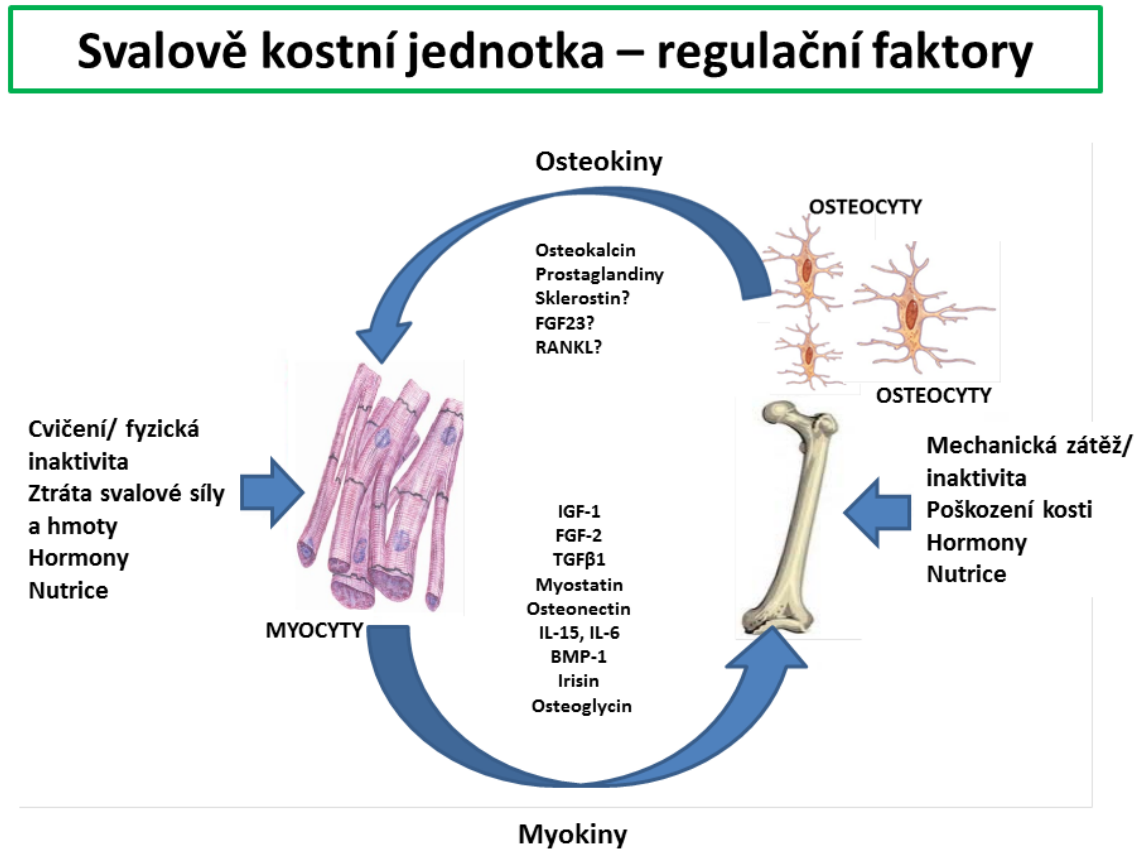
Pojem svalově kostní jednotka ("muscle-bone unit", MBU) zdůrazňuje úzký vztah, který existuje mezi kostní a svalovou tkání (Laurent et al. 2016, Zhou a Bonewald 2015) (Obr. 2). Přítomnost tohoto funkčního celku je podpořena řadou důkazů. Pozitivní korelace mezi obsahem kostního minerálu (BMC) a svalovou hmotou přitom přetrvává po celou dobu života (Cianferotti et al. 2014). Sval a kost jsou odvozeny ze společných mezenchymálních progenitorových buněk v průběhu embryogeneze a jejich vývoj je úzce koordinován působením řady překrývající se genů a růstových faktorů (Hamrick et al. 2010). Skelet se během celého života přestavuje v důsledku působení svalové a gravitační síly. Svalová síla je nezbytná pro udržení rovnováhy mezi tvorbou kosti a kostní resorpcí (Bloomfield 2010, Karinkanta et al. 2010). Hybný deficit a rovněž dlouhodobá léčba glukokortikoidy (GK) mají katabolické účinky na tělesné složení, zejména na svalovou hmotu i u pacientů s RS. Studie, které hodnotily tělesné složení u pacientů s RS ve srovnání se zdravými osobami, dokumentovaly významnou asociaci mezi beztukovou (svalovou) tělesnou hmotou a BMD, zejména u imobilních pacientů s výrazným motorickým deficitem (EDSS \geq 7), ale nikoli u nemocných s lehčím motorickým postižením (Formica et al. 1997, Lambert et al. 2002, Mojtahedi et al. 2008, Sioka et al. 2011). Studie hodnotící svalové biopsie (m.vastus lateralis) prokázaly menší plochu průřezu svalových vláken (cross sectional area) a sníženou svalovou sílu dolních končetin (m. quadriceps) i u pacientů s mírným motorickým deficitem ve srovnání s kontrolní skupinou (Wens et al. 2014).

Množství a kvalitu kostní a svalové tkáně během života určují jak genetické, tak environmentální faktory (např. výživa). Na regulaci se podílí jak společné systémové mechanismy (endokrinní a neurální regulace), tak komunikace mezi svalovou a kostní tkání na orgánové úrovni (biomechanické signály během fyzické zátěže) a na buněčné (intercelulární komunikace) a molekulární úrovni (myokiny, cytokiny nebo růstové faktory (Obr. 2) (Hamrick et al. 2010, Guo et al. 2017). Parakrinní komunikace mezi svalovými a kostními buňkami vyžaduje těsný kontakt mezi těmito tkáněmi; takové rozhraní představuje periost. Některé myokiny a růstové faktory ale mohou působit i vzdáleně (endokrinní působení). Bylo např. zjištěno, že svalová hmota končetin koreluje s tloušťkou kortikální kosti

nejen v sousedství mechanicky zatížených kostí, ale i s mikroarchitekturou kosti ve vzdálených místech skeletu, což naznačuje existenci dalších systémových regulačních mechanismů mezi svalovou a kostní tkání (Lebrasseur et al. 2012). Endokrinní působení by mohl mít např. IGF-1 a FGF-2 (fibroblastový růstový faktor 2). Bylo zjištěno, že svalové buňky exprimují také RANKL a jeho receptor osteoprotegerin (OPG) (Xiong et al. 2011). Imobilizace navozuje rychlé snížení poměru RANKL / OPG mRNA v C2C12 myotubulech (Juffer et al. 2014). Lokální regulace MBU u RS zatím nebyla více zkoumána, ale byly dokumentovány možné změny v neurální a endokrinní regulaci zejména při imobilizaci.

Recentní studie naznačují, že také kostní buňky mohou přímo nebo endokrinně působit na svalové buňky (Obr.2). In vitro studie ukázaly, že osteocytům podobné buněčné linie (MLO-Y4) exprimují řadu faktorů, které mohou na sval působit anabolicky i katabolicky, např. interleukin 6, prostaglandin E2, vaskulární endoteliální růstový faktor (VEGF), růstový faktor hepatocytů (HGF), IGF- 1 a mechano-růstový faktor (MGF) (Bakker a Jaspers 2015, Juffer et al. 2012). V jiné studii byl vývoj kosterních svalů u myši porušen v případě, že je vyřazen gen pro connexin 43 v osteoblastech a osteocytech, což vedlo také poklesu nedostatečně karboxylovaného osteokalcinu (Shen et al. 2015). Osteokalcin (OC), který produkují osteocyty a osteoblasty má endokrinní působení a uplatňuje se mj. v regulaci funkce β -buněk (Lalwani et al. 2014). Nedostatečně karboxylovaný OC je aktivní formou hormonu, který je uvolňován z kosti jednak prostřednictvím přímé sekrece osteocyty a osteoblasty, jednak během osteoklastické resorpce kosti (Ferron et al. 2010). Expresi OC indukuje, jak vitamin D (jeho gen obsahuje tzv. vitamin D response element (VDRE; Girgis et al. 2014), tak PTH. Naopak kortizol jeho expresi tlumí. OC pravděpodobně působí i na na myocyty, ve kterých může modulovat mitochondriální funkce a citlivost na inzulín (Lalwani et al. 2014).

Obr. 2. Svalově kostní jednotka a lokální a endokrinní regulační faktory.



Vysvětlivky: FGF23: fibroblast growth factor 23, IGF-1: insulin-like growth factor 1, TGF-β1 transforming growth factor β1, IL: interleukin, MMP-2 matrix metalloproteinase 2, BMP: bone morphogenetic protein

Nervová regulace MBU

Denervace, poranění míchy nebo neuro-muskulární onemocnění vede vždy k úbytku svalové i kostní hmoty. Periost i trabekulární kost (a v menším rozsahu i kortikální kost a růstová ploténka) jsou přímo inervovány autonomními eferentními a senzoryckými aferentními vlákny (Gajda et al. 2010). U pacientů s RS by se mohl uplatňovat zejména zvýšený tonus sympatiku (viz kap. 2.3.7.3). Aktivace sympatického nervového systému (SNS) vede u myši k úbytku kostní hmoty v důsledku potlačení kostní novotvorby a zvýšení kostní resorpce prostřednictvím β 2 adrenergních receptorů (Adrb2) na osteoblastech (Pierroz et al. 2012). Bylo zjištěno, že β -adrenergní blokáda snižuje úbytek kostní hmoty při imobilizaci (Baek et al. 2009). Tyto účinky jsou vysvětlovány zejména inhibicí exprese RANKL osteoblasty / osteocyty. Studie se selektivním odstraněním β 1- a β 2-adrenergních receptorů ukázaly význam β 1-adrenergní signalizace pro odpověď trámčité i kortikální kosti na mechanickou stimulaci (Pierroz et al. 2012). Byť experimentální data u myši dobře dokumentují mechanismy, které se uplatňují v patogenezi ztráty kostní hmoty a rizika zlomenin v nepřítomnosti β -adrenergní signalizace, je nezbytné klinické ověření. Observační klinické studie zatím ukázaly rozdílné výsledky při hodnocení vlivu léčby β -blokátory na riziko zlomenin (Rejnmark et al. 2006, Reid 2008). Bylo experimentálně zjištěno, že také inhibice senzoryckých nervů vede k úbytku trámčité kostní hmoty u myši, ale zda je to v důsledku změny vnímání mechanické zátěže nebo se uplatňuje vliv lokálních faktorů, jako je substance P nebo kalcitonin-gene-related peptid (CGRP) nebylo objasněno (Heffner et al. 2014). Zatím nebylo objasněno v jakém rozsahu imobilizační osteoporóza, stejně jako svalová atrofie zahrnuje motorické neurony, senzorycká, sympatická nebo parasympatická nervová vlákna.

Hormonální regulace MBU

Svaly a kosti sdílejí mnoho endokrinních, parakrinních a autokrinních signálních cest. Mezi nejvýznamnější patří růstový hormon (GH)/ IGF-1, receptor pro vitamin D (VDR), receptor pro glukokortikoidy (GR) a pohlavní hormony. Také svalové myokiny myostatin a follistatin a příbuzné proteiny mohou působit nejen lokálně, ale i systémově podobně jako hormony.

U pacientů s RS byly dokumentovány poruchy *osy GH-IGF-1*. Nižší koncentrace GH byly zjištěny opakovaně u pacientů s RS (Davies et al. 1996), zejména u žen s těžším průběhem RS (Gironi et al. 2013). Lanzillo a spol. zjistili nižší poměr IGF-I / IGFBP-3 u

pacientu s RS ve srovnání s kontrolní skupinou (Lanzillo et al. 2011). Snížené hladiny IGF-1 byly popsány také při těžké imobilizaci (Aberg et al. 2011). Placebem kontrolované studie u žen bez RS po zlomenině kyčle ukázaly, že rekombinantní IGF-1 / IGFBP-3 zvyšuje BMD a sílu stisku ruky (Boonen et al. 2002). Také řada experimentálních studií ukazuje, že deficit nebo rezistence na GH/IGF-1 při fyzické inaktivitě nebo imobilizaci přispívá ke snížené odpovědi svalů na mechanické podněty a ke svalové atrofii se ztrátou kostní hmoty. U RS jsou popsány i dysfunkce *osy hypotalamus-hypofýza-nadledvinky (HPA)* (Ysrraelit et al. 2008). K poruše může dojít buď přímým poškozením hypotalamu nebo sekundárně v důsledku globální stresové reakce při RS. Zvýšená aktivita HPA osy byla dokumentována např. vyšetřením hladin kortizolu v mozkomíšním moku a horší průběh RS byl spojen s vyšším počtem CRH produkujících neuronů v paraventriculárním jádře hypotalamu (Melief et al. 2013). Další častěji postiženou hormonální cestou u RS je osa *hypotalamus-hypofýza-gonády*. U mužů s RS byl dokumentován hypogonadotropní hypogonadismus (Bove et al. 2014). Androgeny mají nejen anabolické účinky na svalstvo, ale také regulují metabolismus kostí přes androgenní receptor (AR), stejně jako aromatizace androgenů na estrogeny a stimulace estrogenových receptorů (ER α a ER β) (Vanderschueren et al. 2014). U mužů patří androgeny a jejich estrogenní metabolity ke klíčovým regulátorům kostní hmoty (Ongphiphadhanakul et al. 1995) a jejich nedostatek přispívá k úbytku kostní hmoty i u mužů s RS (Wei a Lightman 1997, Weinstock-Guttman et al. 2004). Nízké koncentrace testosteronu u mužů s RS asociovaly také se zhoršením funkčních testů a EDSS (Bove et al. 2014). V populaci mužů bez RS byly nižší koncentrace testosteronu spojeny rovněž s vyšším rizikem pádů (Vandenput et al. 2017). Na buněčné úrovni, mechanická stimulace aktivuje estrogenové receptory alfa (ER- α), které jsou klíčové pro regulaci kostní remodelace. U žen po menopauze bylo zjištěno, že snížení počtu receptorů ER α významně snižuje schopnost kostních buněk indukovat osteoanabolickou odpověď na mechanické zatížení skeletu (Lee a Lanyon 2004). Wei a spol. dokumentovali nízké hladiny estradiolu až u 25 % pacientek s RS před menopauzou (Wei a Lightman 1997).

2.3.2 Riziko pádů

K vyšší prevalenci zlomenin u pacientů s RS přispívá i zvýšené riziko pádů v důsledku poruchy rovnováhy a ztráty svalové hmoty a síly (Nilsagard et al. 2009, Peterson et al. 2008, Finlayson et al. 2006). Pády jsou u pacientů s RS časté (Cattaneo et al. 2002, Kirby et al.

2004) a jejich frekvence je pravděpodobně vyšší než u osob starších 65 let v běžné populaci bez RS, z nichž přibližně 30 % padá alespoň 1 ročně (Blake et al. 1988). Ve studii Marrie a spol. u nemocných s RS referovalo alespoň 1 pád za poslední rok 41,6 % pacientů s lehkým stupněm hybného postižení, 66,4 % pacientů se středním stupněm disability a 62,1 % pacientů s těžkým stupněm motorického deficitu (Marrie et al. 2009). Nejvyšší riziko pádů bylo tedy u pacientů, kteří jsou ještě mobilní, ale k chůzi již potřebují jednostrannou nebo oboustrannou oporu (EDSS 6–6,5). K vyššímu riziku pádů u pacientů s RS přispívá dále nedostatek vitamínu D (kap. 2.3.3) a léčba glukokortikoidy, která má katabolické účinky na svalovou tkáň (kap. 2.3.4) a rovněž poruchy rovnováhy (kap. 2.3.7.4).

2.3.3 Nedostatek vitamínu D

Na základě klinických studií v populacích bez RS je nedostatek vitamínu D definován při hodnotách 25 hydroxyvitamínu D (25OHD) v séru pod 30 ng/ml (75 nmol/l) (v přehledu Zikan 2010c). U nemocných s RS byly opakovaně zjištěny nízké koncentrace 25OHD pod 20–30 ng/ml (Weinstock-Guttman et al. 2004, Barnes et al. 2007, Van der Mei et al. 2007, Ozgocmen et al. 2005, Terzi et al. 2010, Hiremath et al. 2009). Snížené koncentrace 25OHD se mohou častěji vyskytovat u pacientů s vyšším stupněm motorického deficitu vzhledem k nízké expozici slunečnímu záření. Pacienti s RS se také více chrání před slunečním zářením vzhledem k časté intoleranci tepla. Nižší koncentrace 25OHD v séru byly dále zaznamenány při akutních exacerbacích RS (Correale et al. 2009).

Vitamin D je důležitý jak pro kostní a fosfokalciový metabolismus, tak pro metabolismus svalových buněk. Střevní absorpce vápníku významně klesá při koncentracích 25OHD pod 20 nmol/l (Need et al. 2008) a nízké sérové koncentrace 25OHD přispívají k rozvoji sekundární hyperparatyreózy a k úbytku kostní hmoty. Nízké sérové koncentrace 25OHD (< 50 nmol/l) zvyšují u starší populace bez RS riziko neobratlových zlomenin včetně zlomenin proximálního femuru (Swanson et al. 2015, Garnero et al. 2007). Lidský kosterní sval má receptor pro kalcitriol - 1,25(OH)₂D₃ (Girgis et al. 2014a). Kalcitriol stimuluje expresi VDR ve svalech (Pojednic et al. 2015) a indukuje diferenciaci svalových buněk tím, že zvyšuje expresi IGF-II a folistatinu a snižuje expresi myostatínu (Garcia et al. 2011). Myostatin je endokrinní faktor (patří do super rodiny TGFβ), který produkují svalové buňky a jehož úkolem je bránit zvýšené tvorbě svalové hmoty. Léčba vitaminem D v experimentu zdvojnásobila velikost myotubulů ve svalových buňkách (Girgis et al. 2014b). Inhibice

myostatínu je spojená také s nárůstem kostní hmoty (Elkasrawy et al. 2010).

Nedostatek vitamínu D v populaci bez RS je spojen se svalovou slabostí, zejména proximálních svalových skupin a s vyšším rizikem pádů (Snijder et al. 2006). Fyzická výkonnost klesá, pokud sérové koncentrace 25OHD klesají pod 50 nmol/l, a dále se zrychluje, pokud je 25OHD nižší než 30 nmol/l (Wicherts et al. 2007). Meta-analýza randomizovaných klinických studií v populacích bez RS potvrdila, že vitamín D může snížit výskyt pádů (Bischoff-Ferrari et al. 2009), přitom ke snížení rizika pádů je nutná koncentrace 25OHD alespoň 60 nmol/l (Bischoff-Ferrari et al. 2009). Podobně kvalitní studie v populaci pacientů s RS zatím nebyly publikovány, ale je pravděpodobné, že i u pacientů s RS bude suplementace vitamínem D příznivě působit na metabolismus svalů (Tanner a Harwell 2015, Van Amerongen et al. 2004). Dosud také nebyla zaznamenána žádná korelace mezi 25OHD a BMD u pacientů s RS, i když počty pacientů ve studiích byly malé a studie se také lišily geografickou oblastí (Confavreux et al. 2000). Působení kalcitriolu na kostní hmotu (BMD) a svalovou sílu mohou modulovat i polymorfismy genu receptoru pro vitamín D (VDR), alespoň v populacích bez RS (Arabi et al. 2010, Barr et al. 2010). U pacientů s RS ale vztah mezi polymorfismy VDR a BMD nebyl nalezen (Lambrinouadaki et al. 2013). Také chybí studie hodnotící vztahy mezi cirkulujícími hladinami 25OHD a parametry svalové funkce. Dosavadní studie rovněž nepotvrdily kauzalitu mezi nedostatkem vitamínu D a etiopatogenezí RS (Hempel et al. 2017). Substituce vitamínem D ale má i rizika. Intermitentně podávané vysoké dávky vitamínu D (orální cholekalciferol 150000 IU jednou za 3 měsíce) nebyly účinné ve snížení rizika pádů, zlepšení mobility nebo zlepšení svalové síly u starších žen bez RS (Glendenning et al. 2016). Ve vyšších koncentracích 1,25(OH)₂D₃ také stimuluje osteoresorpci (Lieben a Carmeliet 2013).

2.3.4 Glukokortikoidy

Nadbytek glukokortikoidů (GK) významně snižuje pevnost kostí a může se projevit zlomeninami již za 3-6 měsíců po zahájení léčby GK (Manolagas 2000). BMD u pacientů léčených GK ale nekoreluje s rizikem zlomenin (Weinstein 2011). Při léčbě GK se při zahájení léčby mírně zvyšuje osteoresorpce (prodloužení životnosti osteoklastů), ale současně rychle a výrazně klesá novotvorba kostní hmoty (Mirza a Canalis 2015) a zrychluje se apoptóza osteoblastů a osteocytů (Manolagas 2000). GK významně tlumí klíčovou signální dráhu pro diferenciaci osteoblastů - Wnt/ β kateninovou signální dráhu a tím tlumí kostní

novotvorbu. Snížená aktivita a apoptóza osteocytů způsobuje poruchu mechanosenzorické a detekční funkce osteocytů, v kosti se akumulují apoptotické nefunkční osteocyty a mikropoškození a pevnost kosti se rychle snižuje nezávisle na úbytku BMD (Amiche et al. 2016). GK také brání diferenciaci osteoblastů z mezenchymálních kmenových buněk v kostní dřeni (Kang et al. 2016). Při nadbytku GK se také blokuje angiogeneze a transport solutů z periferní krve do kostního systému, což vede ke snížené hydrataci kostní tkáň (Weinstein et al. 2010). Za sníženou vaskularizaci kosti při léčbě GK odpovídá jednak snížená produkce vaskulárního endoteliálního růstového faktoru (VEGF) osteoblasty a osteocyty, jednak zvýšená rezistence vůči působení VEGF. GK mají i další extraskeletální účinky – mají významný katabolický účinek na svalovou tkáň a vedou ke svalové atrofii, inhibují sekreci gonadotropinů v hypofýze a tlumí střevní transport vápníku (v přehledu Zikán 2007).

U pacientů s RS je časté užití pulzní léčby GK po dobu 3–5 dní v době akutní exacerbace („ataky“) onemocnění. Naopak dlouhodobá léčba GK již nepatří ke standardní léčbě u většiny pacientů s RS, jelikož jsou dostupné další imunomodulační léky. U části pacientů s RS se ale nízká dávka GK stále užívá, zejména v kombinaci s dalšími imunomodulačními léky. Za rizikovou dávkou GK se přitom považují dávky 5 mg prednisonu a více na den (resp. 30 g prednisonu za rok). Podle epidemiologických studií mohou ale zlomeniny vznikat již při denní dávce 2,5 mg prednisonu (Van Staa et al. 2000, Caplan a Saag 2009). Publikované prospektivní studie, ve kterých pacienti s RS dostávali opakovaně i.v. pulsy methylprednisolonu, neprokázaly významný úbytek BMD během 12 měsíců léčby (Bergh et al. 2006, Olsson et al. 2015). Byť pulzní léčba GK hluboce potlačuje kostní novotvorbu a zvyšuje přechodně kostní resorpci, tak po ukončení i.v. léčby GK dochází k významnému vzestupu ukazatelů kostní novotvorby, což svědčí pro reparační osteoanabolický účinek (Dovio et al. 2004). Pouze dvě průřezové studie poukázaly na možnou souvislost mezi úbytkem kostní hmoty a léčbou GK u RS (Formica et al. 1997, Ozgocmen et al. 2005). Formica a spol. zjistili deficit celotělového obsahu kostního minerálu u pacientů s RS s těžkým motorickým deficitem, což autoři vysvětlovali současným úbytkem svalové hmoty, jelikož doba trvání léčby GK významně korelovala s množstvím svalové hmoty (Formica et al. 1997). Ozgocmen a spol. zjistili, že kumulativní dávka GK (zjištěna anamnesticky) významně negativně korelovala s BMD v oblasti velkého trochanteru, ale už nikoliv s BMD v krčku stehenní kosti nebo v bederní páteři (Ozgocmen et al. 2005).

Absence negativních účinků pulzní léčby GK na BMD, ale nemusí znamenat nižší

riziko zlomenin, jelikož zlomeniny se vyskytují u dlouhodobých uživatelů GK ve vyšším pásmu BMD než u pacientů, kteří GK neužívají (Van Staa et al. 2003). Samotné měření BMD totiž nehodnotí kvalitu kosti, kterou dlouhodobá léčba GK významně poškozuje. Je známo, že přímé i nepřímé účinky GK na skelet vykazují také významnou inter-individuální variabilitu. Zvýšená citlivost skeletu na GK může být důsledkem zvýšené exprese 11β -hydroxysteroid dehydrogenázy typu 1 v osteoblastech; enzymu, který aktivuje GK na tkáňové úrovni (z neaktivního kortisonu vzniká hydroxylací v poloze C-11 aktivní kortizol) (Dovio et al. 2008). Aktivitu tohoto enzymu zvyšuje jak nadbytek GK, tak věk nebo prozánětlivé cytokiny např. tumor nekrotizující faktor α (TNF α) a IL-1 β (Cooper et al. 2001). K interindividuelní variabilitě odpovědi na léčbu GK může přispívat i rozdílná afinita glukokortikoidních receptorů ke kortisolu (Colli et al. 2007).

2.3.5 Imunitní systém, cytokiny

V patogenezi RS i osteoporózy mají významnou úlohu i imunitní buňky a cytokiny (Yuan et al. 2010). RS je řazena mezi onemocnění s primární poruchou lymfocytů T-helper (Th)-1, ale uplatňují se i Th17, B-lymfocyty a CD8+ T buňky a jak CD8+ tak CD4+ T regulační buňky přispívají k zánětlivým změnám (Korn 2008). Zánětlivá a autoimunitní onemocnění, vedoucí k aktivaci T-lymfocytů mohou porušovat kostní homeostázu a stimulovat tvorbu i aktivitu osteoklastů. Aktivované T-lymfocyty exprimují prozánětlivé cytokiny, především TNF α , interleukin (IL)-1, IL-6 a IL-11, které dále stimulují expresi RANK ligandu (receptor aktivující nukleární faktor κ B) v kostním mikroprostředí. Samotné aktivované T-lymfocyty rovněž produkují RANKL (Ehrhardt et al. 2008). Lymfocyty produkují také cytokiny s inhibičními účinky na osteoklasty a osteoklastogenezi, patří mezi ně IL-4, IL-10, IL-13 a interferon- γ (INF- γ). Osteoblasty a osteocyty produkují i další polypeptid osteoprotegerin (OPG), který je vazebným receptorem pro RANKL, a blokuje vazbu RANKL na RANK receptor preosteoklastů a osteoklastů. Systém RANKL/RANK/OPG je klíčový pro regulaci kostní remodelace (Martin a Sims 2015). U pacientů s RS zatím nebyl význam T-lymfocytů ve vztahu RANKL/OPG systému a regulaci kostní remodelace detailně zkoumán. V menších studiích byly u pacientů s RS zjištěny vyšší sérové koncentrace RANKL, ale i OPG ve srovnání se zdravými osobami (Kurban et al. 2008). Z dalších cytokinů byl zkoumán např. osteopontin (Bornsen et al. 2011, Comabella et al. 2005). Osteopontin má prozánětlivé působení a zvýšené koncentrace osteopontinu byly dokumentovány v plazmě i

v mozkomíšním moku u pacientů s RS ve srovnání se zdravými jednotlivci (Vogt et al. 2010). Hladiny osteopontinu v plazmě také pozitivně korelovaly s BMD v krčku femuru (Altintas et al. 2009). Význam osteopontinu a dalších cytokinů ve vztahu ke kostní remodelaci u pacientů s RS nepochybně vyžaduje další studium.

Imunomodulační léčba s vlivem na kostní metabolismus

Interferon- β , který je užíván k léčbě RS, potlačuje osteoklastogenezi a diferenciaci osteoklastů prostřednictvím signální dráhy JAK/STAT (Abraham et al. 2009, Seeliger et al. 2015). Dlouhodobá léčba interferonem- β neměla negativní vliv na BMD (Varoglu et al. 2010). *Fingolimod (FTY 720)* je analog sfingosinu používaný pro léčení relabující-remitentní RS (Lublin et al. 2016). Nemoc modifikující účinek fingolimodu na relaps-remitentní RS je zprostředkován přes modulaci receptorů pro sfingosin-1-fosfát (S1P) na lymfoidní a nervové tkáni (Chun et al. 2010), ale S1P signalizace má vliv na patogenezi mnoha dalších onemocnění, včetně osteoporózy (Miyazaki et al. 2016). S1P signalizace reguluje migraci monocytů a makrofágů (prekurzorů osteoklastů) z krevního oběhu do kostní tkáně (Ishii et al. 2009) a stimuluje tvorbu RANK ligandu. Kromě toho, vysoké hladiny cirkulujícího S1P pozorované u žen po menopauze pozitivně korelovaly s markery kostní resorpce a negativně s BMD (Lee et al. 2012). Kim a spol. rovněž dokumentovali vyšší koncentrace S1P u postmenopauzálních žen s frakturou obratle (Kim et al. 2012). Léčba fingolimodem u žen s RS potlačuje osteoresorpci (Miyazaki et al. 2016). Účinky novějších imunomodulačních léků na kostní metabolismu zatím nebyly zkoumány.

2.3.6 Deprese a antidepresiva

Epidemiologické studií svědčí o zvýšené prevalenci depresivních poruch a úzkosti u pacientů s RS (Boeschoten et al. 2017). Deprese je spojena s dysfunkcí imunitního systému a s narušením cirkadiálního rytmu řady hormonů, mj. je doprovázena narušením hypotalamo-hypofyzární –adrenální (HPA) osy (Melief et al. 2013) a porušenou sekrecí ACTH (Then-Bergh et al. 1999). U premenopauzálních žen s depresí je zvýšená produkce nočního leptinu (Cizza et al. 2010). Leptin moduluje několik endokrinních os, včetně HPA osy negativní zpětnou vazbou v hypotalamu (Heiman et al. 1997) a zvýšené koncentrace leptinu jsou spojovány se zvýšenou aktivací sympatického nervového systému (SNS, viz kap. 2.3.6.3) a s osteopenií (Iwamoto et al. 2000). Asociace mezi osteoporózou a depresí (Cizza et al. 2009) by mohla být alespoň částečně vysvětlena zvýšenou aktivitou SNS (Hughes et al. 2004), což

podporují i výsledky na myším modelu deprese (Yirmiya et al. 2006). Deprese a/nebo léčba antidepresivy také zvyšuje riziko pádů (Marcum et al. 2016).

Bylo zjištěno, že s vyšším rizikem osteoporotických fraktur je spojeno také užívání antidepresiv s vysokou afinitou k 5-HTT (5-hydroxytryptamin reuptake transporter) (Wang et al. 2016, Verdel et al. 2010, Warden a Fuchs 2016). BMD byla nižší u nemocných, kteří užívali selektivní inhibitory zpětného vychytávání serotoninu (SSRI), ale nikoliv mezi uživateli jiných antidepresiv. In vivo studie ukázaly, že 5-HT může snížit kvalitu i množství kostní hmoty (Warden et al. 2010). 5-HTT se nachází v osteoblastech, osteoklastech i osteocytech a inhibice 5-HTT pomocí SSRI (fluoxetinhydrochlorid) měla anti-osteoblastické účinky u potkanů (Warden et al. 2010). Další výzkum je třeba k potvrzení tohoto zjištění i s ohledem na rozšířené užití SSRI u lidí (Warden a Fuchs 2016).

2.3.7 Poruchy centrální a neurální regulace kostní remodelace

Objevy, které ukázaly, že na regulaci kostní hmoty se přímo podílí i centrální nervový systém (CNS) a neurohumorální systém přináší nový pohled i na patogenezi osteoporózy, která je chápána jako neuroskeletální onemocnění (Takeda 2009). CNS komunikuje s osteoblasty (a pravděpodobně i s osteocyty) pomocí sympatického nervového systému (SNS, eferentní dráhy). Recentní práce ale přinášejí důkazy i pro zapojení parasympatického nervového systému (buď nepřímo prostřednictvím muskarinových sympatických nervů v mozku, nebo přímo přes nikotinové receptory na osteoklastech) a pozornost je věnována také sensorické inervaci kosti (Elefteriou et al. 2014, Dimitri a Rosen 2016).

Kostní remodelace je dynamický vysoce koordinovaný proces kostní resorpce a následné tvorby nové kostní hmoty. V souladu se známou cirkadiánní variabilitu biochemických markerů kostní remodelace (v přehledu Zikán a Štěpán 2001, Luchavová et al. 2011) a kalciotropních hormonů, zejména PTH (v přehledu Luchavová a Zikán 2010) bylo prokázáno, že kostní remodelace je rovněž pod kontrolou hodinových genů. Podstatná část genů jakékoli tkáně vykazuje periodickou cirkadiánní expresi genů (Xi et al. 2014) a kostní buňky nejsou výjimkou (Fu et al. 2005, Maronde et al. 2010, Hirai et al. 2014, Takarada et al. 2016, Fujihara et al. 2014). Periferní hodinové geny nebyly zatím identifikovány v osteocytech. Byl ale popsán cirkadiánní rytmus osteocytárního hormonu fibroblastového růstového faktoru 23 (Smith et al. 2012, Kawai et al. 2014). Význam hodinových genů v regulaci kostního metabolismu potvrdily studie u knock-out myši, kdy delece genů *Per1* a *2*

nebo Cry1 a 2 vedla k nadprůměrně vysoké BMD, bez zjevné metabolické poruchy nebo změn v tělesném složení (Fu et al. 2005). Vysoká BMD vzniká u myši s delecí genu Per 2 v důsledku nárůstu kostní novotvorby a u Cry 2 deficitních myši v důsledku snížené aktivity osteoklastů. Další mechanismus, jehož prostřednictvím mohou cirkadiánní geny ovlivňovat tvorbu kostní hmoty, je diferenciace osteoblastů z mezenchymálních kmenových buněk v kostní dřeni (Guntur et al. 2011).

2.3.7.1 Poruchy cirkadiánního rytmu kostní remodelace

Je pravděpodobné, že zánětlivé a neurodegenerativní procesy CNS u pacientů s RS mohou narušit i cirkadiánní rytmus řady systémů včetně kostní remodelace (Obr. 3). Jsou nejméně tři důvody, proč se domnívat, že RS vede k poruše cirkadiánního rytmu kostní remodelace: 1) autonomní dysfunkce (zejména SNS) je u RS častá a může se uplatňovat již v počátcích onemocnění (Videira et al. 2016, Habek et al. 2016). Jelikož SNS působí přes β 2AR na osteoblastech a reguluje kostní novotvorbu a resorpci prostřednictvím hodinových genů (Fu et al. 2005, Yao et al. 2016), tak je pravděpodobné, že se vyšší aktivita SNS (případně nižší aktivita parasympatiku) může podílet i na ztrátě BMD u pacientů s RS; 2) klinické i experimentální studie (Buenafe et al. 2012) naznačují, že RS má vliv na SCN hypotalamu, melatonin a další hormony např. leptin a kortizol, které se podílí na synchronizaci cirkadiánního rytmu kostní remodelace; 3) u pacientů s RS se častěji vyskytují další poruchy s vlivem na cirkadiánní systém, jako jsou poruchy spánku, poruchy rovnováhy, deprese, poruchy termoregulace, chronická únava nebo kognitivní deficit.

Cirkadiánní rytmy v periferních tkáních jsou synchronizovány s centrálním oscilátorem („master clock“) v suprachiasmatických jádrech (SCN) hypotalamu. To umožňuje, aby signály z vnějšího prostředí byly synchronizovány s periferními hodinovými geny. Tato synchronizace je důležitá pro optimální buněčný metabolismus (Golombek et al. 2013). Například v každé aktivní kostní BMU je fáze resorpce a novotvorby kosti urychlena během noci a zpomalena během dne. To umožňuje, aby reparační procesy a obnova kostní hmoty nenarušily rovnováhu v jednotlivých BMU, která by vedla ke ztrátě kosti. I když centrální oscilátor v SCN synchronizuje cirkadiánní rytmus periferních tkání, tak nemá absolutní převahu (Buijs 2016). Periferní hodiny obsahují shodné hodinové geny a proteiny jako SCN, ale mohou být regulovány podněty z vnějšího prostředí např. příjmem potravy/hladověním nebo fyzickou aktivitou nezávisle na SCN a cyklu střídání světla a tmy. To znamená, že centrálně nastavený rytmus může být přepsán v periferních tkáních jinými

vnějšími podněty (tzv. “zeitgebers“) (Golombek et al. 2013). Periferní cirkadiánní hodiny se vyznačují různou citlivostí na vnější podněty a mohou se synchronizovat s jinou rychlostí, než centrální hodiny, což vede k vnitřní desynchronizaci (Gonnissen et al. 2013). Tato desynchronizace je spojována s rozvojem metabolických, kardiovaskulárních a nádorových onemocnění, pravděpodobně z důvodu neefektivních a nekoordinovaných buněčných reparačních procesů. Dlouhodobá negativní nerovnováha v kostní remodelaci (vyšší osteoresorpce a/nebo útlum kostní novotvorby) vede k porušené reparační schopnosti kosti a k rozvoji osteoporózy a zlomenin. Mezi onemocnění, kde dochází k poruchám cirkadiánního rytmu řady fyziologických procesů (např. spánku) a hormonů (např. melatoninu a leptinu) patří i roztroušená skleróza (Obr.3).

2.3.7.2 Poruchy spánku

Cyklus spánek a bdění je řízen cirkadiánními hodinami (Mistlberger 2005). Poruchy spánku jsou u pacientů s RS častější než v běžné populaci (Braley et al. 2016, Caminero et al. 2011). U lidí se normální spánek skládá z cyklů REM (rychlé pohyby očí) a non-REM fázi; každá etapa se vyznačuje výraznými vzory mozkové aktivity a pohybů svalů a očí. Pomalé spánkové vlny se nacházejí ve fázi non-REM spánku, která je považována za nejvíce regenerační (Tononi et al. 2006). Pomalé spánkové vlny jsou spojeny se zvýšenou parasympatickou aktivitou a se snížením aktivity SNS, a také se zvýšeným uvolňováním některých hormonů, včetně růstového hormonu. Cardinali a spol. navrhli, že melatonin může částečně bránit involučnímu úbytku kostní hmoty tím, že prodlužuje fázi spánku s pomalými spánkovými vlnami a zvyšuje produkci růstového hormonu (Cardinali et al. 2003).

Melatonin

Melatonin, jehož koncentrace stoupají v nočních hodinách má význam v regulaci spánku a synchronizaci centrálního cirkadiánního rytmu s hodinovými geny v periferních tkáních. Změny cirkadiánního rytmu melatoninu jsou časté mezi pacienty s relaps-remitující RS (Damasceno et al. 2015, Melamud et al. 2012). Vztahy mezi melatoninem a kostním metabolismem zatím nebyly zcela objasněny (Amstrup et al. 2015). Receptory pro melatonin se nacházejí na lidských osteoblastech (Amstrup et al. 2013). Některé krysí modely vykazují inverzní korelaci mezi markery kostní novotvorby a melatoninem (Ostrowska et al. 2002). U myši melatonin narušuje také funkce osteoklastů a podporuje diferenciaci mezenchymálních kmenových buněk směrem k osteoblastům (potlačuje produkci PPAR γ a zvyšuje expresi

kostních morfogenních proteinů 2 a 4), snižuje expresi RANKL a zvyšuje produkci osteoprotegerinu (Amstrup et al. 2013, Koyama et al. 2002). Ztráta kostní hmoty a změny její struktury byly dokumentovány u ovcí po pinealektomii (Egermann et al. 2011). U lidí bylo zjištěno, že produkce melatoninu klesá s věkem (Hood a Amir 2017). Některé práce naznačují, že příznivé účinky na kostní novotvorbu má pouze kontinuální, ale nikoli přerušované, zvýšení melatoninu (Amstrup et al. 2013). Také exprese receptoru pro melatonin se zvyšuje v noci (pravděpodobně i na osteoblastech) (Amstrup et al. 2013). Nižší koncentrace (nebo přerušovaná sekrece) melatoninu a snížená citlivost vůči melatoninu v důsledku snížené dostupnosti receptoru by mohla vést i k nižší novotvorbě kosti a/nebo k vyšší osteoresorpci. Roční léčba melatoninem u postmenopauzálních žen s osteopenií vedla k nárůstu BMD v krčku stehenní kosti a při vyšším dávkování i BMD v páteři (Amstrup et al. 2012). Melatonin by mohl díky svým antioxidačním vlastnostem příznivě působit i na svalovou hmotu (Coto-Montes et al. 2016). U RS zatím nebyl melatonin ve vztahu ke kostnímu nebo svalovému metabolismu zkoumán.

2.3.7.3 Sympatický nervový systém, leptin

Hladina leptinu v séru vykazuje cirkadiánní rytmus a u lidí dosahuje vrcholu v noci, tedy během spánku a lačnění (Gonnissen et al. 2013, Pan a Kastin 2014). Hlavním mediátorem působení leptinu na kost je SNS, který inhibuje kostní novotvorbu a podporuje resorpci kosti (Motyl a Rosen 2012, Takeda et al. 2002, Fu et al. 2005). Leptin ovlivňuje hodinové geny osteoblastů a pravděpodobně i osteocytů prostřednictvím SNS a β 2-adrenergických receptorů (Adrb2) (Fu et al. 2005, Yao et al. 2016). Aktivace Adrb2 receptorů stimuluje expresi hodinových genů BMAL1, CLOCK, Per1 a Per2 (Fu et al. 2005). Sympatický nervový systém se podílí nejen na inhibici kostní novotvorby (Fu et al. 2005), ale také na regulaci kostní resorpce, kdy zvyšuje expresi RANKL (Kondo et al. 2011) a také expresi CART, která naopak snižuje resorpci kostí (Elefteriou et al. 2005). Biologický význam β 2AR signalizace v regulaci kostní remodelace potvrdily nejen genetické studie (Elefteriou et al. 2014), ale i řada klinických pozorování (Tosun et al. 2011, Farr et al. 2012). Pierroz a spol. ukázali, že aktivace β 2AR prostřednictvím SNS, snižuje novotvorbu kosti a zvyšuje kostní resorpci během stárnutí (Pierroz et al. 2012). Negativní vliv SNS na kost by mohl být dále umocněn např. při nadbytku kortizolu, jelikož glukokortikoidy stimuluji expresi β 2AR v diferencovaných osteoblastech a mohou tak zvyšovat citlivost těchto buněk na stimulaci SNS (Ma et al. 2011).

Skutečnost, že leptin reguluje kostní hmotu tím, že zvyšuje tonus sympatiku, může nabývat na významu u pacientů s RS, kde je častá autonomní dysfunkce (Videira et al. 2016, Habek et al. 2016). Hladiny leptinu byly zkoumány u relaps-remitentní a sekundárně progresivní formy RS s různými výsledky (Messina et al. 2013). U pacientů s RS dochází v různé míře k postižení sympatického i parasympatického nervového systému. Autonomní dysfunkce zahrnující urogenitální, gastrointestinální, kardiovaskulární a termoregulační systém (Haensch a Jorg 2006) je u RS častá a vyskytuje se u 45-84% pacientů (Racosta et al. 2015). Výskyt dysfunkce SNS narůstá s délkou trvání RS, zatímco postižení parasympatiku koreluje spíše s progresí klinické disability (Flachenecker et al. 2001). Autonomní dysfunkce je způsobena demyelinizací specifických struktur CNS, které se podílí na řízení a modulaci autonomního nervového systému, např. locus coeruleus (Polak et al. 2011). Locus coeruleus, hlavní místo pro syntézu norepinefrinu, je zapojen do fyziologické odpovědi na stres a má další funkce (m.j. zasahuje do regulace cyklu spánku a bdění, držení těla a rovnováhy) (Braun et al. 2014). Pacienti s RS vykazují sníženou hladinu norepinefrinu v mozku (Sternberg 2012, Polak et al. 2011) a sníženou intracelulární koncentraci katecholaminů v lymfocytech periferní krve (Rajda et al. 2006), což naznačuje dysfunkci centrálních i periferních sympatických funkcí. Dysregulace v tomto systému může vést u pacientů s RS k řadě klinických příznaků, např. k poruchám spánku, kognitivní dysfunkci, depresi a migrénám. Pacienti s RS také vykazují sníženou aktivitu HPA osy a to jak v klidu, tak během fyziologického stresu (Melief et al. 2013, Kern et al. 2013). Biochemické markery kostní novotvorby dosahují vrcholu v nočních hodinách, kdy je sympatický tonus obvykle nízký. Vyšší koncentrace leptinu a zvýšený sympatický tonus u pacientů s RS tak může narušit normální noční vrchol kostní novotvorby a přispívat k rozvoji osteoporózy. Vztahy mezi leptinem, SNS a kostní remodelací a/nebo BMD a rizikem zlomenin dosud nebyly u pacientů s RS podrobněji zkoumány.

2.3.7.4 Poruchy rovnováhy

Poruchy rovnováhy patří mezi časté obtíže u pacientů s RS. Může se vyskytovat jak centrální porucha (léze v oblasti mozkového kmene, mozečku a demyelinizace senzoryckých drah), tak porucha rovnováhy v důsledku periferní vestibulopatie (Zeigelboim et al. 2008, Ozgen et al. 2016). Byť vliv poruchy rovnováhy na kostní remodelaci nebyl u pacientů s RS zkoumán, recentní práce ukazují na významnou úlohu vnitřního ucha a vestibulárního systému v regulaci sympatiku a remodelace kosti. Vestibulární léze u myši vede ke ztrátě

kostní hmoty převážně v oblasti dolních končetin (Vignaux et al. 2015). Také změna vestibulární funkce v důsledku stavu beztlíže u astronautů může zvýšením sympatického tonu přispívat ke ztrátě kostní hmoty a to nezávisle na změnách pohybové aktivity (Mano et al. 2010, Vignaux et al. 2013). Recentní klinické práce ukazují, že starší pacienti v populaci bez RS, ale s poruchou vestibulární funkce mají významně nižší BMD, zejména v oblasti kyčle a dolních končetin (Bigelow et al. 2016). Často pozorovaný úbytek BMD v oblasti dolních končetin u RS by tedy nemusel souviset pouze s hybným deficitem, ale mohla by se uplatňovat i autonomní dysregulace a/nebo porucha vestibulárních funkcí.

2.3.7.5 *Poruchy termoregulace*

Cirkadiánní rytmus tělesné teploty je hlavně pod kontrolou SCN (Tong et al. 2002). Zvýšená citlivost na teplo a porucha potivosti je u pacientů s RS častá a souvisí se škodlivými účinky zvýšené teploty na propagaci akčního potenciálu v demyelinizovaných axonech, což má za následek zpomalení vedení (Davis et al. 2010). K lézím může u pacientů s RS dojít také v oblastech mozku, které jsou zodpovědné za kontrolu a regulaci tělesné teploty (Martinez-Rodriguez et al. 2006, Hasan et al. 2015). Porucha centrálních sudomotorických drah má za následek nedostatečnou sympatickou inervaci kožních potních žláz a vede k atrofii potních žláz (Davis et al. 2005). Poruchy termoregulace, resp. cirkadiánního rytmu tělesné teploty vedou k porušené synchronizaci mezi centrálními a periferními hodinovými geny (Schibler et al. 2015) a mohly by tak ovlivňovat i cirkadiánní rytmus kostní remodelace.

2.3.8 *Hodnocení klinických faktorů rizika zlomenin*

Rizikové faktory osteoporózy a zlomenin u RS jsou v přehledu uvedeny v tabulce 1.

2.3.8.1 *Obecné rizikové faktory*

Mezi významné neovlivnitelné rizikové faktory nízkotraumatických zlomenin v běžné populaci patří věk, pohlaví a rodinná anamnéza zlomeniny proximálního femuru. Riziko osteoporotických zlomenin narůstá s věkem. S věkem klesá kvalita kostní hmoty a věk představuje na BMD nezávislý významný rizikový faktor. V běžné populaci mají ženy ve srovnání s muži více než dvojnásobné riziko zlomeniny obratlů (O'Neill et al. 2002) a více než 1,5 násobné riziko zlomeniny proximálního femuru (Štěpán et al. 2012). Rodinná

anamnéza zlomeniny proximálního femuru u rodičů podmiňuje riziko jakékoliv nízkotraumatické zlomeniny (Kanis et al. 2004).

Nízkotraumatické zlomeniny

Velmi důležité pro rozhodování o prognóze a léčbě pacienta je identifikace předchozích nízkotraumatických zlomenin. Prodělaná osteoporotická zlomenina je ukazatel poškozené kvality kosti a je silným nezávislým rizikovým faktorem další zlomeniny. Za typické osteoporotické zlomeniny jsou považovány zlomeniny distálního úseku předloktí, zlomeniny humeru, obratlů Th a L páteře, žeber a proximálního úseku femuru. U pacientů s RS jsou častěji popisovány i zlomeniny tibie nebo pánve. Pozornost bychom měli zaměřit zejména na zlomeniny obratlů, které mohou být zpočátku mírného stupně s minimální symptomatikou (až 50 % zlomenin obratlů) a mohou tak uniknout pozornosti. Zlomeniny obratlů se vyskytují až u 30–50 % pacientů, kteří jsou dlouhodobě léčeny GK (Weinstein et al. 2011).

2.3.8.2 Rizikové faktory specifické pro RS

Motorický deficit, ztráta svalové hmoty a pády

Za praktické se ukazuje hodnocení stavu disability pomocí EDSS skóre, jelikož je hodnocena zejména schopnost chůze, jejíž omezení je samo o sobě významným rizikovým faktorem zlomenin. EDSS navíc koreluje se ztrátou svalové hmoty a s rizikem pádů. Hodnota EDSS ≥ 6 je považována za práh, kdy je vždy indikováno vyšetření BMD (Hearn a Silber 2010). Hodnota EDSS 6 je totiž ve většině případů spojena s nevratnou progresí motorického postižení (Confavreux et al. 2000, Leray et al. 2010), při EDSS ≥ 6 významně klesá BMD v proximálním femuru a významně se zvyšuje riziko pádů a zlomenin (Nilsagard et al. 2009, Cattaneo et al. 2002). Další výzkum je nezbytný k zodpovězení otázky, zda i lehčí omezení schopnosti chůze (EDSS ≥ 4) neznamená, zvláště v kombinaci s dalšími rizikovými faktory vyšší riziko úbytku kostní a svalové hmoty a zlomenin. Omezená schopnost chůze spolu s dalšími faktory vede obecně ke snížení fyzické aktivity. Snížená fyzická aktivita dále přispívá k úbytku svalové hmoty a síly. Ztráta svalové hmoty a síly u pacientů s RS přímo souvisí se ztrátou kostní hmoty a s nárůstem rizika pádů a zlomenin. Anamnéza opakovaných pádů v běžné populaci zvyšuje riziko zlomenin přibližně dvojnásobně (Edwards et al. 2013), u pacientů s RS může být toto riziko ještě vyšší. Hodnocení svalové síly a poruchy rovnováhy

by mělo být nedílnou součástí vyšetření u pacientů s RS. K vyššímu riziku pádů mohou přispívat i některé léky, např. benzodiazepiny (Tamblyn et al. 2005).

Další rizikové faktory

Mezi ovlivnitelné rizikové faktory patří nízká hodnota body mass indexu (BMI < 20), abusus nikotinu a alkoholu. Nikotinismus má vliv jak na osteoporózu (Kanis et al. 2005), tak na RS (Hernan et al. 2001). Nikotinismus, mj. zvyšuje cirkulující koncentrace C-reaktivního proteinu a interleukinu 6 a způsobuje rovněž abnormality ve funkci T-lymfocytů (Smith a Fischer 2001). Mezi častěji užívaná léčiva u RS, která podmiňují zvýšené riziko zlomenin, patří mimo již zmíněná antidepresiva typu SSRI a benzodiazepiny (Tamblyn et al. 2005), také některá antiepileptika (Petty et al. 2016), opioidy (Daniell 2004) nebo dlouhodobá léčba inhibitory protonové pumpy (Fraser et al. 2013).

2.3.8.3 Odhad individuálního rizika zlomeniny (FRAX)

U postmenopauzálních žen a u mužů bez RS ve věku 40–90 let je vhodné k odhadu individuálního desetiletého rizika zlomenin využít algoritmus FRAX (Kanis et al. 2011), zejména v primární péči, pokud nemáme k dispozici denzitometrické vyšetření. FRAX je algoritmus (<http://www.shef.ac.uk/FRAX>), který hodnotí individuální pravděpodobnost prodělat jednu z hlavních osteoporotických zlomenin (kyčle, klinické zlomeniny obratle, humeru a zápěstí) nebo zlomeninu kyčle v následujících 10 letech. Mezi validované klinické faktory rizika zlomenin hodnocené v algoritmu FRAX patří: věk, pohlaví, BMI, prodělaná nízkotraumatická zlomenina v dospělosti (včetně obratlové morfometrické zlomeniny), zlomenina proximálního femuru u rodičů, současný nikotinismus, léčba glukokortikoidy (pokud užívá ≥ 3 měsíce p.o. ≥ 5 mg prednisonu nebo ekvivalentu), revmatoidní artritida, sekundární osteoporóza, alkohol (≥ 24 -30 g denně) a může být zadána hodnota BMD v krčku femuru (Štěpán 2012). Nemocným s RS můžeme přiřadit kategorii "sekundární příčiny osteoporózy", pokud nezadáme současně hodnotu BMD. Onemocnění RS není t.č. přiřazeno riziko, které by bylo nezávislé na BMD. FRAX u pacientů s RS také nehodnotí stupeň hybného deficitu (EDSS), ani zvýšené riziko pádů, tedy ve skutečnosti u nemocných s RS podhodnocuje riziko zlomenin. V případě dlouhodobé léčby GK by mohl FRAX přispět k lepší identifikaci rizikových pacientů, avšak FRAX nerozlišuje dávkování GK a rovněž není jasné, jakým způsobem bychom měli hodnotit vliv pulzní léčby GK, která se u pacientů s RS

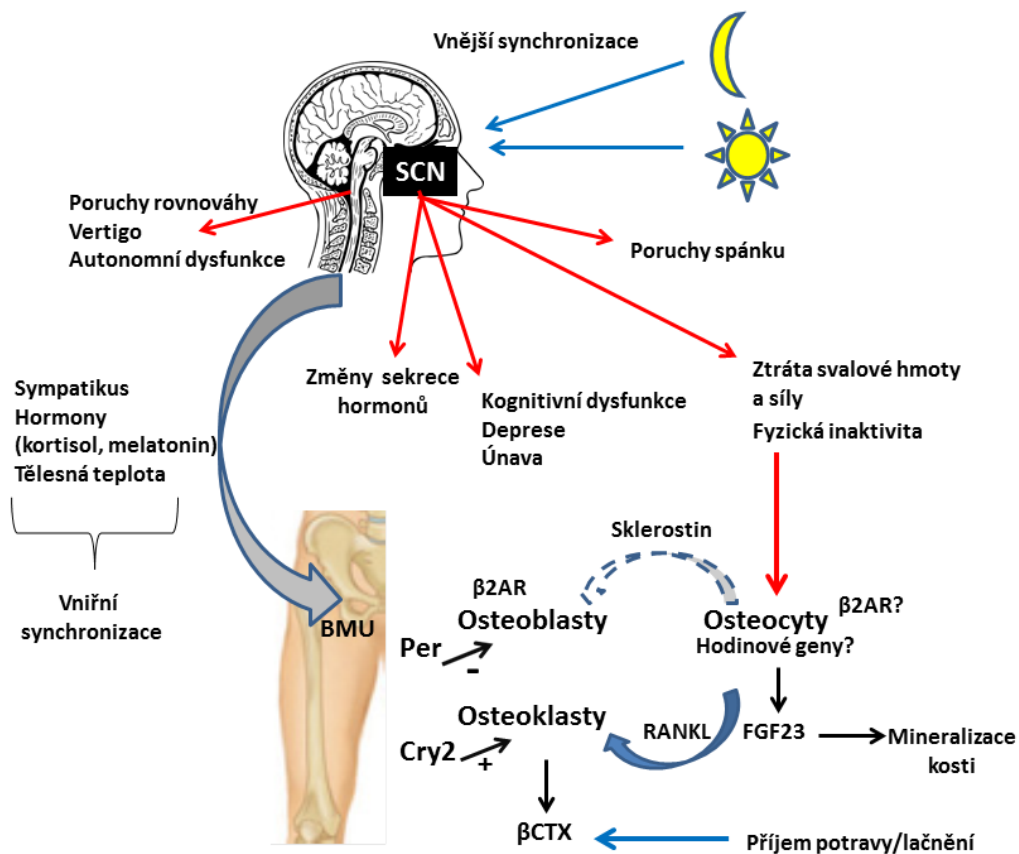
užívá nejčastěji. U premenopauzálních žen a u mužů mladších 40 let nelze algoritmus FRAX využít. Rozhodnutí o zahájení preventivního nebo léčebného opatření tedy v tomto případě zůstává na klinickém rozhodnutí. U pacientů s RS nejsou zatím při výpočtu FRAX zohledněny klinicky významné rizikové faktory jako je stupeň disability ($EDSS \geq 6$), poruchy rovnováhy a riziko pádů. Zhodnocení v longitudinálních studiích ve vztahu k riziku osteoporózy a zlomenin vyžadují i další specifické klinické stavy a poruchy, které jsou u RS častější, mj. deprese nebo léčba antidepressivy typu SSRI. U pacientů s RS je tedy nezbytný další vývoj a validace algoritmů pro výpočet rizika zlomenin (Bazelier et al. 2012, Dobson et al. 2013). Podoba algoritmu FRAX se bude vyvíjet validováním i dalších měřitelných parametrů kvality kostní hmoty, např. s využitím nových zobrazovacích metod pro hodnocení strukturálních parametrů kostní hmoty.

Tab. 1 Rizikové faktory osteoporózy a zlomenin se zdůrazněním rizikových faktorů u nemocných s roztroušenou sklerózou

- Dědičná dispozice osteoporózy
- Zlomenina po nepřiměřeně malém úrazu
- Věk nad 50 let
- Menopauza, amenorea trvající déle než 1 rok, hypogonadismus
- **Časté pády, poruchy rovnováhy, snížení svalové síly (zejména dolních končetin)***
- **Poruchy spánku, chronická únava***
- **Fyzická inaktivita (chůze denně < 2 hodiny)***
- **Motorický deficit, zejména EDSS ≥ 6 ***
- Nízká tělesná hmotnost (< 58 kg, BMI < 19 kg/m²)
- **Dlouhodobá léčba glukokortikoidy (GK; v denní dávce ekvivalentní více než 2,5 mg prednisonu po dobu delší 3 měsíce, při pulzní léčbě GK při častějším opakování pulzů).**
- **Nedostatek vitamínu D, nízký příjem vápníku**
- Nikotinismus, nadměrný příjem alkoholu
- Jiná chronická onemocnění a příčiny sekundární osteoporózy
- **Deprese a dlouhodobá léčba antidepresivy (zejména typu SSRI)***
- **Kognitivní deficit***
- **Chronická antikonvulzivní léčba***
- Chronická léčba blokátory protonové pumpy*

Vysvětlivky: *vyžadují ověření v prospektivních studiích, SSRI (selective serotonin reuptake inhibitors); BMI body mass index; u pacientů s EDSS ≥ 4 a < 6 může být vyšší riziko rozvoje osteoporózy a zlomenin, pokud jsou přítomny další rizikové faktory osteoporózy a zlomenin (věk, menopauza, léčba glukokortikoidy ad.).

Obr. 3 Schéma systémů s poruchou cirkadiálního rytmu u roztroušené sklerózy a synchronizace mezi centrálními (SCN, Suprachiasmatická jádra hypotalamu) a periferními hodinovými geny v kostní mnohobuněčné jednotce (BMU).



Vysvětlivky: BMU –kostní mnohobuněčná jednotka (bone multicellular unit); $\beta 2AR$ – $\beta 2$ adrenergní receptory; FGF 23 –fibroblastový růstový faktor 23; hodinové geny: Cry2 – cryptochrome; Per1 –period; SCN - suprachiasmatická jádra hypotalamu.

2.4 Diagnostika, prevence a léčba osteoporózy u RS

2.4.1 Diagnostický algoritmus

Roztroušená skleróza je chronické onemocnění, které přispívá k rozvoji sekundární osteoporózy a zvyšuje riziko zlomenin (Binks a Dobson 2016, Dong et al. 2015). Vyhodnocení stavu skeletu a rizika zlomenin by mělo být nedílnou součástí plánu péče pro pacienty s RS, a to nejen u žen po menopauze a u mužů starších 50 let věku, ale i u mladších pacientů při vyšším stupni motorického postižení ($EDSS \geq 6$) nebo při $EDSS \geq 4$ pokud jsou přítomny další rizikové faktory, např. v případě dlouhodobé léčby GK (v denní dávce ekvivalentní $\geq 2,5$ mg prednisonu po dobu delší 3 měsíce nebo při intermitentní pulzní léčbě GK, pokud jsou pulzy opakovány více než 3 x ročně). Pracovní návrh algoritmu pro vyšetření při osteoporóze nebo jejím zvýšeném riziku u pacientů s RS znázorňuje Obr.4 (str. 43). Návrh vychází ze současných doporučených postupů pro postmenopauzální ženy a muže ve věku od 40 do 90 let a je doplněn o specifické rizikové faktory u pacientů s RS.

Postup diagnostiky osteoporózy u pacientů s RS se v zásadě neliší od doporučených postupů pro primární a sekundární osteoporózu. *Anamnéza* zahrnuje rodinnou anamnézu nízkotraumatických zlomenin v první linii příbuzných (zejména zlomeniny proximálního femuru), osobní anamnézu nízkotraumatických (či atraumatických) zlomenin a klinických rizikových faktorů osteoporózy a zlomenin (viz Tab. 1, str. 31).

Fyzikální vyšetření je zaměřeno na klinické příznaky osteoporózy a onemocnění, které vedou k sekundární osteoporóze. U pacientů s RS je důležité neurologické vyšetření včetně stanovení Kurtzkeho EDSS, případně stanovení svalové síly nebo zhodnocení rovnováhy a rizika pádů. Standardní metodou pro diagnostiku osteoporózy je měření BMD pomocí dvouenergiové rentgenové absorpciometrie (DXA, Dual-energy X-ray absorptiometry) v oblasti bederní páteře (v rozsahu L1-L4) a proximálního femuru (celkový proximální femur a krček femuru). DXA umožňuje diagnostikovat nízkou BMD a včas upřesnit riziko zlomeniny (ještě před vznikem zlomeniny). DXA umožňuje také měření tělesného složení, zejména množství svalové a tukové tkáně. Tyto parametry zatím nejsou využívány v běžné klinické praxi. Jelikož BMD nehodnotí kvalitu kosti, je vhodné posuzovat BMD společně s klinickými rizikovými faktory, které vypovídají nepřímo o kvalitě kosti (viz algoritmus FRAX). Provedení rentgenového snímku páteře bychom měli zvažovat u všech pacientů s lokalizovanou bolestí v zádech (akutní bolest nebo chronická bolest neobjasněné příčiny)

nebo v případě snížení tělesné výšky o více než 2 cm ve srovnání s předchozím měřením nebo při poklesu tělesné výšky alespoň o 6 cm oproti maximální (anamnestické) výšce. Pro posouzení přítomnosti zlomenin obratlů lze s výhodou užít také boční projekci páteře v rozsahu T4 až L4 pomocí DXA (tzv. VFA, vertebral fracture assessment). Byť je rozlišovací schopnost DXA významně omezená ve srovnání se standardním rentgenovým snímkem hrudní a bederní páteře, výhodou je nízká radiační zátěž pro pacienta a provedení vyšetření v jedné době společně s měřením BMD. Metodiku VFA ale nelze použít k diferenciální diagnostice obratlových zlomenin. U pacientů s RS, zvláště při paraplegii, musíme pomýšlet i na netypicky se manifestující zlomeniny proximálního femuru (Williams et al. 1984).

Diferenciálně diagnostické vyšetření, jehož součástí je i laboratorní vyšetření, je nezbytné provést u všech pacientů s nálezem nízké BMD a/nebo nízkotraumatické zlomeniny a vyloučit tak možné sekundární příčiny úbytku BMD a/nebo jiné metabolické nebo nádorové onemocnění (Štěpán 2012). U nemocných s RS je důležité neopomenout i vyšetření 25OHD, případně pohlavních hormonů při podezření na hypogonadismus. V indikovaných případech je vhodné i serologické vyšetření při podezření na celiakii nebo genetické vyšetření např. při laktózové intoleranci.

2.4.2 Monitorování stavu skeletu

U pacientů s RS zatím nebyly doporučeny žádné postupy pro dlouhodobé sledování stavu skeletu a uplatnění tzv. zástupných ukazatelů („surrogates“) pro sledování stavu skeletu tj. měření BMD a biochemických markerů kostní remodelace (BTM) je u pacientů s RS prostudováno daleko méně, než v populaci postmenopauzální a involuční osteoporózy (Štěpán 2012). Doporučení sledovat změny BMD a BTM u pacientů s RS by mělo být aplikováno s vědomím určitých odlišností. U pacientů s postmenopauzální nebo involuční osteoporózou je doporučeno monitorovat změny BMD po 1–2 letech, případně v delších intervalech a změny BTM po 6–12 měsících, zejména na počátku léčby. Významné zhoršení nebo zlepšení těchto ukazatelů je nutné posuzovat se znalostí tzv. nejmenší významné změny (LSC, Least Significant Change pro 95% hladinu spolehlivosti) stanovené pro danou metodu měření a dané pracoviště (Michalská et al. 2000, Štěpán 2013). Toto doporučení lze aplikovat i u pacientů s RS, v klinické praxi je ale třeba vzít v úvahu, že variabilita a rychlost změn BMD i BTM může být odlišná, zvláště u pacientů s pokročilým hybným deficitem. Výsledek je proto nutné vždy posuzovat v klinickém kontextu; např. výsledek měření BTM bude významně

ovlivněn p.o. nebo pulzní léčbou GK, také bude odlišná rychlost úbytku BMD v kyčli a v páteři u pacientů s motorickým deficitem. Pokud se BMD významně nehorší (změna není větší než LSC), BTM zůstávají v referenčním rozmezí a pacient neprodělal novou zlomeninu, je velmi pravděpodobné, že zvolená léčba je účinná. V případě signifikantního zhoršení BMD v páteři, zvláště pokud nedojde ani k průkaznému snížení markeru kostní resorpce při antiresorpční léčbě a pacient případně prodělal i nízkotraumatickou zlomeninu, můžeme zvažovat selhání účinnosti zvolené léčby a zvažujeme její změnu (Štěpán 2012). V případě poklesu BMD v oblasti kyčle, ale nikoliv BMD v páteři a současně dokumentovaném významném snížení BTM je pravděpodobné, že se nejedná o selhání účinnosti léčby, ale o vliv imobilizace na BMD v kyčli. Změny BMD a kostních markerů je tedy nutné vždy posuzovat individuálně a v klinickém kontextu a případnou změnu léčby zvážit až po posouzení dalších příčin úbytku BMD. Vždy je vhodné posuzovat compliance pacienta (nepravidelné nebo nesprávné užívání léků) a zhodnotit příjem vápníku a vitamínu D.

2.4.3 Prevence osteoporózy

Možnosti prevence a léčby osteoporózy u pacientů s RS zahrnují jak obecná doporučení, která se týkají životního stylu, zejména omezení špatných návyků (nikotinu, nadměrného příjmu alkoholu), pravidelné fyzické aktivity a optimalizace stavu vitamínu D, tak specializované cvičební nebo rehabilitační programy. Substituční léčba estrogyeny u žen nebo testosteronem u mužů je důležitá u všech s osob s jejich deficitem, alespoň v údobí reprodukčního věku při respektování známých kontraindikací této léčby a za předpokladu pravidelných kontrol.

2.4.3.1 Fyzická aktivita, zlepšení svalové síly, prevence pádů

U pacientů s RS je často významně omezen pohyb. Osteocyty, které registrují mechanické zatížení skeletu, nedostávají dostatečnou stimulaci a kost se nedostatečně obnovuje a rychleji ubývá. Úbytek svalové hmoty, ztráta svalové síly a poruchy rovnováhy vedou k častým pádům. Proto je u pacientů s RS důležitá snaha o zajištění přiměřené pravidelné fyzické aktivity, a to jednak cvičení, které zatěžuje skelet a stimuluje osteocyty a osteoblasty k novotvorbě kostní hmoty, jednak cvičení, které pomáhá upravit svalovou koordinaci, a snižuje tak riziko pádů. Cílem fyzické aktivity je udržení nebo zlepšení svalové síly, koordinace a rovnováhy. Pravidelné cvičení zlepšuje u pacientů s RS kvalitu života,

přispívá k odstranění únavy a depresivní symptomatiky a také snižuje strach z pádu (Cakt et al. 2010, Dalgas et al. 2009, Stroud et al. 2009). Krátkodobé programy cvičení ukázaly objektivní zlepšení svalové síly dolních končetin a prodloužila se vzdálenost, kterou pacienti ujdou (Dalgas et al. 2009). Recentní meta-analýza prokázala, že pravidelný cvičební trénink u pacientů s RS vede ke zlepšení mobility chůze (Snook et al. 2009). U pacientů s RS chybí dlouhodobé studie, které by hodnotily současně i kostní hmotu, zejména v oblasti proximálního femuru a riziko zlomenin a pádů. Předchozí studie u mladých i starších lidí v populaci bez RS dokumentovaly, že pravidelná fyzická zátěž snižuje riziko pádů (Rubenstein 2006), zvyšuje množství svalové hmoty a vede k nárůstu BMD v oblasti krčku femuru (Ryan et al. 2004). U pacientů s RS zatím chybí stejně kvalitní data (Haselkorn et al. 2015). Důležité je nezapomínat i na možný vliv léků, které mohou přispívat k vyššímu riziku pádů, jako jsou například anxiolytika nebo hypnotika (Dobson et al. 2012).

2.4.3.2 *Substituce vápníkem*

Nízký denní příjem vápníku (< 500 mg) je u starších osob v běžné populaci (zvláště v kombinaci s nedostatkem vitamínu D) spojen se zvýšeným rizikem zlomenin (Feskanisch et al. 2003, Cumming et al. 1997, Ensrud et al. 2000). U pacientů s RS se může navíc uplatňovat i snížená střevní absorpce vápníku při nedostatku vitamínu D a pohlavních hormonů nebo při léčbě glukokortikoidy. Snížený příjem vápníku nebo jeho nedostatečné vstřebávání vede k poklesu koncentrace vápníku v séru a ke stimulaci sekrece parathormonu. Sekundární hyperparatyreóza stimuluje kostní resorpci a úbytek kostní hmoty, zejména v oblasti kortikální kosti. Doporučený denní příjem vápníku (1 000 mg u premenopauzálních žen a u mužů do 70 let věku a 1 200 mg u postmenopauzálních žen a mužů nad 70 let věku) je vhodné zajistit u všech osob s RS. Pro suplementaci vápníkem se doporučuje na prvním místě potrava, zejména mléčné výrobky. Vždy je na místě snaha o zlepšení vstřebávání a retence vápníku v těle, namísto navyšování dávek vápníku (Štěpán 2013). Je nezbytné zajistit i doporučené dávky vitamínu D, případně snížit příjem fosfátů a kuchyňské soli. Vápník se špatně vstřebává v případě současného příjmu kyseliny fytové a/nebo šťavelové nebo při nadměrném množství vlákniny. Vstřebávání vápníku nalačno z přípravků uhličitanu vápenatého je významně sníženo v případě achlorhydrie nebo při užívání blokátorů protonové pumpy. Pro využití co největšího množství podaného vápníku, je vhodné podávat vápník alespoň 2-3 krát denně, tak aby jednotlivá dávka elementárního vápníku nepřekročila 500 mg. Biologickou odpověď na vápník lze případně ověřit v kalciovém zátěžovém testu pomocí

opakovaného měření markeru β CTX (Zikán 2003). Naše předchozí práce ukázaly, že odpověď markeru β CTX v séru závisí jednak na účinnosti střevní absorpce vápníku (Zikán et al. 2001), jednak na dávce a formě podaného vápníku (Zikán et al. 2001, Zikán et al. 2002). Na druhé straně, omezení příjmu vápníku může být nezbytné v některých případech hyperkalciurie a také při těžké imobilizaci, zvláště pokud se vyskytnou další vlivy, které stimulují osteoresorpci (např. vyšší kostní obrát při deficitu sexagenů, nadměrný příjem vitamínu D).

2.4.3.3 Substituce vitamínem D

Doporučený denní příjem vitamínu D 800-1000 IU denně není v běžné potravě v ČR zajištěn (ani desetina doporučené denní dávky) a většina vitamínu D se tvoří v kůži pod vlivem UV-B záření. Nedostatek vitamínu D je u pacientů s RS častější, zejména u pacientů s vyšším stupněm motorického deficitu vzhledem k nízké expozici slunečnímu záření. Rovněž intolerance tepla, únava a svalová slabost u pacientů s RS přispívá k jejich menší expozici slunečnímu záření. Doporučený denní příjem vitamínu D 800-1000 IU denně je vhodné zajistit u všech pacientů s RS celoročně. I když, větší longitudinální studie, které by hodnotily suplementaci vitamínem D u pacientů s RS zatím chybí. Účinnost suplementace lze ověřit stanovením sérové koncentrace 25OHD. Cílové koncentrace 25OHD v populaci pacientů s RS nebyly stanoveny, ale v běžné populaci je doporučovanou cílovou hodnotou koncentrace 25OHD alespoň 75 nmol/l (optimálně 75-110 nmol/l) (Holick et al. 2011, Bouillon et al. 2013, Zikán 2010c). Vyšší substituční dávka 2 000 - 4000 IU denně může být potřebná k normalizaci sérových koncentrací 25OHD u pacientů léčených dlouhodobě GK a při omezené expozici UV záření, zejména v zimních měsících. Denní příjem až 4 000 IU vitamínu D se považuje za bezpečný u většiny populace s výjimkou nemocných s urolitiázou a při vyšší střevní absorpci vápníku (např. při sarkoidóze). Podle některých autorů je horním limitem bezpečného dávkování vitamínu D 10 000 IU denně a horním limitem koncentrace 25OHD v séru 125 nmol/l (Rizzoli et al. 2013). Potřebná dávka vitamínu D se bude mezi pacienty lišit, mj. v závislosti na věku, BMI (a podílu tukové tkáně) nebo na míře expozice slunečnímu záření. Měření koncentrací 25OHD se doporučuje zejména u pacientů s vyšším stupněm motorického deficitu a při léčbě GK. Pro suplementaci vitamínem D je preferován cholekalciferol (vitamin D₃) před ergokalciferolem (vitamin D₂) vzhledem k jeho delšímu poločasu (vitamin D₃ má vyšší afinitu k sérovému transportnímu proteinu než vitamin D₂). Vitamin D se uplatňuje nejen v prevenci sekundární hyperparatyreózy, ale má také přímé

účinky na kostní buňky a je nezbytný pro činnost svalových buněk. Úprava myopatie navozené hypovitaminózou D se proto uplatňuje snížením rizika pádů. V poslední době jsou hodně diskutované i extraskeletální výhody vitamínu D ve vztahu k průběhu a aktivitě RS, ale zatím chybí prospektivní studie, které by prokázaly, že vyšší koncentrace 25OHD (> 80 nmol/l) mají tyto příznivé extraskeletální účinky. Nežádoucí účinky se mohou vyskytnout až při vyšším dávkování (hyperkalciurie až hyperkalcemie). Intermitentně podávané vysoké dávky vitamínu D (orální cholekalciferol 150000 IU jednou za 3 měsíce) nebyly účinné ve snížení rizika pádů, zlepšení mobility nebo zlepšení svalové síly u starších žen bez RS (Glendenning et al. 2016). Ve vyšších koncentracích 1,25(OH)2D3 také stimuluje osteoresorpci (Lieben a Carmeliet 2013). Při suplementaci vyššími dávkami je vhodné kontrolovat nejen kalcemii ale i 24 hodinovou kalcii.

2.4.4 Farmakologická léčba osteoporózy

Cílem farmakologické intervence je prevence zlomenin (v přehledu Zikán 2008, Štěpán 2012). Většina léčiv je ale primárně určena pro prevenci a léčbu postmenopauzální, resp. involuční osteoporózy a průkaz jejich účinnosti v randomizovaných klinických studiích u pacientů s RS zatím chybí. Přesto můžeme z hlediska patogeneze osteoporózy u RS očekávat, že tyto léky budou alespoň z části účinné. Užití těchto léků u sekundární osteoporózy při RS je zatím většinou mimo schválená indikační kritéria. V případě glukokortikoidy indukované osteoporózy (GIO) je možné aplikovat teriparatid u žen i mužů léčených GK v denní dávce odpovídající 5 mg nebo více prednisonu po dobu delší než 6 měsíců, pokud T-skóre v oblasti bederní páteře je menší nebo rovno -2,5 SD (Zikán 2007, Štěpán 2012). V případě GIO je možné užít i nitrožilní léčbu kyselinou zoledronovou v dávce 5 mg jedenkrát ročně, případně p.o. aminobisfosfonáty.

2.4.4.1 Antiosteoresorpční léčba

Aminobisfosfonáty (BP) jsou nejčastěji užívanými léky v léčbě primární i sekundární osteoporózy. BP jsou syntetická analoga pyrofosfátu, která jsou rezistentní vůči hydrolýze endogenními pyrofosfatázami. Antiresorpční potenciál BP in vivo je dán jednak jejich afinitou ke kostnímu minerálu, jednak jejich schopností inhibovat mevalonátovou metabolickou cestu syntézy cholesterolu (inhibicí katalytické aktivity farnesyldifosfátsyntázy) (Russell 2011). Důsledkem inhibice farnesyldifosfátsyntázy je nedostatečná syntéza difosfátů

nutných pro prenylaci malých GTPáz. Nedostatek takto prenylovaných proteinů vede k poruše morfologie, funkce a adheze osteoklastů k mineralizované kostní matrix. Navíc se aktivují proapoptotické kaspázy a v důsledku toho se zkracuje životnost osteoklastů. Biochemické markery i kostní histomorfometrie potvrzují významné snížení kostní resorpce, a úroveň redukce je často až do spodní oblasti premenopauzálních hodnot, ačkoli účinek BP závisí do značné míry na účinnosti jednotlivých BP (Eriksen et al. 2002, Chapurlat et al. 2007, Dempster et al. 2016). Novotvorba kosti je při léčbě BP snížena úměrně útlumu osteoresorpce (až o více než 90 %). Hodnocení biochemických markerů kostního obratu ukazuje výrazné snížení kostní novotvorby, které přetrvává po celou dobu léčby, i když stupeň snížení kostní novotvorby opět závisí na typu BP (Chavassieux et al. 1997, Recker et al. 2004, Recker et al. 2008). I když rozsah sekundárního snížení kostní novotvorby je stále diskutován, je pravděpodobné, že je klinicky relevantní a s největší pravděpodobností je také vysvětlením nárůstu incidence atypických zlomenin po dlouhodobé léčbě BP (Adler et al. 2016).

Byť chybí prospektivní studie s užitím BP u pacientů s RS, řada studií svědčí pro účinnost BP při osteoporóze spojené s imobilizací (Bubbear et al. 2011, Zehnder et al. 2004, Yang et al. 2005). BP zpomalují remodelaci kosti a snižují imobilizací navozenou hyperkalcemii. Zvýšené hladiny vápníku při imobilizaci snižují sekreci parathormonu (PTH) a produkci $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Léčba BP potlačením osteoresorpce vede k poklesu kalcemie a zvyšuje tak nepřímou i střevní absorpci vápníku. Nevýhodou dlouhodobé léčby BP, zvláště u mladších pacientů s RS je riziko snížení kostního obratu na úroveň nedostatečnou pro podporu normální kostní remodelace a zvýšená akumulace mikropoškození v kosti. Jelikož zatím neznáme důsledky dlouhodobé léčby BP na kvalitu kosti, jsou zejména u mladších žen a mužů doporučovány BP s menší účinností z hlediska potlačení kostní resorpce (aktivační frekvence BMU) a s kratším poločasem v kosti (např. risedronát) nebo s výrazně delším intervalem mezi aplikacemi, který umožňuje zachovat kostní novotvorbu (např. kyselina zoledronová) (Bubbear et al. 2011). BP se dlouhodobě akumulují ve skeletu a také pronikají skrze placentární bariéru, je tedy nutná opatrnost u žen ve fertilním věku. K možným častějším vedlejšími účinkům léčby BP patří iritace horní části zažívacího traktu. S ohledem na častější dysfagie horního typu u pacientů s RS lze s výhodou užít i. v. formy BP (kyselina zoledronová).

Selektivní modulátory estrogenních receptorů (např. raloxifen) jsou další možností léčby u žen po menopauze s rychlým úbytkem trámčité kosti a zvýšeným rizikem zlomenin

obratlů. SERMy podobně jako estrogény stimulují produkci osteoprotegerinu (OPG) a tlumí produkci RANKL a tím upravují narušený poměr RANKL/OPG u žen po menopauze a snižují kostní obrat (Srivastava et al. 2001, Michael et al. 2007). Na rozdíl od léčby BP nebo denosumabem upravuje léčba SERMy kostní remodelaci do pásma premenopauzálních hodnot se zachováním fyziologických funkcí osteoklastů. Dlouhodobá léčba proto neurychluje stárnutí kostní hmoty a je zachována rychlost fyziologické obnovy kostní hmoty. I když je tato léčba bez gastrointestinálních nežádoucích účinků, zvýšené riziko žilní trombózy vylučuje tento preparát u žen s vyšším stupněm invalidity. U pacientek s nižším stupněm motorického deficitu, ale může raloxifen příznivě působit jak na skelet, tak na další tkáně (snížení rizika karcinomu prsní žlázy, zlepšení střevní absorpce vápníku a vyšší vnímavost svalů k mechanické zátěži). Nedostatek estrogenů přispívá k rychlejšímu úbytku BMD u žen po menopauze nejen urychlením resorpce kosti, ale také snížením citlivosti skeletu k biomechanické zátěži. Bylo zjištěno, že snížení počtu receptorů $ER\alpha$ po menopauze významně snižuje schopnost kostních buněk indukovat osteoanabolickou odpověď po mechanické zátěži (Saxon et al. 2007, Lanyon et al. 1996). Experimentální práce s raloxifenem podporují tuto hypotézu (Siu et al. 2013).

Denosumab. Vazba RANKL na jeho receptor RANK na prekurzorech osteoklastů a zralých osteoklastech je nezbytnou podmínkou diferenciaci, aktivace a přežívání osteoklastů. Aktivaci receptoru RANK jeho ligandem moduluje za fyziologických i patologických stavů osteoprotegerin (OPG), solubilní glykokoprotein secernovaný podobně jako RANKL osteoblasty, osteocyty a stromálními buňkami kostní dřene. Fyziologicky je rovnováha produkce OPG a RANKL porušena při nedostatku estrogenů u žen po menopauze. Denosumab je plně humánní monoklonální protilátka třídy IgG2 proti RANKL (ligand pro receptor aktivující NF- κ B), která je užívána pro léčbu postmenopauzální osteoporózy a dalších onemocnění se zvýšenou osteoresorpcí (Kostenuik et al. 2009). U žen s postmenopauzální osteoporózou byla prokázána účinnost ve snížení výskytu obratlových i neobratlových zlomenin, včetně zlomenin proximálního femuru (Papapoulos et al. 2015). V souladu se studiemi s inhibicí RANKL in vitro (Kostenuik et al. 2009), denosumab blokuje vazbu RANKL na receptor RANK a zabraňuje tak osteoklastogenezi, tlumí resorpční aktivitu zralých osteoklastů a zvyšuje jejich apoptózu. To vyvolává masivní snížení osteoklastů in vivo, a tím, téměř kompletní potlačení kostní resorpce (Kostenuik et al. 2009). Léčba denosumabem vede také k výraznému potlačení kostní novotvorby (Dempster et al. 2016b).

K potlačení kostní novotvorby dochází v rámci tzv. coupling mechanismu, podobně jako při léčbě estrogeny nebo BP. Klíčovou otázkou v souvislosti s dlouhodobou léčbou denosumabem je, zda potlačení kostní remodelace není příliš hluboké a zda při dlouhodobé léčbě nedochází k poškozování kvality kosti podobně jako při dlouhodobé léčbě BP. Působení denosumabu je na rozdíl od BP reverzibilní. Denosumab je novou možností léčby i u pacientů s RS, zejména při nesnášenlivosti nebo kontraindikaci léčby BP, i když podobně jako u léčby BP se jedná o užití „off label“. Žádné klinické studie s denosumabem u pacientů s RS dosud nebyly publikovány, a tak chybí informace nejen s ohledem na účinnost, ale i na bezpečnost této léčby. Výhodou léčby denosumabem na rozdíl od BP je jistě lepší průnik do kortikální kosti a tak je možná i větší účinnost u pacientů s hybným deficitem a s úbytkem kortikální kosti dolních končetin. Reverzibilita účinku denosumabu může být nevýhodou v případě vynechání další dávky, jelikož po vysazení denosumabu dochází ke klinicky významnému „rebound“ fenoménu s rychlým úbytkem BMD a s nárůstem rizika zlomenin, zvláště u pacientů s těžkou osteoporózou (Lamy et al. 2016).

2.4.4.2 Osteoanabolická léčba

Aminobisfosfonáty a denosumab potlačují remodelaci kosti snížením počtu základních mnohobuněčných jednotek (BMU) a snížením objemu resorbované kosti v jednotlivých BMU. Nevýhodou antiresorpční léčby, zejména u pacientů, kteří dlouhodobě užívají GK, je další snížení kostního obratu na úroveň, která může být nedostatečná pro normální obnovu kosti. U pacientů, kteří jsou dlouhodobě léčeni GK je proto vhodné užití osteoanabolické léčby. V současné době je k dispozici pouze rekombinantní lidský parathormon, resp. N-terminální část molekuly parathormonu (rhPTH 1–34, teriparatid; TPTD). Osteoanabolické působení TPTD vyžaduje intermitentní podkožní aplikaci jedenkrát denně (Dobnig et al. 1997, Glover et al. 2009). Pro farmakokinetický profil po aplikaci TPTD je charakteristický rychlý nárůst koncentrace TPTD v krvi (s maximem mezi 30-60 min) a s návratem k bazálním hodnotám do 3 hodin po aplikaci (Lindsay et al. 1993). Při delším přetrvávání zvýšené koncentrace PTH v krvi (po dobu delší než 4 hod) dochází úměrně k tvorbě cAMP ke zvýšené expresi RANKL a k větší stimulaci osteoklastické kostní resorpce (Ma et al. 2001). Tento proresorpční účinek PTH je zřejmý zejména v případě několikahodinové infuze PTH (Iida-Klein et al. 2005) nebo u primární hyperparatyreózy. Teriparatid se podobně jako celá molekula PTH váže N-terminálním koncem na PTH-1 receptor osteoblastů a osteocytů. Osteoanabolické působení PTH je dáno aktivací BMU, podporou diferenciací osteoblastů,

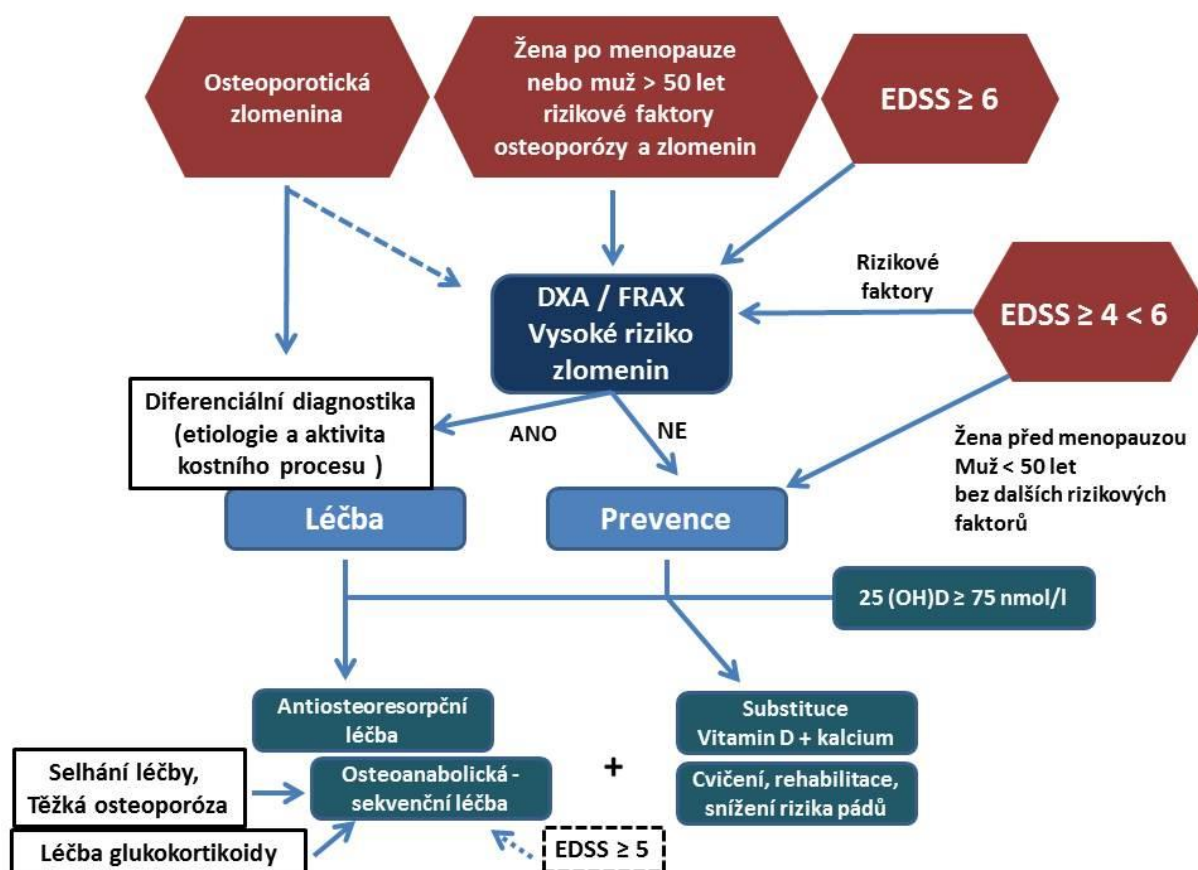
inhibicí apoptózy osteoblastů a osteocytů (Jilka 2007). Osteoanabolická léčba TPTD působí na stávající BMU a zvyšuje také počet nových BMU (v každé BMU se vytvoří více nové kosti, než se odstraní). Teriparatid ale působí částečně i na kostní povrchové buňky („bone lining cells“) na klidových kostních površích, které jsou schopné obnovit osteoanabolickou aktivitu (Dobnig a Turner 1995). Léčba TPTD tak může přímo kompenzovat hlavní patogenetický mechanismus GIO, útlum kostní novotvorby, a tato léčba je proto řádově účinnější než léčba BP (Saag et al. 2009). Také při osteoporóze z inaktivity, kdy dochází k apoptóze osteocytů a k útlumu kostní novotvorby, bude léčba TPTD účinnější (Turner et al. 2007). V této indikaci ale není v současné době léčba TPTD hrazena a chybí klinické studie.

Velmi slibné jsou výsledky experimentálních i klinických studií s protilátkou proti sklerostinu. Sklerostin ve zvýšené míře uvolňuje osteocyty, pokud skelet není dostatečně zatěžován a jeho nadbytek vede k útlumu kostní novotvorby. U postmenopauzálních žen s osteoporózou byla léčba monoklonální protilátkou proti sklerostinu romosozumabem (v dávce 210 mg měsíčně) spojena se snížením rizika zlomenin obratlů v porovnání s placebem již po roce léčby (Cosman et al. 2016). Podávání sklerostin neutralizačních protilátek u imobilizovaných krys vedlo k dramatickému zvýšení novotvorby kosti a rovněž ke snížení osteoresorpce s navýšením objemu trámčité i kortikální kostní hmoty (Tian et al. 2011). Protilátka proti sklerostinu by tak mohla být velmi účinnou variantou léčby i u imobilizovaných pacientů s RS.

Přehledné práce (v příloze habilitační práce):

- 1) Zikán V. Bone health in patients with multiple sclerosis. *J Osteoporos*, 2011, 596294.
- 2) Zikán V. Riziko osteoporózy a zlomenin u pacientů s roztroušenou sklerózou. *Osteologický bulletin*, 2012,17:50-58.

Obr. 4 Algoritmus pro vyhledávání a vyšetření osteoporózy u pacientů s roztroušenou sklerózou.



Vysvětlivky: EDDS: Kurtzkeho rozšířená stupnice stavu invalidity (Expanded Disability Status Scale) (Kurtzke 1983); DXA: dvouenergiová rentgenová absorpciometrie (Dual-energy X-ray Absorptiometry); FRAX: algoritmus pro výpočet individuálního rizika zlomeniny; 25-OHD: 25-hydroxyvitamin D; Selhání léčby: signifikantní snížení BMD, případně nedostatečná odpověď kostního markeru na léčbu a nová osteoporotická zlomenina (podrobněji kap. 2.4.2 Monitorování stavu skeletu a Štěpán 2012).

3. Cíle vlastní práce

Osteoporóza a zlomeniny se vyskytují u pacientů s roztroušenou sklerózou (RS) častěji než v běžné populaci. Zlomeniny jsou přitom u pacientů s RS zvláště závažné, jelikož mají za následek další omezení hybnosti a zhoršení kvality života a dále prohlubují závislost postižených osob na dopomoci. Předpokladem účinné prevence osteoporózy a zlomenin je jednak hlubší poznání patofyziologie onemocnění, které umožňuje volit vhodná preventivní nebo léčebná opatření, jednak včasná identifikace rizikových osob. Byť je osteoporóze u pacientů s RS věnováno v posledních letech již mnohem více pozornosti, tak zatím chybí ověřené preventivní a léčebné postupy ke snížení rizika zlomenin.

Cíle práce byly následující:

- Zhodnotit vzájemné vztahy mezi densitou kostního minerálu (BMD), tělesným složením (zejména svalovou hmotou), léčbou glukokortikoidy a hybným deficitem.
- Ověřit vliv hybného deficitu a léčby glukokortikoidy na výskyt zlomenin.
- Posoudit změny vybraných biochemických markerů kostní remodelace ve vztahu k rizikovým faktorům osteoporózy u RS, zejména k motorickému deficitu.
- Ověřit vliv preventivních opatření (substituce vitamínem D a vápníkem) a léčby osteoporózy (risedronátem a teriparatidem) na BMD a biochemické markery kostní remodelace ve vztahu vybraným k rizikovým faktorům osteoporózy u RS.

4. Původní práce

4.1 Osteoporóza a tělesné složení u pacientů s RS

Úvod

V patogenezi osteoporózy u RS se uplatňuje zejména hybný deficit, léčba glukokortikoidy (GK), zánětlivé cytokiny, ale i další faktory, jako jsou poruchy rovnováhy a ztráta svalové síly a koordinace, které zvyšují riziko pádů a zlomenin (Zikán 2011). Vliv hybného deficitu a léčby GK na BMD jsme dokumentovali v populaci pacientů s RS (Havrdová et al. 2004, Štěpán et al. 2004; studie v příloze na str. 152-158 a 97-104). Je známo, že pohybový deficit i léčba GK má významný vliv nejen na kostní hmotu, ale také na tukovou a svalovou tkáň. Některé předchozí studie dokumentovaly významnou asociaci mezi svalovou tělesnou hmotou a BMD v proximálním femuru, zejména u imobilních pacientů s výrazným motorickým deficitem ($EDSS \geq 7$), ale nikoliv u ambulantních pacientů s lehčím motorickým deficitem (Formica et al. 1997, Lambert et al. 2002, Mojtahedi et al. 2008, Sioka et al. 2011). Vzhledem k těsným vzájemným vztahům mezi kostní a svalovou tkání (Laurent et al. 2016, Zhou a Bonewald 2015) je pravděpodobné, že změny svalové hmoty u pacientů s RS budou mít vliv na kostní metabolismus již u pacientů s nižším stupněm hybného deficitu. Cílem následujících studií bylo zhodnotit vzájemné vztahy mezi kostní hmotou (BMD, BMC) a tělesným složením (zejména svalovou hmotou) u pacientů léčených glukokortikoidy a s různým stupněm hybného deficitu u RS.

Původní práce

Publikace:

Zikán V, Týblová M, Raška I Jr, Havrdová E, Luchavová M, Michalská D, Kuběna AA. Bone mineral density and body composition in men with multiple sclerosis chronically treated with low-dose glucocorticoids. *Physiol Res*, 2012, 61:405-17.

Týblová M, Zikán V, Luchavová M, Havrdová E, Raška I Jr, Michalská D, Kuběna AA. Snížená denzita kostního minerálu u žen s roztroušenou sklerózou: vliv motorického deficitu, úbytku svalové hmoty a léčby glukokortikoidy. *Česká a slovenská neurologie a neurochirurgie*, 2013, 76: 35-44.

Diskuze

Denzita kostního minerálu (BMD) a EDSS

Naše studie poukázaly na vyšší výskyt osteopenie a osteoporózy i v populaci mladších mužů a premenopauzálních žen s RS. Ve skupině premenopauzálních žen (průměrný věk $39,3 \pm 7,9$ let; průměrné EDSS $3,4 \pm 1,6$) byla zjištěna osteopenie u 59,3 % a osteoporóza u 8,8 % pacientek. U mužů s RS (průměrný věk $44,6 \pm 10,2$; průměrné EDSS $4,4 \pm 1,8$) jsme prokázali rovněž vysoký výskyt osteoporózy (25 % pacientů) a osteopenie (62,5 %). Výsledky jsou v souladu s předchozími studiemi, které dokumentovaly nízkou BMD zejména v oblasti proximálního femuru (Weinstock-Guttman et al. 2004, Havrdová et al. 2004, Terzi et al. 2010, Moen et al. 2011, Mojtahedi et al. 2008, Steffensen et al. 2010) a navíc zdůrazňují výskyt snížené BMD již u mladších pacientů s RS.

Potvrdili jsme, že omezená schopnost chůze hodnocená pomocí Kurtzkeho EDSS významně negativně asociuje s BMD v oblasti proximálního femuru u žen i u mužů s RS. To je v souladu s předchozími studiemi, které doložily silnou negativní korelaci mezi EDSS a BMD v proximálním femuru (Hotermans et al. 2006, Weinstock-Guttman et al. 2004, Havrdová et al. 2004). U mužů s EDSS ≥ 6 jsme zjistili více než dvojnásobně vyšší výskyt osteoporózy ve srovnání s muži s EDSS < 6 (37% vs. 16%, resp.). Tyto výsledky souhlasí s výsledky autorů Weinstock-Guttman a spol., kteří dokumentovali výskyt osteoporózy u 37,5% mužů s RS při průměrném EDSS skóre 6,7 (Weinstock-Guttman et al. 2004). U premenopauzálních žen jsme zjistili významný pokles BMD již při EDSS v rozmezí mezi 3,5 a 5,5 ve srovnání s pacienty s EDSS $\leq 3,5$, tedy s těmi, kteří ve vzdálenosti, kterou ujdou, nejsou významně omezeni. Větší ztráta BMD v proximálním femuru než v oblasti osového skeletu odpovídá nižšímu zatížení dolních končetin na rozdíl od páteře, na kterou působí relativně větší síly při pohybech trupem a horními končetinami i u méně pohyblivých pacientů. Byť je vliv motorického deficitu nepochybně silným rizikovým faktorem ztráty BMD, je zajímavé, že snížená BMD byla zjištěna i u části pacientů s mírným nebo minimálním motorickým postižením. Tyto výsledky svědčí pro to, že se v patogenezi osteoporózy u pacientů s RS mohou od počátku uplatňovat i jiné mechanismy, které nesouvisí přímo s hybným deficitem (Moen et al. 2011).

Svalová hmota, BMD a EDSS

Zjistili jsme, že k úbytku BMD přispívá ztráta svalové hmoty a to již u premenopauzálních žen a u mladších mužů s RS. Muži s RS měli významně nižší indexy svalové hmoty než zdraví muži a to jak celotělově (LM%), tak v oblasti dolních končetin (Leg LM%). Prokázali jsme významnou negativní asociaci mezi EDSS a indexem svalové hmoty dolních končetin Leg LM%. Index Leg LM% byl statisticky významně nižší a index svalové hmoty horních končetin (Arm LM%) signifikantně vyšší u pacientů s EDSS ≥ 6 než v kontrolní skupině osob, což svědčí pro preferenční ztrátu svalové hmoty dolních končetin, zatímco svaly horní končetiny jsou zachovány. Multivariační analýza potvrdila, že svalová hmota dolních končetin (Leg LM%) je u mužů nezávislým prediktorem celotělového obsahu kostního minerálu (TBBMC).

V multivariační analýze u premenopauzálních žen (ale nikoliv u postmenopauzálních žen) jsme prokázali, že celotělové množství svalové hmoty (LM, kg/m^2) je nezávislým prediktorem BMD v oblasti bederní páteře, celotělové BMD a TBBMC. Formica a spol. již dříve dokumentovali významnou pozitivní asociaci mezi celotělovým množstvím svalové hmoty a TBBMC, ale na rozdíl od naší práce pouze u pacientek s EDSS ≥ 7 (Formica et al. 1997). U premenopauzálních žen jsme našli také významnou pozitivní asociaci mezi BMD proximálního femuru a svalovou hmotou v oblasti dolních končetin (Leg LM, kg/m^2). V multivariačním modelu jsme ale u žen nepotvrdili prediktivní hodnotu svalové hmoty dolních končetin ve vztahu k BMD nebo TBBMC. Pravděpodobně proto, že do studie byly zařazeny i pacientky s lehčím stupněm motorického postižení.

Odlišný vztah mezi kostní a svalovou hmotou u premenopauzálních žen ve srovnání s postmenopauzálními ženami by mohl být způsoben některými systémovými faktory, např. deficitem estrogenů. Na buněčné úrovni aktivuje mechanická stimulace estrogenové receptory alfa (ER- α), které jsou klíčové pro regulaci kostní remodelace. Bylo zjištěno, že snížení počtu receptorů ER α po menopauze významně snižuje schopnost kostních buněk indukovat osteoanabolickou odpověď na mechanické zatížení skeletu (Lee a Lanyon 2004). Tyto poznatky jsou v souladu s rozdílným působením fyzické zátěže na skelet u postmenopauzálních žen ve srovnání s ženami před menopauzou. Jelikož jsme nehodnotili koncentrace estradiolu, nemůžeme vyloučit, zda se nižší koncentrace estradiolu neuplatňují i u některých žen před menopauzou. Wei a Lightman dokumentovali

snížené hladiny estradiolu až u 25 % premenopauzálních žen s RS (Wei a Lightman 1997). Také silnější asociace mezi svalovou a kostní hmotou u mužů ve srovnání s ženami svědčí o významu pohlavních hormonů v modulaci vnímavosti skeletu vůči mechanické zátěži (Taaffe et al. 2001). U mužů patří androgeny a jejich estrogenní metabolity ke klíčovým regulátorům kostní hmoty (Ongphiphadhanakul et al. 1995) a jejich nedostatek přispívá k úbytku kostní hmoty i u mužů s RS (Wei et al. 1997, Weinstock-Guttman et al. 2004).

Vztahy mezi kostní a svalovou hmotou mohou u pacientů s RS modulovat i další faktory, např. léčba GK, která má katabolické účinky (Whittier a Saag 2016) nebo deficit vitamínu D. Také samotná svalová hmota nepůsobí na skelet pouze biomechanicky, ale uplatňují se i lokální a endokrinně působící růstové faktory a myokiny (Kaji 2016). Studie hodnotící svalové biopsie (m.vastus lateralis) u RS dokumentovaly menší plochu průřezu svalových vláken (CSA) a nižší svalovou sílu dolních končetin i u pacientů s mírným motorickým deficitem (průměrné EDSS 2,5) ve srovnání se zdravými osobami (Wens et al. 2013). Vzájemné vztahy mezi kostní a svalovou hmotou na buněčné a molekulární úrovni jsou v posledních letech intenzivně zkoumány (Brotto a Bonewald 2015, Feng et al. 2016), ale dosud nebyly zkoumány u RS.

Léčba glukokortikoidy a BMD

Zjistili jsme, že k úbytku BMD u premenopauzálních žen s RS přispívá také dlouhodobá léčba GK. Kumulativní dávka GK u žen před menopauzou významně negativně asociovala s BMD v bederní páteři a v krčku femuru, byť prediktivní výpověď byla slabá ($\eta^2 = 0,021$). U žen po menopauze jsme žádnou asociaci mezi užíváním GK a BMD nezjistili. U mužů kumulativní dávka GK asociovala s BMD v celkovém proximálním femuru a v krčku femuru. Samotné měření BMD ale nehodnotí kvalitu kosti, kterou GK významně porušují. Slabší vliv nebo absence negativních účinků léčby GK na BMD tedy nemusí znamenat i nižší riziko zlomenin. Podle epidemiologických studií již nízké dávky prednisonu (mezi 2,5 -5 mg/den) mohou zvyšovat riziko zlomenin (Van Staa et al. 2000).

Nedostatek vitamínu D

Stav kostní hmoty mohou u pacientek s RS významně ovlivňovat i další faktory. Kromě již diskutovaného deficitu estrogenů se může uplatňovat také nedostatek vitamínu D, který společně s nižším příjmem vápníku vede k rozvoji sekundární hyperparatyreózy. Deficit vitamínu D ale zhoršuje i metabolismus svalové tkáně a přispívá k vyššímu riziku pádů. Ve sledovaném souboru žen jsme hodnotili koncentrace 25OHD u 110 žen s RS a u 75 zdravých žen bez RS. Těžký nedostatek vitamínu D (25OHD < 10 ng/ml) byl zjištěn u 8,2 % pacientek (ve srovnání s 2,5 % zdravých žen) a středně těžký nedostatek (10-30 ng/ml) u 70 % pacientek (ve srovnání s 50,7 % zdravých žen). Tyto výsledky jsou v souladu s odhadovanou prevalencí nedostatku vitamínu D, jak v obecné populaci, která se podle různých průzkumů pohybuje mezi 50-80 % (Holick et al. 2005, Ginde et al. 2009), tak u pacientů s RS (Yildiz et al. 2011). Větší populační studie u pacientů s RS zatím nebyly v ČR publikovány. Definice nedostatku vitamínu D při koncentraci 25OHD < 30 ng/ml (< 75 nmol/l) je v souladu se současným doporučením IOF (mezinárodní nadace pro osteoporózu), která definuje optimální koncentraci 25OHD pro snížení rizika pádů a zlomenin nad 30 ng/ml. Naše výsledky potvrdily významnou negativní korelaci mezi 25OHD a intaktním parathormonem (PTH) v séru u premenopauzálních žen s RS. Je tedy pravděpodobné, že sekundární hyperparatyreóza může přispívat k úbytku BMD i u mladších osob s RS, byť v našem souboru jsme nezjistili žádný vztah mezi koncentrací 25OHD a BMD. Výsledky upozorňují na velmi častý nedostatek vitamínu D u pacientů s RS a zdůrazňují potřebu větších prospektivních studií, které by hodnotily dlouhodobou účinnost a bezpečnost suplementace vitamínem D.

Kromě ověřených rizikových faktorů rozvoje osteoporózy, jako je motorický deficit nebo léčba glukokortikoidy, je pravděpodobný vliv i dalších mechanismů. Zdá se, že osteoporóza a RS může sdílet některé společné patogenetické mechanismy, které se mohou uplatňovat od samého počátku rozvoje RS. Nález nízké BMD u pacientů s minimálním motorickým deficitem (EDSS < 4) je v soulase s některými předchozími studiemi (Moen et al. 2011, Moen et al. 2012). Některé studie svědčí pro to, že by se v patogenezi osteoporózy mohly uplatňovat i centrální regulační mechanismy, resp. jejich poruchy. Batista a spol. např. zjistili, že kognitivní deficit u pacientů s RS je spojen s nižší BMD v oblasti proximálního femuru, ale nikoliv v bederní páteři (Batista et al. 2012).

Byla vyslovena hypotéza, že u pacientů s kognitivním deficitem může být narušen sympatický nervový systém a leptinová signalizace. Tuto hypotézu podporují experimentální studie, které svědčí pro to, že účinek leptinu na kost je rozdílný a jeho nedostatek vede k nárůstu trabekulární kostní hmoty a k úbytku kortikální kosti (Hamrick et al. 2004, Cirmanová et al. 2008). Do centrální regulace kostního metabolismu ale může zasahovat řada dalších faktorů, např. neuropeptid Y, Neuromedin U, serotonin, endokanabioidy, melatonin nebo adiponektin (v přehledu Dimitri a Rosen 2016). Objasnění patogeneze úbytku BMD u pacientů bez významnějšího motorického deficitu nepochybně vyžaduje další výzkum.

4.2 Riziko zlomenin a osteoporózy u pacientů s RS

Úvod

Osteoporóza a zlomeniny se vyskytují u pacientů s RS častěji než ve zdravé populaci (Cosman et al. 1998, Weinstock-Guttman et al. 2004, Bazelier et al. 2011, Dobson et al. 2012, Dong et al. 2015, Bhattacharya et al. 2014). Zlomeniny jsou přitom u pacientů s RS zvláště závažné, jelikož mají za následek další zhoršení hybnosti i kvality života a dále prohlubují závislost postižených osob na dopomoci. Samotné měření BMD nehodnotí kvalitu kosti, kterou GK i imobilizace významně poškozují. Je dobře dokumentováno, že zlomeniny se vyskytují u dlouhodobých uživatelů GK ve vyšším pásmu BMD (Van Staa et al. 2000). Přitom již nízké dávky prednisonu (mezi 2,5-5 mg/den) jsou v epidemiologických studiích spojovány se zvýšeným rizikem zlomenin (Van Staa et al. 2000). Hybný deficit i léčba GK zhoršují významně kvalitu kostní hmoty (mj. urychlují apoptózu osteocytů) a zvyšují riziko zlomenin. Cílem retrospektivní longitudinální studie bylo zhodnotit změny BMD a incidenci nízkotraumatických zlomenin v populaci pacientů s RS ve vztahu k motorickému deficitu a kortikoterapii.

Původní práce

Publikace: Týblová M, Kalinčík T, Zikán V, Havrdová E. Impaired ambulation and steroid therapy impact negatively on bone health in multiple sclerosis. *Eur J Neurol*, 2015 22:624-32.

Diskuze

Roční incidence zlomenin v naší studii byla 3,2%, což odpovídá již dříve publikovaným údajům u pacientů s RS, kteří jsou dlouhodobě léčeni GK (Trojano et al. 1992). Roční incidence osteoporotických zlomenin v populaci s RS se pohybuje mezi 2,3-3,4% ve srovnání s 1,3-1,8% v běžné populaci (Bazelier et al. 2011, Bazelier et al. 2012). Během 5 letého sledování ($5,3 \pm 2,1$ roků) jsme zaznamenali celkem 79 nízkotraumatických zlomenin u 51 pacientů (80 % žen). Z toho 57% zlomenin vzniklo u premenopauzálních žen, 18% u postmenopauzálních žen a 25 % zlomenin bylo zaznamenáno u mužů (15% mužů bylo mladších 50 let). Výsledky ukázaly, že zlomeniny vznikají i u mladších mužů a u premenopauzálních žen a zdůrazňují význam včasné identifikace rizikových pacientů.

Ověřili jsme, že z hodnocených rizikových faktorů je nejvýznamnější motorický deficit. Riziko nízkotraumatických zlomenin významně asociovalo s EDSS, ale nikoliv s kumulativní dávkou GK a bylo vyšší při $EDSS \geq 6$ (roční riziko 3,5% vs. 3,0% při $EDSS < 6,0$). V dánském registru pacientů s RS bylo riziko zlomeniny 2,6 krát vyšší u pacientů s $EDSS \geq 6$ ve srovnání s pacienty s nižším stupněm hybného deficitu (Bazelier et al. 2012). Důkazy týkající se účinku samotných GK na riziko fraktury u pacientů s RS nejsou jednoznačné. V dánském registru, nebyla recentní expozice GK spojena se zvýšeným rizikem osteoporotických zlomenin (Bazelier et al. 2012). Naproti tomu v kohortě pacientů s RS z databáze britských praktických lékařů, bylo riziko zlomenin vyšší u pacientů, u kterých byly v poslední době předepisovány GK nebo antidepresiva (Bazelier et al. 2011). Naše výsledky u české populace pacientů s RS ukazují, že riziko zlomeniny významně asociuje s EDSS, ale nikoliv s léčbou GK. Snížení mechanické zátěže kosti urychluje apoptózu osteocytů (Bakker et al. 2004). Imobilizací indukovaná apoptóza osteocytů stimuluje osteoklastogenezi a kostní resorpci (Aguirre a Plotkin 2006, Cabahug-Zuckerman et al. 2016) a dlouhodobě vede k útlumu kostní novotvorby (Shigematsu et al. 1997, Lin et al. 2009). Pacienti s vyšším stupněm motorického deficitu také častěji padají, což dále zvyšuje riziko zlomenin (Troiano et al. 1992). Ve studii Marrie a spol. referovalo alespoň 1 pád za poslední rok 41,6 % pacientů s lehkým stupněm disability, 66,4 % pacientů se středním stupněm disability a 62,1 % pacientů s těžkým stupněm motorického deficitu (Marrie et al. 2009). Nejvyšší riziko pádů je tedy u pacientů, kteří jsou ještě mobilní, ale k chůzi již potřebují jednostrannou nebo oboustrannou oporu (EDSS 6–6,5).

Naše výsledky ukázaly, že k úbytku BMD u pacientů s RS přispívá i dlouhodobá léčba

GK (medián pro kumulativní dávku GK v naší studii byl 24,5 g), ale její vliv je ve srovnání s působením motorického deficitu významně slabší. Na rozdíl od vlivu EDSS, byl účinek GK na BMD podobný ve všech měřených oblastech (celkový proximální femur, krček femuru a bederní páteř). Je zajímavé, že vliv GK na BMD bederní páteře byl větší u ambulantních pacientů s lehčím stupněm motorického deficitu ($EDSS < 6$) ve srovnání s pacienty s těžším hybným deficitem ($EDSS > 6$). Vliv GK na skelet ovlivňuje jednak významná interindividuální variabilita, jejíž příčiny se zatím nepodařilo objasnit (Dovio et al. 2008), jednak způsob léčby GK. U pacientů s RS se častěji užívá intermitentní dávkování vyšších dávek GK v době akutní exacerbace onemocnění, než dlouhodobá p.o. léčba. Epidemiologické studie svědčí pro to, že nikoliv intermitentní dávkování (Olsson et al. 2015), ale spíše nízké dávky p.o. GK mohou při dlouhodobé léčbě zvýšit riziko zlomenin (Bazelier et al. 2011, Cosman et al. 1998).

4.3 Vliv hybného deficitu na kostní remodelaci u RS

Úvod

Osteocyty představují 95% všech kostních buněk a jejich síť tvoří významný homeostatický systém skeletu, který citlivě vnímá změny mechanického zatížení skeletu („mechanosenzory kostí“) a kvalitu kostní hmoty (detekce mikropoškození) (Rochefort et al. 2010). Imobilizací indukovaná apoptóza osteocytů stimuluje osteoklastogenezi a kostní resorpci (Aguirre et al. 2006) a dlouhodobě vede k útlumu kostní novotvorby (Lin et al. 2009). Zatímco molekulární mechanismy osteoporózy z inaktivity nejsou zcela objasněny, recentní studie naznačují, že v patogenezi může mít významnou úlohu sklerostin, inhibitor Wnt/ β -katenin signální dráhy, která je klíčová pro kostní novotvorbu. Bylo zjištěno, že imobilizace je spojena s up-regulací genu *Sost* v osteocytech a se zvýšenou tvorbou sklerostinu (Lin et al. 2009). Naopak myši s deficitem sklerostinu (*Sost* $-/-$) byly odolné proti úbytku kostní hmoty při imobilizaci (Qin et al. 2016). Osteocyty jsou také hlavním zdrojem RANK ligandu (klíčového faktoru pro tvorbu a aktivitu osteoklastů), jehož produkce se významně zvyšuje při imobilizaci (Cabahug-Zuckerman et al. 2016).

Hybný deficit s omezením chůze je jedním z nejvíce život limitujících omezení u RS. Vliv motorického deficitu a dlouhodobé léčby GK na kostní remodelaci a BMD u pacientů s RS jsme již dříve dokumentovali (Štěpán et al. 2004). U ambulantních pacientů léčených nízkou dávkou GK s nižším stupněm motorického postižení (EDSS 1-5,5) nebyly biochemické markery kostní resorpce (β CTX) a novotvorby (PINP, osteokalcin) rozdílné od kontrolní skupiny. Pouze při vyšším stupni motorického deficitu (EDSS > 5,5) byly plazmatické koncentrace β CTX významně vyšší než u kontrolní skupiny a u těchto pacientů byla také po 2 letech zaznamenána větší ztráta BMD v proximálním femuru (Štěpán et al. 2004). Tyto výsledky ukázaly významný vliv hybného deficitu (EDSS > 5,5) na kostní remodelaci (marker kostní resorpce β CTX). Nárůst kostní resorpce při hybném deficitu u RS je v soulase s řadou studií, které dokumentovaly současnou ztrátu kostní a svalové hmoty při imobilizaci např. u paraplegie nebo u astronautů ve stavu beztíže (Elias a Gwinup 1992, LeBlanc et al. 2000).

Několik klinických studií dokumentovalo změny koncentrací sklerostinu v séru při nízké fyzické aktivitě nebo imobilizaci. Postmenopauzální ženy po cévní mozkové příhodě měly vyšší koncentrace sklerostinu ve srovnání se zdravými kontrolami (Gaudio et al. 2010). Amrein a spol. zjistili vyšší koncentrace sklerostinu u zdravých dospělých osob s nízkou fyzickou aktivitou ve srovnání s více aktivními jedinci (Amrein et al. 2012). Zvýšené hladiny sklerostinu byly dokumentovány u zdravých mužů s omezeným pohybem na lůžku (Spatz et al. 2012, Frings-Meuthen et al. 2013). Pacienti po míšním poranění měli významně zvýšené hladiny sklerostinu v séru během prvních 5 let od úrazu (Morse et al. 2012, Morse et al. 2013). U pacientů s RS nebyly vztahy mezi cirkulujícím sklerostinem a kostní remodelací dosud studovány. Cílem naší studie (str. 59-67) bylo zhodnotit koncentrace sklerostinu v séru u žen s RS a s různým stupněm motorického deficitu (EDSS) ve vztahu k vybraným biochemickým markerům kostní remodelace.

Původní práce

Zikán V, Týblová M, Raška I Jr., Havrdová E, Michalská D. Increased sclerostin serum levels associated with impaired ambulation and bone remodeling markers in women with multiple sclerosis (práce v přípravě k publikaci, str. 59-67).

Štěpán JJ, Havrdová E, Týblová M, Horáková D, Tichá V, Nováková I, Zikán V. Markers of bone remodeling predict rate of bone loss in multiple sclerosis patients treated with low dose glucocorticoids, Clin Chim Acta, 2004, 348:147-54.

INCREASED SCLEROSTIN SERUM LEVELS ASSOCIATED WITH IMPAIRED AMBULATION AND BONE REMODELING MARKERS IN WOMEN WITH MULTIPLE SCLEROSIS.

Zikán V, Týblová M, Raška I Jr., Havrdová E, Michalská D.

(práce v přípravě k publikaci).

Soubor vyšetřených osob a metodika

Pacientky byly zařazovány do studie ve spolupráci s Centrem pro léčbu roztroušené sklerózy Všeobecné fakultní nemocnice (VFN) v Praze. Kontrolní skupina žen byla vybírána z preventivního programu v Osteocentra VFN v Praze. Od všech osob zařazených do studie byla získána anamnéza zaměřená na rizikové faktory osteoporózy a zlomenin. Obě skupiny byly indoevropského původu. Popisné charakteristiky pacientek s RS a zdravých kontrol jsou uvedeny v tabulce 1.

Klinické vyšetření

Pacientky byly neurologicky vyšetřeny včetně Kurtzkeho EDSS (Kurtzke 1983). Do studie byly zařazeny pouze ženy se zachovalou schopností chůze (EDSS \leq 6,5). Všechny pacientky byly navíc dlouhodobě léčeny nízkou perorální (p.o.) dávkou GK a většina byla rovněž substituována cholekalciferolem v dávce do 3000 IU denně. Pacientky, které prodělaly akutní exacerbaci RS v posledním půl roce a/nebo byly léčeny pulzní léčbou GK v posledním půl roce nebyly do studie zařazeny. Vylučovacím kritériem pro pacientky i kontrolní skupinu žen byly chronická onemocnění (mimo RS) s vlivem na kostní metabolismus, nebo již dříve zavedená farmakologická léčba osteoporózy, jako jsou aminobisfosfonáty, denosumab, raloxifen, stronciumranelát, deriváty parathormonu, fluoridy nebo thiazidová diuretika. Pacientky nebo kontrolní osoby s nikotinismem či s pozitivní rodinnou anamnézou osteoporózy v 1. linii příbuzných nebyly ze studie vyřazeny. Zařazení do studie bylo podmíněno podepsáním informovaného souhlasu. Studie byla schválena etickou komisí VFN v Praze, a je v souladu s právními předpisy a etickými zásadami pro lékařský výzkum za účasti lidských subjektů podle světové lékařské asociace (Helsinské deklaráce)

Antropometrické měření

Tělesná výška byla získána pomocí stadiometru. Tělesná hmotnost byla měřena pomocí kalibrované digitální váhy u všech účastníků studie bez bot a v lehkém spodním oblečení.

Kostní denzitometrie

Denzita kostního minerálu (BMD, Bone Mineral Density) byla měřena celotělově a v oblasti bederní páteře (L1-L4), celkového proximálního femuru, krčku femuru a v distální 1/3 radia pomocí dvouenergiové rentgenové absorpciometrie (DXA; denzitometr QDR 4500, Hologic Inc, Waltham, MA, USA, software v. APEX 3,0). Pacientky i kontrolní skupina byly měřeny na stejném denzitometru. Referenční databáze NHANES III byla užita pro výpočet T-skóre.

Laboratorní vyšetření

Odběry byly provedeny vždy nalačno (mezi 7-10 hod ranní). Koncentrace sklerostinu v séru byly stanoveny enzymatickou imunonanalýzou (BI-20492 Sclerostin, Biomedica Medizinprodukte GmbH Co KG, Wien, Rakousko). Koncentrace intaktního parathormonu v plazmě (iPTH) a koncentrace biochemických ukazatelů kostní remodelace v séru - C-terminálního telopeptidu kolagenu typu I (β CTX) a N-terminálního propeptidu prokolagenu typu I (PINP) byly stanoveny na automatickém analyzátoru pomocí imunoanalýzy založené na elektrochemiluminiscenci (analyzátor Cobas, Roche Diagnostics, Německo). Sérové koncentrace 5b izoformy tartarát rezistentní kyselé fosfatázy (TRAP 5b) byly měřeny enzymatickou imunonanalýzou (Bone TRAP Assay, Immunodiagnostic Systems Limited, Boldon, Velká Británie). Koncentrace 25-hydroxyvitaminu D (25OHD) v séru byly stanoveny pomocí automatického analyzátoru LIAISON® (25 OH Vitamin D Total assay, DiaSorin Inc., USA).

Statistické zpracování dat

Multivariační model (Multivariate GLM, General Linear Model) s bootstrap modifikací byl užit pro ověření vztahů mezi sklerostinem a EDSS a dalšími sledovanými parametry. Pro odhad podílu vysvětlené variability byla užita GLM s vyhodnocením závislosti mezi sledovanými parametry podle Cohena (η^2). Podle této konvence znamená

práh $\eta^2 > 0,137$ silný efekt, práh v rozmezí $0,137 > \eta^2 > 0,0588$ střední efekt a práh rozmezí $0,0588 > \eta^2 > 0,0099$ slabý efekt. Veškeré analýzy byly provedeny pomocí programu PASW pro Windows, v. 18.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA).

Výsledky

Základní charakteristiky pacientek a kontrolní skupiny a průměrné koncentrace sledovaných parametrů jsou uvedeny v tabulce 1. Do studie jsme zařadili 124 pacientek (63 premenopauzálních a 61 postmenopauzálních žen) s EDSS skóre $\leq 6,5$ a 54 zdravých premenopauzálních žen (Tab. 1).

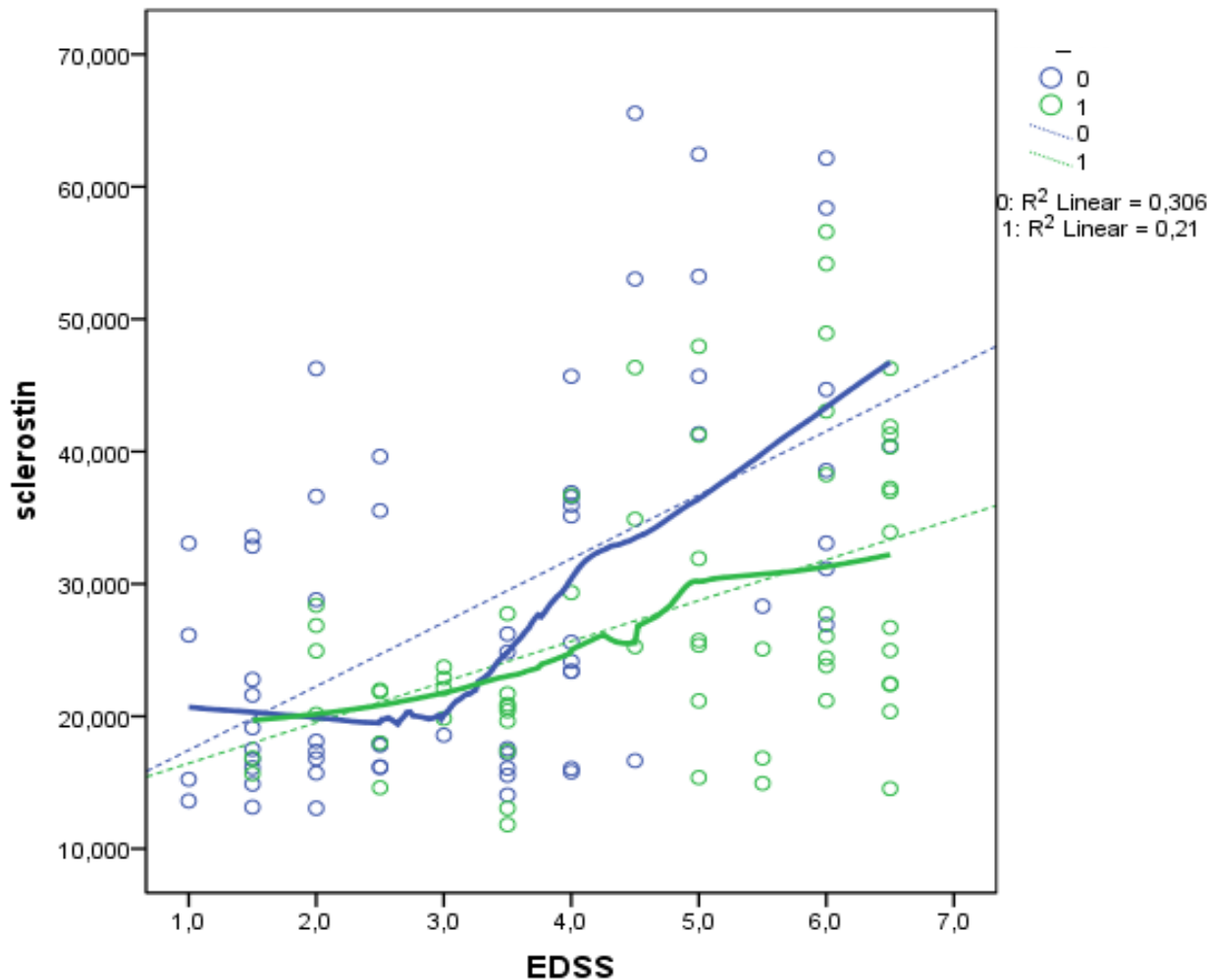
Ženy s RS a s poruchou chůze ($EDSS \geq 4$) měly signifikantně vyšší hladinu sklerostinu v séru, než plně mobilní pacientky s $EDSS < 4,0$ (medián 40,0 vs. 17,9 pmol / l u premenopauzálních žen a 36,9 vs. 21,8 pmol / l u postmenopauzálních žen; $p < 0,01$ v obou skupinách). Sérové hladiny sklerostinu korelovaly pozitivně s EDSS ($p < 0,001$) u obou skupin žen i po adjustaci na věk, menopauzu a kumulativní dávku glukokortikoidů. U premenopauzálních žen sklerostin negativně koreloval s markerem kostní novotvorby PINP ($p = 0,003$) a pozitivně s markerem kostní resorpce TRAP 5b ($p = 0,004$), ale nikoli s β CTX. Mezi sklerostinem a BMD (v bederní páteři, v celkovém proximálním femuru a v krčku femuru) jsme nenalezli žádný vztah.

Tab. 1. Základní charakteristika pacientek s roztroušenou sklerózou (RS) a zdravých žen a průměrné koncentrace sledovaných parametrů ve studii (průměr ± SD).

	Zdravé ženy	RS pacientky	
	Premenopauzální	Premenopauzální	Postmenopauzální
N	54	63	61
Věk (roky)	43 ± 7.6	40.6 ± 7.2	54.8 ± 6.9 * #
BMI (kg/m²)	23.9 ± 4.2	23.4 ± 4.0	24.9 ± 3.7
RS trvání (roky)	-	13.8 ± 6.5	19.4 ± 8.6 *
Kumulativní dávka GK (g)	-	15.4 ± 11	19.9 ± 15
EDSS	-	3.3 ± 1.6	4.6 ± 1.6 *
S-βCTX (ng/l)	284.9 ± 136	272.1 ± 123.7	406.1 ± 193 * #
S-TRAP 5b (IU/l)	2.5 ± 0.9	2.5 ± 0.8	3.0 ± 1.0 #
S-PINP (ug/l)	37.8 ± 16.8	45.1 ± 15.3 ^g	54.5 ± 19.7
S-sklerostin (pmol/l)	21.7 ± 9.8	28.6 ± 13.9	27.6 ± 10.8
P-iPTH (pmol/l)	2.9 ± 1.5	4.2 ± 1.4 ^g	4.3 ± 1.7
S-25OHD (ng/ml)	29.3 ± 9.9	25.3 ± 11.5 ^g	23.7 ± 11.1
BMD LS (T-skóre)	-0.9 ± 1.2	-1.5 ± 1.1 ^g	-1.6 ± 0.9
BMD FN (T-skóre)	-1.1 ± 0.9	-1.6 ± 1.0 ^g	-1.9 ± 1.0

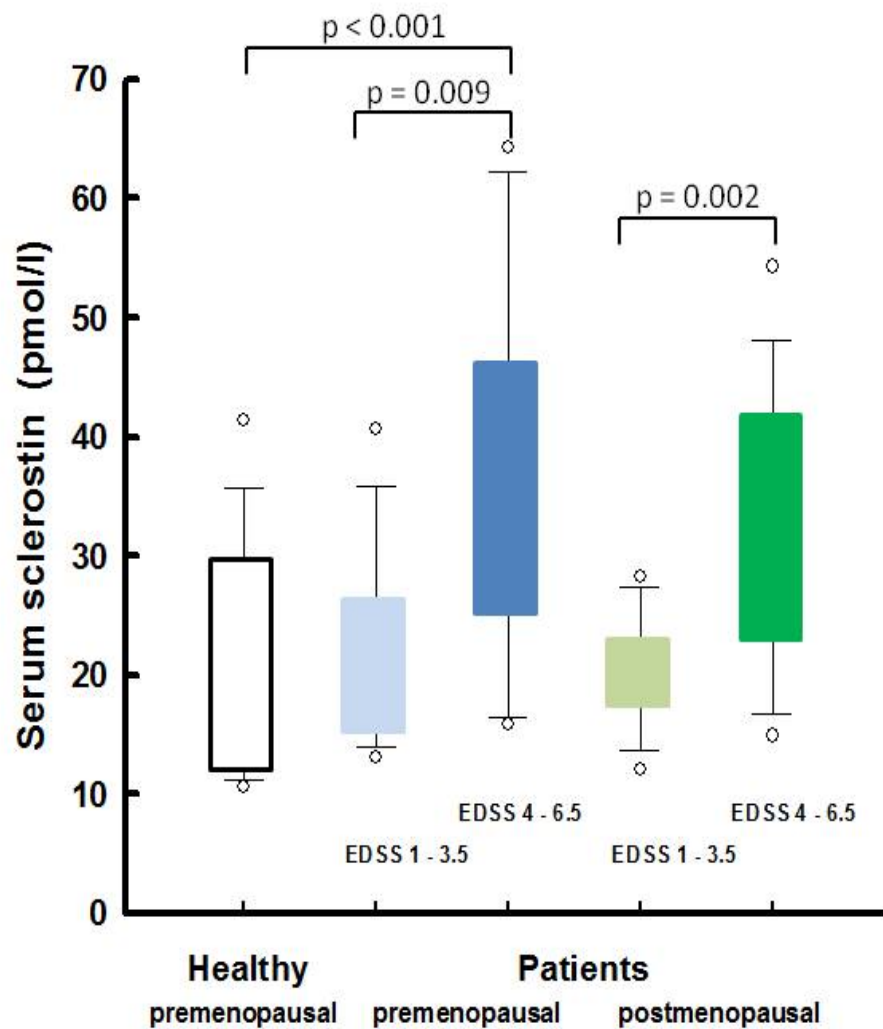
Vysvětlivky: *p < 0.001 vs. premenopauzální RS; # p < 0.01 vs premenopauzální RS; ^g p < 0.01 vs zdravé ženy; LS: Lumbar Spine; FN: Femoral Neck, BMD: Bone Mineral Density; iPTH: intaktní parathormon, 25OHD: 25-hydroxyvitamin D, EDSS: Expanded Disability Status Scale, GK: glukokortikoidy

Graf 1. Vztah mezi hladinou sklerostinu v séru a EDSS u premenopauzálních žen (*modré značení*) a postmenopauzálních žen (*zelené značení*) s roztroušenou sklerózou.



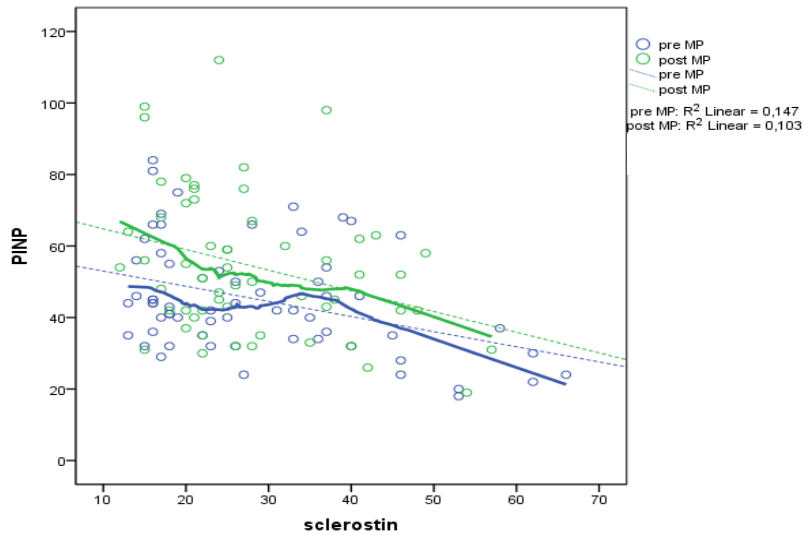
Multivariate GLM: pro obě skupiny $p < 0,001$; $\eta^2 = 0,161$ po adjustaci na věk, menopauzu a kumulativní dávku glukokortikoidů.

Graf 2. Srovnání hladin sklerostinu v séru mezi zdravými premenopauzálními ženami a podskupinou pre- a postmenopauzálních žen s roztroušenou sklerózou podle EDSS.



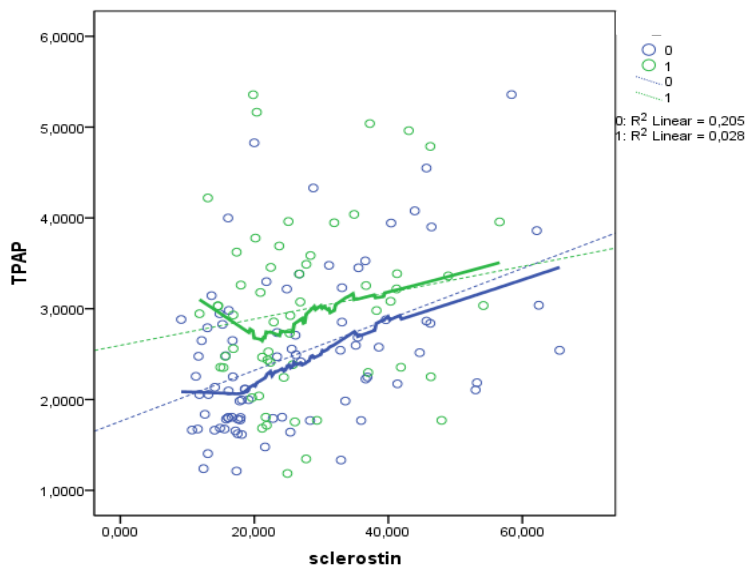
Graf 3 A, B. Vztah mezi hladinou sklerostinu v séru a markerem syntézy kostního kolagenu PINP (Graf 3A) nebo markerem kostní resorpce TRAP 5b (Graf 3B) u premenopauzálních (modré značení) a postmenopauzálních žen (zelené značení) s roztroušenou sklerózou.

Graf 3A



Multivariate GLM: premenopauzální ženy: $p = 0,003$, $\eta^2 = 0,048$; postmenopauzální ženy: $p = 0,044$, $\eta^2 = 0,043$

Graf 3B



Multivariate GLM: premenopauzální ženy: $p = 0,004$, $\eta^2 = 0,073$; postmenopauzální ženy: $p = ns$

Diskuze

Naše práce je první studií, která hodnotila sérové koncentrace sklerostinu ve vztahu ke kostní remodelaci a hybnému deficitu (EDSS) u pacientek s RS. Zjistili jsme, že hybný deficit u žen s RS významně přispívá k nárůstu koncentrací sklerostinu v séru. Sérové hladiny sklerostinu u pacientek s RS pozitivně korelovaly s EDSS (i po adjustaci na věk a kumulativní dávku glukokortikoidů) (Graf 1). Také srovnání pacientek podle schopnosti chůze ukázalo statisticky významně vyšší hladiny sklerostinu u pacientek s omezenou schopností chůze ($EDSS \geq 4$) ve srovnání s těmi, které ve vzdálenosti kterou ujdou, nejsou významně omezeny ($EDSS < 4$) nebo se zdravými ženami (Graf 2). Výsledky jsou v souladu s předchozími klinickými studiemi, které dokumentovaly zvýšené koncentrace sklerostinu u žen s imobilizací po CMP (Gaudio et al. 2010) nebo u pacientů po míšním poranění (Morse et al. 2013, Morse et al. 2012, Battaglino et al. 2012). Výsledky jsou rovněž v souladu s experimentálními údaji, které dokumentují, že ztráta mechanické zátěže skeletu zvyšuje cirkulující hladiny sklerostinu (Moustafa et al. 2009). Naše výsledky ukazují, že nejen úplná imobilizace, ale i částečný hybný deficit u ambulantních žen s RS ($EDSS \leq 6,5$) vede k nárůstu cirkulujících hladin sklerostinu.

Navíc jsme prokázali významnou inverzní korelaci mezi sklerostinem a markerem kostní novotvorby PINP, a to jak u premenopauzálních, tak u postmenopauzálních žen s RS (Graf 3A). To je v souladu se známým inhibičním účinkem sklerostinu na kostní novotvorbu (van Bezooijen et al. 2005) a naznačuje poruchu Wnt signální cesty u pacientek s RS a s hybným deficitem. V předchozí studii u imobilizovaných pacientů po CMP Gaudio a spol. dokumentovali negativní korelaci mezi koncentracemi sklerostinu v séru a kostní alkalickou fosfatázou a pozitivní korelaci s markerem resorpční aktivity osteoklastů β CTX v séru (Gaudio et al. 2010). V naší studii sérové koncentrace β CTX nekorelovaly s hladinami sklerostinu v séru. Na rozdíl od studie Gaudio a spol. ale nebyly hodnoceny změny u úplně imobilizovaných pacientek (pacientky s $EDSS \geq 7$ nebyly do studie zařazeny). Navíc, koncentrace β CTX v séru pozitivně korelovaly s koncentracemi markeru syntézy kostního kolagenu PINP ($r = 0,566$, $p < 0,001$), což svědčí pro zachování spřažení („coupling“) mezi resorpční aktivitou osteoklastů a kostní novotvorbou u pacientek, které nejsou plně imobilizované. Zjistili jsme ale významnou pozitivní korelaci mezi sklerostinem a izoenzymem 5b osteoklastické kyselé fosfatázy TRAP 5b (Graf 3B), markerem, který vypovídá více o počtu osteoklastů, než o jejich aktuální resorpční aktivitě. Naše výsledky jsou

v souladu s řadou publikovaných pozorování, které svědčí pro katabolické účinky sklerostinu na kostní metabolismus. Wijenayka a spol. dokumentovali, že sklerostin stimuluje tvorbu a aktivitu osteoklastů zvýšením tvorby RANKL (Wijenayaka et al. 2011). Naopak podání humánní neutralizační protilátky proti sklerostinu (AMG 785) rychle a v závislosti na dávce snižuje hladiny markeru resorpční aktivity β CTX v séru (Padhi et al. 2014). Také podání sklerostin neutralizačních protilátek v experimentálním modelu imobilizace navodilo dramatické zvýšení kostní novotvorby a snížení osteoresorpce (Qin et al. 2015) a dlouhodobá léčba romosozumabem u postmenopauzálních žen s osteoporózou snížila riziko zlomenin (Cosman et al. 2016). Tyto výsledky svědčí pro centrální význam osteocytů v patogenezi imobilizační i postmenopauzální osteoporózy a slibují novou možnost léčby i pro pacienty s hybným deficitem při RS.

Závěr

Prokázali jsme, že premenopauzální i postmenopauzální ženy s omezenou schopností chůze (EDSS \geq 4) mají významně vyšší sérové koncentrace sklerostinu ve srovnání se zdravými ženami nebo s pacientkami bez významného motorického deficitu. Koncentrace cirkulujícího sklerostinu negativně korelovaly s PINP (markerem syntézy kostního kolagenu) a pozitivně korelovaly s TRAP 5b (markerem kostní resorpce, počtu osteoklastů). Výsledky podporují význam osteocytů v patogenezi osteoporózy u pacientů s RS a to již u ambulantních pacientů s RS (EDSS $<$ 7). Byť koncentrace sklerostinu v séru nekorelovaly s BMD v měřených úsecích skeletu, nelze vyloučit, že longitudinální změny BMD budou ve vztahu k cirkulujícím hladinám sklerostinu. Další prospektivní sledování by mělo ověřit platnost této hypotézy.

Literatura je uvedena v kapitole 6.

4.4 Vliv substituce vitamínem D s vápníkem a léčby risedronátem na BMD a kostní remodelaci u žen s RS léčených glukokortikoidy

Úvod

Na rozvoji osteoporózy a zvýšeném riziku zlomenin se u pacientů s RS může podílet také nedostatek vitamínu D (Marrie et al. 2009). Nedostatek vitamínu D je u pacientů s RS častý (Nieves et al. 1994, Marrie et al. 2009). K nízké expozici slunečnímu záření přispívá hybný deficit, intolerance tepla a pravděpodobně i další faktory. K poruše metabolismu vitamínu D může přispívat také léčba GK. Samotnou účinnost vitamínu D mohou ovlivňovat také polymorfismy receptoru pro vitamín D (VDR). Smolders a spol. zjistili vliv polymorfismu Fok-I VDR na metabolismus vitamínu D u pacientů s RS (Smolders et al. 2009). Byla zjištěna také asociace mezi stupněm motorického postižení u pacientů s RS a polymorfismy VDR (Mamutse et al. 2008). Význam polymorfismů VDR genu ve vztahu k BMD nebo kostní remodelaci zatím nebyl u pacientů s RS podrobněji studován. V populacích bez RS ale bylo zjištěno, že polymorfismus VDR genu (Bsm-I) může významně modulovat odpověď BMD a biochemických markerů kostní remodelace na příjem vápníku (Kiel et al. 1997), na suplementaci vápníkem a vitamínem D (Michaelsson et al. 2006) nebo na antiosteoresorpční léčbu (Palomba et al. 2005). Grundberg a spol. dokumentovali také vztahy mezi polymorfismy genu VDR a svalovou silou nebo tělesným složením (Grundberg et al. 2004). Cílem studie bylo prospektivně zhodnotit změny BMD a vybraných biochemických markerů kostní remodelace (BTM, bone turnover markers) u ambulantních žen s RS a posoudit vliv 2 polymorfismů VDR genu (Bsm I a Fok I), vliv hybného deficitu (EDSS) a léčby GK: a) u žen bez osteoporózy suplementovaných vitamínem D a vápníkem; b) u postmenopauzálních žen s osteoporózou léčených vitamínem D, vápníkem a risedronátem.

Původní práce

Publikace: Raška I Jr, Týblová M, Rašková M, Michalská D, Havrdová E, Zikán V. Omezená schopnost chůze významně přispívá k úbytku kostní denzity v proximálním femuru u premenopauzálních i postmenopauzálních žen s roztroušenou sklerózou. Osteologický bulletin, 2012, 17, 50-58.

Diskuze

U premenopauzálních ani u postmenopauzálních žen s RS bez osteoporózy suplementovaných samotným vitamínem D nebo v kombinaci s vápníkem jsme nezaznamenali statisticky významné změny BMD po 2 letech sledování, ani statisticky významné změny sledovaných BTM (β CTX, PINP) po roce sledování. Naproti tomu léčba risedronátem u pacientek s osteoporózou vedla ke statisticky významnému poklesu BTM a k vzestupu BMD v oblasti bederní páteře ($+4,8 \pm 3,6$ %). Změny BMD v oblasti proximálního femuru nebyly statisticky významné. Tyto výsledky svědčí pro příznivý účinek antiresorpční léčby risedronátem na metabolicky aktivnější trabekulární kost bederní páteře u žen s RS dlouhodobě léčených nízkou dávkou GK bez ohledu na hybný deficit. Signifikantní pokles BTM (β CTX i PINP) svědčí pro zpomalení remodelačního cyklu, kdy se může plněji uplatnit sekundární mineralizace kosti. I když při léčbě risedronátem útlum kostní resorpce provází i útlum kostní novotvorby, pokles markeru syntézy kostního kolagenu PINP byl u všech našich pacientek v pásmu premenopauzálních hodnot. Tyto výsledky jsou v souladu s předchozími studii hodnotícími vliv risedronátu u pacientů s GIO (Mok et al. 2008) a podporují příznivé působení risedronátu, zejména na bederní páteř i u pacientek s hybným deficitem při RS.

Výsledky prokázaly významnou interindividuální variabilitu změn BMD i BTM v obou skupinách žen. Ze sledovaných klinických a laboratorních parametrů (věk, BMI, polymorfismy VDR genu, 25OHD, EDSS, doba RS, doba léčby GK nebo kumulativní dávka GK) pouze EDSS významně negativně asociovalo s úbytkem BMD v oblasti celkového proximálního femuru i v krčku femuru, jak u pacientek bez osteoporózy suplementovaných vitamínem D a vápníkem, tak u pacientek s osteoporózou léčených risedronátem. Mezi změnou BMD v oblasti bederní páteře a EDSS jsme žádnou asociaci nezjistili. Tyto výsledky jsou v souladu s předchozími studii, které dokumentovaly významnou negativní asociaci mezi stupněm hybného deficitu (EDSS) a BMD v oblasti proximálního femuru, ale nikoliv v bederní páteři (Cosman et al. 1998, Weinstock-Guttman et al. 2004). Tyto výsledky opět potvrdily, že omezení chůze u pacientek s RS je velmi významným faktorem, který přispívá k úbytku BMD v oblasti proximálního femuru a to jak u neléčených premenopauzálních žen, tak u žen s osteoporózou léčených risedronátem. Meta-analýza hodnotící vliv chůze na BMD u postmenopauzálních žen s osteoporózou v populaci bez RS prokázala signifikantní vliv chůze na BMD v oblasti krčku femuru (Ryan et al. 2004). Předchozí studie u populací bez RS také dokumentovaly, že pravidelná fyzická zátěž může zvýšit množství svalové hmoty a

zlepšit BMD v oblasti krčku femuru u mladých i u starších osob (Ryan et al. 2004). Krátkodobé cvičební programy u pacientů s RS vedly ke zlepšení svalové hmoty a chůze (Dalgas et al. 2009, Snook et al. 2009), ale zatím nebyly současně studovány změny BMD. Výsledky naší pilotní studie zatím nelze srovnat s jinými podobnými studiemi u pacientů s RS.

Odpověď skeletu na léčbu může částečně ovlivnit i nedostatek vitamínu D a sekundární hyperparatyreóza, která přispívá k úbytku kortikální kosti. Ve sledovaném souboru jsme zjistili vysokou prevalenci nedostatku vitamínu D a pacientky s deficitem vitamínu D nebyly ze studie vyřazeny. Těžký nedostatek vitamínu D (25OHD < 10 ng/ml) byl zjištěn u 9,1 % pacientek bez osteoporózy a u 11,7 % pacientek s osteoporózou; středně těžký nedostatek (10-30 ng/ml) dokonce u 60 % pacientek bez osteoporózy a u 61,8 % pacientek s osteoporózou. Tyto výsledky jsou v souladu s odhadovanou prevalencí nedostatku vitamínu D, jak v obecné populaci, která se podle různých průzkumů pohybuje mezi 50-80 % (Holick et al. 2005, Ginde et al. 2009), tak u pacientů s RS (Yildiz et al. 2011). V dalších studiích bude nezbytné hodnotit účinnost samotné suplementace cholekalciferolem na hladiny 25OHD.

Na výrazné interindividuální variabilitě BMD a BTM u pacientek bez osteoporózy i u léčených pacientek s osteoporózou se mohou podílet i další u RS zatím nehodnocené faktory. Zajímavou otázkou u pacientů s RS zůstává význam centrální regulace kostní remodelace. V souladu se známou cirkadiánní variabilitu biochemických markerů kostního obratu (Zikán a Štěpán 2001, Luchavová et al. 2011) se prokazuje, že kostní remodelace je rovněž pod kontrolou hodinových genů (Fu et al. 2005, Takarada et al. 2016, Fujihara et al. 2014). Je velmi pravděpodobné, že zánětlivé a neurodegenerativní procesy CNS u RS, které vedou i k poruše oblastí odpovědných za regulaci cirkadiánních rytmů by mohly narušit i cirkadiánní rytmus kostní remodelace. U RS např. velmi časté poruchy spánku a sekrece melatoninu a dalších hormonů nebo autonomní dysfunkce mohou vést k desynchronizaci mezi centrálními a periferními hodinovými geny. U zdravých osob biochemické markery kostní novotvorby dosahují vrcholu v nočních hodinách (Zikán a Štěpán 2001), kdy je sympatický tonus obvykle nízký. Vyšší koncentrace leptinu a zvýšený sympatický tonus u pacientů s RS může oslabovat fyziologický noční vrchol kostní novotvorby a/nebo podporovat kostní resorpci. Vztahy mezi melatoninem, leptinem, autonomním nervovým systémem a kostní remodelací a/nebo BMD a rizikem zlomenin nebyly dosud u pacientů s RS zkoumány.

4.4 Srovnání léčby risedronátem a teriparatidem u osteoporotických žen s RS léčených glukokortikoidy

Úvod

Cílem léčby osteoporózy je prevence zlomenin. Byť jsou dostupné antiosteoporotické léky primárně určeny pro prevenci a léčbu postmenopauzální osteoporózy a průkaz jejich účinnosti v randomizovaných klinických studiích u pacientů s RS chybí, tak přesto můžeme očekávat, že budou alespoň zčásti účinné i u pacientů s RS. Léčba aminobisfosfonáty (BP) byla opakovaně hodnocena u pacientů s osteoporózou při imobilizaci (Li et al. 2005, Siu et al. 2013) a také u glukokortikoidy indukované osteoporózy (GIO) (Thomas et al. 2013, Devogelaar et al. 2013). BP blokují osteoresorpci, zpomalují kostní obrat a prodlužují sekundární mineralizaci kosti. U pacientů s RS tak mohou bránit úbytku BMD v důsledku zvýšené kostní resorpce kosti při poruchách mobility nebo při deficitu estrogenů podobně jako u žen s postmenopauzální osteoporózou. BP ale nemají vliv na viabilitu osteocytů, která je u pacientů s RS dále tlumena léčbou GK, deficitem estrogenů a sníženou mechanickou zátěží skeletu při motorickém deficitu. Nevýhodou dlouhodobé léčby BP je snížení kostního obratu s akumulací neviabilních osteocytů, a tedy další útlum fyziologické obnovy kostní hmoty. Zvláště u pacientů, kteří jsou léčeni GK, je proto výhodnější užití osteoanabolické léky, jako je např. rekombinantní lidský N-terminální fragment 1-34 molekuly parathormonu (teriparatid, TPTD). Léčba TPTD tlumí apoptózu osteocytů a osteoblastů a významně stimuluje kostní novotvorbu i u pacientů s GIO (Saag et al. 2007) a mohla by se uplatňovat i při imobilizační osteoporóze (Bruel et al. 2013). Cílem studie bylo zhodnotit vliv léčby risedronátem a TPTD na BMD a biochemické markery kostního obratu (BTM) u postmenopauzálních žen s osteoporózou léčených glukokortikoidy a s různým stupněm hybného deficitu při RS.

Původní práce:

Michalská D, Zikán V, Týblová M, Rašková M, Havrdová E, Raška I Jr, Srovnání léčby teriparatidem a risedronátem v prevenci úbytku kostní hmoty u postmenopauzálních žen s roztroušenou sklerózou léčených nízkou dávkou glukokortikoidů. Osteologický Bulletin, 2015, 20: 3-9.

Diskuze

Naše studie je první prací, která hodnotí léčbu risedronátem a TPTD u osteoporotických žen s RS léčených GK. Osteoanabolická léčba TPTD i antiosteoresorpční léčba risedronátem vedla po roce léčby k významnému vzestupu BMD v bederní páteři. Nárůst BMD ve skupině léčené TPTD byl větší, ale rozdíl mezi skupinami nebyl statisticky významný ($+7,4 \pm 8$ % TPTD vs. $2,8 \pm 2,9$ % risedronát; $p = 0,09$). Je pravděpodobné, že na tyto výsledky má vliv výrazná interindividuální variabilita změn BMD při léčbě TPTD. Změny BMD v oblasti celkového proximálního femuru a v krčku femuru nebyly po 12 měsících léčby signifikantní ani v jedné skupině. V oblasti proximálního femuru se může negativně uplatňovat snížená svalová síla dolních končetin při hybném deficitu. Rovněž krátká doba sledování bez plného uplatnění sekundární mineralizace kosti může vysvětlovat nesignifikantní změny BMD v proximálním femuru. Předchozí studie s TPTD prokazovaly největší nárůst BMD v oblasti proximálního femuru až po 18 měsících léčby (Eriksen et al. 2014).

Změny BTM názorně dokumentují rozdílný mechanismus působení obou léků na kostní remodelaci. Léčba TPTD vedla k významnému vzestupu markeru kostní novotvorby PINP i markeru kostní resorpce β CTX již po 6 měsících léčby. TPTD, biologicky účinný rekombinantní N-terminální fragment 1-34 lidského parathormonu, stimuluje proliferaci a diferenciaci buněk osteoblastické řady, tlumí apoptózu osteoblastů a osteocytů a zvyšuje kostní novotvorbu v oblasti trámčité i kortikální kosti. Léčba TPTD tak může přímo kompenzovat hlavní patogenetický mechanismus GIO, útlum kostní novotvorby, a tato léčba je proto řádově účinnější než léčba BP (Saag et al. 2009). Také při osteoporóze z inaktivity, kdy dochází k apoptóze osteocytů a k útlumu kostní novotvorby, bude léčba TPTD účinnější (Turner et al. 2007). V této indikaci ale zatím chybí klinické studie a naše výsledky tedy vůbec poprvé dokumentují vliv TPTD při hybném deficitu u RS.

Léčba risedronátem, na rozdíl od TPTD, navodila signifikantní pokles obou sledovaných BTM, což svědčí pro zpomalení remodelační aktivity kosti. Útlum kostní remodelace vede k prodloužení sekundární fáze mineralizace kosti (Meunier a Boivin 1997) a k nárůstu BMD. Ve shodě s předchozími studiemi bylo snížení markeru syntézy kostního kolagenu PINP v séru u všech pacientů v pásmu premenopauzálních hodnot, tedy ani při léčbě nízkými

dávkami GK v kombinaci s risedronátem nedocházelo u žádné pacientky k nadměrnému útlumu kostní novotvorby. Naše výsledky jsou v souladu i s předchozími studiemi, které hodnotily působení risedronátu u pacientů s GIO (Devogelaer et al. 2013, Gluer et al. 2013, Mok et al. 2013) a podporují příznivé působení risedronátu i u pacientů s RS léčených nízkými dávkami GK. Naše předchozí studie také ukázaly, že ve srovnání s BP s většími antiremodelačními účinky např. s alendronátem netlumila dlouhodobá léčba risedronátem u žen s involuční osteoporózou akutní odpověď osteoklastů na parathormon (Zikán a Štěpán 2009), což svědčí pro zachování regulačních mechanismů, které mohou být důležité pro kostní novotvorbu, resp. pro „coupling“ mezi činnostmi osteoklastů a osteoblastů (Martin a Sims 2005). Zachování mechanismů, které zvyšují nebo udržují kostní novotvorbu, může být u pacientů s RS mimořádně důležité vzhledem ke kombinaci faktorů, které přispívají k útlumu kostní novotvorby.

V této pilotní studii jsme nezjistili vztah mezi EDSS nebo denní a kumulativní dávkou GK a změnami BMD po roce léčby ani v jedné ze sledovaných skupin žen. Naše výsledky ale potvrdily signifikantní inverzní vztah mezi EDSS a bazální hodnotou BMD v oblasti celkového proximálního femuru nebo v krčku femuru v celé skupině žen před zahájením léčby osteoporózy. Byť změny BMD po léčbě neasociovaly s EDSS ani v jedné skupině pacientek, nelze vyloučit, že se tento vztah projeví až po delší době léčby. V předchozí longitudinální studii, jsme vztah mezi EDSS a změnou BMD dokumentovali až po 2 letech sledování (Raška et al. 2012).

Kombinovaná léčba TPTD s risedronátem by u pacientů s omezenou hybností při RS mohla být účinnější než samotná léčba TPTD nebo risedronátem, jelikož oba léky s rozdílnými mechanismy účinku se mohou vzájemně doplňovat. TPTD, který stimuluje novotvorbu trámčité i kortikální kostní hmoty (tlumí imobilizací a GK navozené zrychlení apoptózy osteocytů), zároveň zvyšuje osteoresorpci, která přechodně přispívá k vyšší trabekularizaci kortikální kosti. V kombinaci s mírným antiosteoresorpčním působením risedronátu by mohlo být posíleno působení TPTD, zejména v oblasti proximálního femuru. Tuto hypotézu podporují výsledky kombinované léčby TPTD s risedronátem u mužů (Walker et al. 2013). Zajímavým přístupem k léčbě osteoporózy u pacientů s RS by mohlo být uplatnění chronofarmakologického přístupu, který jsme již ověřili u žen s těžkou involuční osteoporózou (Luchavová et al. 2011, Michalská et al. 2012). V případě útlumu kostní novotvorby a dysfunkce osteocytů u pacientů s RS může být správné načasování („timing“)

aplikace TPTD zajímavou možností, jak zvýšit účinnost osteoanabolické léčby osteoporózy. Tyto studie, ale u pacientů s RS zatím chybí.

Důležitou nefarmakologickou možností, která může zvýšit účinnost farmakologické léčby je cvičení. Hybný deficit je u pacientek s RS velmi významným faktorem, který přispívá k úbytku BMD v oblasti proximálního femuru i při léčbě osteoporózy, jak jsme dokumentovali i v předchozí studii (Raška et al. 2012). Mechanická zátěž tlumí apoptózu osteocytů (Plotkin et al. 2005) a snižuje produkci sklerostinu (produktu Sost genu) (Lin et al. 2009) a RANK ligandu osteocyty (Cabahug-Zuckerman et al. 2016). Naopak, snížení mechanické zátěže kosti urychluje apoptózu osteocytů (Bakker et al. 2004) stimuluje produkci sklerostinu i u pacientů s RS (viz kap. 4.3). Krátkodobé cvičební programy u pacientů s RS vedly ke zlepšení svalové hmoty a chůze (Dalgas et al. 2009, Snook et al. 2009), ale zatím nebyly současně studovány změny kostní hmoty (např. BMD). Budoucí studie by se tedy měly zaměřit i na hodnocení interakcí mezi farmakologickou léčbou osteoporózy a nefarmakologickými přístupy se zaměřením na posílení svalové hmoty, zejména v oblasti dolních končetin.

5. Závěry

Osteoporóza a zlomeniny se u pacientů s RS vyskytují častěji než v běžné populaci. Zlomeniny jsou u pacientů s RS zvláště závažné, jelikož mají za následek další zhoršení kvality života a dále prohlubují závislost postižených osob na dopomoci. Naše studie prokázaly vysoký výskyt osteopenie a osteoporózy a to i ve skupině premenopauzálních žen (59,3% a 8,8%, resp.) a u mužů s RS (62,5% a 25%, resp.). V retrospektivní longitudinální studii (438 pacientů, 73% žen) se prevalence osteopenie zvýšila během 5 let sledování z 47% na 56% a prevalence osteoporózy z 9% na 16%. Roční incidence zlomenin v této studii byla 3,2%, což odpovídá již dříve publikovaným údajům u pacientů s RS. Výsledky ukázaly, že zlomeniny vznikají i u mladších mužů a u premenopauzálních žen, což zdůrazňuje význam včasné identifikace rizikových pacientů a zavedení vhodných preventivních opatření.

Potvrdili jsme, že omezená schopnost chůze (zejména EDSS ≥ 6) je nejvýznamnějším rizikovým faktorem, jak pro ztrátu BMD v proximálním femuru, tak pro riziko nízko-traumatických zlomenin. Riziko zlomenin asociovalo s EDSS, ale nikoliv s kumulativní dávkou GK a bylo vyšší při EDSS ≥ 6 (roční riziko 3,5% vs 3,0% při EDSS < 6). U mužů jsme dokumentovali více než dvojnásobně vyšší výskyt osteoporózy při EDSS ≥ 6 . Nález snížené BMD u části pacientů bez poruchy chůze (EDSS < 4) vyžaduje další objasnění. K úbytku BMD u pacientů s RS může přispívat také dlouhodobá léčba GK, ale její vliv je ve srovnání s působením motorického deficitu významně slabší.

Zjistili jsme, že k úbytku BMD významně přispívá ztráta svalové hmoty. Svalová hmota dolních končetin u mužů negativně asociovala s EDSS. Při porovnávání podskupin mužů podle EDSS, byla svalová hmota dolních končetin (Leg LM%) významně nižší u mužů s EDSS ≥ 6 než u mužů s EDSS < 6 . Multivariační analýza u mužů potvrdila, že svalová hmota dolních končetin (Leg LM%) je nezávislým prediktorem celotělového obsahu kostního minerálu (TBBMC). Multivariční analýza u premenopauzálních žen (ale nikoliv u postmenopauzálních žen) prokázala, že celotělové množství svalové hmoty (LM, kg/m^2) je významným prediktorem BMD v oblasti bederní páteře, celotělové BMD a TBBMC. Výsledky zdůrazňují potřebu tvorby vhodných preventivních programů již u mladších pacientů s RS, zejména cíleného cvičení a rehabilitačních programů zaměřených na posílení svalové hmoty v oblasti dolních končetin.

Dokumentovali jsme, že hybný deficit významně zasahuje do rovnováhy mezi kostní

resorpcí a kostní novotvorbou. U pacientů s nižším stupněm motorického postižení (EDSS 1-5,5) nebyly koncentrace biochemického markeru kostní resorpce (β CTX) a markerů kostní novotvorby (PINP, osteokalcin) rozdílné od kontrolní skupiny. Ale v případě vyššího stupně motorického deficitu (EDSS > 5,5) byly plazmatické koncentrace β CTX významně vyšší než u kontrolní skupiny a u těchto pacientů byla také po 2 letech zaznamenána větší ztráta BMD v oblasti proximálního femuru. Poprvé jsme prokázali pozitivní asociaci mezi sklerostinem v séru (produktem osteocytů) a stupněm hybného deficitu (EDSS). Navíc jsme zjistili pozitivní asociaci mezi sklerostinem a osteoklastickou kyselou fosfatázou (TRAP 5b) a negativní asociaci mezi sklerostinem a markerem syntézy kostního kolagenu PINP. Tyto výsledky svědčí pro centrální význam osteocytů a Wnt signální dráhy v patogenezi osteoporózy u RS. Zatím chybí prospektivní studie, které by posuzovaly změny BMD nebo riziko zlomenin ve vztahu k osteocytům, resp. k jejich cirkulujícím markerům, jako je např. sklerostin. Výsledky zdůraznily význam fyzické aktivity pro kostní metabolismus a nutnost včasného zahájení cvičebních programů již u pacientů s nižším stupněm hybného deficitu (EDSS \geq 4).

Výsledky upozornily na velmi častý nedostatek vitamínu D u této rizikové populace. V souboru 110 žen s RS a u 75 zdravých žen jsme těžký nedostatek vitamínu D (25OHD < 10 ng/ml) zjistili u 8,2 % pacientek (ve srovnání s 2,5 % zdravých žen) a středně těžký nedostatek (10-30 ng/ml) u 70 % pacientek (ve srovnání s 50,7 % zdravých žen). Tyto výsledky jsou v souladu s odhadovanou prevalencí nedostatku vitamínu D, jak v obecné populaci, tak u pacientů s RS. Větší populační studie u pacientů s RS, ale zatím v ČR nebyly publikovány. Potvrdili jsme významnou negativní korelaci mezi koncentracemi 25OHD a PTH u premenopauzálních žen s RS. Byť sekundární hyperparatyreóza může přispívat k úbytku BMD v našem souboru jsme nezjistili žádný vztah mezi koncentrací 25OHD a BMD. Také samotná suplementace vitamínem D nebo v kombinaci s vápníkem u premenopauzálních nebo postmenopauzálních žen s RS bez osteoporózy nevedla během 2 let sledování ke statisticky významným změnám BMD nebo sledovaných kostních markerů. Jsou nezbytné dlouhodobější longitudinální studie, které by sledovaly účinnost suplementace vitamínem D na kostní a svalovou hmotu.

Byť je osteoporóze u pacientů s RS věnováno v posledních letech již mnohem více pozornosti, tak zatím chybí ověřené preventivní a léčebné postupy ke snížení rizika zlomenin. U osteoporotických žen s RS léčených nízkými dávkami GK vedla roční osteoanabolická

léčba teriparatidem nebo 2 letá léčba risedronátem k signifikantnímu zvýšení BMD v bederní páteři, ale nikoliv v oblasti proximálního femuru. Mechanismy působení na kost mezi risedronátem a teriparatidem se liší. Léčba risedronátem navodila statisticky významný pokles biochemických markerů kostní remodelace (β CTX a PINP), zatímco léčba teriparatidem jejich signifikantní vzestup. Dlouhodobější longitudinální studie by měly ověřit, zda dlouhodobá sekvenční nebo kombinovaná léčba (osteoanabolická a antiosteoresorpční) povede ke zlepšení BMD a pevnosti kosti i v oblasti proximálního femuru.

Výsledky prokázaly, že omezená schopnost chůze významně moduluje odpověď BMD v oblasti proximálního femuru na léčbu risedronátem. Ze sledovaných klinických a laboratorních parametrů (věk, BMI, polymorfismy VDR genu, 25OHD, EDSS, doba RS, léčba GK) byl významným zdrojem interindividuální variability pouze hybný deficit. Mezi EDSS a úbytkem BMD v oblasti celkového proximálního femuru (po 2 letech) jsme potvrdili významnou negativní asociaci, jak u žen bez osteoporózy, tak u žen s osteoporózou léčených risedronátem. Vzhledem k preferenční ztrátě kostní i svalové hmoty v oblasti dolních končetin bude vhodné v dalších studiích posuzovat interakce farmakologické léčby s dalšími nefarmakologickými postupy zaměřenými na posílení svalové hmoty a síly v oblasti dolních končetin.

Vyhodnocení stavu skeletu a rizika zlomenin by mělo být nedílnou součástí plánu péče o pacienty s RS a to i u mladších pacientů, zejména při vyšším stupni hybného deficitu ($EDSS \geq 6$). Možnosti prevence ale začínají nepochybně již u premenopauzálních žen a u mladších mužů s lehčím stupněm motorického deficitu ($EDSS \geq 4$). Navržený algoritmus vyšetření u pacientů s RS je pracovní a vyžaduje další rozpracování a ověření v prospektivních studiích (Obr. 4, str. 43). Zvláštní prioritou je najít způsob, jak začlenit stupeň hybného deficitu ($EDSS$) a riziko pádů do algoritmu výpočtu rizika zlomenin. Hlubší poznání patogeneze osteoporózy u RS jistě přispěje i k lepší identifikaci rizikových osob a umožní včasné zahájení vhodných preventivních a léčebných opatření.

Na závěr shrnuji některé otázky, které u pacientů s RS vyžadují další výzkum:

- Má zlepšení svalové hmoty a síly v nepostižených oblastech vliv i na vzdálenější svalově kostní jednotky? Jaký je vliv růstových faktorů, myokinů a osteokinů ?
- Jaká je dlouhodobá účinnost (v prevenci osteoporózy a zlomenin) a bezpečnost kombinace farmakologických a nefarmakologických přístupů u pacientů s RS? Jaký je vliv preventivních nebo léčebných opatření na osteocyty a kvalitu kosti?
- Jaký je význam neurální a neurohumorální regulace kostní remodelace u RS?
- Jak se projevuje desynchronizace mezi centrálními a periferními hodinovými geny u pacientů s RS ve vztahu ke kostní remodelaci a riziku osteoporózy a zlomenin? Může fyzická aktivita a/nebo správné načasování nutriční nebo farmakologické intervence zpětnovazebně modulovat porušený cirkadiánní systém a zvýšit účinnost léčby?
- Jaké je etiologie ztráty kostní hmoty u pacientů s minimálním neurologickým nálezem (EDSS < 4)?
- Začlenění EDSS a rizika pádů, případně dalších rizikových faktorů specifických pro RS do algoritmu výpočtu rizika zlomenin.

6. Literatura

1. Åberg D, Jood K, Blomstrand C et al. Serum IGF-I levels correlate to improvement of functional outcome after ischemic stroke. *J Clin Endocrinol Metab*, 2011, 96:E1055-64.
2. Abraham AK, Ramanathan M, Weinstock-Guttman B et al. Mechanisms of interferon-beta effects on bone homeostasis. *Biochem Pharmacol*, 2009, 77:1757-62.
3. Adler RA, El-Hajj Fuleihan G, Bauer DC et al. Managing Osteoporosis in Patients on Long-Term Bisphosphonate Treatment: Report of a Task Force of the American Society for Bone and Mineral Research. *J Bone Miner Res*, 2016, 31:16-35.
4. Aguirre JI, Plotkin LI, Stewart SA et al. Osteocyte apoptosis is induced by weightlessness in mice and precedes osteoclast recruitment and bone loss. *J Bone Miner Res*, 2006, 21:605-15.
5. Altıntaş A, Saruhan-Direskeneli G, Benbir G et al. The role of osteopontin: a shared pathway in the pathogenesis of multiple sclerosis and osteoporosis? *J Neurol Sci*, 2009, 276:41-4.
6. Amiche MA, Albaum JM, Tadrous M et al. Fracture risk in oral glucocorticoid users: a Bayesian meta-regression leveraging control arms of osteoporosis clinical trials. *Osteoporos Int*, 2016, 27:1709-18.
7. Amrein K, Amrein S, Drexler C et al. Sclerostin and its association with physical activity, age, gender, body composition, and bone mineral content in healthy adults. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012, 97:148-154.
8. Amstrup AK, Sikjaer T, Heickendorff L et al. Melatonin improves bone mineral density at the femoral neck in postmenopausal women with osteopenia: a randomized controlled trial. *J Pineal Res*, 2015 59:221-9.
9. Amstrup AK, Sikjaer T, Mosekilde L et al. Melatonin and the skeleton. *Osteoporos Int*, 2013, 24:2919-27.
10. Arabi A, Mahfoud Z, Zahed L et al. Effect of age, gender and calciotropic hormones on the relationship between vitamin D receptor gene polymorphisms and bone mineral density. *Eur J Clin Nutr*, 2010 64:383-91.
11. Baek K, Bloomfield SA. Beta-adrenergic blockade and leptin replacement effectively mitigate disuse bone loss. *J Bone Miner Res*, 2009, 24: 792-9.
12. Bakker S, Klein-Nulend J, Burger E. Shear stress inhibits while disuse promotes osteocyte apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 320:1163-1168.
13. Bakker AD, Jaspers RT. IL-6 and IGF-1 Signaling Within and Between Muscle and Bone: How Important is the mTOR Pathway for Bone Metabolism? *Curr Osteoporos Rep*, 2015, 13:131-9.
14. Barr R, Macdonald H, Stewart A et al. Association between vitamin D receptor gene polymorphisms, falls, balance and muscle power: results from two independent studies (APOSS and OPUS). *Osteoporos Int*, 2010, 21:457-66.
15. Batista S, Teter B, Sequeira K et al. Cognitive impairment is associated with reduced bone mass in multiple sclerosis. *Mult Scler*, 2012, 18:1459-65.
16. Battaglino RA, Sudhakar S, Lazzari AA et al. Circulating sclerostin is elevated in short-term and reduced in long-term SCI. *Bone*, 2012, 51:600-605.

17. Bazelier MT, van Staa T, Uitdehaag BM et al. The risk of fracture in patients with multiple sclerosis: the UK general practice research database. *J Bone Miner Res*, 2011, 26:2271–2279.
18. Bazelier MT, Bentzen J, Vestergaard P et al. The risk of fracture in incident multiple sclerosis patients: The Danish National Health Registers. *Mult Scler*, 2012a, 18:1609–16.
19. Bazelier MT, van Staa TP, Uitdehaag BM et al. A simple score for estimating the long-term risk of fracture in patients with multiple sclerosis. *Neurology*, 2012b, 79:922–8.
20. Barnes MS, Bonham MP, Robson PJ et al. Assessment of 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D3 concentrations in male and female multiple sclerosis patients and control volunteers. *Mult Scler*, 2007, 13:670–672.
21. Becker DJ, Kilgore ML, Morrisey MA. The societal burden of osteoporosis. *Curr Rheumatol Rep*, 2010, 12:186–91.
22. Bergh FT, Kumpfel T, Schumann E et al. Monthly intravenous methylprednisolone in relapsing–remitting multiple sclerosis – reduction of enhancing lesions, T2 lesion volume and plasma prolactin concentrations. *BMC Neurol*, 2006, 6:19.
23. Bhattacharya RK, Vaishnav N, Dubinsky RM. Is there an increased risk of hip fracture in multiple sclerosis? Analysis of the Nationwide Inpatient Sample. *J Multidiscip Healthc*, 2014, 7:119–22.
24. Bigelow RT, Semenov YR, Anson E et al. Impaired Vestibular Function and Low Bone Mineral Density: Data from the Baltimore Longitudinal Study of Aging. *J Assoc Res Otolaryngol*, 2016, 17:433–40.
25. Binks S, Dobson R. Risk Factors, Epidemiology and Treatment Strategies for Metabolic Bone Disease in Patients with Neurological Disease. *Curr Osteoporos Rep*, 2016, 14:199–210.
26. Bischoff-Ferrari HA, Dawson-Hughes B, Staehelin HB et al. Fall prevention with supplemental and active forms of vitamin D: a metaanalysis of randomised controlled trials. *BMJ (Clin Res Ed)*, 2009,339:b3692.
27. Blahova-Dusankova J, Kalincik T, Dolezal T et al. Cost of multiple sclerosis in the Czech Republic: the COMS study. *Mult Scler*, 2012, 18:662–8.
28. Blake AJ, Morgan K, Bendall MJ et al. Falls by elderly people at home: prevalence and associated factors. *Age Ageing*, 1988, 17:365–372.
29. Bloomfield SA. Disuse osteopenia. *Curr Osteoporos Rep*, 2010, 8:91–7.
30. Boeschoten RE, Braamse AM, Beekman AT et al. Prevalence of depression and anxiety in Multiple Sclerosis: A systematic review and meta-analysis. *J Neurol Sci*, 2017, 372:331–341.
31. Bonewald LF. The Role of the Osteocyte in Bone and Nonbone Disease. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2017, 46:1–18.
32. Börnsen L, Khademi M, Olsson T et al. Osteopontin concentrations are increased in cerebrospinal fluid during attacks of multiple sclerosis. *Mult Scler*, 2011, 17:32–42.
33. Boonen S, Rosen C, Bouillon R et al. Musculoskeletal effects of the recombinant human IGF-I/IGF binding protein-3 complex in osteoporotic patients with proximal femoral fracture: a double-blind, placebo-controlled pilot study. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002, 87:1593–9.
34. Bouillon R, Van Schoor NM, Gielen E et al. Optimal vitamin D status: a critical analysis on the basis of evidence-based medicine. *J Clin Endocrinol Metab*, 2013, 98:E1283–304.

35. Bove R, Musallam A, Healy BC et al. Low testosterone is associated with disability in men with multiple sclerosis. *Mult Scler*, 2014, 20:1584-92.
36. Braley TJ, Boudreau EA. Sleep Disorders in Multiple Sclerosis. *Curr Neurol Neurosci Rep*, 2016, 16:50.
37. Braun D, Madrigal JL, Feinstein DL. Noradrenergic regulation of glial activation: molecular mechanisms and therapeutic implications. *Curr Neuropharmacol*, 2014, 12: 342-52.
38. Brotto M, Bonewald L. Bone and muscle: Interactions beyond mechanical. *Bone*, 2015, 80:109-14.
39. Brüel A, Vegger JB, Raffalt AC et al. PTH (1-34), but not strontium ranelate counteract loss of trabecular thickness and bone strength in disuse osteopenic rats. *Bone*, 2013, 53:51-8.
40. Bubbear JS, Gall A, Middleton FR et al. Early treatment with zoledronic acid prevents bone loss at the hip following acute spinal cord injury. *Osteoporos Int*, 2011, 22:271-9
41. Buenafe AC. Diurnal rhythms are altered in a mouse model of multiple sclerosis. *J Neuroimmunol*, 2012, 243:12-7.
42. Buijs FN et al. The circadian system: a regulatory feedback network of periphery and brain. *Physiology (Bethesda)*, 2016, 31:170–181.
43. Cabahug-Zuckerman P, Frikha-Benayed D, Majeska RJ et al. Osteocyte Apoptosis Caused by Hindlimb Unloading is Required to Trigger Osteocyte RANKL Production and Subsequent Resorption of Cortical and Trabecular Bone in Mice Femurs. *J Bone Miner Res*, 2016, 31:1356-65.
44. Cakt BD, Nacir B, Genc H et al. Cycling progressive resistance training for people with multiple sclerosis: a randomized controlled study. *Am J Phys Med Rehabil*, 2010, 89:446–457.
45. Caplan L, Saag KG. Glucocorticoids and the risk of osteoporosis. *Expert Opin Drug Saf*, 2009, 8:33-47.
46. Cardinali DP, Ladizesky MG, Boggio V et al. Melatonin effects on bone: experimental facts and clinical perspectives. *J Pineal Res*, 2003, 34:81-7.
47. Cardoso L, Herman BC, Verborgt O et al. Osteocyte apoptosis controls activation of intracortical resorption in response to bone fatigue. *J Bone Miner Res*, 2009, 24:597–605.
48. Cattaneo D, DeNuzzo C, Fascia T et al. Risks of falls in subjects with multiple sclerosis. *Arch Phys Med Rehabil*, 2002, 83: 864–867.
49. Chapurlat RD, Arlot M, Burt-Pichat B et al. Microcrack frequency and bone remodeling in postmenopausal osteoporotic women on long-term bisphosphonates: a bone biopsy study. *J Bone Miner Res*, 2007, 22:1502–1509.
50. Chavassieux PM, Arlot ME, Reda C et al. Histomorphometric assessment of the long-term effects of alendronate on bone quality and remodeling in patients with osteoporosis. *J Clin Invest*, 1997, 100:1475–1480.
51. Chun J, Hartung HP. Mechanism of action of oral fingolimod (FTY720) in multiple sclerosis. *Clin Neuropharmacol*, 2010, 33:91-101.
52. Cianferotti L, Brandi ML. Muscle-bone interactions: basic and clinical aspects. *Endocrine*, 2014, 45:165-77.
53. Cirmanova V, Bayer M, Starka L et al. The effect of leptin on bone: an evolving concept of action. *Physiol Res*, 2008, 57 (Suppl 1): S143–S151.
54. Cizza G, Primma S, Csako G. Depression as a risk factor for osteoporosis. *Trends Endocrinol Metab*, 2009, 20:367–373.

55. Colli LM, do Amaral FC, Torres N et al. Interindividual glucocorticoid sensitivity in young healthy subjects: the role of glucocorticoid receptor alpha and beta isoforms ratio. *Horm Metab Res*, 2007, 39:425-9.
56. Confavreux C, Vukusic S, Moreau T et al. Relapses and progression of disability in multiple sclerosis. *N Engl J Med*, 2000, 343:1430–1438.
57. Comabella M, Pericot I, Goertsches R et al. Plasma osteopontin levels in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol*, 2005, 158:231-239.
58. Caminero A, Bartolomé M. Sleep disturbances in multiple sclerosis. *J Neurol Sci*, 2011, 309:86-91.
59. Compston A, Coles A. Multiple sclerosis. *Lancet*, 2008, 372:1502–1517.
60. Confavreux C, Vukusic S, Moreau T et al. Relapses and progression of disability in multiple sclerosis. *N Engl J Med*, 2000, 343:1430–1438.
61. Cooper MS, Bujalska I, Rabbitt E et al. Modulation of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase isozymes by proinflammatory cytokines in osteoblasts: an autocrine switch from glucocorticoid inactivation to activation. *J Bone Miner Res*, 2001, 16:1037-44.
62. Correale J, Ysrraelit MC, Gaitan MI. Immunomodulatory effects of vitamin D in multiple sclerosis. *Brain*, 2009, 132:1146–1160.
63. Cosman F, Nieves J, Herbert J et al. High-dose glucocorticoids in multiple sclerosis patients exert direct effects on the kidney and skeleton. *J Bone Miner Res*, 1994, 9:1097–1105.
64. Cosman F, Nieves J, Komar L et al. Fracture history and bone loss in patients with MS. *Neurology*, 1998, 51:1161–1165.
65. Cosman F, Crittenden DB, Adachi JD et al. Romosozumab Treatment in Postmenopausal Women with Osteoporosis. *N Engl J Med*, 2016, 375:1532-1543.
66. Coto-Montes A, Boga JA, Tan DX et al. Melatonin as a Potential Agent in the Treatment of Sarcopenia. *Int J Mol Sci*, 2016, 17, pii: E1771.
67. Cumming RG, Cummings SR, Nevitt MC et al. Calcium intake and fracture risk: results from the study of osteoporotic fractures. *Am J Epidemiol*, 1997, 145:926-34.
68. Dalgas U, Stenager E, Jakobsen J et al. Resistance training improves muscle strength and functional capacity in multiple sclerosis. *Neurology*, 2009, 73:1478–1484.
69. Damasceno A, Moraes AS, Farias A et al. Disruption of melatonin circadian rhythm production is related to multiple sclerosis severity: A preliminary study. *J Neurol Sci*, 2015, 353:166-8.
70. Daniell HW. Opioid osteoporosis. *Arch Intern Med*, 2004, 164:338.
71. Davis SL, Wilson TE, White AT et al. Thermoregulation in multiple sclerosis. *J Appl Physiol (1985)*, 2010, 109:1531-7.
72. Davis SL, Wilson TE, Vener JM et al. Pilocarpine-induced sweat gland function in individuals with multiple sclerosis. *J Appl Physiol (1985)*, 2005, 98:1740-4.
73. Davies JS, Hinds NP, Scanlon MF. Growth hormone deficiency and hypogonadism in a patient with multiple sclerosis. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 1996, 44:117-9.
74. Dempster D, Zhou HH, Recker RR et al. A longitudinal study of skeletal histomorphometry at 6 and 24 months across four bone envelopes in postmenopausal women with osteoporosis receiving teriparatide or zoledronic acid in the SHOTZ trial. *J Bone Miner Res*, 2016a, 31:1429–39.
75. Dempster DW, Zhou H, Recker RR et al. Differential Effects of Teriparatide and Denosumab on Intact PTH and Bone Formation Indices: AVA Osteoporosis Study. *J Clin Endocrinol Metab*, 2016b, 101:1353-63.

76. Devogelaer JP, Sambrook P, Reid DM et al. Effect on bone turnover markers of once-yearly intravenous infusion of zoledronic acid versus daily oral risedronate in patients treated with glucocorticoids. *Rheumatology (Oxford)*, 2013, 52:1058-69.
77. Dimitri P, Rosen C. The Central Nervous System and Bone Metabolism: An Evolving Story. *Calcif Tissue Int*, 2016, (v tisku).
78. Dobnig H, Turner RT. Evidence that intermittent treatment with parathyroid hormone increases bone formation in adult rats by activation of bone lining cells. *Endocrinology*, 1995, 136:3632–3638.
79. Dobnig H, Turner RT. The effects of programmed administration of human parathyroid hormone fragment (1-34) on bone histomorphometry and serum chemistry in rats. *Endocrinology*, 1997, 138:4607-12.
80. Dobson R, Ramagopalan S, Giovannoni G et al. Risk of fractures in patients with multiple sclerosis: a population-based cohort study. *Neurology*, 2012, 79:1934-5.
81. Dobson R, Leddy SG, Gangadharan S et al. Assessing fracture risk in people with MS: a service development study comparing three fracture risk scoring systems. *BMJ Open*, 2013, 3 (3).
82. Dong G, Zhang N, Wu Z et al. Multiple sclerosis increases fracture risk: a meta-analysis. *Biomed Res Int*, 2015, 2015:650138.
83. Dovio A, Perazzolo L, Osella G et al. Immediate fall of bone formation and transient increase of bone resorption in the course of high-dose, short-term glucocorticoid therapy in young patients with multiple sclerosis. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004, 89:4923–4928.
84. Dovio A, Micossi I, Bianco E et al. Determinants of glucocorticoid action in the bone microenvironment. *J Endocrinol Invest*, 2008, 31(7 Suppl):7-15.
85. Drake MT, Khosla S. Male osteoporosis. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2012, 41:629-41.
86. Elefteriou F et al. Leptin regulation of bone resorption by the sympathetic nervous system and CART. *Nature*, 2005, 434:514–520.
87. Elefteriou F, Campbell P, Ma Y. Control of bone remodeling by the peripheral sympathetic nervous system. *Calcif Tissue Int*, 2014, 94:140-51.
88. Edwards MH, Jameson K, Denison H et al. Clinical risk factors, bone density and fall history in the prediction of incident fracture among men and women. *Bone*, 2013, 52:541-7.
89. Elkasrawy MN, Hamrick MW. Myostatin (GDF-8) as a key factor linking muscle mass and skeletal form. *J Musculoskelet Neuronal Interact*, 2010, 10:56-63.
90. Egermann M, Gerhardt C, Barth A et al. Pinealectomy affects bone mineral density and structure--an experimental study in sheep. *BMC Musculoskelet Disord*, 2011, 12:271.
91. Ehrhardt GR, Hijikata A, Kitamura H et al. Discriminating gene expression profiles of memory B cell subpopulations. *J Exp Med*, 2008, 205:1807–1817.
92. Elias AN, Gwinup G. Immobilization osteoporosis in paraplegia. *J Am Paraplegia Soc*, 1992, 15:163-70.
93. Ensrud KE, Duong T, Cauley JA et al. Low fractional calcium absorption increases the risk for hip fracture in women with low calcium intake. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *Ann Intern Med*, 2000, 132:345-53.
94. Eriksen EF, Melsen F, Sod E et al. Effects of long-term risedronate on bone quality and bone turnover in women with postmenopausal osteoporosis. *Bone*, 2002, 31:620-625.

95. Eriksen EF, Keaveny TM, Gallagher ER et al. Literature review: The effects of teriparatide therapy at the hip in patients with osteoporosis. *Bone*, 2014, 67:246-56.
96. Farr JN, Charkoudian N, Barnes JN et al. Relationship of sympathetic activity to bone micro-structure, turnover, and plasma osteopontin levels in women. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012, 97:4219–4227.
97. Feng BO, Wu W, Wang H et al. Interaction between muscle and bone, and improving the effects of electrical muscle stimulation on amyotrophy and bone loss in a denervation rat model via sciatic neurectomy. *Biomed Rep*, 2016, 4:589-594.
98. Ferron M, Wei J, Yoshizawa T et al. Insulin signaling in osteoblasts integrates bone remodeling and energy metabolism. *Cell*, 2010, 142: 296 – 308.
99. Feskanich D, Willett WC, Colditz GA. Calcium, vitamin D, milk consumption, and hip fractures: a prospective study among postmenopausal women. *Am J Clin Nutr*, 2003, 77:504-11.
100. Finlayson ML, Peterson EW, Cho CC. Risk factors for falling among people aged 45 to 90 years with multiple sclerosis. *Arch Phys Med Rehabil*, 2006, 87:1274–1279.
101. Flachenecker P, Reiners K, Krauser M et al. Autonomic dysfunction in multiple sclerosis is related to disease activity and progression of disability. *Mult Scler*, 2001, 7:327–34.
102. Formica CA, Cosman F, Nieves J et al. Reduced bone mass and fat-free mass in women with multiple sclerosis: effects of ambulatory status and glucocorticoid use. *Calcif Tissue Int*, 1997, 61:129–133.
103. Fraser LA, Leslie WD, Targownik LE et al. CaMos Research Group. The effect of proton pump inhibitors on fracture risk: report from the Canadian Multicenter Osteoporosis Study. *Osteoporos Int*, 2013, 24:1161-8.
104. Frings-Meuthen P, Boehme G, Liphardt AM et al. Sclerostin and DKK1 levels during 14 and 21 days of bed rest in healthy young men. *J Musculoskelet Neuronal Interact*, 2013, 13:45–52.
105. Fu L, Patel MS, Bradley A et al. The molecular clock mediates leptin-regulated bone formation. *Cell*, 2005, 122:803–815.
106. Fujihara Y, Kondo H, Noguchi T et al. Glucocorticoids mediate circadian timing in peripheral osteoclasts resulting in the circadian expression rhythm of osteoclast-related genes. *Bone*, 2014, 61:1–9.
107. Gajda M, Litwin JA, Tabarowski Z et al. Development of rat tibia innervation: colocalization of autonomic nerve fiber markers with growth-associated protein 43. *Cells Tissues Organs*, 2010, 191:489-99.
108. Garcia LA, King KK, Ferrini MG et al. 1,25(OH)₂vitamin D₃ stimulates myogenic differentiation by inhibiting cell proliferation and modulating the expression of promyogenic growth factors and myostatin in C2C12 skeletal muscle cells. *Endocrinology*, 2011, 152:2976-86.
109. Garnero P, Munoz F, Sornay-Rendu E et al. Associations of vitamin D status with bone mineral density, bone turnover, bone loss and fracture risk in healthy postmenopausal women. The OFELY study. *Bone*, 2007, 40:716-22.
110. Gaudio A, Pennisi P, Bratengeier C et al. Increased sclerostin serum levels associated with bone formation and resorption markers in patients with immobilization-induced bone loss. *J Clin Endocrinol Metab*, 2010, 95:2248–2253.
111. Ginde AA, Liu MC, Camargo CA Jr. Demographic differences and trends of vitamin D insufficiency in the US population, 1988-2004. *Arch Intern Med*, 2009, 169:626-32.

112. Girgis CM, Mokbel N, Minn Cha K et al. The vitamin D receptor (VDR) is expressed in skeletal muscle of male mice and modulates 25-hydroxyvitamin D (25OHD) uptake in myofibers. *Endocrinology*, 2014a, 155:3227–37.
113. Girgis CM, Clifton-Bligh RJ, Mokbel N et al. Vitamin D signaling regulates proliferation, differentiation and myotube size in C2C12 skeletal muscle cells. *Endocrinology*, 2014b, 155:347–57.
114. Gironi M, Solaro C, Meazza C et al. Growth hormone and disease severity in early stage of multiple sclerosis. *Mult Scler Int*, 2013, 2013:836486.
115. Glendenning P, Inderjeeth CA. Controversy and consensus regarding vitamin D: Recent methodological changes and the risks and benefits of vitamin D supplementation. *Crit Rev Clin Lab Sci*, 2016, 53:13-28.
116. Glover SJ, Eastell R, McCloskey EV et al. Rapid and robust response of biochemical markers of bone formation to teriparatide therapy. *Bone*, 2009; 45:1053–8.
117. Glüer CC, Marin F, Ringe JD et al. Comparative effects of teriparatide and risedronate in glucocorticoid-induced osteoporosis in men: 18 - month results of the EuroGIOPs trial. *J Bone Miner Res*, 2013, 28:1355-68.
118. Golombek DA, Casiraghi LP, Agostino PV et al. The times they're a-changing: effects of circadian desynchronization on physiology and disease. *Journal of physiology (Paris)*, 2013, 107:310–322.
119. Gonnissen HK, Hulshof T, Westerterp-Plantenga MS. Chronobiology, endocrinology, and energy- and food-reward homeostasis. *Obesity reviews*, 2013, 14:405–416.
120. Gregson CL, Dennison EM, Compston JE et al. Disease-specific perception of fracture risk and incident fracture rates: GLOW cohort study. *Osteoporos Int*, 2014, 25:85–95.
121. Grundberg E, Brändström H, Ribom EL et al. Genetic variation in the human vitamin D receptor is associated with muscle strength, fat mass and body weight in Swedish women. *Eur J Endocrinol*, 2004, 150:323-8.
122. Gupta S, Ahsan I, Mahfooz N et al. Osteoporosis and multiple sclerosis: risk factors, pathophysiology, and therapeutic interventions. *CNS Drugs*, 2014, 28:731-42.
123. Guntur AR, Kawai M, Le P et al. An essential role for the circadian-regulated gene nocturnin in osteogenesis: the importance of local timekeeping in skeletal homeostasis. *Ann. N.Y. Acad. Sci*, 2011, 1237:58–63.
124. Guo B, Zhang ZK, Liang C, et al. Molecular Communication from Skeletal Muscle to Bone: A Review for Muscle-Derived Myokines Regulating Bone Metabolism. *Calcif Tissue Int*, 2017, 100:184-192.
125. Haensch CA, Jorg J. Autonomic dysfunction in multiple sclerosis. *J Neurol*, 2006, 253 (Suppl 1): I3–I9.
126. Habek M, Crnošija L, Lovrić M et al. Sympathetic cardiovascular and sudomotor functions are frequently affected in early multiple sclerosis. *Clin Auton Res*, 2016, 26:385-393.
127. Hamrick MW. Leptin, bone mass, and the thrifty phenotype *J Bone Miner Res*, 2004, 19: 1607–1611.
128. Hamrick MW, McNeil PL, Patterson SL. Role of muscle-derived growth factors in bone formation. *J Musculoskelet Neuronal Interact*, 2010, 10:64–70.
129. Hasan KM, Lincoln JA, Nelson FM et al. Lateral ventricular cerebrospinal fluid diffusivity as a potential neuroimaging marker of brain temperature in multiple sclerosis: a hypothesis and implications. *Magn Reson Imaging*, 2015, 33:262-9.

130. Haselkorn JK, Hughes C, Rae-Grant A et al. Summary of comprehensive systematic review: rehabilitation in multiple sclerosis. Report of the Guideline Development, Dissemination, and Implementation Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*, 2015, 85:1896–903.
131. Havrdová E. Roztroušená skleróza, 2. Vydání, Maxdorf, Praha, 2009.
132. Hearn AP, Silber E. Osteoporosis in multiple sclerosis. *Mult Scler*, 2010, 16:1031–1043.
133. Heiman ML, Ahima RS, Craft LS et al. Leptin inhibition of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in response to stress. *Endocrinology*, 1997, 138:3859–63.
134. Heffner MA, Anderson MJ, Yeh GC et al. Altered bone development in a mouse model of peripheral sensory nerve inactivation. *J Musculoskelet Neuronal Interact*, 2014, 14:1–9.
135. Hempel S, Graham GD, Fu N et al. A systematic review of the effects of modifiable risk factor interventions on the progression of multiple sclerosis. *Mult Scler*, 2017, 23:513–524.
136. Hernan MA, Jick SS, Logroscino G, et al. Cigarette smoking and the progression of multiple sclerosis. *Brain*, 2005, 128(Pt 6):1461–5.
137. Hirai T, Tanaka K, Togari A. beta-adrenergic receptor signaling regulates *Ptgs2* by driving circadian gene expression in osteoblasts. *Journal of cell science*, 2014, 127:3711–3719.
138. Hiremath GS, Cettomai D, Baynes M et al. Vitamin D status and effect of low-dose cholecalciferol and high-dose ergocalciferol supplementation in multiple sclerosis. *Mult Scler*, 2009, 15:735–740.
139. Holick MF. The vitamin D epidemic and its health consequences. *J Nutr*, 2005, 135:2739S–48S.
140. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA et al. Endocrine Society. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*, 2011, 96:1911–30.
141. Hotermans C, Dive D, Rinkin et al. Hip bone mineral density is correlated with EDSS in patients with multiple sclerosis. *J Neurol*, 2006, 257:410–418.
142. Hughes JM, Petit MA. Biological underpinnings of Frost's mechanostat thresholds: the important role of osteocytes. *J Musculoskelet Neuronal Interact*, 2010; 10:128–135.
143. Hood S, Amir S. The aging clock: circadian rhythms and later life. *J Clin Invest*, 2017, 127:437–446.
144. Hughes JW, Watkins L, Blumenthal JA et al. Depression and anxiety symptoms are related to increased 24-hour urinary norepinephrine excretion among healthy middle-aged women. *J Psychosom Res*, 2004, 57:353–358.
145. Iida-Klein A, Lu SS, Kapadia R et al. Short-term continuous infusion of human parathyroid hormone 1–34 fragment is catabolic with decreased trabecular connectivity density accompanied by hypercalcemia in C57BL/J6 mice. *J Endocrinol*, 2005, 186:549–57.
146. Ishii M, Egen JG, Klauschen F et al. Sphingosine-1-phosphate mobilizes osteoclast precursors and regulates bone homeostasis. *Nature*, 2009, 458:524–8.
147. Iwamoto I, Douchi T, Kosha S et al. Relationships between serum leptin level and regional bone mineral density, bone metabolic markers in healthy women. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 2000, 79:1060–4.

148. Jensen PR, Andersen TL, Pennypacker BL et al. A supracellular model for coupling of bone resorption to formation during remodeling: lessons from two bone resorption inhibitors affecting bone formation differently. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 443:694–699.
149. Jilka RL. Molecular and cellular mechanisms of the anabolic effect of intermittent PTH. *Bone*, 2007, 40:1434–46.
150. Jilka RL, Noble B, Weinstein RS. Osteocyte apoptosis. *Bone*, 2013, 54:264-71.
151. Jiang SD, Dai LY, Jiang LS. Osteoporosis after spinal cord injury. *Osteoporos Int*, 2006, 17:180–192.
152. Jorgensen L, Jacobsen BK, Wilsgaard T et al. Walking after stroke: does it matter? Changes in bone mineral density within the first 12 months after stroke. A longitudinal study. *Osteoporos Int*, 2000, 11:381–387.
153. Juffer P, Jaspers RT, Lips P et al. Expression of muscle anabolic and metabolic factors in mechanically loaded MLO-Y4 osteocytes. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2012, 302:E389–95.
154. Juffer P, Jaspers RT, Klein-Nulend J et al. Mechanically loaded myotubes affect osteoclast formation. *Calcif Tissue Int*, 2014, 94:319-26.
155. Kaji H. Effects of myokines on bone. *Bonekey Rep*, 2016, 5:826.
156. Kang H, Chen H, Huang P et al. Glucocorticoids impair bone formation of bone marrow stromal stem cells by reciprocally regulating microRNA-34a-5p. *Osteoporos Int*, 2016, 27:1493-505.
157. Kanis JA, Johansson H, Oden A et al. A family history of fracture and fracture risk: a meta-analysis. *Bone*, 2004, 35:1029-37.
158. Kanis JA, Glüer CC. An update on the diagnosis and assessment of osteoporosis with densitometry. Committee of Scientific Advisors, International Osteoporosis Foundation. *Osteoporos Int*, 2000, 11:192-202.
159. Kanis JA, Johnell O, Oden A et al. Smoking and fracture risk: a meta-analysis. *Osteoporos Int*, 2005, 16:155-62.
160. Kanis JA, McCloskey E, Johansson H et al. FRAX (®) with and without bone mineral density. *Calcif Tissue Int*, 2011, 90:1–13.
161. Karinkanta S, Piirtola M, Sievänen H et al. Physical therapy approaches to reduce fall and fracture risk among older adults. *Nat Rev Endocrinol*, 2010, 6:396–407.
162. Kawai M, Kinoshita S, Shimba S, et al. Sympathetic activation induces skeletal Fgf23 expression in a circadian rhythm-dependent manner. *J Biol Chem*, 2014, 289:1457-66.
163. Kern S, Krause I, Horntrich A et al. Cortisol awakening response is linked to disease course and progression in multiple sclerosis. *PLoS One*, 2013, 8:e60647.
164. Kim BJ, Koh JM, Lee SY et al. Plasma sphingosine-1-phosphate levels and the risk of vertebral fracture in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012, 97:3807-14.
165. Kirby RL, Ackroyd-Stolarz SA, Brown MG et al. Wheelchair-related accidents caused by tips and falls among noninstitutionalised users of manually propelled wheelchairs in Nova Scotia. *Am J Phys Med Rehabil*, 2004, 73:319–330.
166. Komori T. Cell Death in Chondrocytes, Osteoblasts, and Osteocytes. *Int J Mol Sci*, 2016, 17:12.
167. Kondo H, Togari A. Continuous treatment with a low dose beta-agonist reduces bone mass by increasing bone resorption without suppressing bone formation. *Calcif Tissue Int*, 2011, 88:23–32.
168. Korn T. Pathophysiology of multiple sclerosis. *J Neurol*, 2008, 255 (Suppl) 6:2-6.

169. Kostenuik PJ, Nguyen HQ, McCabe J et al. Denosumab, a fully human monoclonal antibody to RANKL, inhibits bone resorption and increases BMD in knock-in mice that express chimeric (murine/human) RANKL. *J Bone Miner Res*, 2009, 24:182–195.
170. Koyama H, Nakade O, Takada Y et al. Melatonin at pharmacologic doses increases bone mass by suppressing resorption through down-regulation of the RANKL-mediated osteoclast formation and activation. *J Bone Miner Res*, 2002, 17:1219–29.
171. Kurban S, Akpinar Z, Mehmetoglu I. Receptor activator of nuclear factor kappaB ligand (RANKL) and osteoprotegerin levels in multiple sclerosis. *Mult Scler*, 2008, 14:431–432.
172. Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology*, 1983, 33:1444–1452.
173. Lalwani A, Stokes RA, Lau SM et al. Deletion of ARNT (aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator) in β -cells causes islet transplant failure with impaired β -cell function. *PLoS One*, 2014, 9:e98435.
174. Lambert CP, Lee AR, Evans WJ. Body composition in ambulatory women with multiple sclerosis. *Arch Phys Med Rehabil*, 2002, 83:1559–1561.
175. Lambrinouadaki I, Patikas E, Kaparos G et al. Vitamin D receptor Bsm1 polymorphism, calcium metabolism and bone mineral density in patients with multiple sclerosis: a pilot study. *Neurol Sci*, 2013, 34:1433–9.
176. Lamy O, Gonzalez-Rodriguez E, Stoll D et al. Severe rebound-associated vertebral fractures after denosumab discontinuation: nine clinical cases report. *J Clin Endocrinol Metab*, 2016, jc20163170.
177. Lanyon LE. Using functional loading to influence bone mass and architecture: objectives, mechanisms, and relationship with estrogen of the mechanically adaptive process in bone. *Bone*, 1996, 18:37S–43S.
178. Lanzillo R, Di Somma C, Quarantelli M et al. Insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF-binding protein-3 serum levels in relapsing-remitting and secondary progressive multiple sclerosis patients. *European Journal of Neurology*, 2011, 18:1402–1406.
179. Laurent MR, Dubois V, Claessens F et al. Muscle-bone interactions: From experimental models to the clinic? A critical update. *Mol Cell Endocrinol*, 2016, 432:14–36.
180. LeBlanc A, Schneider V, Shackelford L et al. Bone mineral and lean tissue loss after long duration space flight. *J Musculoskelet Neuronal Interact*, 2000, 1:157–60.
181. Lebrasseur NK, Achenbach SJ, Melton LJ 3rd. et al. Skeletal muscle mass is associated with bone geometry and microstructure and serum insulin-like growth factor binding protein-2 levels in adult women and men. *J Bone Miner Res*, 2012, 27:2159–69.
182. Lee K, Jessop H, Suswillo R et al. Endocrinology: bone adaptation requires oestrogen receptor-alpha. *Nature*, 2003, 424: 389.
183. Lee KC, Lanyon LE. Mechanical loading influences bone mass through estrogen receptor alpha. *Exerc Sport Sci Rev*, 2004, 32:64–8.
184. Lee SH, Lee SY, Lee YS et al. Higher circulating sphingosine1-phosphate levels are associated with lower bone mineral density and higher bone resorption marker in humans. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012, 97:E1421–8.
185. Leray E, Yaouanq J, Le PE et al. Evidence for a two-stage disability progression in multiple sclerosis. *Brain*, 2010, 133:1900–1913.

- 186.Lieben L, Carmeliet G. The delicate balance between vitamin D, calcium and bone homeostasis: lessons learned from intestinal- and osteocyte-specific VDR null mice. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2013,136:102-6.
- 187.Li X, Zhang Y, Kang H et al. Sclerostin binds to LRP5/6 and antagonizes canonical Wnt signaling. *J Biol Chem*, 2005, 280:19883–19887.
- 188.Lin C, Jiang X, Dai Z et al. Sclerostin mediates bone response to mechanical unloading through antagonizing Wnt/beta-catenin signaling. *J Bone Miner Res*, 2009, 10:1651–1661.
- 189.Lindsay R, Nieves J, Henneman E et al. Subcutaneous administration of the amino-terminal fragment of human parathyroid hormone- (1–34): kinetics and biochemical response in estrogenized osteoporotic patients. *J. Clin. Endocrinol. Metab*, 1993, 77:1535–39.
- 190.Logan WC jr, Sloane R, Lyles KW et al. Incidence of fractures in a cohort of veterans with chronic multiple sclerosis or traumatic spinal cord injury. *Arch PhysMed Rehabil*, 2008, 89:237–243.
- 191.Lublin F, Miller DH, Freedman MS et al. Oral fingolimod in primary progressive multiple sclerosis (INFORMS): a phase 3, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*, 2016, 387(10023):1075-84.
- 192.Ma YL, Cain RL, Halladay DL et al. 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, 142:4047–4054.
- 193.Ma Y, Nyman JS, Tao H et al. Beta2-adrenergic receptor signaling in osteoblasts contributes to the catabolic effect of glucocorticoids on bone. *Endocrinology*, 2011, 152:1412–1422.
- 194.Mamutse G, Woolmore J, Pye E et al. Vitamin D receptor gene polymorphism is associated with reduced disability in multiple sclerosis. *Mult Scler*, 2008, 14:1280-3.
- 195.Mano T, Nishimura N, Iwase S. Sympathetic neural influence on bone metabolism in microgravity (Review). *Acta Physiol Hung*, 2010, 97:354-61.
- 196.Manolagas SC. Birth and death of bone cells: basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. *Endocr Rev*, 2000, 21:115–137
- 197.Marcum ZA, Perera S, Thorpe JM et al. Health ABC Study. Antidepressant Use and Recurrent Falls in Community-Dwelling Older Adults: Findings From the Health ABC Study. *Ann Pharmacother*, 2016, 50:525-33.
- 198.Maronde E, Schilling AF, Seitz S et al. The clock genes Period 2 and Cryptochrome 2 differentially balance bone formation. *PloS one*, 2010, 5:e11527.
- 199.Marrie RA, Cutter G, Tyry T et al. A cross-sectional study of bone health in multiple sclerosis. *Neurology*, 2009, 73:1394–1398.
- 200.Martin TJ, Sims NA. Osteoclast-derived activity in the coupling of bone formation to resorption. *Trends Mol Med*, 2005, 11:76–81.
- 201.Martin TJ, Sims NA. RANKL/OPG; Critical role in bone physiology. *Rev Endocr Metab Disord*, 2015, 16:131-9.
- 202.Martineau P, Leslie WD. Trabecular bone score (TBS): Method and applications. *Bone*, 2017 (v tisku).
- 203.Martinez-Rodriguez JE, Munteis E, Roquer J. Periodic hyperthermia and abnormal circadian temperature rhythm in a patient with multiple sclerosis. *Mult Scler*, 2006, 12:515-7.

204. Melamud L, Golan D, Luboshitzky R et al. Melatonin dysregulation, sleep disturbances and fatigue in multiple sclerosis. *J Neurol Sci*, 2012, 314:37-40.
205. Melief J, de Wit SJ, van Eden CG et al. HPA axis activity in multiple sclerosis correlates with disease severity, lesion type and gene expression in normal-appearing white matter. *Acta Neuropathol*, 2013, 126:237–49.
206. Melton LJ 3rd, Achenbach SJ, Atkinson EJ et al. Long-term mortality following fractures at different skeletal sites: a population-based cohort study. *Osteoporos Int*, 2013, 24:1689-96.
207. Melief J, de Wit SJ, van Eden CG et al. HPA axis activity in multiple sclerosis correlates with disease severity, lesion type and gene expression in normal-appearing white matter. *Acta Neuropathol*, 2013, 126:237-49.
208. Messina S, Vargas-Lowy D, Musallam A et al. Increased leptin and A-FABP levels in relapsing and progressive forms of MS. *BMC Neurol*, 2013, 13:172.
209. Meunier PJ, Boivin G. Bone mineral density reflects bone mass but also the degree of mineralization of bone: therapeutic implications. *Bone*, 1997, 21:373-7.
210. Michael H, Härkönen PL, Kangas L et al. Differential effects of selective oestrogen receptor modulators (SERMs) tamoxifen, ospemifene and raloxifene on human osteoclasts in vitro. *Br J Pharmacol*, 2007, 151:384–395.
211. Michaëlsson K, Wolk A, Jacobsson A et al. The positive effect of dietary vitamin D intake on bone mineral density in men is modulated by the polyadenosine repeat polymorphism of the vitamin D receptor. *Bone*, 2006, 39:1343-51.
212. Michalská D, Zikán V, Štěpán J et al. X-ray densitometry and ultrasonography of the heel bone--sensitivity and comparison with densitometry of the axial skeleton. *Cas Lek Cesk*, 2000, 139:231-6.
213. Mirza F, Canalis E. Management of endocrine disease: Secondary osteoporosis: pathophysiology and management. *Eur J Endocrinol*, 2015, 173:R131-51.
214. Mistlberger RE. Circadian regulation of sleep in mammals: role of the suprachiasmatic nucleus. *Brain Res Brain Res Rev*, 2005, 49: 429–454.
215. Miyazaki Y, Niino M, Kanazawa I et al. Fingolimod suppresses bone resorption in female patients with multiple sclerosis. *J Neuroimmunol*, 2016, 298:24-31.
216. Moen SM, Celius EG, Sandvik L et al. Low bone mass in newly diagnosed multiple sclerosis and clinically isolated syndrome. *Neurology*, 2011, 77:151–157.
217. Moen SM, Celius EG, Sandvik L et al. Bone turnover and metabolism in patients with early multiple sclerosis and prevalent bone mass deficit: a population-based case-control study. *PLoS One*, 2012, 7:e45703.
218. Mojtahedi MC, Snook EM, Motl RW et al. Bone health in ambulatory individuals with multiple sclerosis: impact of physical activity, glucocorticoid use, and body composition. *J Rehabil Res Dev*, 2008, 45:851–861.
219. Mok CC, Tong KH, To CH et al. Risedronate for prevention of bone mineral density loss in patients receiving high-dose glucocorticoids: a randomized double-blind placebo-controlled trial. *Osteoporos Int*, 2008, 19:357-64.
220. Morse LR, Sudhakar S, Lazzari AA et al. Sclerostin: a candidate biomarker of SCI-induced osteoporosis. *Osteoporos Int*, 2013, 24:961–968.
221. Morse LR, Sudhakar S, Danilack V et al. Association between sclerostin and bone density in chronic spinal cord injury. *J Bone Miner Res*, 2012, 27:352–359 .
222. Motyl KJ, Rosen CJ. The skeleton and the sympathetic nervous system: it's about time! *J Clin Endocrinol Metab*, 2012, 97:3908-11.

223. Moustafa A, Sugiyama T, Prasad J et al. Mechanical loading-related changes in osteocyte sclerostin expression in mice are more closely associated with the subsequent osteogenic response than the peak strains engendered. *Osteoporos Int*, 2012, 23:1225-34.
224. Nieves J, Cosman F, Herbert J et al. High prevalence of vitamin D deficiency and reduced bone mass in multiple sclerosis. *Neurology*, 1994, 44:1687-92.
225. Nilsagard Y, Lundholm C, Denison E et al. Predicting accidental falls in people with multiple sclerosis – a longitudinal study. *Clin Rehabil*, 2009, 23:259–269.
226. Need AG, O'Loughlin PD, Morris HA et al. Vitamin D metabolites and calcium absorption in severe vitamin D deficiency. *J Bone Miner Res*, 2008, 23:1859–63.
227. Olsson A, Oturai DB, Sørensen PS et al. Short-term, high-dose glucocorticoid treatment does not contribute to reduced bone mineral density in patients with multiple sclerosis. *Mult Scler*, 2015 21:1557-65.
228. O'Neill et al. EPOS Study Group Authors. The relationship between bone density and incident vertebral fracture in men and women. *J Bone Miner Res*, 2002, 17:2214-21.
229. Ongphiphadhanakul B, Rajatanavin R, Chailurkit L et al. Serum testosterone and its relation to bone mineral density and body composition in normal males. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 1995, 43:727-33.
230. Ostrowska Z, Kos-Kudla B, Marek B et al. The relationship between the daily profile of chosen biochemical markers of bone metabolism and melatonin and other hormone secretion in rats under physiological conditions. *Neuro Endocrinol Lett*, 2002, 23:417-25.
231. Ozgen G, Karapolat H, Akkoc Y et al. Is customized vestibular rehabilitation effective in patients with multiple sclerosis? A randomized controlled trial. *Eur J Phys Rehabil Med*, 2016, 52:466-78.
232. Ozgocmen S, Bulut S, Ilhan N et al. Vitamin D deficiency and reduced bone mineral density in multiple sclerosis: effect of ambulatory status and functional capacity. *J Bone Miner Metab*, 2005, 23:309–313.
233. Padhi D, Allison M, Kivitz AJ et al. Multiple doses of sclerostin antibody romosozumab in healthy men and postmenopausal women with low bone mass: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J Clin Pharmacol*, 2014, 54:168-78.
234. Palomba S, Orio F Jr, Russo T et al. BsmI vitamin D receptor genotypes influence the efficacy of antiresorptive treatments in postmenopausal osteoporotic women. A 1-year multicenter, randomized and controlled trial. *Osteoporos Int*, 2005, 16:943-52.
235. Pan W, Kastin AJ. Leptin: a biomarker for sleep disorders? *Sleep medicine reviews*, 2014, 18:283–290.
236. Papapoulos S, Lippuner K, Roux C et al. The effect of 8 or 5 years of denosumab treatment in postmenopausal women with osteoporosis: results from the FREEDOM Extension study. *Osteoporos Int*, 2015, 26:2773-83.
237. Peterson EW, Cho CC, von Koch L et al. Injurious falls among middle aged and older adults with multiple sclerosis. *Arch Phys Med Rehabil*, 2008, 89:1031–1037.
238. Petty SJ, Wilding H, Wark JD. Osteoporosis Associated with Epilepsy and the Use of Anti-Epileptics-a Review. *Curr Osteoporos Rep*, 2016, 14:54-65.
239. Pierroz DD, Bonnet N, Bianchi EN et al. Deletion of β -adrenergic receptor 1, 2, or both leads to different bone phenotypes and response to mechanical stimulation. *J Bone Miner Res*, 2012, 27:1252-62.

240. Plotkin LI, Mathov I, Aguirre JI et al. Mechanical stimulation prevents osteocyte apoptosis: requirement of integrins, Src kinases, and ERKs. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2005, 289: C633–C643.
241. Polak PE, Kalinin S, Feinstein DL. Locus coeruleus damage and noradrenaline reductions in multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis. *Brain*, 2011, 134:665–77.
242. Pojednic RM, Ceglia L, Olsson K et al. Effects of 1,25-dihydroxyvitamin D3 and vitamin D3 on the expression of the vitamin d receptor in human skeletal muscle cells. *Calcif Tissue Int*, 2015, 96:256–63.
243. Pugliatti M, Sotgiu S, Rosati G. The worldwide prevalence of multiple sclerosis. *Clin Neurol Neurosurg*, 2002, 104:182–191.
244. Qin W, Zhao W, Li X et al. Mice with sclerostin gene deletion are resistant to the severe sublesional bone loss induced by spinal cord injury. *Osteoporos Int*, 2016, 27:3627–3636.
245. Qin W, Li X, Peng Y, Harlow LM et al. Sclerostin antibody preserves the morphology and structure of osteocytes and blocks the severe skeletal deterioration after motor-complete spinal cord injury in rats. *J Bone Miner Res*, 2015, 30:1994–2004.
246. Racosta JM, Kimpinski K, Morrow SA et al. Autonomic dysfunction in multiple sclerosis. *Auton Neurosci*, 2015, 193:1–6.
247. Rajda C, Bencsik K, Füvesi J et al. The norepinephrine level is decreased in the lymphocytes of long-term interferon-beta-treated multiple sclerosis patients. *Mult Scler*, 2006, 12:265.
248. Recker RR, Delmas PD, Halse J et al. Effects of intravenous zoledronic acid once yearly on bone remodeling and bone structure. *J Bone Miner Res*, 2008, 23:6–16.
249. Recker RR, Weinstein RS, Chesnut CH3rd et al. Histomorphometric evaluation of daily and intermittent oral ibandronate in women with postmenopausal osteoporosis: results from the BONE study. *Osteoporos Int*, 2004, 15:231–237.
250. Reid IR. Effects of beta-blockers on fracture risk. *J Musculoskelet Neuronal Interact*, 2008, 8: 105–10.
251. Rejnmark L, Vestergaard P, Mosekilde L. Treatment with beta-blockers, ACE inhibitors, and calcium-channel blockers is associated with a reduced fracture risk: a nationwide case-control study. *J Hypertens*, 2006, 24: 581–9.
252. Rizzoli R, Boonen S, Brandi ML et al. Vitamin D supplementation in elderly or postmenopausal women: a 2013 update of the 2008 recommendations from the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis and Osteoarthritis (ESCEO). *Curr Med Res Opin*, 2013, 29:305–13.
253. Rochefort GY, Pallu S, Benhamou CL. Osteocyte: the unrecognized side of bone tissue. *Osteoporos Int*, 2010, 21:1457–1469.
254. Rubenstein LZ. Falls in older people: epidemiology, risk factors and strategies for prevention. *Age Ageing*, 2006, 35:ii37–ii41.
255. Russell RG. Bisphosphonates: the first 40 years. *Bone*, 2011, 49:2–19.
256. Ryan AS, Ivey FM, Hurlbut DE et al. Regional bone mineral density after resistive training in young and older men and women. *Scand J Med Sci Sports*, 2004, 14:16–23.
257. Saag KG, Zanchetta JR, Devogelaer JP et al. Effects of teriparatide versus alendronate for treating glucocorticoid-induced osteoporosis: thirty-six-month results of a randomized, double-blind, controlled trial. *Arthritis Rheum*, 2009, 60: 3346–3355.

- 258.Saxon LK, Robling AG, Castillo AB et al. The skeletal responsiveness to mechanical loading is enhanced in mice with a null mutation in estrogen receptor-beta. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2007, 293:E484–E491.
- 259.Seeliger C, Schyschka L, Kronbach Z et al. Signaling pathway STAT1 is strongly activated by IFN- β in the pathogenesis of osteoporosis. *Eur J Med Res*, 2015, 20:1.
- 260.Shen H, Grimston S, Civitelli R et al. Deletion of connexin43 in osteoblasts/osteocytes leads to impaired muscle formation in mice. *J Bone Miner Res*, 2015, 30:596-605.
- 261.Shigematsu T, Miyamoto A, Mukai C et al. Changes in bone and calcium metabolism with space flight. *Osteoporos Int*, 1997, Suppl 3:S63-7.
- 262.Schibler U, Gotic I, Saini C et al. Clock-Talk: Interactions between Central and Peripheral Circadian Oscillators in Mammals. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 2015, 80:223-32.
- 263.Seeliger C, Schyschka L, Kronbach Z et al. Signaling pathway STAT1 is strongly activated by IFN- β in the pathogenesis of osteoporosis. *Eur J Med Res*, 2015, 20:1.
- 264.Siu WS, Ko CH, Hung LK et al. Effect of anti-osteoporotic agents on the prevention of bone loss in unloaded bone. *Mol Med Rep*, 2013, 8:1188-94.
- 265.Schwid SR, Goodman AD, Edward PJ et al. Sporadic corticosteroid pulses and osteoporosis in multiple sclerosis. *Arch Neurol*, 1996, 53:753–757.
- 266.Sioka C, Fotopoulos A, Georgiou A et al. Body composition in ambulatory patients with multiple sclerosis. *J Clin Densitom*, 2011, 14:465–470.
- 267.Slade JM, Bickel CS, Modlesky CM et al. Trabecular bone is more deteriorated in spinal cord injured versus estrogen-free postmenopausal women. *Osteoporos Int*, 2005, 16:263–272.
- 268.Smith CJ, Fischer TH. Particulate and vapor phase constituents of cigarette mainstream smoke and risk of myocardial infarction. *Atherosclerosis*, 2001, 158:257-67.
- 269.Smith ER, Cai MM, McMahon LP et al. Biological variability of plasma intact and C-terminal FGF23 measurements. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012, 97:3357-65.
- 270.Smolders J, Damoiseaux J, Menheere P, et al. Fok-I vitamin D receptor gene polymorphism (rs10735810) and vitamin D metabolism in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol*, 2009, 207:117-21.
- 271.Snijder MB, van Schoor NM, Pluijm SM et al. Vitamin D status in relation to one-year risk of recurrent falling in older men and women. *J Clin Endocrinol Metab*, 2006, 91:2980-5.
- 272.Snook EM, Motl RW. Effect of exercise training on walking mobility in multiple sclerosis: a meta-analysis. *Neurorehabil Neural Repair*, 2009, 23:108–116.
- 273.Spatz JM, Fields EE, Yu EW et al. Serum sclerostin increases in healthy adult men during bed rest. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012, 97:E1736–E1740.
- 274.Srivastava S, Toraldo G, Weitzmann MN et al. Estrogen decreases osteoclast formation by down-regulating receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL)-induced JNK activation. *J Biol Chem*, 2001, 276:8836–8840.
- 275.Steffensen LH, Mellgren SI, Kampman MT. Predictors and prevalence of low bone mineral density in fully ambulatory persons with multiple sclerosis. *J Neurol*, 2010, 257:410-8.
- 276.Steffensen LH, Jørgensen L, Straume B et al. Can vitamin D supplementation prevent bone loss in persons with MS? A placebo-controlled trial. *J Neurol*, 2011, 258:1624-31.
- 277.Štěpán JJ, Pospíchal J, Presl J et al. Bone loss and biochemical indices of bone remodeling in surgically induced postmenopausal women. *Bone*, 1987, 8:279-84.

- 278.Štěpán JJ, Vaculík J, Pavelka K et al. Hip fracture incidence from 1981 to 2009 in the Czech Republic as a basis of the country-specific FRAX model. *Calcif Tissue Int*, 2012, 90:365-72.
- 279.Štěpán J. Osteoporóza v praxi, Triton, Praha, 1997.
- 280.Štěpán J, Šmíd M, Prokeš M et al. Ekonomické aspekty osteoporózy. *Cas Lek Ces*, 1998, 137:707–715.
- 281.Štěpán J Osteoporóza a metabolická onemocnění skeletu. In: *Revmatologie*, K. Pavelka et al. (eds.), Maxdorf, Praha, 2012, str. 544-553.
- 282.Štěpán J. Laboratorní diagnostika kostního metabolismu. In: *Laboratorní diagnostika*, T. Zima (ed.). Třetí, doplněné a přepracované vydání, Galén, Praha, 2013, str. 263-304.
- 283.Sternberg Z. Sympathetic nervous system dysfunction in multiple sclerosis, linking neurodegeneration to a reduced response to therapy. *Curr Pharm Des*, 2012, 18:1635-44.
- 284.Stroud NM, Minahan CL. The impact of regular physical activity on fatigue, depression and quality of life in persons with multiple sclerosis. *Health Qual Life Outcomes*, 2009, 7:68.
- 285.Swanson CM, Srikanth P, Lee CG et al. Osteoporotic Fractures in Men MrOS Study Research Group. Associations of 25-Hydroxyvitamin D and 1,25-Dihydroxyvitamin D With Bone Mineral Density, Bone Mineral Density Change, and Incident Nonvertebral Fracture. *J Bone Miner Res*, 2015, 30:1403-13.
- 286.Taaffe DR, Cauley JA, Danielson M et al. Race and sex effects on the association between muscle strength, soft tissue, and bone mineral density in healthy elders: the Health, Aging, and Body Composition Study. *J Bone Miner Res*, 2001, 16:1343-52.
- 287.Takarada T, Xu C, Ochi H et al. Bone Resorption Is Regulated by Circadian Clock in Osteoblasts. *J Bone Miner Res*, 2016, (v tisku)
- 288.Takeda S, Eleftheriou F, Levasseur R et al. Leptin regulates bone formation via the sympathetic nervous system. *Cell*, 2002, 111:305-17.
- 289.Takeda S. Osteoporosis: a neuroskeletal disease? *Int J Biochem Cell Biol*, 2009, 41: 455–459.
- 290.Tamblyn R, Abrahamowicz M, du Berger R et al. A 5-year prospective assessment of the risk associated with individual benzodiazepines and doses in new elderly users. *J Am Geriatr Soc*, 2005, 53:233-41.
- 291.Tanner SB, Harwell SA. More than healthy bones: a review of vitamin D in muscle health. *Ther Adv Musculoskelet Dis*, 2015, 7:152-9.
- 292.Terzi T, Terzi M, Tander B et al. Changes in bone mineral density and bone metabolism markers in premenopausal women with multiple sclerosis and the relationship to clinical variables. *J Clin Neurosci*, 2010, 17:1260–1264.
- 293.Then Bergh F, Kümpfel T, Trenkwalder C et al. Dysregulation of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis is related to the clinical course of MS. *Neurology*, 1999, 53:772-7.
- 294.Thomas T, Horlait S, Ringe JD et al. Oral bisphosphonates reduce the risk of clinical fractures in glucocorticoid-induced osteoporosis in clinical practice. *Osteoporos Int*, 2013, 24:263-9.
- 295.Tian X, Jee WS, Li X et al. Sclerostin antibody increases bone mass by stimulating bone formation and inhibiting bone resorption in a hindlimb-immobilization rat model. *Bone*, 2011, 48:197–201.

296. Tong J, Qin LQ, Wang DJ. Mechanism of pineal and suprachiasmatic regulation on circadian rhythm of body temperature in rats. *Space Med Med Eng (Beijing)*, 2000, 13: 101–103.
297. Tononi G, Massimini M, Riedner BA. Sleepy dialogues between cortex and hippocampus: who talks to whom? *Neuron*, 2006, 52:748-9.
298. Tosun A, Dogru MT, Aydn G et al. Does autonomic dysfunction exist in postmenopausal osteoporosis? *Am J Phys Med Rehabil*, 2011, 90:1012–1019.
299. Troiano RA, Jotkowitz A, Cook SD et al. Rate and types of fractures in corticosteroid-treated multiple sclerosis patients. *Neurology*, 1992, 42:1389–1391.
300. Turner RT, Evans GL, Lotinun S et al. Dose-response effects of intermittent PTH on cancellous bone in hindlimb unloaded rats. *J Bone Miner Res*, 2007, 22:64–71.
301. Tuzun S, Altintas A, Karacan I et al. Bone status in multiple sclerosis: beyond corticosteroids. *Mult Scler*, 2003, 9: 600–604.
302. Van Amerongen BM, Dijkstra CD, Lips P et al. Multiple sclerosis and vitamin D: an update. *Eur J Clin Nutr*, 2004, 58:1095-109.
303. Van Bezooijen RL, Roelen BA, Visser A et al. Sclerostin is an osteocyte-expressed negative regulator of bone formation, but not a classical BMP antagonist. *J Exp Med*, 2004, 199:805–814.
304. Vandenput L, Mellström D, Laughlin GA et al. Low Testosterone, but not Estradiol, Is Associated with Incident Falls in Older Men - The International MrOS Study. *J Bone Miner Res*, 2017, (v tisku).
305. Vanderschueren D, Laurent MR, Claessens F et al. Sex steroid actions in male bone. *Endocr Rev*, 2014, 35:906-60.
306. van der Mei IA, Ponsonby AL, Dwyer T et al. Vitamin D levels in people with multiple sclerosis and community controls in Tasmania, Australia. *J Neurol*, 2007, 254:581-90.
307. Van Staa TP, Laan RF, Barton IP et al. Bone density threshold and other predictors of vertebral fracture in patients receiving oral glucocorticoid therapy. *Arthritis Rheum*, 2003, 48:3224–3229.
308. Van Staa TP, Leufkens HG, Abenhaim L et al. Oral corticosteroids and fracture risk: relationship to daily and cumulative doses. *Rheumatology (Oxford)*, 2000, 39:1383–1389.
309. Varoglu AO, Varoglu E, Bayraktar R et al. The effect of interferon beta 1B on bone mineral density in multiple sclerosis patients. *J Back Musculoskelet Rehabil*, 2010, 23:25-29.
310. Verdel BM, Souverein PC, Egberts TC et al. Use of antidepressant drugs and risk of osteoporotic and non-osteoporotic fractures. *Bone*, 2010, 47:604–609.
311. Videira G, Castro P, Vieira B et al. Autonomic dysfunction in multiple sclerosis is better detected by heart rate variability and is not correlated with central autonomic network damage. *J Neurol Sci*, 2016, 367:133-7.
312. Vignaux G, Besnard S, Ndong J et al. Bone remodeling is regulated by inner ear vestibular signals. *J Bone Miner Res*, 2013, 28:2136-44.
313. Vignaux G, Ndong JD, Perrien DS et al. Inner Ear Vestibular Signals Regulate Bone Remodeling via the Sympathetic Nervous System. *J Bone Miner Res*, 2015, 30:1103-11.
314. Vogt MH, ten Kate J, Drent RJ et al. Increased osteopontin plasma levels in multiple sclerosis patients correlate with bone-specific markers. *Mult Scler*, 2010, 16:443-9.

315. Waldorff EI, Christenson KB, Cooney LA et al. Microdamage repair and remodeling requires mechanical loading. *J Bone Miner Res*, 2010, 25:734–45.
316. Walker MD, Cusano NE, Sliney J Jr et al. Combination therapy with risedronate and teriparatide in male osteoporosis. *Endocrine*, 2013, 44:237–46.
317. Wang CY, Fu SH, Wang CL et al. Serotonergic antidepressant use and the risk of fracture: a population-based nested case-control study. *Osteoporos Int*, 2016, 27:57–63.
318. Warden SJ, Fuchs RK. Do Selective Serotonin Reuptake Inhibitors (SSRIs) Cause Fractures? *Curr Osteoporos Rep*, 2016, 14:211–8.
319. Warden SJ, Robling AG, Haney EM, et al. The emerging role of serotonin (5-hydroxytryptamine) in the skeleton and its mediation of the skeletal effects of low-density lipoprotein receptor-related protein 5 (LRP5). *Bone*, 2010, 46:4–12.
320. Wei T, Lightman SL. The neuroendocrine axis in patients with multiple sclerosis. *Brain*, 1997, 120, (Pt 6):1067–76.
321. Weinstein RS, C. Wan, Q. Liu, Y et al. Endogenous glucocorticoids decrease skeletal angiogenesis, vascularity, hydration, and strength in aged mice *Aging Cell*, 2010, 9:147–161.
322. Weinstein RS. Clinical practice. Glucocorticoid-induced bone disease. *N Engl J Med*, 2011, 365:62–70.
323. Weinstock-Guttman B, Gallagher E, Baier M et al. Risk of bone loss in men with multiple sclerosis. *Mult Scler*, 2004, 10: 170–175.
324. Wens I, Dalgas U, Vandenabeele F et al. Multiple sclerosis affects skeletal muscle characteristics. *PLoS One*, 2014, 29:e108158.
325. Whittier X, Saag KG. Glucocorticoid-induced Osteoporosis. *Rheum Dis Clin North Am*, 2016, 42:177–89.
326. Wicherts IS, van Schoor NM, Boeke AJ et al. Vitamin D status predicts physical performance and its decline in older persons. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007, 92:2058–65.
327. Wijenayaka AR, Kogawa M, Lim HP et al. Sclerostin stimulates osteocyte support of osteoclast activity by a rankl-dependent pathway *PLoS One*, 2011, 6: e25900.
328. Williams P, Frank A, Crawford CM et al. Unrecongised femoral fractures in patients with paraplegia due to multiple sclerosis. *Br Med J*, 1984, 189:501.
329. Xi Y, Chen D. Physiology. Partitioning the circadian clock. *Science*, 2014, 345(6201):1122–1123.
330. Xiong J, Piemontese M, Onal M, et al. Osteocytes, not Osteoblasts or Lining Cells, are the Main Source of the RANKL Required for Osteoclast Formation in Remodeling Bone. *PLoS One*, 2015, 10:e0138189.
331. Yang Li C, Majeska RJ, Laudier DM et al. High-dose risedronate treatment partially preserves cancellous bone mass and microarchitecture during long-term disuse. *Bone*, 2005, 37:287–295.
332. Yao Q, Liang H, Huang B et al. Beta-adrenergic signaling affect osteoclastogenesis via osteocytic MLO-Y4 cells' RANKL production. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, (v tisku).
333. Yildiz M, Tettenborn B, Putzki N. Vitamin D levels in Swiss multiple sclerosis patients. *Swiss Med Wkly*, 2011, 141:w13192.
334. Yirmiya R, Goshen I, Bajayo A et al. Depression induces bone loss through stimulation of the sympathetic nervous system. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103:16876–16881.

335. Ysraelit MC, Gaitan MI, Lopez AS et al. Impaired hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity in patients with multiple sclerosis. *Neurology*, 2008, 71:1948–54.
336. Yuan FL, Li X, Lu WG et al. Regulatory T cells as a potent target for controlling bone loss. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 402:173–176.
337. Zehnder Y, Risi S, Michel D et al. Prevention of bone loss in paraplegics over 2 years with alendronate. *J Bone Miner Res*, 2004, 19:1067–1074.
338. Zeigelboim BS, Arruda WO, Mangabeira-Albernaz PL et al. Vestibular findings in relapsing-remitting multiple sclerosis: a study of thirty patients. *Int Tinnitus J*, 2008, 14:139-45.
339. Zhou J, Yi J, Bonewald L. Muscle-Bone Crosstalk in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Curr Osteoporos Rep*, 2015, 13:274-9.

7. Literatura autora se vztahem k tématu práce

Původní práce

1. Týblová M, Kalinčík T, Zikán V, Havrdová E. Impaired ambulation and steroid therapy impact negatively on bone health in multiple sclerosis. *Eur J Neurol*, 2015, 22:624-632. IF=3,956 (2015)
2. Týblová M, Zikán V, Luchavová M, Havrdová E, Raška I Jr, Michalská D, Kuběna AA. Snížená denzita kostního minerálu u žen s roztroušenou sklerózou: vliv motorického deficitu, úbytku svalové hmoty a léčby glukokortikoidy. *Česká a slovenská neurologie a neurochirurgie*, 2013, 76: 35-44. IF= 0,159 (2013)
3. Zikán V, Týblová M, Raška I Jr, Havrdová E, Luchavová M, Michalská D, Kuběna AA. Bone mineral density and body composition in men with multiple sclerosis chronically treated with low-dose glucocorticoids. *Physiol Res*, 2012, 61:405-417. IF=1,531 (2012)
4. Štěpán JJ, Havrdová E, Týblová M, Horáková D, Tichá V, Nováková I, Zikán V. Markers of bone remodeling predict rate of bone loss in multiple sclerosis patients treated with low dose glucocorticoids. *Clin Chim Acta*, 2004, 348:147-54. IF= 1,961 (2004)
5. Havrdová E, Týblová M, Štěpán J, Horáková D, Tichá V, Nováková I, Zelená L, Zikán V, Hlásenská J. Osteoporosis in multiple sclerosis patients: dependence on corticosteroid therapy and motor deficit. *Česká a slovenská neurologie a neurochirurgie*, 2004, 67: 234–240. IF = 0,037 (2004)
6. Michalská D, Zikán V, Týblová M, Rašková M, Havrdová E, Raška I Jr. Srovnání léčby teriparatidem a risedronatem v prevenci úbytku kostní hmoty u postmenopauzálních žen s roztroušenou sklerózou léčených nízkou dávkou glukokortikoidů. *Osteologicky Bulletin*, 2015, 20: 3-9.
7. Raška I Jr, Týblová M, Rašková M, Michalská D, Havrdová E, Zikán V. Omezená schopnost chůze významně přispívá k úbytku kostní denzity v proximálním femuru u premenopauzálních i postmenopauzálních žen s roztroušenou sklerózou. *Osteologický bulletin* 2012, 17: 128-135.

Přehledné práce:

8. Zikán V. Bone health in patients with multiple sclerosis. *J Osteoporos*, 2011, 596294.
9. Zikán V. Riziko osteoporózy a zlomenin u pacientů s roztroušenou sklerózou. *Osteologický bulletin*, 2012, 17: 50-58

Publikace autora citované v habilitační práci:

10. Raška I Jr., Rašková M, Zikán V, Škrha J. Body composition is associated with bone and glucose metabolism in postmenopausal women with type 2 diabetes mellitus. *Physiol Res*. 2016 (v tisku). IF=1,643 (2015)
11. Michalská D, Luchavová M, Zikán V, Raška I Jr, Kuběna AA, Štěpán JJ. Effects of morning vs. evening teriparatide injection on bone mineral density and bone turnover markers in postmenopausal osteoporosis. *Osteoporos Int*, 2012, 23: 2885-2891. IF= 4,039 (2012)
12. Luchavová M, Zikán V, Michalská D, Raška I Jr, Kuběna AA, Štěpán JJ. The effect of timing of teriparatide treatment on the circadian rhythm of bone turnover in postmenopausal osteoporosis. *Eur J Endocrinol*, 2011, 164:643-648. IF= 3,423 (2011)
13. Zikán V, Štěpán JJ. Marked reduction of bone turnover by alendronate attenuates the acute response of bone resorption marker to endogenous parathyroid hormone. *Bone*, 2009, 44:634-638. IF=4,089 (2009)
14. Zikán V, Štěpán J Marker of bone resorption in acute response to exogenous or endogenous parathyroid hormone. *Biomarker Insights*, 2008, 3: 19-24.
15. Zikán V, Štěpán JJ. Diminished acute response of osteoclasts to calcium load in thyroidectomized patients. *Calcif Tissue Int*, 2004, 74:377-381. IF=2,258 (2004)
16. Štěpán JJ, Zikán V. Calcitonin load test to assess the efficacy of salmon calcitonin. *Clin Chim Acta*, 2003, 336:49-55. IF=1,663 (2003)
17. Zikán V. Mechanizmy regulace kostní resorpce: účinky vápníku a kalcitoninu. Doktorandská disertační práce, 1. IF UK, Praha, 2003.
18. Zikán V, Roubal P, Štěpán J. Akutní biochemické účinky vápníku: srovnání dvou různých lékových forem uhličitanu vápenatého (prášek a efervescentní tablet) a mléka u zdravých žen. *Cas Lek Cesk*, 2002, 141:127-131.

19. Zikán V, Štěpán JJ. Plasma type 1 collagen cross-linked C-telopeptide: a sensitive marker of acute effects of salmon calcitonin on bone resorption. *Clin Chim Acta*, 2002, 316:63-69. IF= 1,339 (2002)
20. Zikán V, Haas T, Štěpán JJ. Acute effects in healthy women of oral calcium on the calcium-parathyroid axis and bone resorption as assessed by serum beta-CrossLaps. *Calcif Tissue Int*, 2001a, 68:352-357. IF=2,209 (2001)
21. Zikán V, Roubal P, Haas T, Štěpán JJ. Acute effects of calcium carbonate and milk on the calcium parathyroid axis and bone resorption in healthy women. In: Burckhardt P, ed. *Nutritional aspects of osteoporosis*. New York: Academic Press, 2001b, pp. 131-140.

Přehledné práce autora citované v habilitační práci:

22. Zikán V, Štěpán JJ. Periodische Änderungen der Knochenremodellierung. *Journal für Mineralstoffwechsel*, 2001, 2:20-25.
23. Zikán V. Glukokortikoidy a osteoporóza. *Vnitřní lékařství*, 2007, 53, 831-840.
24. Zikán V. Nové možnosti farmakologické léčby osteoporózy na obzoru. *Postgraduální medicína*, 2008, 10: 52-58.
25. Luchavová M, Zikán V. The parathyroid hormone circadian rhythm and its role in bone metabolism. *Osteologický bulletin*, 2010a, 15: 95-100.
26. Zikán V. Význam parathormonu, kalcitoninu a sklerostinu v regulaci kostní remodelace. *Osteologický bulletin*, 2010b, 15: 48-50.
27. Zikán V. Definice nedostatku vitamínu D u dospělých. *Medicína po promoci*, 2010c, 11, 6:33-35 (komentář k článku).