



## The effect of primary lack of estrogens and the influence of the age at the beginning of estrogen therapy on bone mineral density in patients with Turner's syndrome

Elżbieta Sowińska-Przepiera<sup>1</sup>, Elżbieta Andrysiak-Mamos<sup>2</sup>, Zbigniew Friebe<sup>1</sup>, Karina Kapczuk<sup>1</sup>, Krystyna Pilarska<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Division of Gynecology, Department of Perinatology and Gynecology, Karol Marcinkowski University of Medical Sciences in Poznań

<sup>2</sup> Department of Endocrinology, Hypertension and Metabolic Diseases, Pomeranian Medical University in Szczecin

### Abstract

Lumbar spine bone mineral density (BMD) values were measured in women with Turner's syndrome (TS) and the influence of primary ovarian failure as well as the age at the start of estroprogestins (EP) therapy were considered. EP treatment with 2mg of estradiol (E2) and BMD monitoring were started in 72 and finally continued for 5 years in 34 patients with TS, aged 12-38 years, previously not treated with growth hormone or anabolic steroids. The mean total BMD gain ( $\Delta$ BMD) was 20% and the most significant increase was observed after the first (7.5%) and the second (6.6%) year of the therapy. Before the start and during EP treatment E2 levels were evaluated: they increased from 9.2pg/ml to the values observed in the controls (C) but positive correlation with BMD was not observed. Analysis of TS patients in age brackets (<15 years, 15-20 years, 21-25 years, >25 years) showed that only in the group that started EP treatment before the age of 15 every year significant  $\Delta$ BMD was observed. The group that started EP therapy after the age of 20 didn't achieve significant  $\Delta$ BMD. Patients with TS had significantly higher levels of bone metabolism

markers (Ntx and BALP) than the controls and in both groups negative correlation with age was found. On the basis of the results the conclusion was made that in hypoestrogenic women, not exclusively TS, the age when estrogen therapy is started may determine the effects in relation to bone mass. The administered E2 doses may also be important.

(*Pol J Endocrinol* 2005; 2(56): 145-153)

**Key words:** osteoporosis, Turner's syndrome, bone mineral density, estrogen replacement



Dr n. med. Elżbieta Sowińska-Przepiera  
Division of Gynecology, Department of Perinatology and Gynecology, Karol Marcinkowski University of Medical Sciences in Poznań  
ul. Polna 33  
60-535 Poznań, tel. (61 6599278)  
e-mail: [elasowprzep@wp.pl](mailto:elasowprzep@wp.pl)



## Wpływ pierwotnego niedoboru estrogenów na gęstość mineralną kości u pacjentek z zespołem Turnera w zależności od wieku zapoczątkowania leczenia estrogenami

Elżbieta Sowińska-Przepiera<sup>1</sup>, Elżbieta Andrysiak-Mamos<sup>2</sup>, Zbigniew Friebe<sup>1</sup>, Karina Kapczuk<sup>1</sup>, Krystyna Pilarska<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Klinika Ginekologii Katedry Perinatologii i Ginekologii Akademii Medycznej w Poznaniu

<sup>2</sup> Klinika Endokrynologii Nadciśnienia Tętniczego i Chorób Metabolicznych Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie

### Streszczenie

Oceniano gęstość mineralną kości (BMD) kręgosłupa lędźwiowego u kobiet z zespołem Turnera (ZT) w aspekcie wpływu pierwotnej niewydolności jajników i wieku rozpoczęcia substytucyjnej terapii estrogenowo-progestagenowej (EP). U 72 pacjentek z ZT w wieku 12-38 lat, nie leczonych hormonem wzrostu ani lekami anabolicznymi, rozpoczęto leczenie EP (2mg estradiolu (E2)) i monitorowanie BMD, które u 34, poddanych ostatecznej analizie, kontynuowano przez 5 lat, uzyskując średnio 20% łączny przyrost BMD ( $\Delta$ BMD), z czego najwięcej po pierwszym (7.5%) i drugim (6.6%) roku leczenia. Przed i w trakcie leczenia monitorowano poziomy E2. Włączenie terapii EP doprowadziło do wzrostu stężenia E2 z 9.2 pg/ml do poziomu porównywalnego z grupą kontrolną (C), ale nie wykazano jego pozytywnej korelacji z BMD. Analiza pacjentek w przedziałach wiekowych (<15 lat, 15-20 lat, 21-25 lat, >25 lat) wykazała, iż tylko w grupie, która rozpoczęła terapię EP przed 15r.ż. co roku obserwowano istotny  $\Delta$ BMD, natomiast w grupie, która rozpoczęła

terapię EP po 20r.ż. nie uzyskano istotnego  $\Delta$ BMD. Pacjentki z ZT miały istotnie wyższe poziomy markerów metabolizmu kostnego (Ntx i BALP) niż grupa C, przy czym w obu grupach wykazano ich ujemną korelację z wiekiem. Wyniki tych badań wskazują, iż czas rozpoczęcia leczenia estrogenami może determinować jego efekty w odniesieniu do masy kostnej u pacjentek z hipostrogenizmem, nie tylko w zespole Turnera. Istotny może być również wpływ stosowanej dawki E2.

(*Endokrynol Pol* 2005; 2(56): 145-153)

**Słowa kluczowe:** osteoporoza, zespół Turnera, gęstość mineralna kości, leczenie estrogenami



Dr n. med. Elżbieta Sowińska-Przepiera  
Klinika Ginekologii Katedry Perinatologii i Ginekologii Akademii Medycznej w Poznaniu; ul. Polna 33  
60-535 Poznań, tel. (61 6599278)  
e-mail: elasowprzep@wp.pl

### Wstęp

Zespół Turnera (ST) jest genetycznie uwarunkowanym schorzeniem związanym z brakiem całości lub części materiału genetycznego jednego z chromosomów X u płci żeńskiej. Występuje z częstością 1 na 2000 do 3000 żywo urodzonych noworodków [1]. W Polsce zespół ten rozpoznaje się u noworodków średnio u 100 dziewczynek rocznie, a liczebność tej populacji kobiet szacuje się łącznie na 8-9 tysięcy [2]. Spośród licznych charakterystycznych cech fenotypowych stałym objawem jest dysgeneza gonad występująca z częstością 80-90% i niski wzrost w 90% [1, 3, 4]. W terminie fizjologicznego pokwitania u tych dziewcząt nie dochodzi do rozwoju cech zależnych od czynności estrogennej jajników głównie: gruczołów sutkowych, miesiączkowania, pokwitaniowego skoku wzrostu. Stwierdzono także, że u 25% dziewcząt z zespołem Turnera występuje niska szczytowa masa kostna [5, 6].

U dziewcząt z ST wskutek braku estrogennej funkcji gonad nie występuje, jak u zdrowych dziewcząt, pokwitaniowy skok wzrostu oraz przyspieszenie tempa mineralizacji kości przed i po menarche [7].

Pacjentki z ST są naturalnym modelem klinicznym dotyczącym oceny mineralizacji kości bez udziału estrogenów oraz przebiegu tej mineralizacji po zastosowaniu tylko estroprogestagenów (EP), w różnym wieku metrykalnym, u polskich dziewcząt z tym zespołem. Pacjentki nie otrzymywały preparatu hormonu wzrostu (GH), ponieważ refundację leku wprowadzono w Polsce dla tego zespołu w 1999 roku. Celem naszych badań była ocena BMD u kobiet z ST z pierwotnym niedoborem estrogenów oraz współzależności BMD z wiekiem zapoczątkowania leczenia estrogenami.

### Materiał i metody

Do endokrynologicznych poradni konsultacyjnych zgłaszały się pacjentki z zespołem Turnera (grupa

ST) w wieku od 12 do 38 lat, z powodu braku cech pokwitania i braku miesiączki, kierowane na konsultację przez lekarzy z klinik pediatrycznych i lekarzy rodzinnych. Dziewczęta nie były leczone preparatami hormonu wzrostu i anabolicznymi, również nie były leczone estroprogestagenami.

Grupę kontrolną (grupa C) stanowiły 82 zdrowe, miesiączkujące dziewczęta i kobiety, które wyraziły zgodę na przeprowadzenie takich badań.

Przeprowadzono szczegółowy wywiad z pacjentką i/lub dziewczynką i jej matką na podstawie, którego ustalono masę urodzeniową, odżywianie w dzieciństwie i w dalszych latach rozwoju, analizowano na podstawie indywidualnej karty rozwoju dziecka przebieg wzrastania i przyrost masy ciała, występowanie chorób metabolicznych przebiegających z potencjalnie nieprawidłową mineralizacją kostną. Pacjentki nie stosowały nałogowo używek ani leków wpływających na metabolizm kostny. Z badań wykluczono także obciążone osteoporozą w rodzinie.

Wszystkie pacjentki i ich matki były poinformowane o celu i rodzaju badań oraz korzyściach długofalowych z uzyskanych wyników. Komisja Etyki do spraw badań naukowych oraz pacjentki i ich rodziny wyraziły zgodę na przeprowadzenie takich badań.

U wszystkich wykonano badania diagnostyczne: obliczano wskaźnik masy ciała (BMI); oceniano rozwój wtórnych cech płciowych i zapisywano wg skali Tannera [8]; przeprowadzano badanie ginekologiczne; wykonano badanie ultrasonograficzne narządu płciowego; w poradni pobierano krew do badań hormonalnych: TSH, FSH, LH, T, E<sub>2</sub>. Stężenia hormonów oznaczono za pomocą testów RIA KIT firmy Orion Diagnostica.

Pacjentki zgłaszały się do poradni konsultacyjnych już z oznaczonym kariotypem, jedynie w przypadku wątpliwości zlecano wykonanie badania ponownie. Ostatecznie u 25 stwierdzono [45,X], u 6 [45,X/46,XiXq], a u 2 [45,X/47,XXX].

Wykonano badanie densytometryczne – oznaczono gęstość mineralną kości (BMD), z zastosowaniem densytometru LUNAR DPX.

Aparat posiadał oprogramowanie do badań pacjentek w wieku od 5÷20 i >20÷100 lat. Oceniano gęstość kości odcinka lędźwiowego kręgosłupa (L2-4), ponieważ aktywność metaboliczna kości kręgosłupa jest szczególnie wysoka, co było istotne w szybkiej analizie wpływu leczenia na masę kostną.

Badania wykonywano w odstępach rocznych, uzyskując 5 pomiarów: I – pomiar wyjściowy, II, III, IV, V- kolejne pomiary w przebiegu monitorowania leczenia.

Uzyskane wyniki pomiarów przedstawiano jako wartość bezwzględna [BMD (g/cm<sup>2</sup>)], odnoszono do wartości średnich w grupie wiekowej jako odsetek [BMD (%)] oraz przedstawiano jako odchylenie standardowe [BMD (z-score)]. Za prawidłową

przyjęto wartość pomiaru gęstości mineralnej kości metodą DEXA, mieszczącą się między 1 odchyleniem standardowym od średniej wiekowej dla dziewcząt poniżej 20 roku życia (z-score +1 do -1), a dla dziewcząt ≥20 roku życia w odniesieniu do szczytowej masy kostnej (t-score +1 do -1).

Do analizy gęstości mineralnej kości u pacjentek wprowadzono podział danych według wieku rozpoczęcia obserwacji (BMD I) i leczenia EP na cztery przedziały: <15 lat, 15-20 lat, 21-25 lat, >25 lat.

Wszystkim badanym pobrano krew i mocz do wykonania badań biochemicznych, wyjściowych; oznaczono jako BALP (frakcja kostna fosfatazy zasadowej), Ntx (N-telopeptyd łańcucha α2 kolagenu typu I). Po 4-6 miesiącach leczenia EP dziewcząt i kobiet z ST ponownie oznaczono u nich markery metabolizmu kostnego (BALP 2, Ntx 2). Stężenie frakcji kostnej alkalicznej fosfatazy (BALP) oznaczono z surowicy krwi za pomocą testu diagnostycznego ALKPHASE-B firmy Metra Biosystems, Inc. (USA).

Do oznaczenia ilościowego N-telopeptydu kolagenu typu I (Ntx) w moczu, użyto zestawu odczynników do immunodiagnostyki Vitros firmy Ortho-Clinical Diagnostics, Amersham UK. Analizę przeprowadzono używając zestawów Vitros Ntx oraz Vitros kalibratorów immunodiagnostycznych produktów Ntx z systemu immunodiagnostycznego Vitros.

Do oznaczania stężenia kreatyniny w moczu zastosowano analizatory Roche Hitachi. Kreatyninę mierzono w mg/dl, które przeliczono na mM CRE wg wzoru: stężenie kreatyniny w moczu (mg/dl)/11,3. Przeliczono stężenie kolagenu w miliekwiwalentach kolagenu kości na jednostkę stężenia kreatyniny, w milimolach na litr (nM BCE/mM CRE): nM BCE (Bone Collagen Equivalents) /mM CRE.

Na podstawie badania przedmiotowego oraz wyników badań biochemicznych wykluczono obecność innych endokrynopatii przebiegających z zespołem Turnera.

Dziewczęta i kobiety z ST leczono w obserwowanym okresie preparatem trójfazowym, złożonym zawierającym naturalny żeński hormon płciowy: 17-β estradiol (2 mg) oraz syntetyczną gestageną pochodną 19-nortestosteronu: octan noretisteronu (1 mg).

Omówiono modyfikację stylu życia i odżywiania z badaną i jej matką. Włączono suplementację preparatami wapnia i witaminy D3 (w dawkach indywidualnych, uzupełniających do zalecanej i faktycznie spożywanej diety oraz pory roku).

Z powodów socjoekonomicznych 38 dziewcząt przerwało obserwację BMD i leczenie EP. Ostatecznie 34 pacjentki z ST ukończyły badania i są nadal leczone.

Przez okres 4-5 lat dziewczęta z ST leczono EP i obserwowano proces mineralizacji kości, wykonując badanie densytometryczne w odstępach

rocznych; mierzono także wzrost i masę ciała; dla każdej pacjentki uzyskano 5 pomiarów, oznaczonych I – pomiar wyjściowy, II÷V – kolejne pomiary.

## Analiza statystyczna

Analizę statystyczną przeprowadzono przy pomocy pakietu Statistica v. 5.0 PL firmy StatSoft USA (nr licencji SP 710785202 G 51). Dane przedstawiono jako średnie arytmetyczne i odchylenia standardowe ( $\bar{x} \pm SD$ ). Zgodność z rozkładem normalnym badano testem Kołmogorowa-Smirnowa. Dla symetryzacji rozkładu niektórych zmiennych stosowano transformację logarytmiczną. Średnie arytmetyczne porównywano ANOVA; w przypadku więcej niż dwóch podgrup, po otrzymaniu istotnego wyniku ANOVA używano testu Tukeya jako testu post hoc. Powiązania między zmiennymi ciągłymi określano współczynnikiem korelacji liniowej [r] Pearsona.

## Wyniki

Pacjentki z zespołem Turnera (T) i z grupy kontrolnej (C) były w podobnym wieku ( $p=NS$ ), ale różniły się masą ciała ( $p<0,0001$ ) i wzrostem ( $p<0,0001$ ), natomiast wartość BMI między tymi grupami nie różniła się (tab. I). Nie stwierdzono zależności między masą, wzrostem, BMI a BMD u pacjentek z zespołem Turnera i w grupie C.

W obu grupach badane różniły się wyjściowym stężeniem estradiolu  $E_2(I)$ , które w grupie T wynosiło  $9,2 \pm 4,5$  pg/ml, a w grupie C  $64,7 \pm 12,3$  pg/ml ( $p=0,0000$ ). Stężenie estradiolu  $E_2(II)$  po leczeniu EP u dziewcząt w grupie T wzrosło średnio do  $75,4 \pm 8,6$  pg/ml, w porównaniu do wyjściowego stężenia estradiolu  $E_2(I)$   $p=0,0000$ ). Stwierdzono, że wyższe stężenie estradiolu odpowiada niższej gęstości mineralnej kości  $r = (-0,4876)$ ;  $p<0,0000$  (ryc. 3). Po 4-6 miesiącach stosowania EP stwier-

Tabela I. Wyniki badań hormonalnych i biochemicznych u dziewcząt z zespołem Turnera (T) i w grupie kontrolnej (C).

Table I. Hormonal and biochemical parameters in Turner's syndrome girls (T) and in the control group (C).

Parametry badane	Turner (T)			Control (C)			P* T vs C
	$\bar{x} \pm SD$	min	max	$\bar{x} \pm SD$	min	max	
Cechy pokwitania #	Th1-Th2/P1-P3			Th4-Th5/P3-P4			
Wiek [lat]	22,7±8,2	12,0	39,0	20,8±6,3	13,0	38,0	NS
MC [kg]	45,2±11,0	23,0	66,0	59,7±9,3	24,0	71,3	0,0000
Wzrost [cm]	141,7±8,8	117,0	152,0	164,3±7,7	147,0	182,0	0,0000
BMI [kg/m <sup>2</sup> ]	22,2±3,9	15,0	29,3	22,2±3,2	16,0	33,0	NS
$E_2$ I pg/ml]	9,2±4,5	2,3	23,0	64,7±12,3	44,5	94,1	0,0000
$E_2$ II pg/ml]	75,4±8,6	64,0	91,9	–	–	–	–
$E_2$ I vs $E_2$ II	–	–	–	–	–	–	0,0000
T [ng/ml]	0,47±0,19	0,15	0,89	0,694±0,17	0,33	0,99	0,0000
TSH [mIU/ml]	1,1±0,5	0,7	2,1	1,4±0,4	0,9	2,1	NS
FSH [mIU/ml]	84,5±38,0	12,1	186,9	5,6±2,0	0,54	8,9	0,0000
FSH 2 [mIU/ml]	13,3±6,1	7,4	27,2	–	–	–	–
FSH(T) vs FSH2	–	–	–	–	–	–	0,0000
LH [mIU/ml]	44,1±17,2	15,7	96,6	7,8±3,4	1,66	12,5	0,0000
LH 2[mIU/ml]	8,3±2,2	4,5	13,2	–	–	–	–
LH(T) vs LH2	–	–	–	–	–	–	0,0000
BALP [U/ml]	39,4±7,9	26,4	69,1	40,2±13,5	23,1	88,3	NS
BALP 2 [U/ml]	36,9±7,3	23,0	64,4	–	–	–	–
BALP <sub>%</sub> [%]	6,2±6,6	-17,2	20,0	–	–	–	–
BALP (T) vs BALP2	–	–	–	–	–	–	NS
BALP(T) vs BALP(C)	–	–	–	–	–	–	NS
Ntx [mEBCE/mg/ml CR]	648,6±611,1	2606,1	611,1	49,4±23,6	9,6	105,3	0,0000
Ntx 2 [mEBCE/mg/ml CR]	193,5±79,6	64,0	395,2	–	–	–	–
Ntx <sub>%</sub> [%]	455,1±575,7	5,4	2467,9	–	–	–	–
Ntx (T) vs Ntx2	–	–	–	–	–	–	0,0000
Ntx2(T) vs Ntx(C)	–	–	–	–	–	–	0,0000

$E_1, I, E_2, II$  – stężenie estradiolu wyjściowe i po leczeniu EP;

FSH, LH; FSH 2, LH 2 – stężenie gonadotropin wyjściowe i po leczeniu EP;

BALP ; Ntx – stężenie markerów metabolizmu kostnego;

BALP 2; Ntx 2 – wartość bezwzględna zmiany stężenia markerów po 6 miesiącach leczenia EP;

BALP<sub>%</sub>, Ntx<sub>%</sub> – wartość odsetkowa zmiany stężenia markerów po 6 miesiącach leczenia EP;

# – wg Tannera;

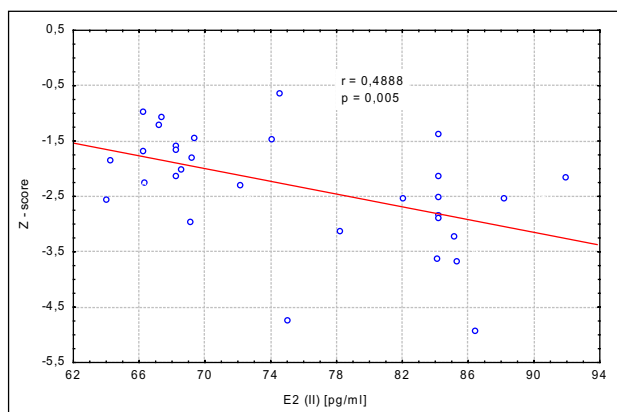
Wzór obliczeń wartości Ntx %, BALP%:[A (2) – A (1)] / A (1) × 100 %

A (1) – stężenie wyjściowe; A (2) – stężenie po leczeniu EP (dla Ntx, BALP);

dzono różne stężenia estradiolu we krwi. Wystąpiła ujemna korelacja między wyjściowymi wartościami BMD(I) i  $E_2$ (II), tzn. wykazano, że im wyższe stężenie estradiolu, tym niższa gęstość mineralna kości. Zależność taka nie wystąpiła w stosunku do wartości wyjściowych  $E_2$ (I) i BMD(I).

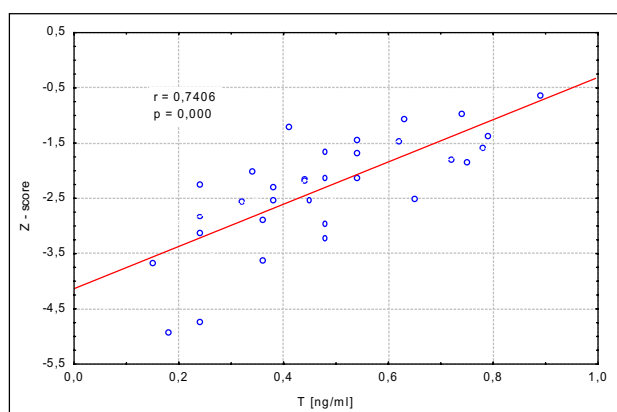
Stężenie testosteronu w grupie T było istotnie niższe w porównaniu do pacjentek z grupy C ( $p < 0,0000$ ), natomiast u kobiet z zespołem Turnera wystąpiła istotna zależność między BMD (I), a stężeniem testosteronu ( $r = 0,5500$ ;  $p < 0,0000$ ), (ryc. 4).

U dziewcząt w grupie T stwierdzono wysokie stężenie gonadotropin FSH i LH w porównaniu do dziewcząt z grupy C ( $p < 0,0000$ ), a po leczeniu EP stężenia te nie różniły się istotnie między badanymi grupami C i T (NS). Nie stwierdzono różnic w stężeniu TSH w obu grupach badanych kobiet.



**Rycina 1.** Średnie wartości gęstości mineralnej kości BMD z-score (coroczne pomiary, I-V) u pacjentek w grupie T.

**Figure 1.** Bone mineral density (BMD) of the lumbar spine (L2-L4) represented as Z-scores in the Turner's syndrome group (T): the results of five subsequent measurements (I-V) performed at yearly intervals.



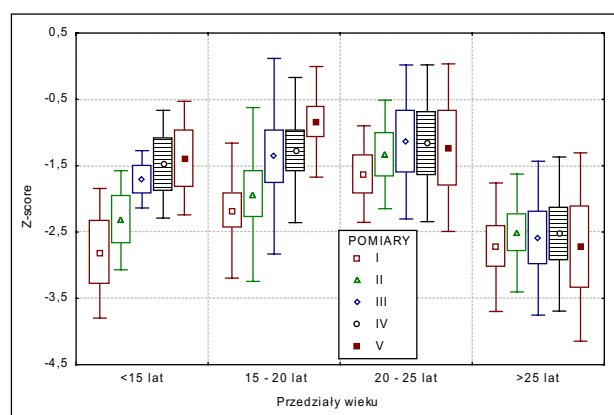
**Rycina 2.** Średnie wartości gęstości mineralnej kości BMD z-score w przedziałach wiekowych, u pacjentek w grupie T (T I i T 5) i w grupie C.

**Figure 2.** Bone mineral density (BMD) of the lumbar spine (L2-L4) represented as Z-scores in age brackets in the Turner's syndrome group (T) and in the control group (C).

Średnie wartości corocznych pomiarów gęstości mineralnej kości, przyrostu masy kostnej, oraz przyrostu BMD minimalnego i maksymalnego, pacjentek z ST leczonych EP, zawarto w tabeli II.

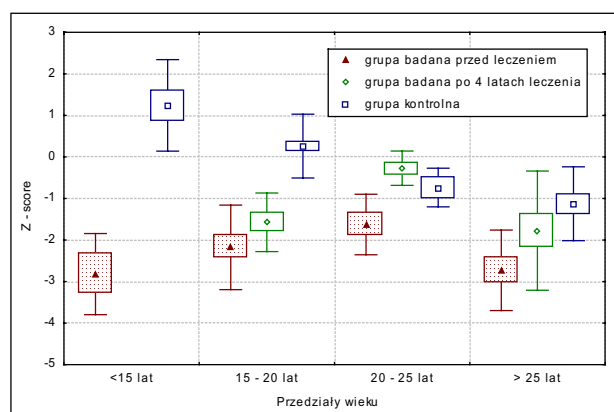
Średni przyrost gęstości mineralnej kości ( $\Delta BMD_{\%}$ ) był największy po pierwszym 7,5% ( $\pm 10,9$ ) i drugim 6,6% ( $\pm 9,5$ ) roku leczenia. Łączny przyrost BMD po 4-5 latach obserwacji średnio wynosił 20% ( $\pm 21,3$ ). Ponieważ stwierdzono znaczną różnicę wartości odsetkowych między przyrostem minimalnym i maksymalnym u pacjentek w poszczególnych latach obserwacji ( $\Delta BMD$  m-m), podzielono wyniki badań densytometrycznych z uwzględnieniem wieku.

Na rycinie 1 przedstawiono graficznie wyniki wartości średnich, corocznych pomiarów gęstości



**Rycina 3.** Korelacja stężenia estradiolu –  $E_2$  z gęstością mineralną kości BMD z-score (I), u pacjentek z zespołem Turnera trakcie leczenia EP.

**Figure 3.** The correlation between serum estradiol ( $E_2$ ) levels and the lumbar spine (L2-L4) bone mineral density (BMD) represented as Z-scores during estrogen-progestin (EP) treatment in the Turner's syndrome group (T).



**Rycina 4.** Korelacja stężenia testosteronu – T z gęstością mineralną kości BMD z-score (I), u pacjentek z zespołem Turnera trakcie leczenia EP.

**Figure 4.** The correlation between serum testosterone level (T) and the lumbar spine (L2-L4) bone mineral density (BMD) represented as Z-scores during estrogen-progestin (EP) treatment in the Turner's syndrome group (T).

mineralnej kości  $BMD_{z-score}$  ( $I \pm V$ ) u badanych w grupie T, a tabela III zawiera analizę statystyczną tych parametrów.

Stwierdzono, że u pacjentek z ST w przedziale wiekowym  $<15$  lat wynik każdego kolejnego, corocznego pomiaru średniej gęstości mineralnej kości był istotnie wyższy w porównaniu do poprzedniego. Podobnie przedstawiały się wyniki corocznych pomiarów BMD u badanych w przedziale wiekowym  $15 \div 20$  lat, ale dopiero po drugim roku leczenia. U pacjentek w przedziale wiekowym  $21 \div 25$  lat pomiary średniej gęstości mineralnej kości były istotnie wyższe w porównaniu do poprzednich tylko po 1 roku leczenia. Nie uzyskano żadnego istotnie wyższego przyrostu BMD w grupach chorych powyżej 25 roku życia.

Porównano wyniki pomiarów średnich wartości gęstości mineralnej kości BMD z-score u pacjentek z zespołem Turnera, wyjściowych (T I) i po czterech latach leczenia estradiolem z gestagenem (T V) do wyników BMD w grupie C, w analizowanych uprzednio przedziałach wiekowych (ryc. 2), a ich wartości liczbowe przedstawiają się następująco: w wieku  $<15$  lat średnia wartość BMD z-score T I wynosiła  $-2,82 \pm 0,9$ , w grupie C  $1,24 \pm 1,1$ ; a w przedziale wiekowym  $15 \div 20$  lat T I  $-2,17 \pm 1,0$  T V  $-1,57 \pm 0,7$ , w grupie C  $0,26 \pm 0,7$ ; w wieku  $21 \div 25$  lat T I  $-1,62 \pm 0,7$ , T V  $-0,27 \pm 0,4$ , w grupie C  $-0,73 \pm 0,4$ ; a w wieku  $>25$  lat T I  $-2,72 \pm 0,9$ , T V  $-1,77 \pm 1,4$ , w grupie C  $-1,12 \pm 0,8$ . Analizę statystyczną tych porównań zawiera tabela IV.

Szczytowa masa kostna u pacjentek z ST jest osiągnięta w trzeciej dekadzie życia. W czwartej dekadzie życia, zarówno w grupie chorych leczonych jak i nie leczonych EP obserwowano obniżenie BMD. Ponadto największy przyrost masy kostnej był osiągnięty w pierwszych dwóch latach leczenia EP.

U badanych w grupie T wyjściowe średnie stężenie markerów metabolizmu kostnego różniło się tylko w zakresie Ntx i wartości te były wyższe w porównaniu do grupy C ( $p < 0,0000$ ). Po 4-6 miesiącach leczenia estroprogestagenami stężenie Ntx2 obniżyło się w porównaniu do wartości wyjściowych ( $p < 0,0000$ ), jednak średnie stężenie Ntx u pacjentek w grupie T po leczeniu EP (tj. Ntx2) nie osiągnęło wartości Ntx u dziewcząt w grupie C i nadal było wyższe ( $p = 0,0000$ ). Stężenia Ntx przed leczeniem i po leczeniu EP różniły się znacznie, oprócz wartości średnich podano w tabeli 1 wartości minimalne i maksymalne.

Stężenie Ntx w grupie T stanowiło  $455,1\%$  ( $\pm 575,7$ ) a BALP  $6,2\%$  ( $\pm 6,6$ ) wartości wyjściowej. Różnica średniego stężenia BALP 2 po leczeniu EP u dziewcząt w grupie T i BALP w grupie C była nieistotna (NS). Stwierdzono, że u badanych z zespołem Turnera stężenia tych markerów zależą od wieku, Ntx [ $r = (-0,4956)$ ;  $p = 0,0001$ ] i BALP [ $r = (-0,2556)$ ;  $p = 0,003$ ]; podobnie taką zależność

wykazano w grupie kontrolnej, Ntx [ $r = (-0,2234)$ ;  $p = 0,003$ ], BALP [ $r = (-0,2237)$ ;  $p = 0,003$ ], natomiast istotnych zależności między stężeniem Ntx, BALP a BMD u pacjentek z zespołem Turnera nie wykazano.

## Dyskusja

Badania BMD u pacjentek z ST podczas leczenia hormonem wzrostu, EP i preparatem anabolicznym, wskazują na znaczący udział tych hormonów w procesie wzrastania i prawidłowej mineralizacji kości. Dotychczasowe badania wykazały, że pacjentki, u których stosowano powyższe preparaty miały wartości BMD prawidłowe [9, 10, 11]. Ostatnie badania Bakalov'a wykazały jednak, że w przebiegu leczenia GH i EP, u tych chorych nie dochodzi do wzrostu BMD w porównaniu do grupy pacjentek, które otrzymywały jedynie EP [12]. Stwierdziliśmy istotnie niższą wyjściową BMD u pacjentek z ST w porównaniu do grupy kontrolnej, co jest zgodne z doniesieniami innych autorów [2, 9, 13]. Po włączeniu leczenia EP największy przyrost masy kostnej obserwowano w pierwszych dwóch latach leczenia i u najmłodszych pacjentek, w grupach do 15 i 20 roku życia. W badaniach Höglera wykazano obniżenie BMD w okresie przedpokwitaniowym w wieku 10-14 lat, natomiast stosowanie estrogenów u dziewcząt powyżej 20 roku życia w niewielkim stopniu wpływa na gęstość mineralną kości [14]. Van Pareren i wsp. uważają, że zawarte w rekomendacjach [15] rozpoczęcie pokwitania po 15 roku życia stanowi kompromis pomiędzy dojrzewaniem kośćca a uzyskiwaniem maksymalnego wzrostu [16].

Wiek osiągnięcia szczytowej masy kostnej u zdrowych dziewcząt w okresie powikłania jest nadal dyskutowany. Wielu badaczy skłania się do opinii, że dziewczęta osiągają szczytową masę kostną do 18 roku życia [17, 18, 19, 20,].

Autorzy ci wykazali, że szczytową masę kostną dziewczęta osiągały już w 14 roku życia, a następnie parametr ten zachowywał „plateau”, a największy przyrost masy kostnej wystąpił przed 16 rokiem życia i wartość ta nie zmniejszała się aż do okresu premenopauzalnego.

Wyniki badań własnych w grupie kontrolnej zdrowych kobiet częściowo są zgodne z doniesieniami powyższych autorów, jednakże zwraca uwagę niska średnia wartość z-score u pacjentek w przedziałach wiekowych powyżej 21 lat. Przypuszczalnie BMD w populacji polskich kobiet w tym wieku jest różna od wartości referencyjnych dla kobiet z bazy danych aparatu LUNAR. Ponadto w grupie tej nie prowadzono badań długofalowych tylko przekrojowe, jak też liczebność tej grupy była zbyt mała by rozważać w niej trend BMD w populacji.

**Tabela II.** Wyniki badań densytometrycznych u dziewcząt z zespołem Turnera obserwowanych długofalowo (n=34);  $\bar{x} \pm SD$ .**Table II.** Results of longitudinal BMD measurements in girls with Turner's syndrome (T) (n=34); values are means  $\pm SD$ .

Pomiar *	BMD [g/cm <sup>2</sup> ]	BMD <sub>%</sub> [%]	BMD z-score [SD]	$\Delta$ BMD <sub>%</sub> [%]	$\Delta$ BMD m-m [%]
I	0,802 $\pm$ 0,134	76 $\pm$ 10,4	-2,26 $\pm$ 1,01	—	—
II	0,848 $\pm$ 0,117	78 $\pm$ 11,0	-2,03 $\pm$ 1,09	7,5 $\pm$ 10,9	-14,0 $\div$ 50,4
III	0,905 $\pm$ 0,149	82 $\pm$ 13,0	-1,67 $\pm$ 1,32	6,6 $\pm$ 9,5	-19,6 $\div$ 34,8
IV	0,913 $\pm$ 0,139	84 $\pm$ 12,0	-1,60 $\pm$ 1,18	0,5 $\pm$ 6,7	-20,4 $\div$ 14,1
V	0,951 $\pm$ 0,148	84 $\pm$ 12,0	-1,32 $\pm$ 1,20	3,2 $\pm$ 5,5	-4,5 $\div$ 24,3
T(V-I)	—	—	—	20,3 $\pm$ 21,3	-22,6 $\div$ 73,2

\* – kolejne pomiary BMD w odstępach rocznych; I – pomiar wyjściowy; T(V-I) – całkowity przyrost masy kostnej po czterech latach obserwacji;  $\Delta$  BMD<sub>%</sub> – różnica pomiędzy kolejnymi rocznymi pomiarami.;  $\Delta$  BMD m-m – minimalny i maksymalny przyrost w kolejnych latach.

**Tabela III.** Wyniki testu Tukeya (post hoc)# dla oceny istotności różnicy BMD z-score między kolejnymi pomiarami (I-V), w grupie T i do grupy C.**Table III.** Results of Tukey's test (post-hoc) evaluating the significance of BMD Z-score differences between the following measurements (I-V)

Pomiary *	Wiek			
	< 15 lat	15 $\div$ 20 lat	21 $\div$ 25 lat	> 25 lat
I	I	I	I	I
II	0,0456*	0,2251	0,0448*	0,2981
III	0,0284*	0,0338*	0,0677	0,6840
IV	0,0096*	0,0056*	0,0742	0,6144
V	0,0069*	0,0000*	0,1141	0,8196

# –  $P_{ANOVA} < 0,0001$ ;  
Dla wszystkich pomiarów (I-V), w porównaniu do grupy C,  $p < 0,0001$ .  
\*Istotność statystyczna dla  $p < 0,05$ ; NS – nieistotne statystycznie.

**Tabela IV.** Wyniki testu Tukeya (post hoc)# dla oceny istotności różnicy średnich wartości BMD z-score w grupie T, przed leczeniem (T I) po leczeniu (T V) i w grupie C.**Table IV.** Results of Tukey's test (post hoc) evaluating the significance of differences between BMD Z-scores in the control group (C) and in the Turner's syndrome group (T) before the start (TI) and after discontinuation (TV) of EP therapy.

Grupy badane	Wiek							
	< 15 lat		15 $\div$ 20 lat		21 $\div$ 25 lat		> 25 lat	
	T I	T V	T I	T V	T I	T V	T I	T V
T I	–	–	–	–	–	–	–	–
T V	–	–	0,3075	–	0,0030*	–	0,1893	–
C	0,0003*	–	0,0001*	0,0001*	0,1670	0,5814	0,0141*	0,3523

# –  $P_{ANOVA} = 0,0000$ ;  
\*Istotność statystyczna dla  $p < 0,05$ .

Cadogan i wsp. [21] donoszą, że szczyt akumulacji masy kostnej występuje w roku menarche, następnie zwalnia się metabolizm tkanki kostnej z powodu działania antyresorpcyjnego estrogenów, czego skutkiem jest obniżenie stężeń markerów metabolizmu kostnego. Osiągają one wówczas wartości takie jak u dorosłych kobiet. W grupie badanej T stwierdzono wysokie stężenie Ntx (szybki metabolizm kostny), podobnie jak w okresie przed menarche u zdrowych dziewcząt, co potwierdza brak wpływu estrogenów w tej grupie, i jest zgodne z doniesieniami innych autorów [22].

Przebieg krzywej mineralizacji kości w grupie pacjentek z ST nie leczonych nie jest płaski, co świadczy o tym, że proces mineralizacji kości zależy nie tylko od estrogenów. Interesujący jest fakt, że w naszych badaniach wystąpiła istotna ujemna korelacja estradiolu E<sub>2</sub>(II) i BMD(I). Brak reakcji wyjściowej gęstości mineralnej kości na stężenie estrogenów przed włączeniem leczenia EP może

stanowiąc swoisty test oporności na endogeny estradiol. Mimo stosowania jednakowych dawek EP (2 mg 17- $\beta$ -estradiolu) osiągnięto różne stężenia estradiolu u tych pacjentek w surowicy. Przypuszczalnie ten fakt można wytłumaczyć osobniczo różną, genetycznie uwarunkowaną odpowiedzią na lek lub farmakodynamiką preparatu EP [23]. Ujemna korelacja może także wynikać z przeciwstawnego działania wysokich lub niskich stężeń estradiolu, wpływających na mineralizację kości: niższe dawki estradiolu być może skuteczniej mineralizują tkankę kostną niż wysokie. Niższe stężenie estradiolu w surowicy krwi można przypuszczalnie wynikać z istniejącego polimorfizmu genów receptorów dla estrogenów w osteoblastach, osteoklastach i w związku z tym różnego wiązania estradiolu z receptorem [24].

Estrogeny są hormonami oddziaływującymi na osteoblasty, w których wzmagają aktywność frakcji kostnej fosfatazy zasadowej, stymulując syntezę

kolagenu typu I i TGF  $\beta$ , osteokalcyny i białek morfogenetycznych kości oraz wpływają także na osteoklasty [25]. Estrogeny przeciwdziałają utracie tkanki kostnej poprzez hamowanie resorpcji, a ich niedobór jest jest sinym bodźcem aktywującym proces przebudowy tkanki kostnej. Podobnie deficyt androgenów powoduje przyspieszenie obrotu kostnego, zwiększenie liczby osteoklastów i utratę masy kostnej. Androgeny ponadto pobudzają proliferację i dojrzewanie osteoblastów, zwiększają syntezę TGF  $\beta$  i kolagenu typu I, oraz uwrażliwiają te komórki na działanie czynnika wzrostu fibroblastów (FGF), oraz insulinopodobnych czynników wzrostu (IGF) szczególnie IGF 2 [26]. Gravholt w 1999 stwierdził obniżone o 25% do 40% stężenia androstendionu, testosteronu wolnego, SHBG i DHT u chorych z ST [27]. W naszych badaniach wykazaliśmy również niższe stężenia testosteronu w porównaniu z grupą kontrolną oraz zależność między jego niskim stężeniem i obniżoną BMD.

Działanie antyresorpcyjne niskich stężeń estrogenów w okresie wczesnego pokwitania (na rok przed menarche i następnie rok po menarche), pogłębia przewagę działania osteogenego osteoblastów nad resorpcyjnym osteoklastów [28]. Jednocześnie brak estrogenów i znacznego obniżenia androgenów u pacjentek z zespołem Turnera powoduje szybki obrót kostny i znaczny niedobór masy kostnej. Potwierdzeniem tego faktu są wyniki naszych badań, gdzie przy braku estrogenów, niskich stężeniach androgenów, znacząco wysokich stężeniach Ntx, świadczących o szybkim obrocie kostnym, stwierdza się obniżoną masę kostną. Ponadto wysoka zależność BMD od androgenów, nawet w zakresie niskich stężeń może tłumaczyć nie tak znaczne obniżenie BMD u pacjentek z ST.

Szczególnie kontrowersyjne u dziewcząt z ST jest rozpoczęcie leczenia estradiolem. Zarówno wiek jak i dawka leczenia jest przedmiotem częstych dyskusji między pediatrami i ginekologami dziecięcymi. Z fizjologii pokwitania zdrowych dziewcząt wynika, że działanie estrogenów rozpoczyna się około 9 roku życia [29]. Ustalenie dawki estrogenów w celu zapoczątkowania pokwitania w ST powinno się ustalać indywidualnie w oparciu o stężenia estradiolu we krwi po podaniu leku, tak aby stężenie to było zbliżone do stężenia u dziewcząt we wczesnym okresie fizjologicznego pokwitania.

Zastosowanie w leczeniu niskich dawek estradiolu, które nie hamowałyby przyrostu wzrostu a stymulowały GH i IGF I, a tym samym wzrastanie i mineralizację kości we wczesnym okresie rozwoju w ST wydaje się, że nie jest pozbawione sensu. Warto rozważyć rozpoczęcie leczenia estrogenami u dziewcząt z ST indywidualną dawką w młodszym wieku, niż wynika to z rekomendacji dla tego zespołu [15].

## Wniosek

1. Uzyskane wyniki badań mogą mieć duże znaczenie w podjęciu decyzji o czasie i dawce leczenia estradiolem u dziewcząt z hipostrogenizmem i niską masą kostną nie tylko w zespole Turnera.

## Piśmiennictwo

1. Conway GS. The impact management of Turners syndrome in adult life. *Clin Endocrinol Metab.* 2002;16:243-261.
2. Gravholt CH, Juul S, Naeraa RW, Hansen J. Prenatal and postnatal prevalence of Turner's syndrome: a registry study. *BMJ* 1996; 312: 16-21.
3. Wiśniewski A. Chorzy na zespół Turnera są wśród Twoich pacjentów. *Klinika* 1993; 7: 40-43.
4. Conway GS. The impact management of Turners syndrome in adult life. *Clin Endocrinol Metab* 2002; 16: 243-261.
5. Even L, Bronstein V& Hochberg Z. Bone maturation in girls with Turner's syndrome. *Eur J Endocrinol* 1998; 138: 59-62.
6. Sass TC, De Muinck Keizer-Schrama SM, Stijnen T et al. A longitudinal study on bone mineral density until adulthood in girls with Turner's syndrome participating in a growth hormone injection frequency-response trial. *Clin Endocrinol* 2000; 52: 531-536.
7. Ortolani S, Cherubini R, Bianchi ML. Spontaneous changes of vertebral bone density before menopause in healthy women: in longitudinal study. *Bone Miner* 1994; 25 (Suppl 2): 275-281.
8. Tanner JM, 1978 Physical growth and development. In: Forfar JO, Arnell CC, eds. *Textbook of pediatrics.* 2<sup>nd</sup> ed. Edinburgh: Churchill Livingstone; 249-303.
9. Davies MC, Gulekli B, Jacobs HS. Osteoporosis in Turner's syndrome and other forms of primary amenorrhoea. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1995; 43: 741-746.
10. Sass TC, de Muinck Keizer-Schrama SM, Stijnen T, van Teunenbroek A, van Leeuwen WJ, Asarfi A, van Rijn RR, Drop SL. Bone mineral density assessed by phalangeal radiographic absorptiometry before and during longterm growth hormone treatment in girls with Turner's syndrome participating in a randomized dose-response study. *Pediatr Res* 2001; 50: 417-422.
11. Lanes R, Gunczler P, Paoli M, Weisinger JR. Bone mineral density of prepubertal age girls with Turner's syndrome while on growth hormone therapy. *Horm Res* 1995; 44: 168-171.
12. Bakalov VK, Van PL, Baron J, Reynolds JC, Bondy CA. Growth Hormone Therapy and Bone Mineral Density in Turner Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004; 89: 4886-4889.
13. Landin-Wilhelmsen K, Bryman I, Windh M, Wilhelmsen L. *Clinical Endocrinol* 1999; 41: 497-502.
14. Höglér W, Briody J, Moore B, Garnett S, Lu PW, Cowell CT. Importance of estrogen on bone health in Turner syndrome: A cross-sectional and longitudinal study using dual energy X-ray absorptiometry. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 193-199.
15. Saenger P, Wikland KA, Conway GS, Dawenport M, Gravholt CH, Hintz R, Hovatta O, Hulterantz M, Ladin-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
16. Van Pareren YK, De Muinck Keizer-Schrama SM, Stijnen T et al. Final height in girls with Turner syndrome after long-term growth hormone treatment in three dosages and low dose estrogens. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 1119-1125.
17. Bonjour JP, Theintz G, Buchs B, Slosman D, Rizzoli R. Peak bone mass. *Osteoporosis Int.* 1994; 4(suppl 1): 7-13.



18. Matkovic V, Jelic T, Wardlaw GM, Ilich JZ, Goel PK, Wright JK, Andon MB, Smith KT, Heaney RP. Timing of peak bone mass in caucasian females and its implication for the prevention of osteoporosis. *J Clin Invest.* 1994; 93: 799-808.
19. Sabatier JP, Guaydier-Souquieres G, Laroche D, Benmalek A, Fournier L, Guillon-Metz F, Delavenne J, Denis AY. Bone mineral acquisition during adolescence and early adulthood: a study in 574 healthy females 10-24 years of age. *Osteoporos Int.* 1996; 6: 141-148.
20. Gordon CL, Halton JM, Atkinson S.A., Webber CE. The contributions of growth and puberty to peak bone mass. *Growth Dev Aging.* 1991; 55: 257-262.
21. Cadogan J, Blumsohn A, Barker ME, Eastell R. A longitudinal study of bone gain in pubertal girls: anthropometric and biochemical correlates *J Bone Miner Res.* 1998; 13: 1602-1612.
22. Gallicchio CT, Figueiredo-Alves ST, Prendin Tortora R, Mendonca LM, Farias ML, Guimaraes MM. Effect of puberty on the relationship between bone markers of turnover and bone mineral density in Turner's syndrome. *Horm Res.* 2004; 61: 193-199.
23. Marez D. i in. Polymorphism of the cytochrome P450 CYP2D6 gene in a European population: Characterization of 48 mutations and 53 alleles, their frequencies and evolution. *Pharmacogenetics.* 1997; 44: 561.
24. Qin YJ, Zhang ZL, Huang QR, He JM, Hu YQ, Zhao Q, Lu JH, Li M, Liu YJ. Association of vitamin D receptor and estrogen receptor-alpha gene polymorphism with peak bone mass and bone size in Chinese women. *Acta Pharmacol Sin.* 2004; 25: 462-468.
25. Robinson JA, Harris SA, Riggs BL, Spelsberg TC. Estrogen regulation of human osteoblastic cell proliferation and differentiation *Endocrinology.* 1997; 138: 2919-2927.
26. Khosla S. The effects of androgens on osteoblast function in vitro. *Mayo Clin Proc.* 2000; 75: 51-54.
27. Gravholt CH, Svenstrup B, Bennet P, Christiansen JS. Reduced androgen levels in adult Turner syndrome: influence of female sex steroids and growth hormone status. *Clinical Endocrinology* 1999; 50: 791-800.
28. Dziedzic-Gocławska A, Wybrane mechanizmy sterujące procesem przebudowy tkanki kostnej wpływające na przebieg osteoporozy. *N Klin.* 2000; 7: 666-674.
29. Apter D, Viinikka L, Vihko R. Hormonal pattern of adolescent cycles. *J Clin Endocrinol Metab.* 1978; 47: 944-948.