

Moderní diagnostika osteoporózy a hodnocení rizika fraktur u dívek s Turnerovým syndromem

O. SOUČEK, J. LEBL, K. MARATOVÁ, Z. ŠUMNÍK

Pediatrická klinika, 2. LF UK a FN Motol, Praha

SOUHRN

Souček O., Lebl J., Maratová K., Šumník Z.: **Moderní diagnostika osteoporózy a hodnocení rizika fraktur u dívek s Turnerovým syndromem**

Cíl práce: Turnerův syndrom (TS) je způsoben ztrátou části či celého X chromozomu a je charakterizován nízkým vzrůstem a amenoreou. Osteoporóza a zvýšený výskyt fraktur patří ke komplikacím tohoto onemocnění. Cílem práce bylo stanovit volumetrickou kostní denzitu a kostní pevnost, dále změřit svalové funkce, posoudit jejich vzájemný vztah a rozdíl od zdravých kontrol a testovat asociace s délkou hormonální terapie a výskytem fraktur.

Soubor pacientů, materiál a metody: Do studie jsme zařadili 67, resp. 39 dívek s Turnerovým syndromem. Volumetrickou kostní denzitu (vBMD) a parametry kostní pevnosti na radiu jsme stanovovali pomocí periferní kvantitativní počítačové tomografie (pQCT) a porovnávali vzhledem k publikovaným referenčním normám. Pro měření na bérce jsme zahrnuli kontrolní skupinu 67 zdravých dívek. Maximální volní svalovou sílu ($F_{\max}$) jsme stanovili pomocí mechanografie. Trabekulární kostní denzitu (BMD) a indexy kostní pevnosti jsme měřili na metafýze (bone strength index, BSI), resp. diafýze (strength strain index, SSI) tibie pomocí pQCT. Vliv onemocnění (TS) na svalově-kostní jednotku jsme testovali mnohočetnou lineární regresí.

Výsledky: Trabekulární vBMD na radiu byla u TS významně snižena (průměrné Z-skóre $-0,7 \pm 1,3$; $p < 0,001$) v porovnání s normou, zatímco kortikální vBMD adjustovaná na šíři kortikalis byla zvýšená (Z-skóre $1,1 \pm 1,0$; $p < 0,001$). TS nebyl významně asociován s $F_{\max}$ po korekci na věk, výšku a hmotnost, zato byl negativně asociován s trabekulární vBMD (koeficient $-0,22 \pm 0,045$, $p < 0,001$) a oběma indexy kostní pevnosti (koeficienty $-0,24 \pm 0,07$, $p < 0,001$ pro BSI a $-0,096 \pm 0,035$, $p < 0,01$ pro SSI) na tibii. Při totožné $F_{\max}$ byl BSI u TS snížen o 18 % ($p < 0,01$) a SSI o 7 % ($p = 0,027$) v porovnání se zdravými dívkami. Terapie ani výskyt fraktur neměly významný vliv na sledované svalové a kostní parametry.

Závěr: Táž svalová síla je u dívek s TS spojená s nižší kostní pevností v porovnání se zdravými dívkami. Pravděpodobnou příčinou je změna citlivosti kosti k mechanické zátěži.

Klíčová slova: Turnerův syndrom, denzita kostního minerálu, svalové funkce, periferní kvantitativní počítačová tomografie, mechanografie

SUMMARY

Souček O., Lebl J., Maratová K., Šumník Z.: **Modern diagnosis of osteoporosis and assessment of fracture risk in girls with Turner syndrome**

Objective: Turner syndrome (TS) is caused by partial or complete loss of an X chromosome and characterized by short stature and amenorrhea. This condition is also associated with osteoporosis and frequent fractures. The aims were to determine volumetric bone mineral density and bone strength, to measure muscle function, to evaluate their relationships and differences from healthy controls, and to test associations with the duration of hormone replacement therapy and the incidence of fractures.

Patients, material and methods: Included in the study were 67 (39) girls with Turner syndrome. Volumetric bone mineral density (vBMD) and bone strength parameters at the radius were determined by peripheral quantitative computed tomography (pQCT) and compared with the published reference norms. For measurements at the tibia/fibula, a control group of 67 healthy girls was included. Trabecular BMD and bone strength were measured at the metaphysis (bone strength index, BSI) and diaphysis (strength strain index, SSI) of the tibia using pQCT. The impact of TS on the muscle-bone unit was tested by multiple linear regression.

Results: Trabecular vBMD at the radius was significantly reduced in TS (mean Z-score 0.7 ± 1.3 ; $p < 0.001$) compared to the normal values; cortical vBMD adjusted for cortical thickness was increased (Z-score 1.1 ± 1.0 ; $p < 0.001$). TS was not significantly associated with $F_{\max}$ after adjustment for age, height and weight; however, there were negative associations with trabecular vBMD (coefficient -0.22 ± 0.045 , $p < 0.001$) and both bone strength indices at the tibia (coefficients -0.24 ± 0.07 , $p < 0.001$ for BSI and -0.096 ± 0.035 , $p < 0.01$ for SSI). With identical $F_{\max}$, BSI and SSI were reduced by 18 % ($p < 0.01$) and 7 % ($p = 0.027$), respectively, in TS patients as compared with healthy girls. Neither therapy nor the incidence of fractures had significant effects on the tested muscle and bone parameters.

Conclusion: In girls with TS, the same muscle strength is associated with lower bone strength as compared with their healthy counterparts. This is probably due to changes in the sensitivity of bones to mechanical loading.

Keywords: Turner syndrome, bone mineral density, muscle function, peripheral quantitative computed tomography, mechanography

Osteologický bulletin 2017; 22(1):9–18

Adresa: MUDr. Ondřej Souček, Ph. D., Pediatrická klinika, 2. LF UK a FN Motol, V Úvalu 84, 150 06 Praha 5, e-mail: ondrej.soucek@lfmotol.cuni.cz

Došlo do redakce: 6. 12. 2016

Přijato k tisku: 29. 5. 2017

Úvod

Turnerův syndrom (TS) je způsoben částečnou, či úplnou absencí jednoho pohlavního chromozomu X. Incidence onemocnění se uvádí 1/2 000 živě narozených dívek [1]. Tyto dívky se nejčastěji dostanou do ambulancí endokrinologů pro svůj nízký vzrůst, či později pro primární amenoreu. Mohou být však též zachyceny v jiných odborných ambulancích, kde jsou vyšetřovány pro další, se syndromem asociovaná onemocnění, jako jsou vrozené srdeční vady, malformace urogenitálního traktu či celiakii [2]. Kromě těchto nemocí mohou mít dívky a ženy s TS v porovnání se zdravými kontrolami zvýšený výskyt fraktur [3] a sníženou kostní denzitu [4–6], což svědčí o tom, že by se měla skeletálním komplikacím u těchto pacientek věnovat náležitá pozornost.

Etiologie a mechanismus kostní fragility u TS nebyly doposud plně objasněny. Některé studie poukazují na nedostatečnou estrogení substituci [7–9], zatímco jiné studie vyzdvihují přímý vliv ztráty genu, obsahujícího homeodoménu pro nízký vzrůst (short stature homeobox-containing gene, *SHOX*) [10], či nepřímý vliv ztráty lokusu Xp22.3 na gonozomu X, která vede k neuromotorické poruše [11,12], jako příčinu osteoporózy u žen s TS.

Denzita kostního minerálu je tradičně vyšetřována metodou dvouenergie rentgenové absorpciometrie (dual-energy x-ray absorptiometry, DXA). Tato metoda, která vychází z předozadního snímku bederní páteře, však měří pouze obsah kostního minerálu (bone mineral content, BMC), který se vydělí plochou 1.–4. bederního obratle, čímž je dán výpočet „plošné“ denzity kostního minerálu (areal bone mineral density, aBMD). Nevýhodou metody, obzvláště v pediatrické praxi, je riziko falešně nízké aBMD u menších jedinců, resp. jedinců s nízkým vzrůstem. Pokud je chronická nemoc, pro kterou je rostoucí jedinec indikován k vyšetření BMD, asociovaná s poruchou růstu, bude mít jedinec nízké aBMD bez ohledu na to, zda se skutečně jedná o úbytek kostního minerálu či nikoliv. Skutečnou, volumetrickou BMD (vBMD) lze naproti

tomu stanovit pomocí periferní kvantitativní počítačové tomografie (pQCT), a to zvláště v trabekulární kosti (metafýze dlouhé kosti) a kosti kortikální (diafýze). Navíc umožňuje pQCT stanovit geometrické parametry měřené kosti, což se využívá v kalkulaci různých indexů kostní pevnosti (blíže viz [13]). Uvedené výhody, spolu s výbornou přesností měření [14], nízkou radiační zátěží a dostupností referenčních dat [15–17] předurčují pQCT k využití v dětské klinické osteologii.

Svalová síla kosterního svalstva je hlavním mechanickým stimulem ovlivňujícím vývoj kostí a určujícím jejich pevnost [18–20]. Podle Frostovy teorie mechanostatu [21] by měla každá kost odolat deformaci vyvolané maximální volní aktivitou kosterního svalu (maximální svalové síle). Speciální plošina zaznamenávající tíhovou sílu (grand reaction force platform, GRFP; též zvaná „skákácká mechanografie“) umožňuje kalkulaci maximální volní svalové síly flexorů planty během několikanásobného výskoku na jedné noze. Takto indukovaná síla představuje zhruba desetinásobek tělesné hmotnosti [22]. To je zhruba trojnásobek hodnoty získané jinou metodou, dynamometrií, kterou lze naměřit pouze necelý pětinašobek tělesné hmotnosti [22]. Mechanické zatížení diafýzy tibie je tedy mnohem větší při několikanásobném výskoku na jedné noze než při izokinetické dynamometrii, která byla dříve používána k hodnocení svalové síly v pediatrické populaci [23,24].

Mezi maximální svalovou silou, získanou testem několikanásobného výskoku na jedné noze a měřenou pomocí skákací mechanografie, a pevností tibie, hodnocené pomocí pQCT, byla pozorována silná korelace [25]. Vzhledem k této silné korelaci, přesnosti měření [26] a dostupnosti referenčních dat [27–29] se skákací mechanografie nabízí jako velmi vhodná metoda pro hodnocení svalových funkcí u dětí.

Hypotézou této práce bylo, že je svalově-kostní jednotka u dívek s TS v porovnání se zdravými kontrolami narušená, což vede ke snížené kostní pevnosti. Cílem práce tedy bylo: 1) pomocí pQCT změřit volu-

metrickou denzitu minerálu trabekulární a kortikální kosti na radiu u dívek s TS, 2) pomocí GRFP a pQCT stanovit maximální svalovou sílu, resp. kostní pevnost na bérce u dívek s TS a u zdravých kontrol, 3) popsat svalově kostní interakci u obou studovaných skupin, 4) testovat vliv onemocnění na svalově kostní jednotku a 5) hledat vliv menarche, průběhu puberty, karyotypu, délky léčby růstovým hormonem a estrogeny a výskytu fraktur na svalově kostní jednotku u dívek s TS.

Soubor pacientů, materiál a metody

Účastnice studie

Této průřezové studie se účastnilo 67 dívek s TS, které jsou pravidelně sledovány v centru při fakultní nemocnici. U těch se měřily pouze kostní parametry na radiu. S odstupem 4 let, během kterých některé dívky již byly předány do péče endokrinologů pro dospělé, zatímco mladší, nově diagnostikované dívky, byly do studie zahrnuty, jsme provedli novou průřezovou studii, které se účastnilo 39 dívek s TS a dále 67 zdravých kontrol. U těchto dvou skupin byly kostní parametry měřeny na tibii a k tomu byly hodnoceny i dynamické svalové funkce.

Vyřazeny byly dívky s jakoukoliv chronickou nemocí, či léčbou se známým vlivem na skelet či svaly, kromě dívek s dlouhodobě (> 18 měsíců) eufunkční autoimunitní thyroditidou a kromě léčby růstovým hormonem (growth hormone, GH) a substituce estrogeny (E), které představují standardní péči o dívky s TS. Tělesná výška byla měřena stadiometrem s přesností na 0,1 cm a hmotnost byla měřena kalibrovanou elektronickou vahou s přesností na 100 g. Z-skóre výšky, hmotnosti a BMI byly vypočítány s pomocí národních referenčních hodnot [30]. V první studii bylo zastoupení jednotlivých vývojových stadií puberty dle Tannera u dívek s TS následující: 1 (N = 22/67), 2 (N = 4/67), 3 (N = 3/67), 4 (N = 13/67) a 5 (N = 25/67), u dívek s TS účastníci se druhé části studie to bylo stadium: 1 (N = 13/39), 2 (N = 3/39), 3 (N = 2/39), 4 (N = 6/39) a 5 (N = 15/39), hodnoceno podle vývoje prsu. Premenarcheálních bylo 47/67 a 21/39 dívek s TS v první, resp. druhé studii, zatímco menarcheálních dívek s TS bylo 20/67 a 18/39. Karyotyp měly dívky v první, resp. ve druhé studii: 45,X (N = 24/67, resp. 13/39), mozaiky různých forem (N = 35/67, resp. 22/39) a strukturální abnormality X chromozomu (N = 8/67, resp. 4/39).

Všechny dívky byly léčeny GH dávkou 50 µg/kg/den, kterou bylo výjimečně nutno posléze upravovat na základě individuální klinické odpovědi [31]. Průměrný věk zahájení terapie byl $7,0 \pm 3,5$; resp. $7,6 \pm 3,9$ let a průměrná délka podávání v době provádění studie byla $5,8 \pm 3,6$; resp. $5,4 \pm 3,8$ let.

Substituce estrogeny byla indikována v 39/67, resp. 18/39 případech v první, resp. druhé studii k indukci puberty či pro sekundární ovariální selhání. Ostatní

dívky s TS (N = 28/67, resp. 21/39) byly prepubertální nebo měly spontánní pubertu.

Pozitivní anamnézu fraktur mělo 14/67, resp. 10/39 dívek s TS. Celkem se jednalo o 26, resp. 19 fraktur (předloktí 10×, resp. 1×; prsty 1×, resp. 3×; kotník 0×, resp. 2×; zápěstí 13×, resp. 1×; bérce 1×, resp. 0×; komprese obratle 1×, resp. 1×).

Kontrolní skupinu pro druhou studii, tedy studii svalově kostní jednotky na bérce, tvořily zdravé dívky oslovené v různých školách a zájmových kroužcích. Opět byly vyřazeny dívky s nemocemi, či dívky užívající léky se známým vlivem na kost či sval. K měření pevnosti kostí i funkcí svalů byly použity totožné přístroje (pQCT a GRFP) s identickým nastavením a analytickým procesem (viz níže). Tato data byla částečně publikována jako součást větší studie 323 dětí a dospělých [25].

Studie byla povolena etickou komisí nemocnice a byla provedena v souladu s Helsinskou deklarací. Všechny účastnice, resp. jejich rodiče vyjádřili souhlas s účastí ve studii.

Hodnocení svalových funkcí

Maximální tíhová síla ($F_{\max}$, N), ukazatel maximální volní svalové síly flexorů planty, byla měřena testem několikanásobného výskoku na jedné noze, pomocí skákací mechanografie Leonardo Mechanograph® (Novotec Medical, Pforzheim, Německo). K analýze získaných dat byl použit originální software výrobce (Leonardo Mechanography GRFP verze 4.2, Novotec Medical). Test spočíval v opakovaném výskoku na špičce jedné nohy při volním zafixování kolene tak, aby během výskoku a doskoku nedocházelo k žádnému pohybu v kolenní. Test probíhal bez bot a pouze v lehkém oblečení. V první části testu byl testovaný požádán, aby skákal co nejrychleji, a získal tak potřebnou rovnováhu, poté byl požádán, aby se postupně snažil o co nejvyšší výskok. Přístroj zaznamenává každý jednotlivý výskok a uloží pouze největší sílu vyvinutou na plošinu ($F_{\max}$). Test byl opakován třikrát za sebou na nedominantní končetině, pro další analýzu byl vybrán nejlepší dosažený výsledek. Kromě záznamu $F_{\max}$ přístroj spočítá i sílu vztaženou k tělesné hmotnosti, která lépe vypovídá o individuálních svalových funkcích testovaného ($F_{\max}/BW$).

Hodnocení kostní pevnosti

K hodnocení kostní denzity a pevnosti na nedominantním radiu i tibii jsme použili pQCT osteodenzitometrii, přístroj XCT 2000 (Stratec Medizintechnik, Pforzheim, Německo). Vlastní měření spočívá v provedení 2 jednotlivých CT snímků o tloušťce 2 mm ve vzdálenostech odpovídajících 4 % a 66 % délky předloktí (měřeno od olekranonu ke styloidnímu výběžku ulny) či bérce (od vnitřního kotníku k hornímu okraji vnitřního kondylu tibie). Velikost voxelu byla

0,4 × 0,4 × 2,0 mm. K analýze skenů a kalkulaci parametrů jsme použili originální software výrobce (XCT software, verze 6.2 C). Na distální metafýze radia (resp. tibie) jsme měřili celkový obsah kostního minerálu (BMC), celkovou a trabekulární volumetrickou kostní densitu (vBMD) a celkovou plochu kosti (cross-sectional area, CSA). Index pevnosti kosti v kompresi (BSI) byl vypočítán jako součin druhé mocniny celkové vBMD a celkové CSA ($BSI = vBMD * vBMD * CSA$) [32]. Na diafýze jsme stanovovali celkové BMC, kortikální vBMD, celkovou a kortikální CSA, šíři kortikalis a dále softwarem kalkulovaný index kostní pevnosti v torzi a ohybu – strength strain index (SSI) [16]. Přesnost měření byla testována opakovaným měřením na radiu, směrodatné odchylky kvadratických průměrů pro jednotlivé parametry byly na distálním radiu: BMC 0,943 mg/mm, trabekulární vBMD 2,905 mg/cm³, celkové vBMD 9,353 mg/cm³ a celkové CSA 9,617 mm²; a na diafýze radia: BMC 0,745 mg/mm, celkové vBMD 4,947 mg/cm³, kortikální vBMD 4,641 mg/mm³, celkové CSA 1,193 mm², kortikální CSA 1,021 mm³, šíře kortikalis 0,068 mm a SSI 7,685 mm³. Data měřená na radiu jsme porovnávali s publikovanými referenčními normami [15,16], data na tibii jsme porovnávali mezi dívkami s TS a zdravými dívkami.

Statistická analýza

Všechny statistické analýzy a tvorba grafů byla provedena v programu R [33]. Pokud není uvedeno jinak, představují data průměr a směrodatnou odchylku. Jednovýběrový t-test byl použit k analýze rozdílů Z-skóre od nuly. Dvouvýběrový t-test s Welchovým odhadem stupňů volnosti jsme použili na porovnání Z-skóre mezi dvěma studijními skupinami. K testování rozdílů svalových a kostních parametrů na tibii mezi dívkami

s TS a zdravými kontrolami jsme použili lineární regresi, kde byly závislémi proměnnými logaritmicky transformované svalové a kostní parametry a nezávislémi proměnnými pak věk, hmotnost a výška. Vliv logaritmu F_{max} na logaritmus indexů kostní pevnosti byl testován lineární regresí, kde nezávislémi proměnnými bylo onemocnění TS, věk, výška a hmotnost. Koeficient změny pro TS pak představuje změnu (logaritmu) kostního parametru u TS v porovnání se zdravými kontrolami. Lineární regrese byla též použita k testování vlivu délky terapie GH, délky substituce E, stadia puberty, menarche, karyotypu a anamnézy fraktur na kostní parametry u dívek s TS po adjustaci na věk, hmotnost, výšku a logaritmus F_{max} .

Výsledky

Antropometrická charakteristika obou skupin dívek s TS a zdravých kontrol je uvedena v *tabulce 1*. Skupiny se nelišily ve věkovém rozložení, ale dívky s TS byly nižší, a měly tak i nižší hmotnost v porovnání se zdravými kontrolami. Jejich BMI bylo však významně vyšší než u zdravých kontrol.

Kostní denzita a pevnost na radiu

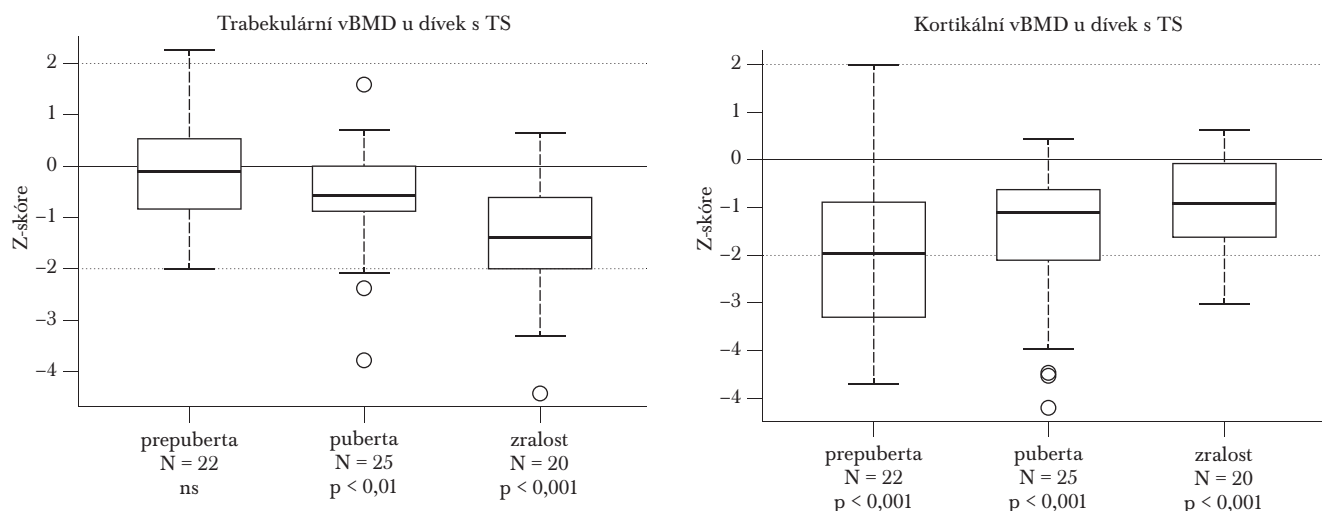
Trabekulární vBMD na metafýze radia byla u dívek s TS snížena vzhledem k věkově specifickým normám (průměrné Z-skóre $-0,7 \pm 1,3$; $p < 0,001$). Pokud se dívky s TS rozdělily podle vývoje puberty, byla trabekulární vBMD u prepubertálních dívek v normě, zatímco u pubertálních dívek a u dívek s ukončenou pubertou byly hodnoty významně sniženy, přičemž rozdíl mezi těmito třemi vývojovými stadii byl statisticky významný ($p = 0,007$; *obrázek 1*). Kortikální vBMD na diafýze radia byla u dívek s TS též snížena

Tabulka 1
Základní antropometrická data studovaných skupin jedinců

	Dívky s TS (radius, N = 67)	Dívky s TS (tibie, N = 39)	Zdravé dívky (tibie, N = 67)	P-hodnota (tibie, TS vs. zdravé dívky)
Věk (roky)	13,9 (3,3)	13,6 (4,2)	12,7 (3,4)	0,31
Výška (cm)	146,5 (13,1)	142,6 (16,1)	148,8 (16,3)	
Výška (Z-skóre)	-1,7 (0,7)***	-1,8 (1,0)***	-0,6 (1,3)***	< 0,001
Hmotnost (kg)	46,9 (14,4)	42,2 (14,6)	42,4 (13,2)	
Hmotnost (Z-skóre)	-0,3 (1,1)*	-0,7 (1,1)***	-0,2 (1,0)	0,013
BMI (m ² /kg)	21,3 (4,0)	19,9 (3,4)	18,6 (2,5)	
BMI (Z-skóre)	0,7 (1,0)***	0,3 (0,9)*	0,1 (0,8)	0,15

Legenda: Hodnoty představují průměr (SD). TS = Turnerův syndrom, BMI=index tělesné hmotnosti. P-hodnota v posledním sloupci je porovnání předchozích dvou sloupců, tedy skupin, u kterých se vyšetřovala svalově-kostní jednotka na tibii. Pro hodnocení rozdílů Z-skóre od nuly byl použit jednovýběrový t-test: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.

Obr. 1
Trabekulární a kortikální kostní denzita na radiu u dívek s TS



Legenda: Prepuberta = prepubertální dívky s vývojovým stadiem prsu podle Tannera I; Puberta = Vývojová stadia II-V; Zralost = vývojové stadium V a současně dosažení konečné tělesné výšky. Normální hodnoty se pohybují v rozmezí ± 2 SDS (tečkované přímkový od průměru (plná čára, Z-skóre 0).

vzhledem k věkově specifickým normám (Z-skóre $-1,6 \pm 1,5$; $p < 0,001$). Po rozdělení dívek s TS podle pubertálního vývoje byla kortikální vBMD významně snižena před pubertou, v pubertě i u dívek s dokončným pohlavním vývojem, bez významného rozdílu mezi těmito třemi vývojovými stadii (obrázek 1).

Současně však byla snižena šíře kortikalis na diafýze (Z-skóre $-0,8 \pm 0,6$; $p < 0,001$). Po adjustaci na šíři kortikalis byla kortikální vBMD naopak zvýšená (Z-skóre $1,1 \pm 1,0$; $p < 0,001$), což ukazuje obrázek 2. Index kostní pevnosti SSI byl snížený vzhledem k věku (Z-skóre $-0,7 \pm 1,2$; $p = 0,011$), zatímco při zohlednění tělesné výšky byl naopak zvýšený (Z-skóre $1,0 \pm 1,2$; $p < 0,001$).

Kostní denzita a pevnost a svalové funkce na tibii

Hodnoty svalových a kostních parametrů měřených na bérce u dívek s TS i u zdravých dívek a jejich porovnání jsou uvedeny v tabulce 2. Vzhledem k závislosti těchto parametrů na věku, výšce a hmotnosti, a vzhledem k rozdílné hmotnosti a výšce mezi oběma sledovanými studijními skupinami, jsme přistoupili k hodnocení rozdílů pomocí mnohočetné lineární regrese.

TS nebyl významnou vysvětlující proměnnou pro $F_{\max}$ (odhad $-0,051 \pm 0,034$; $p = 0,14$), ani $F_{\max}/BW$ (odhad $-0,038 \pm 0,032$; $p = 0,24$). TS byl však negativně asociovaný s indexem kostní pevnosti BSI ($-0,24 \pm 0,07$; $p < 0,001$) a trabekulární vBMD

($-0,22 \pm 0,045$; $p < 0,001$) na distální metafýze a v menší míře též s indexem kostní pevnosti SSI na diafýze tibie ($-0,096 \pm 0,035$; $p < 0,01$). Pevnost kosti (BSI) byla tedy u dívek s TS snižena zhruba o 24 % v porovnání se zdravými kontrolami, po adjustaci na věk, výšku a hmotnost. Podobně (-22 %) bylo snižené i trabekulární vBMD u TS.

V dalším modelu mnohočetné lineární regrese jsme se zaměřili na hodnocení vlivu onemocnění (TS) na vztah mezi vybranými kostními parametry a $F_{\max}$. Zjistili jsme, že při totožném $F_{\max}$ je TS asociovaná se snížením BSI na metafýze tibie o 18 % ($p < 0,01$) a SSI na diafýze o 7 % ($p = 0,027$) v porovnání se zdravými kontrolami.

Prediktory změn svalově-kostní jednotky

Vybrané potenciální klinické a terapeutické ukazatele neměly významný vliv na pevnost kostí (odhady regresních modelů neukazujeme). Jednalo se o délku terapie GH, délku substituce E, spontánní pubertu (vs. puberta indukovaná), menstruaci (vs. premenarcheální stav), mozaiku 45,X/46,XX (vs. monozomie 45,X) a pozitivní anamnézu fraktur.

Diskuze

V naší studii jsme charakterizovali volumetrickou BMD, kalkulované indexy kostní pevnosti a svalové funkce u dívek s TS. Zjistili jsme, že 1) trabekulární

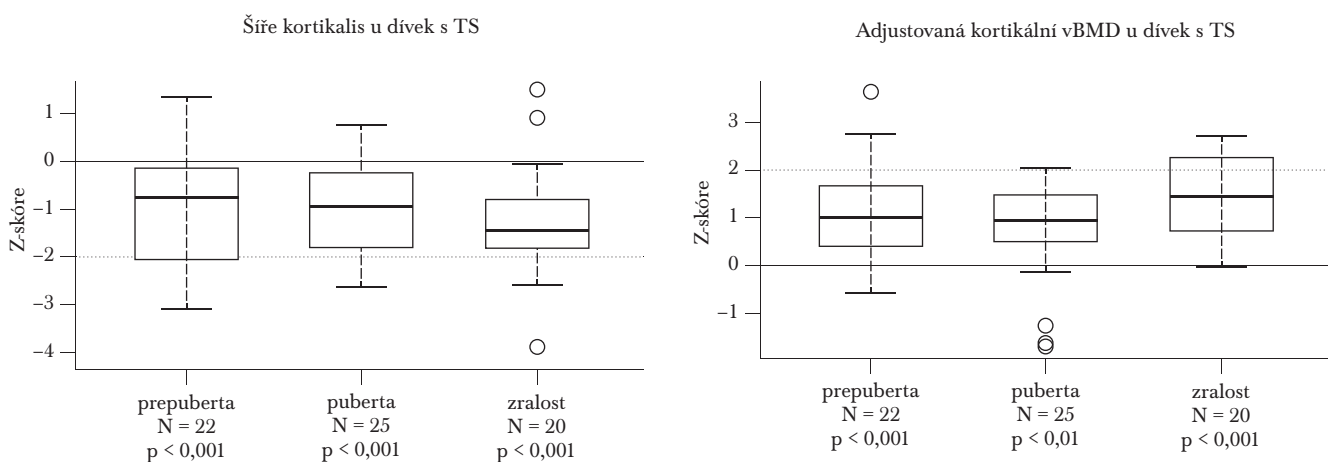
vBMD na metafýze radia je před pubertou normální, zatímco v pubertě a po jejím ukončení zůstává tento parametr u TS významně snížený, 2) kortikální vBMD na diafýze radia je u TS snižena, což je ale způsobeno velmi tenkou kortikalí, 3) maximální volní svalová síla flexorů planty je u TS normální, zato trabekulární vBMD a kalkulované indexy kostní pevnosti BSI a SSI jsou u těchto pacientek na tibii sniženy, 4) charakteristické klinické ukazatele TS ani jejich anamnéza fraktur nejsou významnými prediktory svalových ani kostních parametrů.

Estrogeny mají významný vliv na trabekulární kost. Nízká trabekulární vBMD u našich pubertálních dívek a dívek s ukončeným pubertálním vývojem by tak odpovídala hypogonadálnímu stavu u TS. Naše výsledky jsou v souladu se studiemi ukazujícími normální výškově adjustovanou aBMD u dívek s TS a následným nedostatečným nárůstem kostní hmoty během puberty [34,35]. Podobně tomu bylo i s vývojem volumetrické BMD lumbálních obratlů, měřené pomocí QCT u hypogonadálních pacientů [36]. Na druhou stranu, dvě předchozí studie ukázaly normální trabekulární vBMD u dívek s TS s ukončeným pubertálním vývojem při měření pomocí pQCT [37,38]. Rozpor s našimi výsledky mohl být dán odlišným typem či dávkou estrogenů, ve studii Susanne Bechtoldové [37] byl použit estradiol valerát v dávce 2 mg/den, zatímco my jsme substituovali 17-betaestradiolem v průměrné dávce 1,2 mg/den. Mohl se také podílet odlišný průměrný věk skupin dívek s TS ($19,5 \pm 2,3$ let ve studii Bechtoldové vs. $17,2 \pm 1,3$ let u našich postpubertálních dívek). Jasné vysvětlení by však dala pouze další studie zaměřená

na vývoj trabekulární vBMD u mladých dospělých žen s TS.

Nízká kortikální vBMD u dívek s TS v naší studii podporuje dříve publikovanou hypotézu o selektivním deficitu kortikální kosti u TS [39,38]. Bakalov et al. [39] popsali u dospělých žen s TS sníženou aBMD (měřenou metodou DXA) na distální třetině radia, tedy místě s převahou kortikální kosti. Holroyd et al. [38] popsali sníženou kortikální vBMD (měřenou pQCT) na radiu u dívek s TS s ukončeným pohlavním vývojem. Je však nutno zdůraznit, že hodnoty kortikální vBMD jsou významně ovlivněny šířkou kortikalis. Je to dáno fenoménem zvaným „efekt hraničních voxelů“ [40], který způsobuje, že hodnota je falešně nízká při výskytu velmi tenké kortikalis, což je případ dívek s TS, jejichž šíře kortikalis na diafýze radia často nedosahuje potřebné hranice 2 mm. Čím je kortikalis dlouhé kosti tenčí, tím poměrně větší díl připadá na hraniční voxely, které obsahují nejen kortikální kost, ale i okolní měkké tkáně periostu a endostu. Problém lze řešit zmenšením rozměrů voxelu, tedy vyšším rozlišením snímku, to lze však pouze za cenu vyšší radiční zátěže. My jsme raději použili dříve publikovaný algoritmus k výpočtu kortikální vBMD individuálně adjustované na šíři kortikalis [41]. Věkově specifická Z-skóre vypočtená z těchto přepočítaných hodnot kortikální vBMD byla naopak zvýšená (obrázek 2). Testování na syntetických fantomech ukázalo, že zmíněný algoritmus korigované hodnoty spíše mírně podhodnocuje, než nadhodnocuje [41]. Proto je nepravděpodobné, že by použitý algoritmus falešně nadhodnocoval hodnoty kortikální vBMD u našich dívek s TS. Bez

Obr. 2
Šíře kortikalis a adjustovaná kortikální vBMD na diafýze radia u dívek s TS



Legenda: Prepuberta = prepubertální dívky s vývojovým stadiem prsu podle Tannera I; Puberta = Vývojová stadia II–V; Zralost = vývojové stadium V a současně dosažení konečné tělesné výšky. Normální hodnoty se pohybují v rozmezí ± 2 SDS (tečkované přímky) od průměru (plná čára, Z-skóre 0).

Tabulka 2
Svalové a kostní parametry měřené na bérce

	Dívky s TS (tibie, N = 39)	Zdravé dívky (tibie, N = 67)	P-hodnota (TS vs. zdravé dívky)
Svalové funkce			
$F_{\max}$ (N)	1 291,7 (471,7)	1 402,8 (478,4)	0,25
$F_{\max}/BW$ (bez jednotky)	3,1 (0,39)	3,4 (0,44)	0,006
Pevnost kostí			
BSI (g^2/cm^4)	0,59 (0,20)	0,81 (0,30)	< 0,001
Trabekulární vBMD (mg/cm^3)	197,8 (30,0)	247,4 (49,9)	< 0,001
SSI (mm^3)	1 293,8 (430,4)	1 617,9 (645,9)	0,003

Legenda: TS = Turnerův syndrom; $F_{\max}$ = maximální volní svalová síla flexorů planty; $F_{\max}/BW$ = $F_{\max}$ vztažená k tělesné hmotnosti; BSI = index kostní pevnosti v kompresi (Bone Strength Index, metafýza); SSI = index kostní pevnosti v torzi (Strength Strain Index, diafýza). P-hodnota v posledním sloupci je porovnání mezi TS a zdravými kontrolami.

ohledu na popsané změny je třeba si uvědomit, že absolutní rozdíly od normy jsou velmi malé (v průměru $53 mg/cm^3$; při předpokládané hodnotě $1 200 mg/cm^3$) a že tento parametr sám o sobě nepřispívá ke zpřesnění diagnostiky osteoporózy u TS.

Osteoporóza je systémové onemocnění a její projevy by měly být rovnoměrně rozložené po celém skeletu. Pokud je však cílem objasnit klinické projevy osteoporózy, tedy fraktury, pak je racionální se zaměřit přímo na místo jejich výskytu. Dívky a ženy s TS mají nejvyšší riziko fraktur na předloktí [3], proto jsme se nejprve zaměřili na radius. Z konceptu svalové-kostní jednotky však vyplývá, že ideální je komplexní hodnocení obou zúčastněných orgánů, nejlépe na místě, kde kosti plní zásadní vzpřimovací funkci (tzv. load-bearing skeletal sites), jako je například tibie. Skákací mechanografie a pQCT osteodenzitometrie bérce se tak nabízejí jako optimální vyšetřovací postup.

Naše studie ukázala, že odhad pevnosti tibie v kompresi (BSI, metafýza) i torzi (SSI, diafýza) je u TS významně nižší než u zdravých kontrol. Změny byly navíc výraznější na metafýze (–24 %) než na diafýze (–1 %). Předchozí studie využily mnoho různých metod ke stanovení kostní pevnosti, což je zřejmě příčinou nekonzistentních závěrů. Hansen et al. [42] použili pQCT s vysokým rozlišením a v souladu s našimi výsledky zjistili, že odhady maximální zátěže (stanovené pomocí analýzy konečných prvků) byly u TS v porovnání se zdravými kontrolami sniženy na radiu o 11 % a na tibii o 16 %. Bechtold et al. [37] našli snížený index SSI na metafýze i diafýze radia, což bylo v souladu s naším měřením na radiu, pokud jsme (tak jako ve zmíněné studii) použili věkově-specifické normy. Při použití věkově-specifických referencí byl však SSI na radiu v naší studii zvýšený. Vzhledem

k tomu, že index SSI obsahuje informaci o geometrii kosti v příčném průřezu, je ohled na velikost jedince, resp. kosti, na místě, aby nedocházelo u TS k falešně nízkým hodnotám z důvodu porovnání s věkově sice adekvátní, ale výškově nevhodnou normou. Na druhou stranu, výškově adekvátní dívky mohou být v jiné (časnější) fázi vývoje puberty, při použití výškově specifických norem je tedy riziko falešného nadhodnocení výsledku. Vzhledem k tomu, že dívky s TS jsou specifické svou nízkou postavou, vyšším BMI a opožděnou pubertou, rozhodli jsme se v druhé části studie zahrnout vlastní kontrolní skupinu a hodnotit rozdíly u TS pomocí mnohočetné lineární regrese, ve které byly antropometrické parametry zahrnuty mezi vysvětlující proměnné.

Onemocnění (TS) nemělo vliv na $F_{\max}$ v porovnání se zdravými kontrolami. To odpovídá našim předchozím nálezům, kdy jsme hodnotili svalové funkce u dívek s TS [43] v porovnání s daty získanými změřením 432 zdravých českých dívek [29]. Data získaná měřením pomocí ručního dynamometru nejsou u TS konzistentní. Byla popsána zvýšená svalová síla [44] i síla snižena [45], přičemž hmotnost byla vždy významnou vysvětlující proměnnou. Nicméně, maximální volní svalovou sílu způsobující maximální deformaci přilehlé kosti je možné stanovit pouze v průběhu excentrické dynamické kontrakce (např. skákání přes švihadlo, podobné testu několikanásobného výskoku na jedné noze na skákací mechanografii), nikoliv během kontrakce izometrické (test ručním dynamometrem) [22]. Naše výsledky by tak mohly mít pro funkční hodnocení svalové-kostní jednotky u TS větší váhu než výsledky studií na ručním dynamometru.

Co je tedy příčinou snížené pevnosti kostí u TS, když svalová síla je normální? Jeden možný mecha-

nizmus nabízí studie, ve které měly atletky s oligomenoreou nižší pevnost kostí než atletky s normálními menstruačními cykly [46]. Jiná, již dříve zmíněná studie ukázala, že pacienti s hypogonadizmem mají nízkou trabekulární vBMD [36]. Obě práce tedy naznačují, že příčinou by mohl být deficit estrogenů. V naší studii však nebyl pozorován významný vliv délky substituce estrogeny (odhad $0,0035 \pm 0,016$; $p = 0,83$) či spontánní puberty (odhad $0,047 \pm 0,095$; $p = 0,63$) na vztah mezi $F_{\max}$ a trabekulární vBMD na metafýze tibie u dívek s TS. Ani indexy kostní pevnosti BSI či SSI nebyly významně ovlivněny estrogenním stavem u TS. U mladých dospělých žen s TS léčených transdermální náplastí napuštěnou estrogeny byl pozorován příznivější farmakokinetický profil než u pacientek léčených orálními tabletami [47] a podkožní estrogení implantáty aplikované každého půl roku po dobu 3 let vedly k významnému vzestupu a následnému udržení příznivých sérových hladin estrogenů, normálních Z-skóre aBMD a odpovídajícímu, histologicky ověřenému objemu trabekulární kosti [48]. Tyto studie naznačují, že dívky a ženy s TS jsou obecně vystaveny nízké koncentraci estrogenů v kostech. Přestože byly naše dívky substituované v souladu s platnými doporučeními, může být tato substituce nedostatečná s ohledem na fyziologické potřeby skeletu. Ve vztahu k pozorovaným změnám trabekulární vBMD na radiu a změnám svalově-kostní jednotky na tibii u TS se nabízí hypotéza, že relativní estrogení deficit může zvyšovat mez pro endokortikální kostní resorpci indukovanou nečinností, resp. nízkou mechanickou zátěží.

V naší studii byly všechny dívky s TS léčeny orálními tabletami, podle zavedených standardů, randomizace do skupin s různým podáváním estrogení substituce nebyla tedy možná. To limituje naše možnosti s ohledem na zodpovězení otázky, zda by jiný způsob podání, případně jiná dávka estrogenů vedla k odlišnému vývoji kostních parametrů.

Fyzická aktivita hraje významnou úlohu ve vývoji kostních parametrů. Zatímco imobilita po úrazu míchy vedla k úbytku svalové hmoty a následně úbytku trabekulární vBMD na tibii v průměru o 73 % [49], aktivní tenistky měly o 6 % více trabekulární hmoty v dominantní (raketu držící) ruce v porovnání s druhou stranou [32]. Tyto studie dokazují vztah mezi aktivitou kosterního svalstva a trabekulární vBMD. Naše dívky s TS měly i přes adekvátní maximální svalovou sílu flexorů planty sníženou pevnost kostí v porovnání se zdravými dívkami. Změny kostní pevnosti u TS tedy nejsou vyvolány druhotně, následkem nedostatečné mechanické stimulace vyvolané aktivitou kosterních svalů, ale zřejmě jsou vlastním charakteristickým projevem TS.

Projevy kostní dysplázie jsou u dívek a žen s TS velmi podobné těm u jedinců s izolovaným deficitem *SHOX* genu. Zatímco změny geometrie na diafýze radiu byly u těchto dvou skupin podobné [50], trabekulární vBMD byla u jedinců s izolovaným deficitem

SHOX normální [51]. *SHOX* gen chybí též u dívek s TS, protože je lokalizován na krátkém raménku obou gonozomů a ke správné funkci je zapotřebí přítomnosti obou alel [10]. *SHOX* gen reguluje tělesný růst [52]. U jedinců s izolovaným *SHOX* deficitem nám chybí zhodnocení svalových funkcí. Nemůžeme tedy přímo porovnat vztah mezi svalovou silou a kostní pevností mezi těmito jedinci a dívkami s TS.

Určitou limitací studie je také to, že nemáme data popisující množství kalcia ve stravě, sérové hladiny vitamínu D či kvantitativní hodnocení fyzické aktivity účastnic studie. Nemohli jsme tak otestovat potenciační vliv těchto ukazatelů na svalové či kostní parametry. Nevýznamné asociace hypogonadizmu, karyotypu či výskytu fraktur se svalovými a kostními parametry mohly být do jisté míry způsobeny relativně menším souborem pacientů, resp. malým počtem účastnic v jednotlivých kategoriích. Nelze tak s definitivní platností vyvodit, že tyto faktory nemají žádný vliv na popsané změny ve svalově-kostní jednotce u dívek s TS.

Závěr

Normální maximální volní svalová síla flexorů planty spolu se sníženou pevností tibie u dívek s TS v porovnání se zdravými kontrolami ukazuje na to, že kostní deficit není u TS způsoben sekundárně, z důvodu nízké mechanické zátěže, ale že se spíše jedná o specifické změny spojené s kostní dysplázií těchto dívek. Zbývá odhalit, zda je snížená pevnost kostí u dívek s TS způsobena relativním nedostatkem estrogenů v kostní tkáni či jiným, doposud neznámým faktorem, a zda je výskyt fraktur při moderní léčbě nízkého vzrůstu GH a hypogonadizmu estrogení substitucí v porovnání se zdravou populací stále zvýšený.

Poděkování

Děkujeme RNDr. Zdeňku Hlávkovi za statistické analýzy, prof. Jöernu Rittwegerovi za pomoc při ad-justaci kortikální vBMD na šíři kortikalis, prof. Marcu Toigovi a Dr. Elmaru Anlikerovi za poskytnutí výsledků měření zdravých dívek na tibii a prof. Eckhardu Schönaufu za poskytnutí referenčních dat pro radius. Děkujeme všem účastnicím studie a jejich rodičům. Práce byla částečně podpořena granty Grantové agentury Univerzity Karlovy (GAUK 47609) a Ministerstva zdravotnictví, mládeže a tělovýchovy (Podpora výzkumné organizace 00064203, Fakultní nemocnice v Motole).

Literatura

1. Stochholm K, Juul S, Juel K, Naeraa RW, Gravholt CH. Prevalence, incidence, diagnostic delay, and mortality in Turner syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:3897–3902.

2. Gravholt CH, Juul S, Naeraa RW, Hansen J. Morbidity in Turner syndrome. *J Clin Epidemiol* 1998;51:147–158.
3. Gravholt CH, Vestergaard P, Hermann AP, Mosekilde L, Brixen K, Christiansen JS. Increased fracture rates in Turner's syndrome: a nationwide questionnaire survey. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2003;59:89–96.
4. Gravholt CH, Lauridsen AL, Brixen K, Mosekilde L, Heickendorff L, Christiansen JS. Marked disproportionality in bone size and mineral, and distinct abnormalities in bone markers and calcitropic hormones in adult turner syndrome: a cross-sectional study. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:2798–2808.
5. Bakalov VK, Chen ML, Baron J, Hanton LB, Reynolds JC, Stratakis CA, Axelrod LE, Bondy CA. Bone mineral density and fractures in Turner syndrome. *Am J Med* 2003;115:259–264.
6. Lage AZ, Brandao CA, Mendes JR, Huayllas MK, Liberman B, Mendonca BB, Costa EM, Verreschi IT, Lazaretti-Castro M. High degree of discordance between three-dimensional and two-dimensional lumbar spine bone mineral density in Turner's syndrome. *J Clin Densitom* 2005;8:461–466.
7. Carrascosa A, Gussinye M, Terradas P, Yeste D, Audi L, Vicens-Calvet E. Spontaneous, but not induced, puberty permits adequate bone mass acquisition in adolescent Turner syndrome patients. *J Bone Miner Res* 2000;15:2005–2010.
8. Gussinye M, Terradas P, Yeste D, Vicens-Calvet E, Carrascosa A. Low areal bone mineral density values in adolescents and young adult turner syndrome patients increase after long-term transdermal estradiol therapy. *Horm Res* 2000;54:131–135.
9. Hanton L, Axelrod L, Bakalov V, Bondy CA. The importance of estrogen replacement in young women with Turner syndrome. *J Womens Health (Larchmt)* 2003;12:971–977.
10. Rao E, Weiss B, Fukami M, Rump A, Niesler B, Mertz A, Muroya K, Binder G, Kirsch S, Winkelmann M, Nordsiek G, Heinrich U, Breuning MH, Ranke MB, Rosenthal A, Ogata T, Rappold GA. Pseudoautosomal deletions encompassing a novel homeobox gene cause growth failure in idiopathic short stature and Turner syndrome. *Nat Genet* 1997;16:54–63.
11. Ross JL, Stefanatos GA, Kushner H, Bondy C, Nelson L, Zinn A, Roeltgen D. The effect of genetic differences and ovarian failure: intact cognitive function in adult women with premature ovarian failure versus turner syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:1817–1822.
12. Zinn AR, Roeltgen D, Stefanatos G, Ramos P, Elder FF, Kushner H, Kowal K, Ross JL. A Turner syndrome neurocognitive phenotype maps to Xp22.3. *Behav Brain Funct* 2007;3:24.
13. Souček O, Šumník Z, Lébl J. Kostní denzita a parametry pevnosti kostí: vztah k riziku fraktur u dětí. *Diabetologie, endokrinologie, metabolismus a výživa* 2009;12:20–27.
14. Weatherholt AM, Avin KG, Hurd AL, Cox JL, Marberry ST, Santoni BG, Warden SJ. Peripheral Quantitative Computed Tomography Predicts Humeral Diaphysis Torsional Mechanical Properties With Good Short-Term Precision. *J Clin Densitom* 2015;18:551–559.
15. Rauch F, Schoenau E. Peripheral quantitative computed tomography of the distal radius in young subjects – new reference data and interpretation of results. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2005;5:119–126.
16. 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.
17. Moyer-Mileur LJ, Quick JL, Murray MA. Peripheral quantitative computed tomography of the tibia: pediatric reference values. *J Clin Densitom* 2008;11:283–294.
18. Frost HM. Muscle, bone, and the Utah paradigm: a 1999 overview. *Med Sci Sports Exerc* 2000;32:911–917.
19. Schiessl H, Frost HM, Jee WS. Estrogen and bone-muscle strength and mass relationships. *Bone* 1998;22:1–6.
20. Schoenau E. From mechanostat theory to development of the „Functional Muscle-Bone-Unit“. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2005;5:232–238.
21. Frost HM. The mechanostat: a proposed pathogenic mechanism of osteoporoses and the bone mass effects of mechanical and nonmechanical agents. *Bone Miner* 1987;2:73–85.
22. Anliker E, Toigo M. Functional assessment of the muscle-bone unit in the lower leg. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2012;12:46–55.
23. Hebert LJ, Maltais DB, Lepage C, Saulnier J, Crete M, Perron M. Isometric muscle strength in youth assessed by hand-held dynamometry: a feasibility, reliability, and validity study. *Pediatr Phys Ther* 2011;23:289–299.
24. Rauch F, Neu CM, Wassmer G, Beck B, Rieger-Wettengl G, Rietschel E, Manz F, Schoenau E. Muscle analysis by measurement of maximal isometric grip force: new reference data and clinical applications in pediatrics. *Pediatr Res* 2002;51:505–510.
25. Anliker E, Rawer R, Boutellier U, Toigo M. Maximum ground reaction force in relation to tibial bone mass in children and adults. *Med Sci Sports Exerc* 2011;43:2102–2109.
26. Veilleux LN, Rauch F. Reproducibility of jumping mechanography in healthy children and adults. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2010;10:256–266.
27. Busche P, Rawer R, Rakhimi N, Lang I, Martin DD. Mechanography in childhood: references for force and power in counter movement jumps and chair rising tests. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2013;13:213–226.
28. Lang I, Busche P, Rakhimi N, Rawer R, Martin DD. Mechanography in childhood: references for grip force, multiple one-leg hopping force and whole body stiffness. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2013;13:227–235.
29. Šumník Z, Matyskova J, Hlavka Z, Durdilova L, Soucek O, Zemkova D. Reference data for jumping mechanography in healthy children and adolescents aged 6–18 years. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2013;13:297–311.
30. Kobzova J, Vignerova J, Blaha P, Krejcovsky L, Riedlova J. The 6th nationwide anthropological survey of children and adolescents in the Czech Republic in 2001. *Cent Eur J Public Health* 2004;12:126–130.
31. Saenger P, Wikland KA, Conway GS, Davenport M, Gravholt CH, Hintz R, Hovatta O, Hultcrantz M, Landin-Wilhelmsen K, Lin A, Lippe B, Pasquino AM, Ranke MB, Rosenfeld R, Silberbach M. Recommendations for the diagnosis and management of Turner syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:3061–3069.
32. Kontulainen S, Sievanen H, Kannus P, Pasanen M, Vuori I. Effect of long-term impact-loading on mass, size, and estimated strength of humerus and radius of female racquet-sports players: a peripheral quantitative computed tomography study between young and old starters and controls. *J Bone Miner Res* 2003;18:352–359.
33. R Core Team (2013) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
34. Ross JL, Long LM, Feuillan P, Cassorla F, Cutler GB, Jr. Normal bone density of the wrist and spine and increased wrist fractures in girls with Turner's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1991;73:355–359.
35. Shaw NJ, Rehan VK, Husain S, Marshall T, Smith CS. Bone mineral density in Turner's syndrome—a longitudinal study. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1997;47:367–370.
36. Nanao K, Tsuchiya Y, Kotoh S, Hasegawa Y. Low vertebral cancellous bone density in peripubertal girls with Turner's syndrome and boys with hypogonadism. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2002;15:1537–1542.
37. Bechtold S, Rauch F, Noelle V, Donhauser S, Neu CM, Schoenau E, Schwarz HP. Musculoskeletal analyses of the forearm in young women with Turner syndrome: a study using peripheral quantitative computed tomography. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:5819–5823.
38. Holroyd CR, Davies JH, Taylor P, Jameson K, Rivett C, Cooper C, Dennison EM. Reduced cortical bone density with normal trabecular bone density in girls with Turner syndrome. *Osteoporos Int* 2010;21:2093–2099.
39. Bakalov VK, Axelrod L, Baron J, Hanton L, Nelson LM, Reynolds JC, Hill S, Troendle J, Bondy CA. Selective reduction in cortical bone mineral density in turner syndrome independent of ovarian hormone deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:5717–5722.
40. Schoenau E, Neu CM, Rauch F, Manz F. Gender-specific pubertal changes in volumetric cortical bone mineral density at the proximal radius. *Bone* 2002;31:110–113.
41. Rittweger J, Michaelis I, Giehl M, Wusecke P, Felsenberg D. Adjusting for the partial volume effect in cortical bone analyses of pQCT images. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2004;4:436–441.
42. Hansen S, Brixen K, Gravholt CH. Compromised trabecular microarchitecture and lower finite element estimates of radius and tibia bone

- strength in adults with turner syndrome: a cross-sectional study using high-resolution-pQCT. *J Bone Miner Res* 2012;27:1794–1803.
43. Soucek O, Lebl J, Matyskova J, Snajderova M, Kolouskova S, Pruhova S, Hlavka Z, Sumnik Z. Muscle function in Turner syndrome: normal force but decreased power. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2015; 82:248–253.
 44. Milde K, Tomaszewski P, Stupnicki R. Physical fitness of schoolgirls with Turner syndrome. *Pediatr Exerc Sci* 2013;25:27–42.
 45. Clark C, Klonoff H, Hayden M. Regional cerebral glucose metabolism in Turner syndrome. *Can J Neurol Sci* 1990;17:140–144.
 46. Ackerman KE, Pierce L, Guereca G, Slaterry M, Lee H, Goldstein M, Misra M. Hip structural analysis in adolescent and young adult oligoamenorrheic and eumenorrheic athletes and nonathletes. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98:1742–1749.
 47. Torres-Santiago L, Mericq V, Taboada M, Unanue N, Klein KO, Singh R, Hossain J, Santen RJ, Ross JL, Maura N. Metabolic effects of oral versus transdermal 17beta-estradiol (E(2)): a randomized clinical trial in girls with Turner syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98: 2716–2724.
 48. Khastgir G, Studd JW, Fox SW, Jones J, Alaghband-Zadeh J, Chow JW. A longitudinal study of the effect of subcutaneous estrogen replacement on bone in young women with Turner's syndrome. *J Bone Miner Res* 2003;18:925–932.
 49. Eser P, Frotzler A, Zehnder Y, Wick L, Knecht H, Denoth J, Schiessl H. Relationship between the duration of paralysis and bone structure: a pQCT study of spinal cord injured individuals. *Bone* 2004;34: 869–880.
 50. Soucek O, Zapletalova J, Zemkova D, Snajderova M, Novotna D, Hirschfeldova K, Plasilova I, Kolouskova S, Rocek M, Hlavka Z, Lebl J, Sumnik Z. Prepubertal girls with Turner syndrome and children with isolated SHOX deficiency have similar bone geometry at the radius. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98:E1241–1247.
 51. Soucek O, Lebl J, Zapletalova J, Novotna D, Plasilova I, Kolouskova S, Zemkova D, Rocek M, Hlavka Z, Hirschfeldova K, Sumnik Z. Bone geometry and volumetric bone density at the radius in patients with isolated SHOX deficiency. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2013;121: 109–114.
 52. Munns CJ, Haase HR, Crowther LM, Hayes MT, Blaschke R, Rappold G, Glass IA, Batch JA. Expression of SHOX in human fetal and childhood growth plate. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89: 4130–4135.