

# Dětská osteologie – současné vyšetřovací metody

M. BAYER

Univerzita Karlova v Praze, Dětská klinika, LF a FN v Hradci Králové

## SOUHRN

Bayer M.: **Dětská osteologie – současné vyšetřovací metody**

Dětská osteologie se zabývá chorobami minerálního metabolismu a poruchami vývoje a zrání kostní hmoty. Základním postupem při hodnocení stavu dětského skeletu je pečlivé fyzikální vyšetření a zjištění údajů osobní i rodinné anamnézy. Mezi zobrazovací vyšetření patří prostý rentgenový snímek, měření denzity kostního minerálu (dvoenergie rentgenová absorpciometrie, kvantitativní počítačová tomografie), kvantitativní ultrazvuková denzitometrie a scintigrafie skeletu. Všechny tyto metody mají určité indikace a omezení. Laboratorní ukazatele kostního obratu jsou u dětí a dospívajících převážně ovlivněny individuální růstovou aktivitou. Pro nedostatek validních referenčních hodnot nejsou dosud vhodné k použití v široké klinické praxi. Kostní biopsie je invazivní, ale přesnou metodou ke zjištění vlastností kostní tkáně. Nezbytnou součástí diagnostických postupů se již také stala molekulární genetika.

**Klíčová slova:** dětská osteologie, denzita kostního minerálu, ukazatele kostního obratu, kostní biopsie

## SUMMARY

Bayer M.: **Paediatric osteology – current examination methods**

Paediatric osteology is concerned with disorders of mineral metabolism, development and maturation of the skeleton. Careful physical examination, personal and family history are fundamental for the assessment of bone status in childhood. Imaging investigation consists of plain X-ray, bone mineral density measurement (dual energy X-ray absorptiometry, quantitative computed tomography), quantitative ultrasound densitometry, and scintigraphy of the skeleton. All these methods have certain indications and limitations. Biochemical markers predominantly reflect individual bone growth rates in children and adolescents and they are not yet appropriate for broad clinical practice due to lack of valid reference data. Bone biopsy is an invasive but accurate method to study bone characteristics. Molecular genetic methods became an integral part of diagnostic procedures.

**Keywords:** paediatric osteology, bone mineral density, bone turnover markers, bone biopsy

*Osteologický bulletin 2011;16(2):31–37*

**Adresa:** prof. MUDr. Milan Bayer, CSc., UK v Praze, Dětská klinika, LF a FN v Hradci Králové, Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové, e-mail: bayerm@lfhk.cuni.cz

Došlo do redakce: 20. 4. 2011

Přijato k tisku: 30. 6. 2011

## Úvod

V dětském věku dochází k velice dynamickému nárůstu kostní hmoty a vývoji skeletu. Tento děj je nerovnoměrný a v jednotlivých obdobích dětství a dospívání se jeho intenzita významně mění. Rychlost růstu je postnatálně nejvyšší v prvním roce života a dále postupně klesá, aby nabyla opětového rozmachu v období pubertálního růstového spurtu, v němž se vytváří více než třetina celkového množství kostní hmoty. Maximálního množství kostní hmoty, tzv. „peak bone mass“ organismus dosahuje na začátku třetí dekády života. Z významné části je množství kostní hmoty v dospělosti předurčeno geneticky, ale v průběhu vývoje a zrání skeletu může být modifikováno celou řadou faktorů zevního i vnitřního prostředí (způsob výživy, fyzická aktivita, průběh puberty). V případě chronického onemocnění k nim přistupují také patofyziologické děje, které nezřídka stav obecně metabolicky velice aktivního skeletu ovlivňují, a v neposlední řadě také vedlejší účinky dlouhodobě užívaných farmak. K hodnocení stavu skeletu u dítěte či adoles-

centa je tedy nutno přistupovat uvážlivě, s přihlédnutím ke všem dostupným okolnostem.

## Fyzikální vyšetření a anamnéza

Tak jako v každé jiné oblasti pediatrické praxe zůstává i v dětské osteologii důkladné fyzikální vyšetření a anamnéza základním východiskem k dalším úvahám. O dítěti je nezbytné nejen získat informace o jeho vývoji od narození, ale také průběh těhotenství a okolnosti porodu mohou být velmi významnými faktory. Růstová a hmotnostní křivka spolu se záznamy o dosaženém stupni psychomotorického vývoje do většiny potřebných údajů jednoznačně patří. Zajímají nás data o způsobu výživy, kvalitě i kvantitě stravy a pohybové aktivitě. Pokud bylo dítě nemocné, jsou důležitými fakty údaje o chorobách pohybového ústrojí, urologického a zažívacího traktu či onemocnění žláz s vnitřní sekrecí. Farmakologická anamnéza by měla být zaměřena zejména na látky, známé svým negativním účinkem na skelet nebo ovlivňující metabolismus vitamínu D (kortikoidy,

cytostatika, antiepileptika, diuretika, imunomodulantia, hormony apod.). Nutné je zdokumentovat všechny prodělané zlomeniny s uvedením mechanismu úrazu.

V rodině pátráme po výskytu metabolických osteopatií u sourozenců, rodičů i prarodičů dítěte. Kromě patologií, jednoznačně souvisejících se změnami kostní hmoty (recidivující fraktury s nepřiměřeným mechanismem vzniku, kostní deformity, nápadně nízká postava), je vhodné se cíleně ptát i na diskrétnější odchylky (nekvalitní zubní sklovina, poruchy sluchu od středního věku).

Fyzikální vyšetření má své zásady, platné pro celou pediatrii. Vždy je nutné dítě vyšetřit kompletně, od hlavy až k patě. Hodnotí se jeho antropometrické parametry (výška; hmotnost; u novorozenců, kojenců a batolat i obvod hlavy) se zařazením do platných percentilových grafů, celkový habitus a rozvoj svalové tkáně. Přítomnost a velikost velké fontanely, pevnost záhlaví, barva sclér, proporce postavy (končetiny vs. trup, případné deformity dlouhých kostí), hybnost kloubů končetin i páteře a veškeré dysmorfické rysy jsou předmětem primárního zájmu. Nicméně je třeba mít na paměti, že porucha řádného nárůstu kostní hmoty bývá u dětí takřka vždy sekundární a provází širokou škálu chronických onemocnění. Proto je nutné vzít v úvahu jakýkoli přítomný patologický nálezn, i když s pohybovým ústrojím zdánlivě nesouvisí [1,2].

## Zobrazovací metody

### 1. Rentgenový snímek

Při posuzování kostního věku, diferenciální diagnostice kostních dysplázií nebo při hodnocení rachitických změn je nativní rentgenový snímek nezastupitelný. Některé odchylky, podporující podezření pro určité klinické jednotky, můžeme zastihnout na prostém rentgenogramu ruky (zkrácení metakarpálních kůstek při pseudohypoparathyreóze, změny při primární hyperparathyreóze, renální osteodystrofii). Na rentgenovém snímku je možné zjistit známky osteosklerózy, osteopetrózy či výraznou dekalifikaci skeletu. Na páteři lze popsat případné kompresivní fraktury obratlů, jejichž semikvantitativní hodnocení pomáhá určit závažnost stavu [3]. Nicméně pro posouzení úbytku kostní hmoty nemá klasický nativní rentgenový snímek dostatečnou rozlišovací schopnost. Popis porotické kosti na běžném snímku není diagnostický, ale je indikací k dalšímu vyšetření.

### 2. Měření denzity kostního minerálu

Jedním z nejčastěji měřených parametrů, který se v osteologii používá k posouzení rizika zlomeniny, je denzita kostního minerálu (bone mineral density, BMD). Její hodnota a vyjádření vztahu k referenční zdravé populaci (u dětí formou Z-skóre, u dospělých T-skóre) neurčuje diagnózu choroby, ale pouze míru rizika fraktury. Měření má absolvovat každé dítě, o jehož vrozené nebo získané chorobě je známo, že zvyšuje riziko zlomeniny. Jednota také panuje v názoru, že trend hodnot má mnohem větší cenu než jednorázové, byť detailní vyšetření [4]. Chceme-li v pediatrii usuzovat na diagnózu osteoporózy, pak současná doporučení požadují paralelně nálezn nízké BMD a/nebo nízkého obsahu minerálu (bone mineral content, BMC) ve vyšetřované kosti a frakturu v anamnéze [5]. Diagnóza nakonec musí být

výsledkem komplexního zhodnocení stavu vyšetřovaného dítěte.

**Dvouenergieová rentgenová absorpciometrie** (dual energy X-ray absorptiometry, DXA)

V současné době je DXA kromě dospělých stále považována za standardní vyšetřovací metodu i u dětí. V praxi se uplatňuje již čtvrt století. Používá vysoce stabilních zdrojů rtg záření se simultánní emisí o vysoké (70 kV) a nízké (40 kV) energetické hladině. Radiační expozice je při vyšetření DXA velmi malá (5–10  $\mu$ Sv), což nepřevyšuje zátěž získanou z přirozeného pozadí při pobytu mimo budovu a nikterak dětského pacienta neohrožuje. Vyšetření bylo původně určeno jen pro diagnostiku postmenopauzální osteoporózy. Chyba měření musí být tak malá, aby umožnila zachytit terapií nebo patologickým procesem vyvolané změny ve vyšetřované kostní tkáni. In vivo tato chyba u většiny přístrojů nepřesahuje 1 % [6]. To je hodnota, která u dětského skeletu pracuje s velkou rezervou, neboť změny denzity kostního minerálu mohou u rostoucího organismu během roku dosáhnout i několika desítek procent. Z těchto důvodů lze u dětí v případě potřeby vyšetření provádět v mnohem kratších intervalech než u dospělých, u nichž se roční změny BMD mohou blížit chybě přístroje. Klasická DXA měří plochu vyšetřované kosti a BMC. BMD pak určuje poměr BMC/plocha a výsledek je udáván v  $g/cm^2$ . U dětí se nejčastěji vyšetřuje oblast bederní páteře (obratle L1–L4), případně celotělová BMD. V tomto případě je vždy třeba z hodnocení vyloučit lebku, jejíž obvykle vysoká BMD může celkový nálezn zkreslit. Měření celotělové BMD u sedmiiletých chlapců ukázalo, že děti narozené v termínu mají větší kosti a více kostní hmoty než děti více (porod před 34. týdnem gestace) či méně (porod mezi 34. a 37. týdnem těhotenství) nedonošené [7].

Obvyklá lokalizace u dospělých, proximální femur, se u dětí nevyšetřuje, protože příliš velká variabilita nálezů neumožňuje věrohodné posouzení výsledku [8]. Přesto u stavů spojených převážně s frakturami dlouhých kostí nebo v situacích, kdy klasické DXA měření v oblasti bederní páteře není proveditelné, se někteří autoři snažili vytvořit dětskou referenční databázi také pro laterální oblast distálního femuru [9]. V každém případě se v dětském věku připouští pouze popis nálezu pomocí Z-skóre; tj. rozdíl naměřeného výsledku od průměrné hodnoty u zdravých dětí téhož věku a pohlaví, vyjádřený počtem směrodatných odchylek. Tato nutnost vychází z různé dynamiky nárůstu výšky postavy a hmotnosti během dětství a dospívání. Optimálně by měl denzitometrický přístroj pracovat s dostatečně velkou referenční databází normálních hodnot získaných v populaci, která se od vyšetřované neliší geograficky ani etnicky. Pro dospělé bylo do praxe úspěšně zavedeno počítačové zhodnocení přítomnosti zlomenin obratlů (vertebral fracture assessment, VFA). U dětí se to zatím nepodařilo. Zvláště v oblasti horní hrudní páteře (Th4–Th7) zachytí VFA zobrazení u dětí v porovnání se standardním rtg snímkem asi jen třetinu fraktur. Se stoupajícím věkem, výškou postavy a BMD pak přesnost diagnostiky stoupá [10].

Podle doporučení Mezinárodní společnosti pro klinickou denzitometrii (International Society for Clinical Densitometry, ISCD) se v dětském věku také nepoužívá obvyklá

terminologie osteologie dospělých. Osteoporóza ani osteopenie není totiž u dětí a dospívajících na rozdíl od postmenopauzálních žen dosud přesně definována. Proto je jako normální rozmezí BMD stanoveno rozpětí  $\pm 2$  SD v rámci příslušného Z-skóre a hodnoty nižší se označují jako denzita kostního minerálu vůči věku nepřiměřeně nízká („low bone density for chronologic age“) nebo nižší než očekávaná („below the expected range for age“). Hodnocení denzitometrických nálezů také komplikuje okolnost, specifická pro vyvíjející se dětský organismus – růst. Během nárůstu kostní hmoty se BMC zvyšuje exponenciálně. V DXA měření plošné BMD ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ) je již velikost kosti ve dvou rozměrech zavzata a je jí méně ovlivněna než BMC, korekce je však pouze částečná. Plošné zobrazení samozřejmě nemůže postihnout třetí rozměr, tj. hloubku měřené kosti, a proto v porovnání s objemovou kostní denzitou dochází ke zkreslení výsledku [11]. Hodnoty Z-skóre u dětí menších vůči kalendářnímu věku jsou tak přístrojem podceněny a u dětí vysoké postavy naopak přeceněny. Je známo, že růst v postnatálním období pak významně ovlivňuje BMD v časně dospělosti [12] a současně platí, že mnoho dětí s chronickým onemocněním je menšího vzrůstu, než by odpovídalo jejich kalendářnímu věku. Z usnesení ISCD proto vyplývá, že „u dětí s opožděním růstu či zraní by se hodnoty BMC a plošné BMD v oblasti páteře nebo celotělové (vyjma lebky) měly korigovat podle tělesné výšky nebo výškového věku, případně porovnávat s referenčními hodnotami, jež obsahují věku, pohlaví a výšce specifická Z-skóre“ [13]. Protože takové referenční databáze k dispozici nemáme, je nejvhodnější korigovat denzitometrický nález na „výškový věk“ (věk, jemuž odpovídá výška vyšetřovaného dítěte podle 50. percentilu růstových tabulek). Jsme si vědomi určité chyby, které se přitom dopouštíme, neboť prosté porovnání nálezu s mladšími (nebo staršími) jedinci dané výšky nijak nezohledňuje stupeň zralosti kostní tkáně, která jistě není prostou funkcí výšky postavy. Přesnější by tedy byla současná korekce i ke kostnímu věku a stadiu puberty. Do budoucna je třeba v každém případě prověřit, nakolik se denzitometrické parametry u dětí menších vůči věku a mladších jedinců téže tělesné výšky shodují [14].

Vzhledem ke stoupajícímu zastoupení různých populací v řadě států nabývá na významu také hodnocení denzitometrických nálezů s ohledem na etnickou skupinu. Každá by správně měla mít vlastní databázi referenčních hodnot. Studie na dětech například prokázaly, že afroameričané mají vyšší postavu a delší končetiny, větší plochu kortikální kosti a vyšší objemovou BMD, tudíž mechanicky odolnější skelet než jejich vrstevníci z kavkazské populace [15,16]. Faktorem zůstává, že přes prokázanou souvislost nižší BMD a zvýšeného rizika zlomeniny při téže velikosti postavy u mladších školních dětí [17] přesnější korelaci mezi denzitometrickým nálezem a výskytem fraktur u dětí a dospívajících stále nemáme.

**Kvantitativní počítačová tomografie** (quantitative computed tomography, QCT)

Princip vyšetření vychází z klasické počítačové tomografie. Míra oslabení rtg záření, procházejícího měřenou kostí je porovnávána s oslabením záření za použití referenčního fantomu. Základní jednotkou obrazového zpracování dat je

zde voxel (Částice objemu, která představuje jednu hodnotu v trojrozměrném prostoru počítačové grafiky. Název pochází ze složení slov „volumetric“ a „pixel“.). Hlavní výhodou měření je tedy získání objemové BMD ( $\text{g}/\text{cm}^3$ ), která není nijak ovlivněna velikostí kosti [18]. Metoda rozliší kost trámčitou a kortikální, umožňuje také výpočty indexů kostní pevnosti. Její nevýhodou je dosti vysoká radiační zátěž, řádově převyšující DXA, a proto se používá mnohem méně. Východiskem pro pediatrii se ukazuje **periferní kvantitativní počítačová tomografie** (pQCT), která má radiační zátěž velmi nízkou (do  $2 \mu\text{Sv}$ ). Hodnotí BMD na dlouhých kostech končetin, zkušenosti jsou zejména s vyšetřováním na radiu a tibii. Pro přesně dané oblasti měření na předloktí lze stanovit BMC, denzitu kortikální a trabekulární kosti, plochu kosti na průřezu a index kostní pevnosti. Pro tyto parametry již byly u dětské populace publikovány referenční hodnoty [19]. Metodu nelze použít na vyšetření axiálního skeletu a výsledek také může být částečně zkreslen artefakty voxelů na rozhraní kosti a měkkých tkání. Nepřesnost by snížil vyšší stupeň rozlišení, ten by ovšem vyžadoval vyšší radiační dávku. Proto je vhodné měřit na místech, kde je kortikalis nejširší [20]. pQCT v daném místě měří i svalovou hmotu. Svalová síla je jedním z faktorů, ovlivňujících pevnost kosti [21]. O predikci zlomenin a jejím vztahu k objemové BMD a svalové hmotě se diskutuje. Recentní práce ukazují, že děti, které utrpí frakturu předloktí, mají často v distálním radiu slabší kortikalis a nižší index pevnosti, což bývá spojeno s nižší denzitou kostního minerálu v celém skeletu [22].

**3. Kvantitativní ultrazvuková denzitometrie** (quantitative ultrasound, QUS)

Ultrazvuk významně pomáhá v prenatalní diagnostice vrozených kostních dysplázií. Při vyšetření současnými přístroji s vysokou rozlišovací schopností je možné dosáhnout shody s postnatálním nálezem velmi často, u dvou nejzastoupenějších klinických jednotek, thanatoforické dysplázie a osteogenesis imperfecta až v 89 % případů [23]. Detekce intrauterinních zlomenin plodu je též velmi důležitá k rozhodnutí o provedení císařského řezu z této indikace [24]. I postnatálně je sonografie pomocníkem v diagnostice fraktur. Ultrazvuková diagnóza zlomeniny klíční kosti u dětí může dosáhnout senzitivity až 95% a specifity 96%. Ve srovnání s radiografií dokáže sonografie u lůžka spolehlivě stanovit frakturu klíční kosti u dětí bez expozice záření [25]. Ultrazvuk lze využít i v hodnocení tloušťky chrupavky v jednotlivých kloubech. Ta se významně liší mezi chlapci a děvčaty, klesá s věkem a její ztráta může časně signalizovat chronické zánětlivé kloubní změny typu juvenilní idiopatické artritidy [26].

Sonografické posouzení vlastností kostní tkáně, QUS, vychází z předpokladu, že riziko fraktury při osteoporóze stoupá nejen poklesem denzity kostního minerálu, ale také v důsledku změn struktury kosti. Klasická DXA ve vyšetřované kosti měří obsah minerálu, ale o její mikroarchitekturu informaci nepřináší. QUS je využívána od osmdesátých let minulého století [27]. Průchod zvuku kostí ovlivňuje akustické parametry zvukové vlny. Rychlost jejího průniku a změnu amplitudy ultrazvukového pulzu lze hodnotit. Hlavními měřenými parametry jsou rychlost průniku ultra-



zvuku kostní tkáně (velocity of sound, speed of sound; VOS, SOS) vyjádřená v  $\text{ms}^{-1}$  a širokopásmové zeslabení ultrazvuku v kosti (broadband ultrasound attenuation, BUA) vyjádřené v dB/MHz. Všeobecně platí, že ultrazvukové vlny procházejí rychleji hutnějším materiálem. Normální kost má tedy vyšší VOS než tkáň porotická. Nejčastěji vyšetřovanými místy skeletu jsou patní kost, články prstů a bérec. Během dětství rychlost vedení zvuku postupně stoupá. V období pubertálního růstového spurtu jsme u zdravých chlapců zaznamenali určité zpomalení přírůstku VOS na patní kosti, způsobené zřejmě opožděnou mineralizací rychle rostoucí kosti [28]. Nedávno byly zjištěny významně patologické hodnoty rychlosti a doby průchodu zvuku kostí u dětí s akutní lymfoblastickou leukémií již v počátečních fázích terapie [29]. BUA je způsobeno ztrátou energie zvukové vlny v tkáni. Zjišťuje se porovnáním charakteru vyslaného ultrazvukového pulzu a signálu přijatého po průchodu kostí. BUA je funkcí prostorové distribuce a velikosti kostních trámečků, je ovlivněno i jejich orientací a konektivitou. Čím komplexnější je struktura kosti, tím více se procházející zvuková vlna oslabí. Normální kostní tkáň tak má vyšší BUA než tkáň porotická. Ukazuje se, že měření BUA na patní kosti odliší u dětí s mozkovou obrnou velmi časně jedince s rizikem nízké kostní hustoty [30].

QUS je metodou neinvazivní, levnou a nezatěžuje pacienta zářením. Ultrazvukové přístroje jsou přenosné a mají o mnoho nižší pořizovací cenu i provozní náklady než přístroje využívající ionizujícího záření. Proto byly do QUS zejména ze strany pediatrií původně vkládány velké naděje. Vznikla řada studií, zabývajících se hodnocením rychlosti a změnou charakteru zvukové vlny po průchodu kostní hmotou. V řadě států vznikly pro různé ultrazvukové přístroje referenční hodnoty dětské populace, např. britské [31], české [32] nebo německé [33]. I v současné době vycházejí nové soubory referenčních dat u dětí a dospívajících. Při porovnání ultrasonometrických hodnot na patní kosti s hodnotami DXA (celotělové, krček femuru, bederní páteř) mívá s klasickými densitometrickými parametry významnější korelaci BUA, které podle některých autorů lépe odráží změny kostního minerálu během růstu [34]. QUS článků prstů na ruku bylo studováno u dorostenek s diagnózou mentální anorexie [35], měření na tibii spíše našlo uplatnění při hodnocení skeletu u nedonošených dětí. Vyšetření je sice u nich schopno postihnout změny kvality kostní tkáně, ale interpretace nálezů není nijak standardizována [36]. Nicméně snahy určovat pomocí ultrazvuku změny kostní hmoty ve vztahu ke gestačnímu věku, hmotnosti a tělesné délce u nedonošených stále trvají [37].

Ve vztahu k rtg absorpciometrii je QUS považována pouze za metodu komplementární. Nahradit ji nemůže, neboť hodnotí zcela odlišné fyzikální vlastnosti kosti. Kromě hustoty kostního minerálu závisí ultrazvukem měřené parametry také na elasticitě a architektuře kostní hmoty. Na patní kosti může být BUA ovlivněno již malou změnou v orientaci trabekul, např. změnou polohy paty při měření. Při vyšetření pravého a levého kalkanu téže osoby také existují nezanedbatelné intraindividuální rozdíly. V naší studii u zdravých dětí jsme zjistili průměrný rozdíl BUA mezi pravou a levou nohou  $11 \pm 9,25\%$  [38]. Různé typy přístrojů pracují v odlišném rozmezí zvukových frekvencí. Přestože

mají vysokou schopnost odlišit zdravou kost od porotické, výsledky měření nelze mezi sebou porovnávat. Ačkoli například mezi sníženou hodnotou DXA bederní páteře a ultrasonometrickými parametry na radiu u dětí s chronickým onemocněním pojiva byl nalezen významný pozitivní vztah [39], vzájemná korelace není vždy pravidlem. U dětí s osteogenesis imperfecta byly zjištěny nižší ultrasonometrické parametry na patní kosti, ale bez vztahu k počtu předchozích zlomenin [40]. Nedávno byl vyvinut ultrasonometrický přístroj k vyšetřování proximálního femuru. Testování in vivo (na dospělých ženách) dává naději, že měření je v této oblasti realizovatelné s dobrými výsledky [41], ovšem teprve budoucnost tyto předpoklady prověří.

V současné době lze shrnout: řada faktorů, ovlivňujících výsledek měření QUS, snižuje validitu jeho interpretace. Proto metoda QUS, přestože je o ni mezi odbornou veřejností stále zájem [42], není v současné době uznávána za platnou k diagnostice ani ke sledování léčby metabolických onemocnění skeletu. To jistě nevylučuje možnost jejího použití k zachytu jedinců se zvýšeným rizikem fraktury, kteří k určení diagnózy následně podstoupí detailnější osteologické vyšetření.

#### 4. Scintigrafie skeletu

Kostní scan je jedním z nejčastěji prováděných radionuklidových vyšetření v dětském věku. Základem je stále klasická scintigrafie, využívající difosfonát značený radioaktivním techneciem  $^{99}\text{Tc}$ . Indikací k vyšetření jsou podezření na osteomyelitis, arthritida, bolesti končetin, suspektní porucha kostní vaskularizace nebo primární a metastatické tumory. V případě novotvarů umožňuje scintigrafie detekovat změny kostní tkáně o 3–6 měsíců dříve než konvenční rentgenový snímek. Může pomoci i při diagnostice traumatu nezachytitelného běžným rentgenovým vyšetřením při dlouhodobě nevysvětlené bolesti [43]. V pediatrii se užívá třífázová scintigrafie skeletu, která sdružuje výhody dynamické a statické scintigrafie. V současné dekádě doznaly rozmachu hybridní techniky – počítačová tomografie v kombinaci s konvenčním kostním skanem, případně metodou jednofotonové emisní počítačové tomografie (single photon emission computed tomography, SPECT). Kombinace výrazně zlepšuje přesnost diagnózy [44] a pomocí dalších modifikací metody lze dosáhnout podstatně kvalitnějšího obrazu se snížením radiační dávky [45].

V poslední době nabývá významu i pozitronová emisní tomografie (PET) s fluoridem sodným značeným izotopem fluoru  $^{18}\text{F}$ . Využívá se zejména při vyšetřování dětí s podezřením na maligní onemocnění [46]. Oproti klasickému snímku má vyšší senzitivitu při detekci zlomenin u týraných dětí, zvláště při postihu v oblasti žeber. Jelikož však při průkazu metafyzárních lézí není citlivější, zůstává základní radiografické vyšetření při podezření na tento trestný čin nezbytné [47]. K indikaci, provedení a interpretaci kostních skenů u dětí jsou dnes k dispozici recentní doporučené postupy [48].

#### Laboratorní vyšetření

U dospělých jsou změny laboratorních ukazatelů kostního obratu poměrně dobře prostudované. O intenzitě kostní novotvorby informuje stanovení sérové koncentrace kostního

izoenzymu alkalické fosfatázy, osteokalcinu, karboxy- či aminoterminálního propeptidu kolagenu I. typu. Z markerů kostní resorpce lze v séru nebo v moči vyšetřit koncentrace různých degradačních produktů kolagenu I. typu. Při hodnocení nálezů je třeba uvážit možnost vlivu řady faktorů, které výsledek mohou zkreslit – chyby při odběru, transportu vzorku a jeho zpracování, intra- a interindividuální variabilitu a cirkadiánní rytmus. Dlouhodobé kolísání laboratorních ukazatelů v moči může dosahovat až 20–30 % [49]. U parametrů, stanovených v séru, bylo dosahováno výkyvů 10–15 % [50]. S automatizací laboratorních metod jsou dnes výsledky přesnější. U dětí a dospívajících zůstává interpretace laboratorních markerů kostní formace a resorpce stále problémem. Na rozdíl od dospělých je zde možnost ovlivnění hodnoty vyšetřovaného parametru mnohem větší. Uplatňuje se věk, pohlaví, stádium puberty, aktuální rychlost růstu, aktuální fáze nárůstu kostního minerálu, stav hormonální regulace i stav výživy. Zejména pubertální růstový spurt přináší do hodnocení nálezu řadu obtíží. Obecně proto dosud nejsou pro děti a dospívající k dispozici věrohodné soubory normálních hodnot laboratorních ukazatelů kostního obratu. Praktickou výhodou může být vytvoření vlastní referenční databáze pro některý marker, kterým v našem případě byla sérová aktivita alkalické fosfatázy [51]. Objevují se snahy nalézt vztah laboratorních ukazatelů vůči denzitě kostního minerálu v určitém stadiu pubertálního vývoje [52] a u některých klinických jednotek se stanovení osteologických laboratorních markerů již uplatnilo. Například u dětí a adolescentů s osteosarkomem jsou střední hodnoty osteokalcinu a kostního izoenzymu alkalické fosfatázy více než dvojnásobné při progresi choroby než u nemocných v remisi. Pacienti s horší prognózou mají též významně vyšší ukazatele kostní resorpce [53]. Těchto změn lze využít při řízení terapie. Nicméně širší použití laboratorních markerů kostního obratu v dětské osteologii v blízké budoucnosti není příliš pravděpodobné [54]. Vhodnou cestou bude možná kombinace více ukazatelů kostní formace a resorpce najednou, která je některými autory doporučována [55]. Výše uvedené se však netýká poměrně velké oblasti poruch minerálního metabolismu, kde u dětí laboratorní vyšetření hojně a s velkou výtežností využíváme. Nejčastější minerální poruchou u dětí bývá hypokalcémie, způsobená celou škálou příčin od snížení sekrece parathormonu nebo rezistence periferie vůči jeho účinku přes poruchy metabolismu vitamínu D až po abnormální nastavení kalcium-sensing receptoru [56]. Často studovanou klinickou jednotkou je v poslední době familiární hypokalcemická hyperkalcémie. Inaktivační mutace genu pro kalcium-sensing receptor byly zprvu popsány jako autozomálně dominantní choroba, nedávno však byly zachyceny mírnější mutace, které způsobují hyperkalcémii jen u homozygotů [57]. Dojde-li k její klinické manifestaci, byla v terapii již i u dětí úspěšně použita kalcimimetika [58]. Při stanovení celkové plazmatické koncentrace vápníku by ke vzorku krve neměla být přidávána antikoagulantia. Pokud je krevní vzorek před vyšetřením skladován, musí být stočen a vyšetřován ve formě séra. Nedodržení těchto zásad by vedlo k falešné hypokalcémii.

Zvýšený odpad vápníku do moči není také vzácným nálezem. Absorpční hyperkalciurie může být podle posledních

zpráv věrohodně diagnostikována bez zátěžového testu kalcíem, pouze 24hod. sběrem moči při dietě. Specificita i senzitivita metody převyšuje 90 % [59]. Bezpečnou a účinnou léčbou renální hyperkalciurie je u dětí nízká dávka hydrochlorothiazidu [60]. Při poruchách metabolismu fosfátu existuje více klinických jednotek s dominující ztrátou fosforu ledvinou, které nelze spojovat se zvýšenou plazmatickou koncentrací parathormonu. Za vzestup fosfaturie jsou zodpovědné cirkulující faktory, označované jako fosfatoniny. Látek, které takto regulují homeostázu fosfátu, byla popsána celá řada. Mezi ně patří například růstové faktory fibroblastů 23 a 7 (fibroblast growth factor; FGF 23, FGF 7), dentin matrix protein 1, Klotho, MEPE (matrix extracellular phosphoglycoprotein), sFRP-4 (secreted frizzled-related protein 4) a další. Ve vztahu k chorobám, vyskytujícím se již v dětství je jedním z nejdůležitějších FGF 23, jehož poruchy se uplatňují v patofyziologii X-vázané hypofosfatemie či autozomálně dominantní a recesivní hypofosfatemické křivice [61]. Sběr moči ke stanovení odpadu iontů je vždy vhodné provádět po celých 24 hodin a výsledky vztahovat na tělesnou hmotnost (mmol/kg/24 hod.).

### Kostní biopsie

Období dětství a dospívání je z hlediska skeletu specifické tím, že zde dochází kromě obnovy původní kostní tkáně (remodelace) k její novotvorbě během růstu (modelace kosti). Oba děje probíhají v kostní tkáni již intrauterinně. Po ukončení růstu přetrvává pouze remodelace, která pak pokračuje po celý život. Modelace i remodelace je spouštěna na různých místech skeletu s různou intenzitou. Její načasování a průběh může být modifikován řadou vnitřních i vnějších faktorů. Vyšetření biotického vzorku kostní tkáně proto může přinést cenné informace, využitelné ke stanovení etiologie a patogeneze choroby, nebo k validnímu zhodnocení účinku léčby. Odběr následuje po označení vhodným markerem podle protokolu, nejčastěji z lopaty kosti kyčelní (asi 2 cm dorzálně od spina anterior superior, těsně pod crista iliaca). Vyšetření se provádí v lokální nebo celkové anestezii. Vzorek by měl obsahovat obě vrstvy kortikální kosti se spongiózou mezi nimi. Po odběru je třeba jej uložit alespoň na 48 hodin do 70% ethanolu. Následně je zbaven vody i tuku a fixuje se v metylmetakrylátu nebo jiné vhodné hmotě. Pro vyšetření ve světelném mikroskopu se pak připravují řezy o síle 5 µm, fluorescenční mikroskopie vyžaduje řezy o síle 10 µm [62]. Vzorky mohou být vyšetřeny kvalitativně a kvantitativně. Při metabolických chorobách skeletu je vhodné vyšetřovat vzorky nede-kalcifikované. Kvantitativní histomorfometrická počítačová analýza nede-kalcifikovaného vzorku kostní tkáně je klíčovým vyšetřením ke studiu kostního metabolismu a v menší míře i kostní hmoty a její struktury. Standardní histomorfometrická analýza se zabývá především trabekulární kostí, a tudíž přináší hlavně informaci o remodelaci kostních trámečků. Během vývoje a zrání skeletu se remodelační aktivita významně mění. To je při hodnocení pediatrických kostních vzorků třeba mít na paměti. Hodnotí se několik desítek parametrů, které charakterizují strukturální a kinetické vlastnosti studované kostní hmoty. V posledních deseti letech jsou k dispozici referenční histomorfometrická data pro pět věkových skupin dětí a dospívajících, odvozených od nálezů v kost-

ních vzorcích, získaných při korekčních ortopedických zákrocích u jinak zdravých dětí [63]. Podle některých pozorování neměly u dětí histomorfometrické nálezy významný vztah k počtu předchozích zlomenin, plazmatické koncentraci ukazatelů kostního obratu ani k denzitometrickým nálezům. Nasvědčuje to tomu, že diagnóza osteoporózy je u dětí velmi obtížná. Histomorfometrie kostního vzorku vždy přináší informaci navíc a může být užitečná při rozhodování o optimálním postupu u dítěte s primární osteoporózou [64]. Kvantitativní histomorfometrická analýza vzorku kosti je také ceněna zejména v klinických studiích, protože přináší objektivní údaje o bezpečnosti a účinnosti zkoumané terapie, které nelze jinak získat [65].

### Molekulární genetika

S potřebou metod molekulární genetiky je v současné osteologii nutno jednoznačně počítat. Postupná identifikace genů a odkrývání jejich mutací vedoucích k různým klinickým obrazům poskytuje nový pohled na řadu chorob, například na velkou heterogenní skupinu kostních dysplázií, jejichž klasifikace byla donedávna jen klinická a radiologická.

Ze vzorků leukocytů periferní krve nebo z bukalního stěru je možné od vyšetřovaného nemocného, případně jiného postiženého člena rodiny, získat pro diagnostiku deoxyribonukleovou kyselinu (DNA). K namnožení vybraného úseku DNA pak slouží polymerázová řetězová reakce (polymerase chain reaction, PCR), která je základní používanou molekulárně genetickou metodou. PCR poskytuje materiál pro většinu dalších metod. Jejich společným konečným krokem bývá přímé sekvenování DNA, považované dnes za „zlatý standard“ pro záchyt mutací [66]. Sekvenování DNA stanovuje pořadí nukleotidů v nukleových kyselinách, a tím umožňuje přesně určit lokalizaci a typ mutace. Jednotlivá pracoviště zavádějí příslušné laboratorní metody podle svého odborného zaměření a ekonomických možností provozovatele. Řada procesů je nyní v laboratořích automatizována a používají se postupy podle standardizovaných protokolů. To umožňuje omezit možné chyby. Důležité analýzy jsou opakovány v různých laboratořích s použitím nezávisle získaných vzorků od téhož pacienta [67].

Původní zjednodušená představa jeden gen rovná se jedna choroba bohužel neplatí. Mutace jednoho lokusu mohou způsobit více klinických jednotek a rozdíl ve fenotypu lze v některých případech vysvětlit postupnou ztrátou funkce s víceméně lineární závislostí, jako je tomu třeba u mutací genů pro řetězce kolagenu [68]. Platí i opačná hypotéza – těžko rozlišitelné formy těžké nemoci mohou být důsledkem mutací více genů. Příkladem může být mutace podjednotky protonové pumpy chloridového kanálu nebo mutace karboanhydrázy. Obojí vede ke klinickým projevům osteopetrózy [69]. Výzkum bude muset směřovat ke strukturálním molekulám či receptorům a jejich uplatnění v metabolických procesech a signálních kaskádách. Dnes už nelze pochybovat o tom, že různé proteiny se liší svou funkcí nejen v různých tkáních, ale i v různých obdobích vývoje organismu.

Pro klinika je při snaze se orientovat významnou pomocí možnost vstupu do některých světových genetických databází. Lze například využít databázi OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man), která je bezplatně dostupná

na webové stránce <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/>. U jejího založení stál v šedesátých letech minulého století dr. McKusick. Po řadě knižních vydání byla v roce 1985 připravena její online verze a od roku 1995 je OMIM k dispozici na internetu. Tato databáze se zaměřuje na vztahy mezi fenotypem a genotypem a je aktualizována každý den. Současně poskytuje také odkazy a propojení do řady dalších vědeckých databází. Důkladné zmapování původu některých metabolických osteopatií z molekulárně genetického hlediska je prvním krokem k jejich kauzální léčbě.

### Závěr

V rámci vzdělávacího programu klinické osteologie jakožto profesionální mezioborové oblasti zájmu o metabolická onemocnění skeletu je třeba chápat dětskou osteologii jako jednu ze specifických problematik. V období intenzivního vývoje kostní hmoty, kterým dětství a dospívání bezpochyby je, dochází k růstu a zrání jednotlivých částí skeletu, jež je, ač vždy individuálně, místem a časem přesně programováno. Poznávání těchto dějů za fyziologických a patologických stavů nám umožní zajistit vyvíjejícímu se organismu dítěte podmínky k vytvoření co nejvyššího množství kvalitní kostní hmoty pro celý jeho další život.

*The mammalian skeleton  
has its master plan  
but its manufacturer  
did not publish  
a manual for it  
(Frost H. M., 1985)*

### Literatura

1. Jan de Beur S.M., Langman C.B. Bedside Evaluation of Bone and Mineral Disorders. In Favus, M.J. (Ed.) et al. Primer on Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism. American Society for Bone and Mineral Research, Washington D. C. 2006:120–122.
2. Bayer M., Kutlík Š. Možnosti vyšetření v dětské osteologii. Postgrad Med 2010;12(7):850–855.
3. Genant HK, Jergas M. Assessment of prevalent and incident vertebral fractures in osteoporosis research. Osteoporos Int 2003;14(Suppl.3):S43–S55.
4. Bain S, Leonard MB, Bianchi M-L, et al. Official positions of the International Society for Clinical Densitometry and Executive Summary of the 2007 ISCD Pediatric Position Development Conference. J Clin Densitometry 2008;11:6–21.
5. Rauch F, Plotkin H, Dimeglio L, et al. Fracture prediction and the definition of osteoporosis in children and adolescents: The ISCD 2007 Pediatric Official Positions. J Clin Densitometry 2008;11:22–28.
6. Mazess RB, Hanson JA, Payne R, et al. Axial and total-body bone densitometry using a narrow-angle fan-beam. Osteoporos Int 2000;11:158–166.
7. Abou Samra H, Stevens D, Binkley T, Specker B. Determinants of bone mass and size in 7-year-old former term, late-preterm, and preterm boys. Osteoporos Int 2009;20(11):1903–1910.
8. Seeman E. Is a change in bone mineral density a sensitive and specific surrogate of anti-fracture efficacy? Bone 2007;41:308–317.
9. Zemel BS, Stallings VA, Leonard MB, et al. Revised Pediatric Reference Data for the Lateral Distal Femur Measured by Hologic Discovery/Delphi Dual-Energy X-Ray Absorptiometry. J Clin Densitom 2009;12(2):207–218.
10. Mäyränpää MK, Helenius I, Valta H, et al. Bone densitometry in the diagnosis of vertebral fractures in children: Accuracy of vertebral fracture assessment. Bone 2007;41(3):353–359.
11. Leonard MB, Zemel BS. Current concepts in pediatric bone disease. Pediatr Clin North Am 2002;49:143–173.
12. Leunissen RW, Stijnen T, Boot AM, Hokken-Koelega AC. Influence of birth size and body composition on bone mineral density in early adulthood. The PROGRAM-study. Clin Endocrinol (Oxf) 2009;70(2):245–251.
13. Gordon CM, Bachrach LK, Carpenter TO, et al. Dual Energy X-ray Absorptiometry Interpretation and Reporting in Children and Adolescents: The 2007 ISCD Pediatric Official Positions. J Clin Densitom 2008;11:43–58.
14. Zemel BS, Leonard MB, Kelly A, et al. Height Adjustment in Assessing Dual



- Energy X-Ray Absorptiometry Measurements of Bone Mass and Density in Children. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95(3):1265–1273.
15. Kalkwarf JH, Zemel BS, Gilsanz V, et al. The bone mineral density in childhood study: Bone mineral content and density according to age, sex, and race. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:2087–2099.
  16. Wetzsteon RJ, Hughes JM, Kaufman BC, et al. Ethnic differences in bone geometry and strength are apparent in childhood. *Bone* 2009; 44(5):970–975.
  17. Flynn J, Foley S, Jones G. Can BMD assessed by DXA at age 8 predict fracture risk in boys and girls during puberty? An eight-year prospective study. *J Bone Miner Res* 2007;22:1463–1467.
  18. Zemel BS, Bass S, Binkley T. Peripheral Quantitative Computed Tomography in Children and Adolescents: The 2007 ISCD Pediatric Official Positions. *J Clin Densitom* 2008;11:59–74.
  19. Rauch F, Schoenau E. Peripheral quantitative computed tomography of the proximal radius in young subjects – New reference data and interpretation of results. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2008;8:217–226.
  20. Šumník Z, Souček O. Diagnostika osteoporózy v dětském věku. *Osteol Bull* 2009;14(2):41–48.
  21. Binkley TL, Specker BL. Muscle-bone relationships in the lower leg of healthy pre-pubertal females and males. *J Musculoskeletal Neuronal Interact* 2008;8: 239–243.
  22. Kalkwarf HJ, Laor T, Bean JA. Fracture risk in children with a forearm injury is associated with volumetric bone density and cortical area (by peripheral QCT) and areal bone density (by DXA). *Osteoporos Int* 2011;22(2):607–616.
  23. Schramm T, Glonong KP, Minderer S. Prenatal sonographic diagnosis of skeletal dysplasias. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2009;34(2):160–170.
  24. Morgan JA, Marcus PS. Prenatal diagnosis and management of intrauterine fracture. *Obstet Gynecol Surv* 2010;65(4):249–259.
  25. Cross KP, Warkentine FH, Kim IK, et al. Bedside ultrasound diagnosis of clavicle fractures in the pediatric emergency department. *Acad Emerg Med* 2010;17(7): 687–693.
  26. Spannow AH, Pfeiffer-Jensen M, Andersen NT, et al. Ultrasonographic measurements of joint cartilage thickness in healthy children: age- and sex-related standard reference values. *J Rheumatol* 2010;37(12):2595–2601.
  27. Langton CM, Palmer SB, Porter RW. The measurement of broadband ultrasound attenuation in cancellous bone. *Eng Med* 1984;13:89–91.
  28. Bayer M, Kutlík Š. Ultrazvuková denzitometrie patní kosti – přítomnost a budoucnost. *Osteol Bull* 1996;1:56–59.
  29. Mussa A, Bertorello N, Porta F, et al. Prospective bone ultrasound patterns during childhood acute lymphoblastic leukemia treatment. *Bone* 2010;46(4):1016–1020.
  30. Chen CL, Ke JY, Lin KC et al. Anthropometric and Fitness Variables Associated With Bone Mineral Density and Broadband Ultrasound Attenuation in Ambulatory Children With Cerebral Palsy. *J Child Neurol* 2011;26(5):552–559.
  31. Mughal MZ, Ward K, Qayyum N, Langton CM. Assessment of bone status using the contact ultrasound bone analyser. *Arch Dis Child* 1997;76:535–536.
  32. Bayer M, Kutlík Š, Langton CM. Ultrasound densitometry of the heel bone in the healthy Czech pediatric population. 4<sup>th</sup> Meeting of European Group for Densitometry Measurements in Paediatrics, 1998, sborník abstrakt.
  33. Wünsche K, Wünsche B, Fährlich H, et al. Ultrasound Bone Densitometry of the Os Calcis in Children and Adolescents. *Calcif Tissue Int* 2000;67:349–355.
  34. Alwis G, Rosengren B, Nilsson JA, et al. Normative calcaneal quantitative ultrasound data as an estimation of skeletal development in Swedish children and adolescents. *Calcif Tissue Int* 2010;87(6):493–506.
  35. Oswiecimska J, Ziora K, Pluskiewicz W, et al. Skeletal status and laboratory investigations in adolescent girls with anorexia nervosa. *Bone* 2007;41(1):103–110.
  36. McDevitt H, Ahmed SF. Quantitative ultrasound assessment of bone health in the neonate. *Neonatology* 2007;91(1):2–11.
  37. Bagnoli F, Toti MS, Conte ML, et al. Quantitative ultrasound for the assessment of bone in the preterm infant. *Minerva Pediatr* 2010;62(2):125–132.
  38. Bayer M, Kutlík Š. Ultrasound transmission through the os calcis in children: which side should we measure? *Calcif Tissue Int* 1997;61:441–442.
  39. Hartman C, Shasmar R, Eshach-Adiv O, et al. Assessment of Osteoporosis by Quantitative Ultrasound versus Dual Energy X-Ray Absorptiometry in Children with Chronic Rheumatic Diseases. *J Rheumatol* 2004;31(5):981–985.
  40. Kutlík S, Bayer M. Quantitative ultrasonometry of the calcaneus in children with osteogenesis imperfecta. *J Paediatr Child Health* 2010;46(10):592–594.
  41. Barkmann R, Dencks S, Laugier P, et al. Femur ultrasound (FemUS)-first clinical results on hip fracture discrimination and estimation of femoral BMD. *Osteoporos Int* 2010;21(6):969–976.
  42. Baroncelli GI. Quantitative ultrasound methods to assess bone mineral status in children: technical characteristics, performance, and clinical application. *Pediatr Res* 2008;63(3):220–228.
  43. Nadel HR. Bone scan update. *Semin Nucl Med* 2007;37(5):332–339.
  44. Nadel HR. Pediatric bone scintigraphy update. *Semin Nucl Med* 2010;40(1): 31–40.
  45. Stansfield EC, Sheehy N, Zurakowski D, et al. Pediatric 99mTc-MDP bone SPECT with ordered subset expectation maximization iterative reconstruction with isotropic 3D resolution recovery. *Radiology* 2010;257(3):793–801.
  46. Shammass A. Nuclear medicine imaging of the pediatric musculoskeletal system. *Semin Musculoskelet Radiol* 2009;13(3):159–180.
  47. Drubach LA, Johnston PR, Newton AW, et al. Skeletal trauma in child abuse: detection with 18F-NaF PET. *Radiology* 2010;255(1):173–181.
  48. Stauss J, Hahn K, Mann M, De Palma D. Guidelines for paediatric bone scanning with 99mTc-labelled radiopharmaceuticals and 18F-fluoride. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2010;37(8):1621–1628.
  49. Gertz BJ, Shao P, Hanson DA, et al. Monitoring bone resorption in early postmenopausal women by an immunoassay for cross-linked collagen peptides in urine. *J Bone Miner Res* 1994;9:135–142.
  50. Panteghini M, Pagani F. Biological variation in bone-derived biochemical markers in serum. *Scand J Clin Lab Invest* 1995;55:609–616.
  51. Kutlík Š, Márová E, Barcalová J, Bayer M. Hodnoty celkové aktivity alkalické fosfatázy v séru u dětí v závislosti na věku a růstu. *Osteol Bull* 2003;8(2):52–55.
  52. Maimoun L, Coste O, Galtier F, et al. Bone mineral density acquisition in peripubertal female rhythmic gymnasts is directly associated with plasma IGF-1/IGFBP-3 ratio. *Eur J Endocrinol* 2010;163(1):157–164.
  53. Ambroszkiewicz J, Gajewska J, Klepacka T, et al. Clinical utility of biochemical bone turnover markers in children and adolescents with osteosarcoma. *Adv Med Sci* 2010;55(2):266–272.
  54. Rauchenzauner M, Schmid A, Heinz-Erian P, et al. Sex- and age-specific reference curves for serum markers of bone turnover in healthy children from 2 months to 18 years. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92(2):443–449.
  55. Jürimäe J. Interpretation and application of bone turnover markers in children and adolescents. *Curr Opin Pediatr* 2010;22(4):494–500.
  56. Shaw N. A practical approach to hypocalcaemia in children. *Endocr Dev* 2009;16:73–92.
  57. Lietman SA, Germain-Lee EL, Levine MA. Hypercalcemia in children and adolescents. *Curr Opin Pediatr* 2010;22(4):508–515.
  58. Alon US, VandeVoorde RG. Beneficial effect of cinacalcet in a child with familial hypocalciuric hypercalcemia. *Pediatr Nephrol* 2010;25(9):1747–1750.
  59. Pak CY, Sakhaee K, Pearle MS. Detection of absorptive hypercalciuria type I without the oral calcium load test. *J Urol* 2011;185(3):915–919.
  60. Choi JN, Lee JS, Shin JJ. Low-dose thiazide diuretics in children with idiopathic renal hypercalciuria. *Acta Paediatr* 2011 Feb 1. doi: 10.1111/j.1651-2227.2011.02191.x.
  61. Gattineni J, Baum M. Regulation of phosphate transport by fibroblast growth factor 23 (FGF23): implications for disorders of phosphate metabolism. *Pediatr Nephrol* 2010;25(4):591–601.
  62. Recker RR, Barger-Lux MJ. Bone biopsy and histomorphometry in clinical practice. In: Favus MJ. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*. Sixth Ed., American Society for Bone and Mineral Research, 2006:161–169.
  63. Glorieux FH, Travers R, Taylor A, et al. Normative data for iliac bone histomorphometry in growing children. *Bone* 2000;26:103–109.
  64. Mäyränpää MK, Tamminen IS, Kröger H, Mäkitie O. Bone biopsy findings and correlation with clinical, radiological and biochemical parameters in children with fractures. *J Bone Miner Res* 2011;26(8):1748–1758. doi: 10.1002/jbmr.373.
  65. Rauch F. Bone biopsy: indications and methods. *Endocr Dev* 2009;16:49–57.
  66. Strom CM. Mutation detection, interpretation, and applications in the clinical laboratory setting. *Mutat Res* 2005;573:160–167.
  67. Gagel RF, Cote GJ. Molecular Diagnosis of Bone and Mineral Disorders. In: Favus MJ. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*. Sixth Ed., American Society for Bone and Mineral Research 2006:169–173.
  68. Nishimura G, Haga N, Kitoh H, et al. The phenotypic spectrum of COL2A1 mutations. *Hum Mutat* 2005;26(1):36–43.
  69. Tolar J, Teitelbaum SL, Orchard PJ. Osteopetrosis. *N Engl J Med* 2004; 351(27):2839–2849.