

Cirkadiální rytmy a kostní metabolismus

Circadian rhythms and bone metabolism

Vladimír Palička, Ladislava Pavlíková, Radomír Hyšpler

Osteocentrum, Ústav klinické biochemie a diagnostiky FN Hradec Králové

✉ **prof. MUDr. Vladimír Palička, CSc., dr.h.c.** | palicka@lfhk.cuni.cz | www.lfhk.cz

Received | Doručeno do redakce | Doručené do redakcie 2. 12. 2022

Accepted | Prijato po recenzii | Prijaté po recenzii 13. 12. 2022

Abstrakt

Cirkadiální rytmy jsou neoddelitelnou součástí života. Jejich rytmicitu je řízena zevními vlivy (cyklus světla a tmy), ale i vnitřními regulátory (hormonální změny, transkripce genových signálů). Každý metabolický proces včetně kostní tkáně má své vnitřní hodiny. Rytmičké změny a kolísání kostní resorpce a novotvorby se odráží v cyklických změnách sérových koncentrací CTx, parathormonu a dalších. Na rytmicitu procesů má vliv i délka a kvalita spánku, jeho případný posun (noční směny), ale i strava nebo hladovění. Především u krátkodobě působících léků hraje významnou roli i doba jejich aplikace a také chronobiologie má v klinické osteologii nezastupitelnou roli.

Klíčová slova: cirkadiální rytmy – kostní markery – kostní metabolismus – osteoporóza – terapie

Abstract

Circadian rhythms are extremely important regulators of the whole life. The main regulators are external (so called zeitgebers) deeply influenced by the changes in light and dark cycles. Internal regulators, represented by hormonal activities and gene expressions are part of bone metabolism too. Diurnal activities of bone resorption are easily documented by cyclic changes of CTx levels. Rhythmicity is regulated by food and fasting, sleep and its change by night shifts and physical activity. Chronotherapy is important in short-acting drugs, mostly.

Key words: bone metabolism – bone turnover markers – circadian rhythms – osteoporosis – therapy

Úvod

Osteoporóza jako nejčastější porucha metabolismu kostní tkáně postihuje celosvětově desítky milionů lidí, dle údajů WHO z roku 2011 to bylo 75 milionů [1], v roce 2019 to bylo „jen“ v zemích Evropské unie, včetně Spojeného království (UK) a Švýcarska, celkem 32 milionů osob [2]. Počty nemocných se stále zvyšují, ať již pro častější vznik onemocnění, tak i pro prodlužující se délku života, pro změny životního stylu, pro klesající pohybové aktivity lidí v mnoha zemích světa, nedostatek vitamínu D a jiné faktory. Alarmující jsou i počty komplikací, především zlomenin: ve zmíněných zemích Evropy – 27 EU + 2 (UK a Švýcarsko) to bylo 4,3 miliony osteoporotických fraktur za rok, z toho 827 000 fraktur proximálního femuru. Zdravotní, sociální i ekonomický dopad je obrovský. Jen v roce 2019 zemřelo v evropských zemích (27 + 2) téměř

čtvrt milionu lidí na následky osteoporózy a ekonomický dopad choroby je odhadován za uvedený rok na 57 miliard EUR, tedy téměř 1,5 bilionu Kč.

V České republice nejsou aktuální data přesně známa. Dle údajů IOF [2] bylo v roce 2019 postiženo osteoporózou 572 000 obyvatel a náklad na léčbu fraktur činil 260 milionů EUR, tedy asi 6,5 miliardy Kč. Připočteme-li k tomu náklady na nezbytnou péči o ty, kteří osteoporotickou frakturu prodělali v minulosti (a zůstali s tělesným handicapem) a náklady na léčbu osteoporózy, pak celkové roční náklady na tuto chorobu v České republice (ČR) činí přibližně 10 miliard Kč ročně – a to v této částce není zahrnuta cena za snížení kvality života, která se jinde do nákladů běžně započítává [2].

Diagnostika osteoporózy je přitom poměrně přesně definována. V současnosti je dána především stanove-

ním kostní minerální hustoty metodou dvouenergiev kostní denzitometrie (DXA). Velmi sofistikované, propracované a stále vylepšované jsou i možnosti predikce individuálního rizika fraktury v následujících letech (např. FRAX® – Fracture Risk Assessment Tool) [3] a mnohé země přijaly místně adaptované modely k včasnému zachytu, prevenci a léčbě osteoporózy [4]. Poměrně detailně známe i metabolické procesy v kostní tkáni a většinu jejich možných poruch, vliv hormonů, stravy, pohybu a životosprávy. Jsou známy i mnohé rytmické změny v kostním metabolismu, ať již krátkodobé, či dlouhodobé, existují doporučení v kterou denní dobu podávat terapii. Přesto je oblast chronobiologie kostní tkáně a různých metabolických cyklů stále málo prozkoumaná a respektovaná v praxi.

Chronobiologie

Úvahy a první obecné poznatky o cirkadiálním rytmu (prolínají se pojmy cirkadiální a cirkadiánní) lze najít od 20. let minulého století.

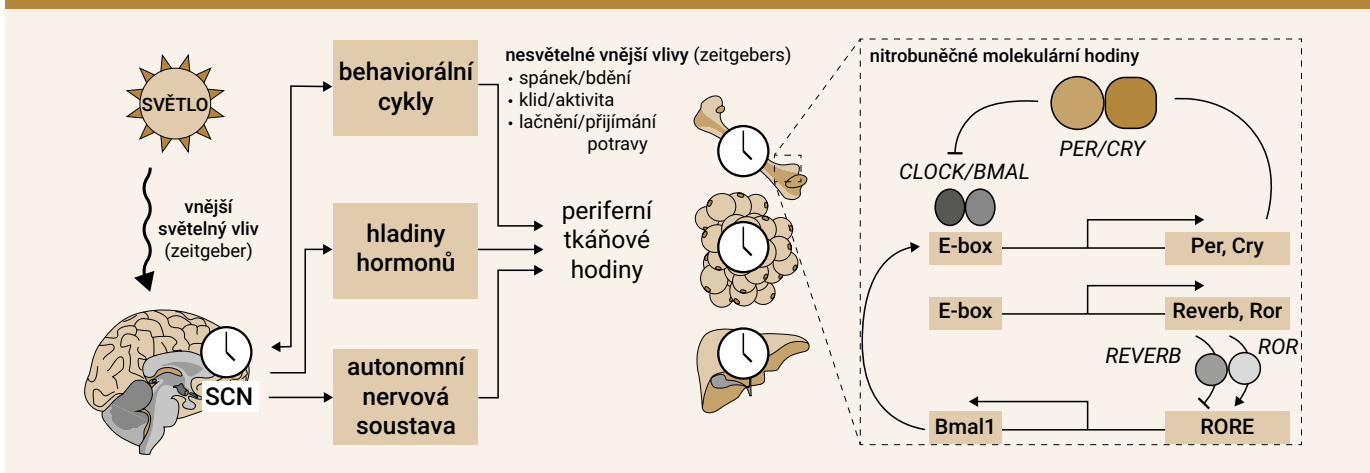
Cirkadiální rytmus má mnoho úrovní, z nichž dominantní jsou dvě: zevní, někdy uváděná jako biologická, která cestou suprachiasmatických jader synchronizuje tělesné aktivity a procesy s cyklem světla a tmy, a tzv. chemická, daná především kolísáním hladin hormonů v průběhu 24 hodin. Podstatnou informací však je, že v podstatě každý orgán těla (snad i každá buňka) má své vnitřní „hodiny“. Systém cyklických změn umožňuje organizmu adaptovat svou fyziologii při změně dne a noci a zasahuje nejen do spánkových cyklů, ale i do pohybové aktivity, krevního tlaku, tělesné teploty a hladiny mnoha hormonů v krevním oběhu, kognitivních funkcí, transkriptomu a metabolomu [5] a genových expresí [6] – a pochopitelně i do metabolismu kostní tkáně. Cirkadiální rytmus je geneticky zakódován prakticky v každé buňce těla na přibližně 24hodinový cyklus. Hlavním řídicím sys-

témem („master clock“) jsou buňky suprachiasmatických jader hypotalamu, které jsou jediným systémem dostávajícím světelné podněty ze sítnice, synchronizující vnitřní hodiny se světelnými cykly dne a noci. Zevní vlivy, pro které se vžil název „zeitgebers“ (s méně často používaným anglickým transkriptem „time-givers“) jsou především světelné, ale mezi další zevní vlivy patří i cyklus spánku, nebo bdění, stravování, nebo hladovění a klid, nebo pohyb. Periferní tkáňové hodiny se synchronizují se světelnými cykly především hormonálními regulacemi, přesněji proteinovými a genovými expresemi. Buněčný, autonomní systém molekulárních hodin je řízen dvěma transkripčními a translačními zpětnovazebnými okruhy. Dva z nich jsou aktivátory (*CLOCK* a *BMAL1*), dva represory (*PER* a *CRY*) s následným zapojením kináz a fosfatáz (podrobněji v [7]), schéma 1. Tyto geny a produkty jejich exprese lze najít i v kultivovaných osteoblastech nebo osteoklastech. V kostní tkáni jsou zodpovědné za diurnální kolísání aktivity především geny ovlivňující aktivitu osteoklastů, například *RANKL* a *OPG*, zatímco osteoblastické markery typu *Runx2* a *Col1A1* tak výraznou rytmicitu nemají [8].

Chronobiologie a metabolismus kostní tkáně

Velmi četné studie potvrzují diurnální vlivy v kostní resorpci, snadno sledovatelné měřením 24hodinové rytmicity kostních resorpčních markerů, typicky CTx. Kostní resorpce je nejvyšší v klidové fázi, tedy především v nočních hodinách, což bylo přičítáno především poklesu zátěže kostní tkáně s následnou zvýšenou kostní resorpcí. Ukázalo se ale, že rytmické změny ukazatelů kostní resorpce nejsou ovlivněny tělesnou zátěží (nebo klidem) ani kolísáním hladin kortizolu ani světelným režimem. Dominantní je zřejmě příjem (či „nepříjem“) potravy a hladovění, ale i „normální“ lačnění zvyšují kostní resorpci. Podrobnější

Schéma 1 | Princip systému řízení cirkadiálního rytmu. Upraveno podle [8]



SCN – suprachiasmatic nuclei/suprachiasmatická jádra (hypotalamu) E-box – enhancer box (DNA cis-element) RORE – kyselina retinová

data o vlivu potravy na kostní resorpci jsou v dalších kapitolách tohoto článku. Dalším možným vlivem na cykličnost kostní resorpce je diurnální rytmus produkce PTH, s nejvyššími hladinami v nočních hodinách a nejnižšími ráno. Zůstává otázkou, jak výrazně do této diurnální rytmicity PTH zasahuje příjem potravy, včetně příjmu kalcia. Rytmicita PTH je také snižována dlouhodobým lačněním, které samo o sobě vede ke zvýšení kostní resorpce a zvýšení koncentrace kalcia v plazmě. Rovněž glukokortikoidy výrazně ovlivňují molekulární hodiny organismu, a rytmické změny kostní resorpce závisí na rytmické produkci glukokortikoidů. Porucha této rytmicity v produkci glukokortikoidů, vyvolaná externím podáním glukokortikoidů zásadním způsobem poruší cyklické změny kostní remodelace [9] (schéma 2).

Rytmicita kostní novotvorby je výrazně menší, a zachytitelná jen některými markery kostního obratu. Zdá se, že P1NP nemá žádný (nebo naprosto minimální) diurnální rytmus, navíc ovlivněný dalšími faktory, jako jsou inkretiny. Hygum, 2019 [10], popisuje utlumení variace kostní novotvorby u diabetiků v souvislosti se zvýšením hladiny sklerostinu. Přitom koncentrace sklerostinu v plazmě nevykazuje zřetelnou rytmicitu v průběhu dne a noci [11]. Výraznější kolísání má produkce a hladina osteokalcinu. Osteokalcin signalizuje zvýšenou produkci

– a tedy kostní novotvorbu – během nočních hodin, podobně jako ukazatele kostní resorpce, není ale ovlivňován příjmem potravy. Výrazný vliv má rovněž adrenergní signalizace, a to jak in vivo, tak i in vitro v experimentálně kultivovaných osteoblastech.

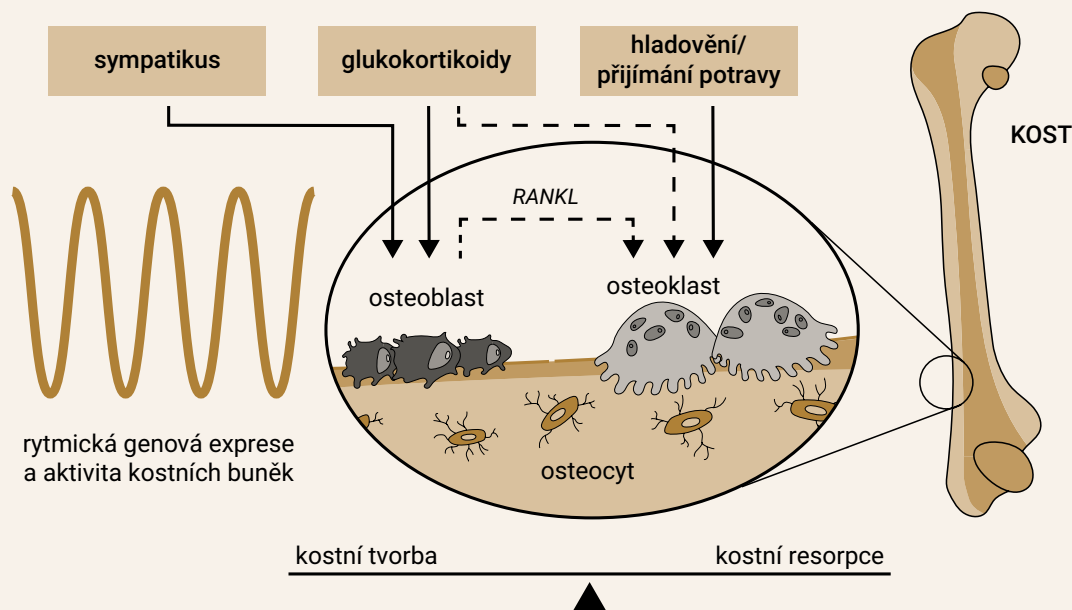
Nezanedbatelný vliv má epifyzární hormon melatonin. Jeho produkce je inhibována světlem a vrcholu dosahuje v nočních hodinách. Melatonin stimuluje diferenciaci a proliferaci osteoblastů in vitro a u zvířecích modelů i v pokusech in vivo. U člověka ale podání melatoninu neovlivní sérovou hladinu osteokalcinu ani kostní minerální hustotu a není asi výrazným determinátorem kostní remodelace [8].

Změna hladin kostních markerů a možnost sledování jejich reakce na léčbu u pacientů s recentní zlomeninou je samozřejmě výrazně odlišná [12].

Vliv spánku a jeho poruch na metabolismus kostní tkáně

Vliv zevních „zeitgebers“ anebo „time-givers“ na celkový metabolismus je naprosto zásadní a nepopiratelný. Logicky tedy musí vznikat otázka, zda případná změna, porucha nebo posun v těchto vlivech ovlivní kostní metabolismus a jakým způsobem. Je známo, že samotná osteoporóza, a zvláště její komplikace, ovlivňují kvalitu

Schéma 2 | Diurnální kolísání aktivity v kostní tkáni. Zdraví kosti závisí na rovnováze mezi resorpcí kostní hmoty osteoklasty a tvorbou kostní hmoty osteoblasty. Tyto procesy jsou regulovány cirkadiálním časovým systémem, což způsobuje denní variace v kostní remodelaci - cykly hladovění/příjmu potravy ovlivňují aktivitu osteoklastů, aktivita sympatického nervového systému může selektivně regulovat rytmickou aktivitu osteoblastů a glukokortikoidní signalizace je pravděpodobně důležitá jak pro rytmus kostní resorpce, tak kostní formace, protože glukokortikoidy mohou modulovat buněčné "hodiny" osteoklastů, respektive osteoblastů a mohly by ovlivňovat rytmus aktivity osteoklastů i nepřímo prostřednictvím osteoblastů, a to regulací exprese RANKL. Upraveno podle [8]



spánku. Bolesti, únava, deformity postavy, deformity hrudníku při kompresivních frakturách hrudních obratlů, ztráta energie a mnohé další vlivy zhoršují kvalitu spánku u pacientů s pokročilou osteoporózou, která ale zřetelně klesá i u pacientů s osteopenií a bez fraktur [1].

Daleko výraznější je ale vliv „opačný“. Narušení cirkadiálního rytmu nepravidelným spánkem nebo nočními směny bývá popisováno jako příčina nízké kostní minerální hustoty a zvýšeného rizika fraktur. Výraznou roli hraje cyklicita produkce kortizolu, vyvolaná stimulací suprachiasmatických jader hypotalamu s následným ovlivněním hypotalamicko-pituitárně-adrenální osy [13]. Ve stáří často rytmicitu aktivity suprachiasmatických jader, která se přestává synchronizovat s environmentálním rytmem klesá, což následně vede ke snížení amplitudy sekrece kortizolu, jehož hladina v krvi se i tak v závislosti na věku zvyšuje. Jedním z mnoha důvodů může být oslabení světelných stimulů snížením množství a citlivosti fotoreceptorů v sítnici, ale i katarakta. Zploštění cyklických amplitud se může podílet na vzniku involuční osteopenie a osteoporózy. Ne všechny studie ale prokazují výraznější vazbu mezi poruchami spánku a kostní minerální denzitou [14]. Porušení rytmicity kortizolu a jeho negativní vliv na kostní metabolismus lze prokázat i experimentálně [9]. Fujihara, 2014 [15], v pokusech na myších prokázal, že geny, spojené s metabolismem osteoklastů (*NFATC1*), ale i katepsinem K mají svou aktivitu úzce propojenou s cyklem světla a tmy.

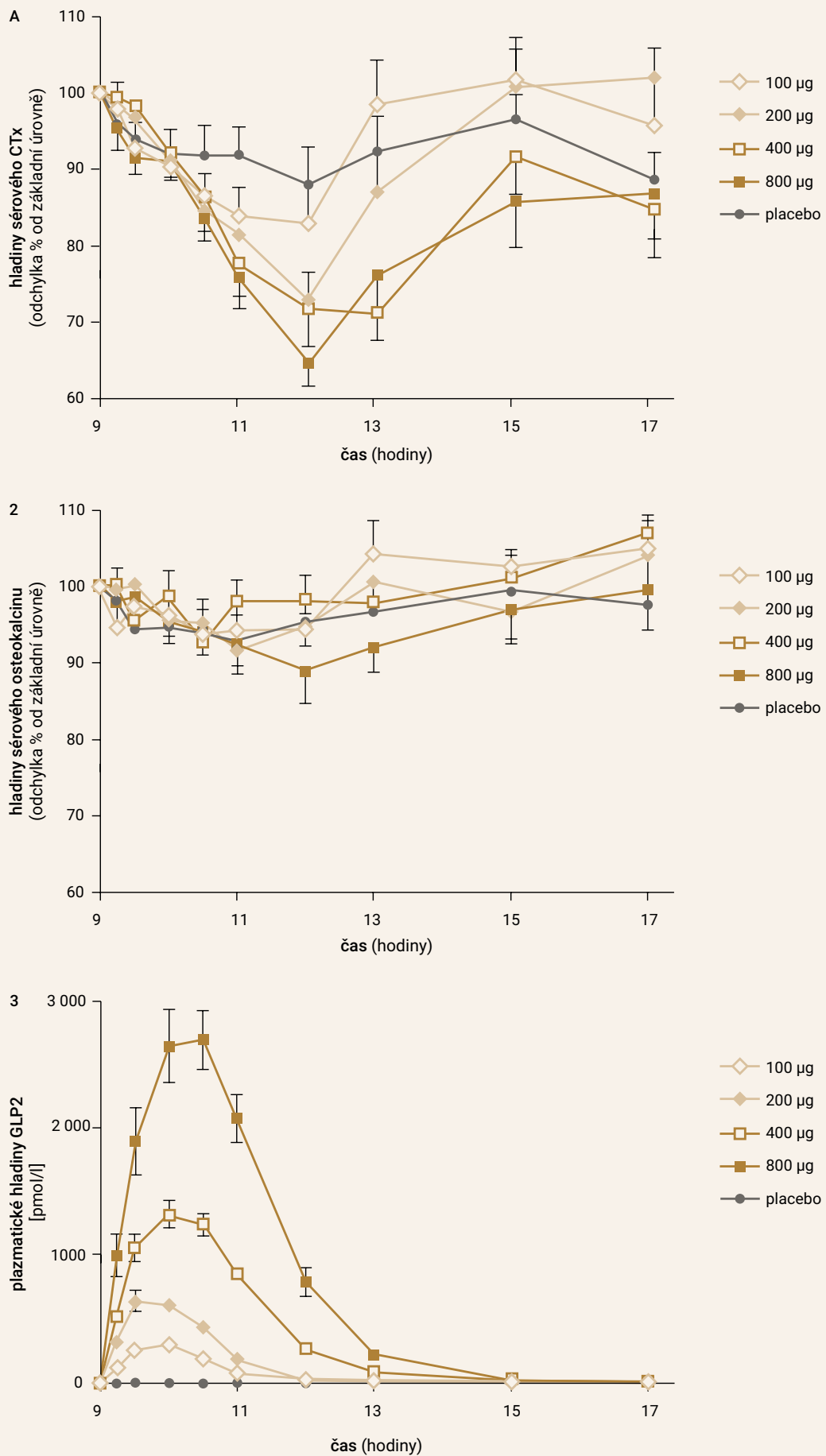
I vliv tělesné zátěže je vázán na „správné časování“. Experimentálně je prokázáno, že tělesná zátěž v počátku světelného cyklu vede u myší k vzestupu genu *SOST*, zatímco tělesná zátěž v konci světelného cyklu snižuje expresi *SOST* i *Dkk1* – a také endokortikální kostní formace je v této fázi výraznější [16]. Nedostatečný spánek a porucha jeho synchronizace s cyklem světla a tmy je ovšem velmi významná. Už samotná kratší doba spánku, zvláště u starších osob, je spojována s vyšším rizikem vzniku a rozvoje osteoporózy. Uvažovaným důvodem je zvýšená hladina kortizolu s následnou glukokortikoidy indukovanou poruchou kostního metabolismu, ale také zvýšená aktivita proinflatorních mediátorů [17]. Negativní vliv nočních směn, který vede ke zvýšenému riziku pádů a fraktur, může být samozřejmě vysvětlován zvýšenou únavou, nepozorností a ospalostí, roli může sehrávat i nižší hladina vitamínu D [18].

Některé práce ale prokazují, že noční směny mohou vést k poklesu BMD v bederní páteři i krčku femuru a vyšší prevalencí osteopenie [19]. I když dosavadní data upozorňují na až 25% výskyt osteoporózy v bederní páteři (T-skóre nižší než -2,5) a zvýšené riziko fraktur předloktí i proximálního femuru [8], podklady nejsou stále dostatečné a další studie jsou nezbytné.

Vliv stravy a hladovění

Tak jako kostní tkáň, mají svůj cirkadiální rytmus i játra, gastrointestinální trakt, ledviny a další orgány. Během doby lačnění, zvláště v nočních hodinách, je kostní resorpce zvýšená, naopak příjem stravy (zvláště pak v průběhu dne) kostní resorpci tlumí. Hladiny CTx v séru jsou nejvyšší v časných ranních hodinách (mezi 5. až 8. hod) a nejnižší v odpoledních hodinách. Tyto výkyvy platí při normálním rytmu stravy, tedy snídani, obědu a večeři. Ovlivnění cyklu stravou je přitom nejvýraznější v případě snídane, ale už ne v případě oběda nebo večeře [20]. Jedním z možných vysvětlení této diskrepance je doba lačnění, která je mezi večeří a snídaní obvykle mnohem delší než mezi dalšími příjmy jídla. I omezení kalorického příjmu, například při intenzivním atletickém tréninku, je spojeno s vyššími hladinami osteoresorpčních markerů v séru. Významnou roli hraje i složení stravy. Krátkodobá restrikce uhlohydrátů vede ke snížení sérových ukazatelů kostní novotvorby jak v klidu, tak při cvičení. Zvýšení tělesné zátěže přitom ještě více zvýší markery kostní resorpce. Přiměřený kalorický a uhlohydrátový příjem ale dokáže nepříznivé vlivy vysoké tělesné zátěže na kostní metabolismus snížit [21]. Příjem stravy je dokonce nejvýznamnějším faktorem, narušujícím cirkadiální variaci CTx, významnější než tělesný pohyb, či nehybnost, kolísání produkce kortizolu nebo změna světelných podmínek [22]. Lze soudit, že vliv příjmu potravy je zprostředkován stimulací sekrece inzulínu, ale také gastrointestinálních inkretinů, včetně GIP (inzulinotropního polypeptidu), GLP1 (glucagon-like peptidu 1) a GLP2. Receptory pro GIP a GLP1 jsou exprimovány na osteoblastech a receptory pro GLP2 na osteoklastech [8]. Subkutánní podání GLP2 postmenopauzálním ženám utlumí kostní resorpci, jak je sledovatelné poklesem sérových hladin CTx [23] (graf 1–3). Proto také perorální příjem glukózy má rychlejší a výraznější vliv na kostní resorpci než intravenózní podání. Snížení amplitudy kolísání sérového CTx při lačnění je přitom signifikantní – zatímco při normální stravě dosahuje kolísání sérového CTx během 24 hodin až 40,5 %, při lačnění je toto kolísání statisticky významně nižší a pohybuje se kolem 16 %. Obdobné výsledky přináší vyšetření kostních markerů u anorektických žen, u kterých je cirkadiální variace osteokalcinu i CTx výrazně snížena proti kontrolám, a po zavedení výživy se vrací do kolísání běžného u zdravých kontrol [24]. Z hlediska zachování pravidelného cyklu kostní resorpce a novotvorby je velmi důležité zachovávat i pravidelnost v příjmu potravy. Dokonce při poruše rytmu kostní resorpce, způsobeném změnou celkového životního rytmu (například noční prací), může pravidelný příjem potravy negativní vliv změny cyklu světla a tmy zmírnit. Schilperoort [9] v pokusech na myších prokázala, že pokud je příjem po-

Graf 1–3 | Úloha gastrointestinálních hormonů v postprandiálním snížení kostní resorpce. Upraveno podle [23]



travy ve fázi omezeného světla limitován, je adaptace na změnu světelných podmínek rychlejší.

Vliv cirkadiálních rytmů na léčbu osteoporózy

Pojem **chronoterapie** sice není nijak nový, je ale stále málo akceptován, a ještě méně aplikován do praxe. Vhodnost večerní aplikace kalciových preparátů je obecně známá, u vlastních antiosteoporotických léků je však situace rozdílná.

Už v terapii kalcitoninem s intranazálním podáním byl diskutován jeho vliv na kostní markery při podání v ranních, nebo večerních hodinách. Vzhledem ke krátkodobému účinku kalcitoninu na osteoklasty a vyšší kostní resorpci v nočních hodinách se zdálo logičtější podávat kalcitonin večer – ale vliv na CTx byl nakonec při ranním i večerním podávání stejný [25]. I když už tato informace ztrácí v současné době klinické využití, podání kalcitoninu zdravým ženám ve večerních hodinách v jiné studii vyvolalo větší redukci CTx než podání v ranních hodinách [26].

Nejvíce prací o efektu léčby v závislosti na čase podání, je známo u léčby deriváty parathormonu. Už samo terapeutické podání teriparatidu (1–34 PTH) reguluje cirkadiální hodiny v kostní, a ještě více v chrupavčité tkáni. Japonští autoři v experimentu prokázali, že vliv PTH na resetování biologických hodin v kultivované kostní tkáni je závislý nejen na dávce, ale i na době podání [27]. Spekulací zůstává, zda by tento efekt podání PTH mohl být užitečný při hojení fraktur [28]. Rozdíl v efektu podání terapeutických dávek teriparatidu v ranních vs večerních hodinách u pacientek s postmenopauzální osteoporózou je markantní. I když průměrná 24hodinová koncentrace CTx nebyla mezi oběma režimy statisticky významně rozdílná, tak večerní podání teriparatidu prokázalo výrazně vyšší průměr hodnot CTx v nočních hodinách než podání ranní. Ranní terapeutická dávka také zřetelně oploštila cirkadiální rytmicitu sérového CTx [29]. Klinická studie pražských autorů potvrdila, že po 12měsíční terapii teriparatidem vedlo ranní podávání k většímu, téměř 2násobnému, nárůstu BMD v bederní páteři než aplikace večerní. Ranní dávkování také více zvýšilo sérové koncentrace P1NP [30].

U většiny dalších antiosteoporotických léků je vliv denního času, ve kterém jsou podávány, poměrně málo prozkoumán. Je zřejmé, že léčebný efekt podávání bisfosfonátů s velmi dlouhou retencí v kostní tkáni a dlouhodobým působením nebude zřetelně ovlivněn chronobiologickými rytmy – zmiňován je jen efekt diurnální variability vstřebávání v zažívacím ústrojí [8]. Ani u denosumabu není dostatek údajů o vlivu doby podání na výsledný terapeutický efekt. Inhibitor katepsinu K, zvláště pokud je podáván v každodenních dávkách, ovšem roz-

dílňý léčebný efekt v závislosti na cirkadiálním rytmu vykazuje – ranní dávkování je účinnější na dlouhodobější snížení markerů kostního obratu než dávkování večerní [31]. U odanakatibu (inhibitoru katepsinu K), s dávkováním 1krát týdně, ovšem pravděpodobně ranní či večerní aplikace nebude mít příliš rozdílný efekt. U jiných léků je pozornost zaměřena spíše na časovou závislost vzniku nežádoucích vedlejších účinků než na vlastní antiosteoporotický efekt – vzestup inhibitoru plazminogenového aktivátoru (PAI-1), rizikového faktoru pro vznik tromboembolické nemoci, je po ranní aplikaci raloxifenu výrazně vyšší než po aplikaci ve večerních hodinách [32]. Obecně je nutné konstatovat, že chronoterapie bude v indikovaných případech nedílnou součástí nejen „medicíny založené na důkazech“ (EBM), ale především moderního přístupu k léčbě [6].

Podpořeno MZ ČR – RVO (FNHK, 00179906, a programem Cooperatio, vědní oblast DIAG

Literatura

- Albayrak I, Aydogmus M, Ozerbil OM et al. The association between bone mineral density, quality of life, quality of sleep and fatigue. *Acta Clin Belg* 2016; 71(2): 92–98. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1179/2295333715Y.0000000061>>.
- Willers C, Norton N, Harvey NC et al. Osteoporosis in Europe: a compendium of country-specific reports. *Arch Osteoporos* 2021; 17(1): 23. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1007/s11657-021-00969-8>>.
- Vandenput L, Johansson H, McCloskey EV et al. Update of the fracture risk prediction tool FRAX: a systematic review of potential cohorts and analysis plan. *Osteoporos Int* 2022; 33(10): 2103–2136. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00198-022-06435-6>>.
- LeBoff MS, Greenspan SL, Insogna KL et al. The clinician's guide to prevention and treatment of osteoporosis. *Osteoporos Int* 2022; 33(10): 2049–2102. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00198-021-05900-y>>.
- Eckel-Mahan KL, Patel VR, Mohny RP et al. Coordination of the transcriptome and metabolome by the circadian clock. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012; 109(14): 5541–5546. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1118726109>>.
- Ruben MD, Smith DF, FitzGerald GA et al. Dosing time matters. *Science* 2019; 365(6453): 547–549. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1126/science.aax7621>>.
- Partch CL, Green CB, Takahashi JS. Molecular architecture of the mammalian circadian clock. *Trends Cell Biol* 2014; 24(2): 90–99. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tcb.2013.07.002>>.
- Winter EM, Kooijman S, Appelman-Dijkstra NM et al. Chronobiology and Chronotherapy of Osteoporosis *JBM Plus* 2021; 5(10): e10504. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1002/jbm4.10504>>.
- Schilperoort M, van den Berg R, Dollé MET et al. Time-restricted feeding improves adaptation to chronically alternating light-dark cycles. *Sci Rep* 2019; 9(1):7874. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/s41598-019-44398-7>>.
- Hygum K, Starup-Linde J, Harslof T et al. The diurnal variation of bone formation is attenuated in adult patients with type 2 diabetes. *Eur J Endocrinol* 2019; 181(3): 221–231. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1530/EJE-19-0309>>.
- Swanson C, Shea SA, Wolfe P et al. 24-hour profile of serum sclerostin and its association with bone biomarkers in men. *Osteoporos Int* 2017; 28(11): 3205–3213. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00198-017-4162-5>>.

12. Borgen TT, Solberg LB, Lauritzen T et al. Target Values and Day-time Variation of Bone Turnover Markers in Monitoring Osteoporosis Treatment After Fractures. *JBMR Plus* 2022; 6(6): e10633. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1002/jbmr.4.10633>>.
13. Smit AE, Schilperoort M, Winter EM. Restoring rhythm to prevent age-related fractures. *Aging (Albany NY)* 2022; 14(14): 5617–5619. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.18632/aging.204192>>.
14. Rogers TS, Harrison S, Swanson C et al. Rest-activity circadian rhythms and bone mineral density in elderly men. *Bone Rep* 2017; 7: 156–163. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bonr.2017.11.001>>.
15. 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. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bone.2013.12.026>>.
16. Bouchard AL, Dsouza CH, Julien C et al. Bone adaptation to mechanical loading in mice is affected by circadian rhythms. *Bone* 2022; 154: 116218. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bone.2021.116218>>.
17. Cunningham TD, Di Pace BS. Is Self-Reported Sleep Duration Associated with Osteoporosis? Data from a 4-Year Aggregated Analysis from the National Health and Nutrition Examination Survey. *J Am Geriatr Soc* 2015; 63(7): 1401–1406. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1111/jgs.13477>>.
18. Feskanich D, Hankinson SE, Schernhammer ES. Nightshift work and fracture risk: the Nurses' Health Study. *Osteoporos Int* 2009; 20(4): 537–542. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00198-008-0729-5>>.
19. Quevedo I, Zuniga AM. Low Bone Mineral Density in Rotating-Shift Workers. *J Clin Densitom* 2010; 13(4): 467–469. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jocd.2010.07.004>>.
20. Aoyama S, Shibata S. The Role of Circadian Rhythms in Muscular and Osseous Physiology and Their Regulation by Nutrition and Exercise. *Front Neurosci* 2017; 11: 63. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.3389/fnins.2017.00063>>.
21. Fensham NC, Heikura IA, McKay AKA et al. Short-Term Carbohydrate Restriction Impairs Bone Formation at Rest and During Prolonged Exercise to a Greater Degree than Low Energy Availability. *J Bone Miner Res* 2022; 37(10): 1915–1925. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1002/jbmr.4658>>.
22. Qvist P, Christgau S, Pedersen BJ et al. Circadian Variation in the Serum Concentration of C-terminal Telopeptide of Type I Collagen (Serum CTx): Effects of Gender, Age, Menopausal Status, Posture, Daylight, Serum Cortisol, and Fasting. *Bone* 2002; 31(1): 57–61. Dostupné z DOI: <[http://dx.doi.org/10.1016/s8756-3282\(02\)00791-3](http://dx.doi.org/10.1016/s8756-3282(02)00791-3)>.
23. Henriksen DB, Alexandersen P, Bjarnarson NH et al. Role of Gastrointestinal Hormones in Postprandial Reduction of Bone Resorption. *J Bone Miner Res* 2003; 18(12): 2180–2189. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1359/jbmr.2003.18.12.2180>>.
24. Caillot-Augusseau A, Lafage-Proust MH, Margailan P et al. Weight gain reverses bone turnover and restores circadian variation of bone resorption in anorexic patients. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2000; 52(1): 113–121. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2265.2000.00879.x>>.
25. Schlemmer A, Ravn P, Hassager C et al. Morning or Evening Administration of Nasal Calcitonin? Effects on Biochemical Markers of Bone Turnover. *Bone* 1997; 20(1): 63–67. Dostupné z DOI: <[http://dx.doi.org/10.1016/s8756-3282\(96\)00307-9](http://dx.doi.org/10.1016/s8756-3282(96)00307-9)>.
26. Karsdal MA, Byrjalsen I, Riis BJ et al. Investigation of the diurnal variation in bone resorption for optimal drug delivery and efficacy in osteoporosis with oral calcitonin. *BMC Clin Pharmacol* 2008; 8:12. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1186/1472-6904-8-12>>.
27. Okubo N, Fujiwara H, Minami Y et al. Parathyroid hormone resets the cartilage circadian clock of the organ-cultured murine femur. *Acta Orthopaed* 2015; 86(5): 627–631. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.3109/17453674.2015.1029393>>.
28. Kunimoto T, Okubo N, Minami Y et al. A PTH-responsive circadian clock operates in ex vivo mouse femur fracture healing site. *Sci Rep* 2016; 6:22409. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/srep22409>>.
29. Luchavova M, Zikan V, Michalska D et al. The effect of timing of teriparatide treatment on the circadian rhythm of bone turnover in postmenopausal osteoporosis. *Eur J Endocrinol* 2011; 164(4): 643–648. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1530/EJE-10-1108>>.
30. Michalska D, Luchavova M, Zikan V et al. Effects of morning vs. evening teriparatide injection on bone mineral density and bone turnover markers in postmenopausal osteoporosis. *Osteoporos Int* 2012; 23(12): 2885–2891. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00198-012-1955-4>>.
31. Eastell R, Dijk DJ, Small M et al. Morning vs evening dosing of the cathepsin K inhibitor ONO-5334: effects on bone resorption in postmenopausal women in a randomized, phase 1 trial. *Osteoporos Int* 2016; 27(1): 309–318. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00198-015-3342-4>>.
32. Ando H, Otoda T, Ookami H et al. Dosing time-dependent effect of raloxifene on plasma plasminogen activator inhibitor-1 concentrations in post-menopausal women with osteoporosis. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2013; 40(3): 227–232. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1111/1440-1681.12055>>.