

МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ-СОФИЯ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ
КАТЕДРА ПО АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ

**ХОРМОНАЛЕН СТАТУС И КОСТНО ЗДРАВЕ ПРИ
ДЕВОЙКИ В ПУБЕРТЕТНО-ЮНОШЕСКАТА
ВЪЗРАСТ В НОРМА И РАЗЛИЧНИ
ХИПОМЕНСТРУАЛНИ НАРУШЕНИЯ**

Д-Р ДИАНА ИВАНОВА ХРИСТОВА

ДИСЕРТАЦИОНЕН ТРУД

за придобиване на образователна и научна степен

“Доктор“

Научен ръководител: **проф. д-р Милко Маринов Сираков д.м.**

София, 2020 г.

Най-често използваните съкращения:

ACTH – Адrenокортикотропен хормон

AS – Asherman's Syndrome

BMI – Индекс на телесната маса

CAIS – Синдром на пълна андрогенна инсензитивност

DHEA – S – Дехидроепиандростерон сулфат

DXA – Dual X – ray Absorptiometry

ER – Рецептор за Естроген

FHA – Функционална хипоталамична аменорея

FSH – Фоликулостимулиращ хормон

GH – IGH1 – Growth hormone – insulin – like growth factor 1

GH – Растежен хормон

GHRs – Рецептор за растежен хормон

GnRH – Гонадотропин освобождаващ хормон

HOMA индекс – Хомеостазен модел за оценка на инсулиновата резистентност

IGF – 1 – Insulin growth factor - 1

IL – Interleukin

LH – Лутеинизиращ хормон

M – CSF – Macrophage – colony stimulating factor

MRKH – Mayer – Rokitansky – Küster - Hauser syndrome

OPG – Остеопротегерин

PCOS – Polycystic ovarian syndrome/Синдром на поликистозните яйчници

PTH – Паратхормон

RANKL – Receptor activator of nuclear factor kappa – β ligand

SHBG – Секс-хормон свързващ глобулин

T – Тестостерон

TNF – Tumor necrosis factor

TS – Синдром на Търнър

TSH – Тиреостимулиращ хормон

AMX – Анти – Мюлеров хормон

АН – Анорексия нервоза

БН – Булимия нервоза

ВНХ – Вродена надбъбречна хиперплазия

ГТ – Генитална туберкулоза

Е₂ – Естрадиол

ЕПТ – Естроген – прогестеронов тест

КМП – Костна минерална плътност

ПКМ – Пикова костна маса

ПОН – Преждевременна овариална недостатъчност

ПТ – Прогестеронов тест

ХЗТ – Хормоно – заместителна терапия

ХХЯ – хипоталамус – хипофиза – яйчник

Съдържание:

| | |
|---|----|
| 1. Въведение..... | 5 |
| 2. Литературен обзор..... | 7 |
| 2.1 Остеопороза..... | 7 |
| 2.2 Костна тъкан..... | 8 |
| 2.3 Пикова костна маса (ПКМ)..... | 10 |
| 2.4 Пубертет..... | 13 |
| 2.5 Хипогонадотропен хипогонадизъм..... | 15 |
| 2.6 Хипергонадотропен хипогонадизъм..... | 21 |
| 2.7 Еугонадотропен еугонадизъм..... | 27 |
| 2.8 Методи за изследване и оценка на хипоменструалните нарушения..... | 30 |
| 2.8.1 Анамнеза..... | 30 |
| 2.8.2 Физикално изследване..... | 31 |
| 2.8.3 Оценка функцията на ХХЯ – ос..... | 31 |
| 2.8.4 Оценка на костното здраве..... | 34 |
| 2.8.5 Инструментални изследвания..... | 37 |
| 2.8.6 Измерване на костна плътност..... | 39 |
| 3. Цели и задачи..... | 41 |
| 3.1 Цели..... | 41 |
| 3.2 Задачи..... | 41 |
| 4. Материали и методи..... | 42 |
| 4.1 Клиничен материал | 42 |
| 4.2 Статистически методи..... | 49 |
| 5. Резултати..... | 52 |
| 5.1 Възрастова характеристика на контингента..... | 52 |
| 5.2 Menarche..... | 54 |
| 5.3 Групиране по причини водещи до аменорея..... | 55 |
| 5.4 Индекс на телесната маса – ИТМ (BMI)..... | 57 |
| 5.5 Клиниколабораторни параметри..... | 61 |
| 5.6 Ултразвукова оценка..... | 79 |

| | |
|---|------------|
| 5.7 Стадии на пубертетно развитие по Tanner..... | 81 |
| 5.8 Сравнителен анализ на изследваните показатели в разглежданите групи..... | 86 |
| 5.9 Сравнителен анализ на изследваните показатели в разглежданите групи при участнички до и на 14 годишна възраст..... | 87 |
| 5.10 Сравнителен анализ на изследваните показатели в разглежданите групи при участнички над 14 годишна възраст..... | 89 |
| 5.11 Вътрегрупово сравнение на изследваните показатели..... | 91 |
| 5.12 Диагностична надеждност на АМН..... | 103 |
| 5.13 Оценка серумните нива на витамин D в изследваните групи..... | 108 |
| 5.14 Корелационен анализ между изследваните показатели..... | 110 |
| 6. Обсъждане..... | 113 |
| 6.1 Хормонални констелации при основните групи хипоменструални нарушения..... | 113 |
| 6.2 Диагностична стойност на АМН..... | 118 |
| 6.3 Костно здраве..... | 119 |
| 6.4 BMI и връзката му с основните изследвани показатели..... | 124 |
| 6.5 Vitamin D и Ca – P обмяна..... | 126 |
| 6.6 Стадии на пубертетно развитие и костен метаболизъм..... | 127 |
| 7. Заключение..... | 129 |
| 8. Общи изводи..... | 130 |
| 9. Приноси..... | 132 |
| Литература..... | 133 |

1. ВЪВЕДЕНИЕ

Остеопорозата е социално значимо заболяване, което засяга повече от 40 % от всички жени над 50 години. Клиничната изява на това заболяване е в зряла възраст, но нерядко се залага в детството и юношеството. Към днешна дата остеопорозата се нарежда на второ място след сърдечно - съдовите заболявания, като изпреварва онкологичните.

Патогенезата на остеопорозата е свързана с намалена костна маса и костна крехкост, поради недостигане на оптимална пикова костна маса, повишена костна загуба или неадекватно заместване на изгубената кост дължащо се на ниско костно формиране. Пиковата костна маса се достига главно в пубертетно - юношеския период и е многофакторно обусловено, като основния процент се пада на нормалните хормонални нива и взаимодействията помежду им. През пубертета главна роля за костното формиране и минерализация играят половите хормони, като го постигат чрез активиране на различни сигнални пътища, цитокини и директно повлияване на активността на костните клетки. Натрупването на костна маса нараства петкратно през пубертета и при момичетата е най-изразено между 11 и 14 – годишна възраст. Натрупаната само за 3 – 4 години, по време на пубертета, костна маса е почти равна на костната загуба за период от 30 години след настъпване на менопаузата.

Нормалният менструален цикъл отразява хипоталамо - хипофизарната регулация на яйчниковата дейност и ендометриалните цикли. Липсата на менструация за период по-дълъг от 3 месеца се приема като анормално дори в ранните години след настъпването на menarche. Отлагането на диагностиката и лечението на състояния свързани с нарушения в менструалния цикъл може да доведе до редуциране на костната плътност. Установено е, че при млади жени до 20 годишна възраст с менструални нарушения е по-вероятно да се наблюдава ниска костна плътност в сравнение с жени, които имат менструални нарушения след тази възраст. Рано настъпилото menarche се свързва с ранно установяване на овулаторни цикли и стабилен хормонален ритъм, докато късното му настъпване може да отнеме 8 до 12 години, докато всички менструални цикли станат овулаторни.

В литературата се срещат редица проучвания свързващи различните хипоменструални нарушения в юношеска възраст с нарушен хормонален баланс и неадекватно достигане на пикова костна маса.

В България задълбочени проучвания по въпроса липсват. Предназначението на този научен труд е дефиниране на състоянията в детско - юношеската гинекология свързани с

риск за недостигане на оптимална ПКМ, което би спомогнало за своевременно и акуратно диагностициране, лечение и превенция на остеопорозата в по-късен етап от живота на жената. Откриването на зависимост между различните хипоменструални нарушения и свързаните с тях промени в костния метаболизъм би могло да спомогне за ранна диагноза и адекватна терапия на тези пациенти, за намаляване на инвалидизацията и разходите за лечение в по-късна възраст.

2. ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР

2.1 Остеопороза

Остеопорозата е прогресивно системно заболяване, което се характеризира с ниска костна плътност и нарушения в микроархитектониката на костта, повишаващи костната чупливост и риска от фрактури. През последните десетилетия в света се развива истинска епидемия от остеопороза и остеопорозни фрактури, като честотата им нарастна повече от 2 пъти. Понастоящем около 40 % от всички жени над 50 - годишна възраст са претърпели поне едно счупване. През 2000 г. остеопорозата е определена като третото социално значимо заболяване в света (след сърдечно - съдовите и онкологичните), с прогноза да заеме второ място през 2020 г. Днес тя вече се е доближила до второто място, изпреварвайки онкологичните болести (1). Остеопорозата се появява в зряла възраст, но нередко се залага в детството и юношеството. Въз основа на тези данни в началото на настоящия век, по инициатива на Международната фондация по остеопороза, бе обявена програма, наречена “Инвестиция в здрави детски кости”, чиято основна идея е изграждането на колкото се може по-здрави кости по време на детството, като една от най-добрите превантивни мерки срещу остеопорозата в по-късна възраст.

На планетата приблизително 200 милиона души страдат от остеопороза. Очаква се до 2030 година броят на остеопорозните фрактури да се удвои. Счупването на бедрената шийка води до повишение с 10 – 20 % на смъртността в рамките на една година.

В България 92 000 жени имат поне една остеопорозна фрактура на прешлен. Над 4000 жени си чупят годишно бедрената шийка и 800 от тях умират до една година от усложненията от фрактурите. (2)

Класификация на остеопорозата:

1. Първична остеопороза

1.1 Постменопаузална или тип 1 – типична за жените между 45 и 65 години.

Дължи се на рязкото отпадане на яйчниковата функция.

1.2 Сенилна или тип 2 – над 70 – 75 годишна възраст. Предопределя се от намаления прием на калций и витамин Д с храната – най-общо от процесите на стареене.

1.3 Идиопатична (ювенилна) – при лица под 45 – 50 годишна възраст.

2. Вторична остеопороза

2.1 Свързана с определени заболявания: хронична бъбречна недостатъчност, тиреотоксикоза, хиперкортицизъм, инсулинозависим захарен диабет, хронична чернодробна недостатъчност, малабсорбция и др.

2.2 При прием на медикаменти, повлияващи костната маса – глюкокортикостероиди, антиконвулсанти, хипнотици, шитовидни хормони и др. (2)

Патогенезата на първичната остеопороза е свързана с намалена костна маса и повишена костна крехкост, защото или:

- не е достигната оптимална пикова костна маса (ПКМ)
- е висока костната загуба от повишена резорбция
- е неадекватно заместването на загубената кост в резултат на ниско костно формиране

Костната маса при зрял индивид е крайният резултат от два процеса: достигане на ПКМ по време на юношеството и поддържането на костна плътност в периода на средна и напреднала възраст (3).

2.2 Костна тъкан

Човешкото тяло е съставено от 206 кости, които се делят на два типа: плоски (череп, скапула, мандибула) и дълги кости (тибия, фемур, хумерус), с два различни типа развитие – интрамембранозно и ендохондрално. развитието и растежа на дългите кости включва и двата типа клетъчни процеси. Основната разлика между двата типа клетъчни процеси е наличието на хрущялен модел в последния. (4)

Костната тъкан не е инертна структура, необходима само за калциевата хомеостаза, мобилността на човешкото тяло и защитата на хемопоеичната система. Тя е специализирана и минерализирана съединителна тъкан с три основни функции: механична, протективна и не на последно място – метаболитна функция, като в последно време се приема съществуването и на четвърта ендокринна функция на костната тъкан. (4,5)

Дългите кости са съставени от три части: епифиза, диафиза и метафиза, като в детска възраст площта между епифизата и метафизата се нарича растежна пластина (growth plate), пространство изпълнено с хрущялна тъкан. Това е пространството, чрез което костите нарастват на дължина. Когато растежът приключи, растежната пластина се замества от костна тъкан. (6)

Костната тъкан бива – кортикална и трабекуларна, като те са изградени от едни и същи клетки, които обаче са структурно и функционално различни. Основно структурните разлики са количествени: 80 – 90 % от кортикалната кост е калцифицирана, докато при трабекуларната процентът е само 15 – 25 %. Кортикалната кост изпълнява главно механична и протективна функция, а трабекуларната кост участва главно в метаболитната функция на костната система. (4)

Костен матрикс:

Костният матрикс е съставен от колагенови фибри (тип I колаген – до 90 %), неколагенови протеини и минерална съставка представена от хидроксиапатитни кристали. Основният неколагенов протеин е Osteocalcin, който формира около 1 % от матрикса. Той играе роля в стабилизирането на хидроксиапатитните кристали и регулацията на костното формиране. (5,6)

Костни клетки:

Костната тъкан е съставена от три типа клетки: остеобласти, остеоцити и остеокласти. Главната функция на *остеобластите* (произлизащи от мезенхимни стем клетки) е изграждането на нова костна тъкан, като в процеса на изграждане те синтезират и отделят алкална фосфатаза и остеокалцин (които се използват като маркери за костното формиране). Чрез синтезиране и отделяне на остеоласт трансформиращ фактор RANKL (osteoclast transforming factors RANKL) и остеопретегерин (OPG) се контролира активността на остеокластите. Когато RANKL се свързва с RANK (експресиран върху остеоластни прекурсори и остеокласти), той активира остеокластите и намалява остеоластната апоптоза, като по този начин увеличава костната резорбция. Свързването на OPG с RANKL довежда до блокирането му и невъзможност да се свърже към него RANK, което води до намаляване активността на остеокластите и увеличава остеоластната апоптоза. Остеокластите от своя страна секретират sclerostin и по този начин контролират активността на остеобластите. (36)

Остеокластите са кост - резорбтивни клетки произлизащи от макрофагеални прекурсори. Матурацията на остеокластите от макрофаги се медира от Macrophage-colony stimulating factor (M - CSF). Сам по себе си M - CSF трябва да бъде активиран от Tumor necrosis factors (TNFs) и RANK/RANK-ligand (RANKL) – част от TNF суперсемејството. Под влиянието на RANKL няколко макрофагеални клетки прекурсори се сливат и формират остеоласт. RANKL се секретира от остеобластите под въздействие на паратхормон (PTH),

витамин D (1,25(OH)₂D), PTHrP и някои цитокини. Има изобилие от PTH – рецептори върху повърхността на остеобластите и изключително малко върху остеокластите, което показва, че костната резорбция трябва да бъде индиректно медирана от остеобластите.

Третият и най-многоброен вид костни клетки е представен от групата на *остеоцитите*, които произлизат от зрели остеобласти. Тяхната функция е да поддържат здравината на костната тъкан, като чрез множество израстъци се свързват помежду си и участват във формирането на т.н. Хаверсовите системи. Тези костни клетки са ключов източник на sclerostin, явяващ се антагонист на Wnt- сигналния път, отговорен за намаляване на костното формиране. (7, 8, 19, 20, 21)

Костно ремоделиране:

Костното формиране и костната резорбция са координирани процеси водещи до заменяне на старата костна тъкан с нова, с което се постига промяна във формата, плътността и архитектурата на скелета. При здрави млади индивиди около 30 % от общата скелетна маса се подновява всяка година. Остеокластната костна резорбция продължава три дни, възстановяването трае 14 дни, а костното формиране 70 дни. Костното формиране и растеж показват значително покачване през пубертета и превалят над костната резорбция. (4, 9)

2.3 Пикова костна маса (ПКМ)

Пиковата костна маса е максималната костна маса, която се натрупва по време на растежа и развитието. (10, 11) Непрекъснатият растеж на костите и минерализация на костното вещество към 18 – 19 - годишна възраст води до достигане на пикова костна маса (до 90 % от ПКМ се достига до 20 годишна и само 10 % до 30 годишна възраст). Костната плътност нараства във всички кости, като преди пубертета е предимно в дългите периферни кости, а през пубертета – в централния скелет. (12, 13) Изчислено е, че повишение с 10 % на ПКМ може да отложи началото на остеопорозата с 13 години. За сравнение 10 % увеличение на КМП в периода на менопауза или намаляване на костната загуба със същия процент при неменопаузални жени (след пубертета), би забавило началото на остеопорозата само с две години. (10)

В резултат на множество епидемиологични проучвания е възможно да се предскаже, че увеличението на ПКМ с 10 % (1 SD) може да намали фрактурния риск с 50 % при жени в постменопауза. (17, 18) Натрупването на костната маса в гръбначния стълб нараства 5 -

кратно през пубертета и е най-изразено между 11 и 14 - годишна възраст при момичетата. Установено е, че при момичетата натрупана костна тъкан само за 3 - 4 г. по време на пубертета е почти равна на костната загуба за период от 30 години след настъпване на менопаузата. Този теоретичен анализ показва, че достигане на оптимална ПКМ може да бъде един от най-важните фактори за превенция на остеопорозата в по-късен етап от живота на жената (14, 24, 165).

Фактори обуславящи достигане на ПКМ:

- генетични 60 – 80 %
- етническа принадлежност и раса (черната раса достига по-висока ПКМ от бялата раса)
- здравословно състояние
- оптимален прием на калций и витамин D
- оптимална двигателна активност
- нормални хормонални нива
- вредни навици

До пубертета основно значение имат тиреоидните хормони, паратироиден хормон (PTH), растежен хормон (GH) и системата GH - IGH1 (growth hormone – insulin - like growth factor 1), а през пубертета и след него – половите хормони. Значителен процент от ПКМ се достига по време на две годишния период на усилен растеж на височина в пубертета. Затова пубертетната възраст се определя като критичен период за достигане на оптимална ПКМ. (12, 14, 39) Костната тъкан получава множествени сигнали не само от класическите хормони регулиращи калциевата обмяна (напр. PTH, калцитонин, естрогени и андрогени), но също така и от други тъкани, чрез ендокринни и паракринни пътища на повлияване. (26)

Половите хормони имат значителна роля в костното формиране и минерализация. Естрогените имат по - важно значение за достигане на ПКМ, но на практика, естрогените и прогестеронът действат заедно във всяка тъкан на женския организъм. Естрогените играят позитивна роля в костната биология и превенция на остеопорозата. Налице са доказателства, че след хирургически настъпила менопауза и резкия спад в естрогенните нива, нивата на костно деструктивните цитокини като IL - 1, IL - 9 и TNF - α се повишава много бързо, повишено е и бъбречното излъчване и е намалена интестиналната резорбция на калций, което довежда до повишена костна резорбция по пътя на стимулиране секрецията на PTH.

Естрадиолът постига своя позитивен ефект главно чрез активиране на вит. D зависимата резорбция на калций в тънките черва и супресия на костната резорбция посредством OPG/RANK/RANKL системата. Загубата на естрогени води до намаляване активността на OPG и последващо повишаване на костната резорбция, вследствие активация и липса на супресия върху активността на RANK/RANKL. Естрогенни рецептори (ER α и ER β) са идентифицирани, както върху остеобластите, така и върху остеокластите и по този начин те регулират метаболизма на костната тъкан, главно чрез стимулиране на остеобластната активност и потискане на остеокластната резорбция. (31) Естрогените влияят върху костния търновър индиректно като редуцират продукцията на IL - 6 , инхибират продукцията на PGE и ефекта на PTH върху остеобластите. Те потискат остеобластната и остеочитна апоптоза, индуцирана от различни проапоптични стимули при *in vitro* проучвания. (15, 16) Естрогените стимулират костното формиране, чрез редуция на клетъчния синтез на OPG, повишават продукцията на M - CSF и RANKL и водят до намаляване синтеза и секрецията на анти – анаболния фактор sclerostin (Wnt – рецепторен антагонист). Минималното серумно ниво на естрадиол, което има позитивно влияние върху костния метаболизъм е 40 – 50 pg/ml (20, 21, 63)

Налице са *in vitro* проучвания за способността на прогестерона да повишава броя на остеобластите, тяхната матурация и диференциация. Медроксипрогестеронът включен като циклична терапия във физиологична доза води до повишаване на костната минерална плътност /КМП/ при пременопаузални здрави жени с хипоталамична аменорея, олигоменорея, ановулация или къса лутеинова фаза на менструалния цикъл. Няколко проучвания, при които са изследвани маркери за костно формиране и резорбция, са показали, че във фоликуларната фаза маркерите за костна резорбция в урината се повишават, а в лутеиновата фаза се наблюдава покачване на маркерите за костно формиране. Chiu et al. намират, че маркера за костна резорбция деоксипиридинолин (D – Pyp) е повишен през фоликуларната фаза спрямо лутеиновата фаза на менструалния цикъл. За съжаление, авторите не са направили диференциация между овулаторен и ановулаторен цикъл. Те са заключили, че нормално жената преживява месечно епизоди на повишена костна резорбция от настъпването на menarche до менопаузата (22, 23). Прогестеронът осъществява действието си върху остеобластите посредством P4R (нуклеарни рецептори за прогестерон на остеобластите) и Wnt/b сигналната система и по този начин повишава техния брой и формирането на костен матрикс. (25)

2.4 Пубертет

Пубертетът е резултат от активирането на хипоталамо – хипофизарно – гонадната (HPG) ос. Характеризира се с увеличаване на амплитудата и честотата на секреция на гонадотропин освобождаващи хормони (GnRH), които от своя страна водят до повишена секреция на фоликулостимулиращия хормон (FSH) и лутеинизиращ хормон (LH) от хипофизата, и последващо активиране на яйчниковата функция. В общата популация menarche или първата менструация в живота настъпва обикновено между 11 и 14 годишна възраст (средно 12 години и 6 месеца), като тази възраст варира в различните държави и е по-висока в развиващите се в сравнение с развитите страни. (27, 29, 156)

Менструацията е външната проява на отпадащата ендометриална лигавица при неосъществена бременност. Честотата на менструалното кървене е в зависимост от овулацията и дължината на лутеиновата фаза. За нормален менструален цикъл се приема интервал между две нормални менструални кръвотечения от 28 дни (21 до 35 дни).

Кръвотечението продължава средно 4 дни (2 - 7 дни). Всяко маточно кръвотечение извън описаните параметри се счита за отклонение от физиологията на нормалния менструален цикъл. Липсата на менструация за период повече от три месеца се приема като анормално, дори и в ранните години след настъпване на menarche. Отлагане на диагноза и лечение на състояния свързани с нарушен менструален цикъл може да доведе до редуциране на костната плътност. При 25 % от младите момичета отнема повече от пет години, за да се диагностицира първична овариална инсуфициенция. Забавеното диагностициране и адекватно лечение води до намаляване на костната минерална плътност. (28)

Рано настъпило menarche се свързва с рано установяване на овулаторни цикли. Когато първата менструация настъпи по-рано от 12 години, 50 % от менструалните цикли са овулаторни през първата година след menarche. При късно настъпило menarche може да отнеме осем до дванайсет години, докато всички менструални цикли станат овулаторни. Късно настъпилата първа менструация и менструалните нарушения са важен рисков фактор за развитието на остеопороза по-късно в живота. (29, 30)

Hergenroeder et al. намират, че при двадесет годишна жена, при която 50 % от менструалните цикли са пропуснати, поради хипоталамична аменорея, е много вероятно да има понижена костна минерална плътност и с повишен риск от развитие на остеопороза по-късно в живота. Пубертетната възраст е асоциирана с ускорена костна минерализация и по-

специално на трабекуларните кости (гръбначен стълб и шийката на фемура). Теглото и пубертетното развитие са в позитивна връзка с натрупването на КМП при adolescentни момичета. (32)

Gordon et Nelson посочват следните състояния свързани с аменорея и потенциален риск за загуба на костна маса:

- Хипоталамичен произход/хранителни разстройства
 - Анорексия нервоза
 - Млади момичета атлети
- Хипофизарна патология
 - Хиперпролактинемия
 - Хипопитуитаризъм
- Хипогонадизъм
 - Идиопатична преждевременна овариална недостатъчност
 - Turner синдром
 - Системни заболявания (таласемия майор, галактоземия)
- Ятрогенна аменорея
 - GnRH терапия
 - Депо-medroxyprogesteron acetate терапия (14)

В зависимост от хормоналната констелация и нивото на засягане (ХХЯ) водещо до изявата на аменореята:

- Хипогонадотропен хипогонадизъм
 - Хранителни разстройства - анорексия нервоза (АН), булимия (БН),
 - Стрес и свръх физическо натоварване индуциран хипогонадизъм
 - GnRH дефицит
 - Хипопитуитаризъм
 - Хиперпролактинемия
- Еугонадотропен – еугонадизъм
 - Бременност
 - Ашерман синдром
 - Мюлерови дизгенезии
 - Синдром на поликистозните яйчници (PCOS)

- Хипергонадотропен – хипогонадизъм
 - Яйчникови дисгенезии
 - Преждевременна овариална недостатъчност (ПОН)
 - Пълна андрогенна нечувствителност
 - Вродена надбъбречна хиперплазия (48)

Според *Световната Здравна Организация (СЗО - WHO)* нарушенията в дейността на ХХЯ – ос се разделят на три групи:

- I^{va} - група - обхваща всички състояния характеризиращи се с хипогонадотропен хипогонадизъм
- II^{pa} - група - еугонадотропен еугонадизъм - обхваща широк спектър от ендокринни нарушения
- III^{га} - група – хипергонадотропен хипогонадизъм – възникнал вторично, след отпадане на яйчниковата функция (154)

2.5 Хипогонадотропен хипогонадизъм

При млади момичета с ниско тегло, аменорея, ановулация, неадекватна лутеинова фаза на менструалния цикъл се наблюдава намалена КМП. При момичета занимаващи се активно със спорт и такива болни от **Анорексия нервоза (АН)** се наблюдават нарушения в костната минерализация. (32) Ниска КМП е често усложнение при пациенти страдащи от анорексия нервоза, като при 38 % от тях се наблюдава остеопороза, а при 92 % остеопения. Нарушеният костен метаболизъм при това заболяване е многофакторно обусловен: хормонални промени и изразен дефицит, намаляване анаболния ефект на мускулните съкращения, което е последица от общото редуциране на телесната маса и силно редуциран калориен прием. Анаболния ефект на мускулните съкращения при здрави индивиди се проявява чрез супресия върху секрецията на sclerostin от остеокластите, което в крайна сметка води до ново образуване на костна тъкан от остеобластите чрез стимулиране на сигналния път на wnt/ β - катенин. Пациентите страдащи от АН имат високи нива на sclerostin, ниски серумни нива на маркерите за костно формиране и високи на тези за костна резорбция в сравнение със здрави контроли. (37, 38, 40)

В едно проучване, сравняващо жени с АН и конституционално обусловена грацилност, се установяват сходна КМП и сходна микроструктура на трабекуларната и кортикална костна тъкан на дисталния радиус. Следователно грацилни жени (BMI < 18.5

kg/m²) с ниска КМП може да представляват група с повишен фрактурен риск. (33) От друга страна тежестта на костната загуба при пациенти болни от АН е много по-голяма отколкото при пациентки с хипоталамична аменорея, но с нормално тегло. Тези различия идват не само от дефицита на естрогени, но и от GH резистентност, ниските нива на IGF - 1, хиперкортизолемията и ниските нива на тестостерон, които се наблюдават при това заболяване. (40)

АН е вид хранително разстройство. По-често засяга момичета в пубертетно-юношеска възраст, по времето когато трябва да се достигне оптимална ПКМ. (36). Редукция на костната маса се наблюдава дори след кратък период от началото на заболяването. Нещо повече, момичета с ранно начало на заболяването (в периода около menarche) имат по-ниска костна маса от тези заболели в по-късна възраст (след 20 годишна възраст). До остеопения води не само алиментарния дефицит, но и хормоналния дисбаланс. За тези момичета е характерна първична и вторична аменорея, а оттам и естрогенов дефицит. Vachrash et al. намират положителна връзка между промяната в ВМІ и промяната в КМП в областта на гръбначния стълб при млади момичета с подобрене в телесното тегло, дори и преди нормализиране на менструалните цикли. (34) Leslie et al. не намират връзка между костната плътност, менструалния статус и естрогенните нива у момичета болни от АН, което може да се дължи на факта, че дори след нормализиране на менструалните цикли, голяма част от тях остават ановулаторни. (12, 35)

При възрастни пациенти с АН, увеличаването на телесното теглото и регулирането на менструалните цикли са свързани с 3 % годишно увеличение на КМП на гръбначния стълб и 2 % на бедрото, в сравнение с годишно намаление на КМП от около 2,5 % и на двете места при тези пациенти, които не се възстановяват и заболяването персистира. Нещо повече - самостоятелно повишаване на ВМІ води до повишаване на КМП в областта на бедрото, а нормализирането на само на менструалните цикли – до повишаване на КМП в областта на гръбначния стълб. (41)

Остеопения (дефинирана като $-1.0\text{ SD} \geq \text{T-score}$ до $> -2.5\text{ SD}$) се наблюдава при 92 %, а остеопороза (дефинирана като $\text{T-score} \geq -2.5\text{ SD}$) при 38 % от жени с АН. При по-малко от 15 % от пациентките с това заболяване се наблюдава нормална КМП. (42) Важно е да се отбележи, че според *International Society for Clinical Densitometry (ISCD)*, когато става въпрос за пациенти в детско-юношеска възраст, се използват термините - “ниска костна маса или костна минерална плътност” (дефинирана като $\text{KMP Z-score} \leq -2.0\text{ SD}$).

Не се препоръчва използване на термина “остеопения“ при тази възрастова група. За остеопороза при деца и юноши може да се говори само, когато има доказателства за фрактури, дължащи се на това заболяване, като например компресионни вертебрални фрактури. (43, 58)

Булимията (БН) е второто по честота хранително разстройство засягащо девойки в юношеска възраст. Честотата на това заболяване е 1 - 2 % при млади жени и е 10 – 20 пъти по-често срещано при жени отколкото при мъже. Въпреки поддържане на нормално тегло при тези пациентки често се наблюдават менструални нарушения, като при 7 – 40 % от тях са с вторична аменорея, а 37 – 64 % с олигоменорея. За сравнение честотата на вторична аменорея в общата популация е между 2 – 5 %.

Механизмът на поява на вторична аменорея при БН е все още не напълно ясен. Ниските нива на LH и FSH говорят за инхибиране функцията на хипоталамуса и нарушена координация между оста хипоталамус - хипофиза – яйчник. Добре известен факт е, че 25 – 30 % от пациентите с БН имат предишна история за АН, което заболяване се свързва с ниска КМП. Няколко ендокринни нарушения наблюдавани при БН се свързват с появата на ниска КМП, а именно:

- ниски нива на E_2 , водещи до менструални нарушения
- високи нива на циркулиращ кортизол и АСТН (адрено – кортико – тропен хормон)
- ниски нива на тиреоидни хормони, които са есенциални за поддържане на растежа на скелета и ремоделирането му (44, 45, 46)

Степента на костна загуба корелира с продължителността на менструалните нарушения и индекс на телесната маса (ВМІ). Въпреки че, концепцията за лечението на ниска КМП е достигане на нормално телесно тегло и нормализиране на менструалните цикли, множество проучвания сочат, че ниската КМП може да персистира дълго след достигане на тези две терапевтични цели. (47)

Системни тежки физически натоварвания при девойки се свързват главно с три нарушения на репродуктивната функция: късно менархе, дисфункция на лутеалната фаза на менструалния цикъл и аменорея. (49, 50) Обикновено менструалните цикли са били нормални и постепенно стават нерегулярни и прогресират до аменорея, което съответства на повишаване интензитета на физическите натоварвания, особено когато са съпроводени със загуба на тегло. Съществува хипотеза за критично ниво на мастната тъкан, която е необходима за настъпване на menarche и регулиране на менструалните цикли., както следва – 17 % за menarche и 22 % за регулярни менструални цикли. Според тази хипотеза

ексцесивно натоварване и/или малнутриция може да доведат до редуциране на мастната тъкан под критичния минимум и да дадат като резултат първична или вторична аменорея. (87)

През 1992 г. Американският колеж по спортна медицина въвежда термина “триадата на жени атлети“, за да опише трите най-чести нарушения, които се срещат при жени атлети, а именно: хранителни разстройства, аменорея и остеопороза. (51, 60)

Сигнификантна остеопения засягаща трабекуларните кости се наблюдава при жени атлети с анамнеза за аменорея. (52, 53) Костната загуба се явява вторично в резултат на хипоестрогенизма и надделява над положителният ефект на физическите упражнения върху здравината и ремоделирането на костите. (54, 55)

Менструалните нарушения могат да бъдат – *първична аменорея* (липса на менархе до 15 годишна възраст или липса на развитие на вторични полови белези до 13 години), *вторична аменорея* (липса на менструация за 3 поредни месеца при нормални менструални цикли преди това или липса на менструация за 6 поредни месеца при нередовни менструални цикли преди това) или *опсоменорея* – менструации на повече от 35 дни, но регулярно настъпващи.

В проучването си Askerman et al. посочват, че КМП в лумбалната област (КМП Z-scores) при атлети с липсваща менструация (аменорея) е по-ниска в сравнение с атлети с нормални менструални цикли. Въпреки че честотата на изява на трите нарушения едновременно е ниска – от 0 до 1.2 %, по отделно тя нараства 2.7 – 27 % (две от проявите) и от 16 – 60 % (една от проявите). (56, 57, 59) В други проучвания се докладва за известен протективен ефект на физическото натоварване върху костите, въпреки че костната плътност при изследваната група атлети е по-ниска от тази при здрави контролни групи. (237)

Функционалната хипоталамична аменорея (ФНА) е една от най-честите причини за вторична аменорея. Има три типа ФНА: в резултат на загуба на тегло, в резултат от ексцесивни физически натоварвания (гореописани) и стрес индуцирана.

И трите състояния се характеризират с хипогонадотропен хипогонадизъм и нарушена пулсативна секреция на GnRH, както и последващо нарушение в секрецията на LH и FSH. Като крайни последици се явяват комплекс от хормонални нарушения манифестиращи се с тежък хипоестрогенизъм. (61,66)

Според *American Society of Reproductive Medicine*, ФНА е причина за 20 – 35 % от случаите с вторична аменорея и приблизително 3 % от тези с първична аменорея. (62)

Механизмът, по който стресът, бил той психичен (остър или хроничен) или соматичен (загуба на тегло или екстремни физически натоварвания), влияе върху функцията на хипоталамуса, е все още не напълно изяснен. Смята се, че различни стресогенни фактори активират оста хипоталамус – хипофиза – надбъбрек и потискат активността на хипоталамус – хипофиза – щитовидна жлеза и хипоталамус – хипофиза – яйчникова ос. При пациентки с ФНА индуцирана от психосоматичен стрес се наблюдават повишени серумни нива на кортизол и нарушения в пулсативната секрецията на ЛН. Невроните в областта на хипоталамуса, синтезиращи и секретирани GnRH, имат рецептори за опиоидните пептиди – β – ендорфини, невропептид Y (NPY) и катехоламини.

Невротрансмиситерите повлияват функцията на хипоталамуса посредством γ -аминобутирова киселина (GABA), която отваря същите натриеви канали в хипоталамусните неврони, на които действат и μ – опиоидрецепторните агонисти (β – ендорфини). GABA инхибира GnRH - генната експресия и подтиска покачването на GnRH преди пубертета. (64, 65)

По-рядко причина за хипогонадотропн хипогонадизъм може да бъде **изолираният GnRH дефицит**, които е клинично и генетично хетерогенен с повече от 25 идентифицирани гена, които могат да бъдат причина за възникването му. (73) При 40 % от пациентите се наблюдава нормално обоняние, а при останалите 60 % - такова липсва (Kallmann syndrome).

Честотата на това заболяване е ниска. 1 - 4:10 000 при мъже и почти 3-5 пъти по-ниска при жени. Характерно за това състояние е първична аменорея и липса на развити вторични полови белези, ниски серумни нива на гонадотропни и полови хормони. (67, 69, 71) Този вид патология обикновено се диагностицира в детството или преди очакваното започване на пубертета, но ако това стане в зряла възраст, при тези пациенти често се наблюдава забавено костно съзряване, остеопения и остеопороза. (68, 70, 73) При жените това състояние се диагностицира обикновено твърде късно и само в 58 % пациентките получават адекватна терапия преди 18 годишна възраст. (72)

Хиперпролактинемията е хетерогенен синдром, като може да бъде първична при пролактином или вторична вследствие на микропролактинемия, прием на медикаменти и стрес. Честотата ѝ в общата популация е < 1 %, но у жени с вторична аменорея е 10 - 40 %. В общата популация честотата на пролактиномите е 30 : 100 000 при жени и три пъти по-малко при мъже. Те са най-разпространените тумори на хипофизата – 32 % до 66 %. (75)

Хиперпролактинемията води до хипогонадизъм, инфертилитет, галакторея, но може да протича олиго- и асимптомно. Хиперпролактинемичния хипогонадизъм се свързва с различни нарушения в цикличната яйчникова дейност – ановулаторни цикли, скъсяване на лутеиновата фаза, олигоменорея, аменорея.

Vartej et al. сравняват двайсет млади жени с пролактином (хиперпролактинемия) с деветдесет здрави контроли. При жените с пролактином те са наблюдавали отчетливо по-ниска костна маса в сравнение със здравите участнички в изследването (14).

Хиперпролактинемията може да засегне функцията на ХХЯ ос на всички нива. Най-често води до нарушаване в пулсативната секреция на GnRH от хипоталамуса. Пролактинът директно повлиява функцията на яйчника, като потиска синтеза и секрецията на естрогени и прогестерон, като също така антагонизира стимулиращия ефект на FSH върху яйчниковата ароматаза и потиска нейната активност. (74)

Хипогонадотропният хипогонадизъм може да бъде вследствие от **хипопитуитаризъм**, което състояние се дефинира като дефицит на два или повече хормона, секретирани от хипофизата. В някои случаи може да се подозира при параклинични данни за неонатална хипогликемия, докато в юношеската възраст трябва да се има в предвид при частично или липсващо начало на пубертет и нисък за съответната хронологична възраст ръст. Най-честите причини водещи до хипопитуитаризъм са неопластични и възпалителни заболявания, автоимунни процеси, травми и ятрогенно предизвикан, като може да бъде вродено или придобито състояние. (76) Редукцията на КМП при тези пациенти се дължи не само на хипоестрогенемията, но и на дефицита на растежен хормон (GH). Естрогените повлияват експресията и функцията на рецепторите растежен хормон (GHRs) в различните тъкани на човешкото тяло, като естрогенни рецептори ($ER\alpha$) се откриват в хипоталамуса и хипофизата. Има доказателства за наличието на $ER\beta$ в соматотрофите, но и двата типа рецептори участват в регулацията на GH - генната експресия. Гонадотропната и соматотропната ос имат застъпващи се роли по отношение на костния растеж, като GH и естрогените заедно стимулират остеобластната пролиферация. (77)

Конституционално обусловен късен пубертет (CDP) може да бъде диагностициран само тогава, когато бъдат отхвърлени всички патологични състояния водещи до изява на първична аменорея. CDP е най-честата причина за късен пубертет с честота 2.5 % - 3 %. Това състояние се приема като вариация на нормалното развитие, а не като заболяване и дори оставени без терапия засегнатите лица се очаква да развият вторични полови белези спонтанно, макар и по-късно от техните връстници. (238)

При момичета с CDP обичайно липсва развитие на вторични полови белези при навършени 13 години. (215) В повечето случаи състоянието се унаследява автозомно доминантно предимно по майчина линия (50 – 75 % от пациентите имат фамилна обремененост).

Момичетата с CDP обикновено са напълно здрави индивиди с нормални серумни стойности на гонадотропните и половите хормони (212, 214) макар, че в редица статии се съобщава за по-скоро ниски нива на LH, FSH и Estradiol. (213)

Характерно за тези пациентки е по-малка от хронологичната костна възраст. При жените късното начало на пубертета се е свързва с повишен риск от развитие на остеопороза. (215) В други проучвания се съобщава за липса на значима разлика в костната плътност и маркерите за костен метаболизъм при сравняването на пациенти с CDP и здрави контроли. (238)

2.6 Хипергонадотропен хипогонадизъм

Хипергонадотропният хипогонадизъм в детско – юношеска възраст най-често се дължи на гонадна дисгенезия, която е генетично обусловена малформация, характеризираща се с липса на герминативни клетки в рудиментарно развити гонади, състоящи се само от съединителна тъкан и хилусни клетки (т. нар. streak - gonads).

Различават се следните синдроми свързани с гонадна дисгенезия: X0 – гонадна дисгенезия – *синдром на Turner* (TS), XX – *гонадна дисгенезия* и XY- гонадна дисгенезия – *синдром на Swyer*.

Водещ симптом при тази патология е първичната аменорея. Добре известен факт е, че цитогенетичните аномалии на X – хромозомата водят до увреждане на яйчниковото развитие и функция. Проучвания на индивиди с кариотип 46, XX и такива с различни варианти на X – хромозомно засягане потвърждава, че са необходими две интактни X – хромозоми за нормално развитие на ооцитите. (93)

Честотата на TS е 25 – 50 на 100 000 живородени деца от женски пол. Кариотипът може да бъде 45, X0 (чиста гонадна дисгенезия), но може да бъде и мозайка – 45,X0/46,XX или 45,X0/46,XY. Пациентите с TS се нуждаят от ГН включен като терапия на ниския ръст в ранна детска възраст и хормоноаместителна терапия (ХЗТ), по късно преди започване на пубертета, за да се развият вторичните полови белези, за постигане на ПКМ, както и нормални размери на матката. (78, 79)

Независимо от различията във фоликуларната плътност, при мозаицизъм, повечето пациентки с TS развиват клинична картина на ПОН (80 %) и само 5 – 10 % имат регулярни нормални менструални цикли. (217)

Остеопороза при тези пациентки може да се развие в резултат на вродени структурни дефекти на костите и съединителната тъкан, но по-често поради естрогенният дефицит. Липсата на спонтанно отключване на пубертета при тези пациентки се свързва с последваща ниска КМП и недостигане на оптимална ПКМ, нещо повече – предпубертетните серумни нива на естрадиола са много ниски в сравнение със здрави контроли. Фактът, че остеопения при пациентки с TS се диагностицира главно в късния предпубертетен период, показва важната роля на естрогените в натрупването на КМП в периода 10 – 14 години.

Ролята на естрогените е подкрепена от проучване, в което КМП е по-висока при пациентки с TS, които са имали спонтанни менструални цикли в сравнение с такива с предизвикан пубертет. Главната разлика между двете групи е предпубертетната експозиция на естрогени. (80) Липсата на покачващи се естрогенни нива при TS през пубертета води до неадекватен растеж на кортикалната кост и липса на естроген - медираната фаза на отлагане на трабекуларна кост. Значителен дефицит в кортикалната кост се проявява още в детска възраст и обикновено се асоциира с нисък костен търновър. (81)

Park et al. съобщават, че пациентките с гонадна дисгенезия имат сигнификантно по-ниска костна минерална плътност (кортикална и трабекуларна) в сравнение със здрави контроли. Те правят заключение, че при тези пациентки недостигането на ПКМ е резултат от липсваща гонадна активност през пубертета. (228) Само 3 до 5 % от девойките с TS имат спонтанни менструации и развити вторични полови белези. При тези пациентки обикновено се наблюдава мозаицизъм и кариотипът е 46, XX/45,X0. (88)

Sun et al. намират, че повишените нива на FSH водят до повишаване на остеокластната костна резорбция и костна загуба при опитни мишки, посредством повишаване на нивата на TNF - α (82), но при пациентки с хипергонадотропен хипогонадизъм това не се потвърждава. (83)

Breuil съобщава в свое проучване за повишаване на костната маса и нормализиране на маркерите за костен метаболизъм при пациентки с гонадна дисгенезия след приложение на терапия с естрогени, което подкрепя твърдението, че естрогенният дефицит е водещ фактор за загуба на костна плътност при тези пациентки. (226)

Синдром на Swyer е изключително рядък, с честота 1 на 100 000, като в някои проучвания се докладва по-голяма честота – 1 на 80 000. Генотипът на тези пациенти е 46,XY, но са с женски фенотип. (84, 86) При около 30 % от тях се открива мутация на SRY-гена, а в останалите 70 % генните дефекти остават неизвестни.

Синдромът се характеризира с женски гонади, липса на вторични полови белези и първична аменорея (хипергонадотропен хипогонадизъм). Ранното поставяне на диагноза е от изключителна важност поради няколко причини: първо - съществува риск от злокачествени заболявания засягащи ивичестите гонади (поради високия малигнен потенциал на Y - хромозомата), второ - ранно включване на естрогенна терапия за индуциране на пубертета и не на последно място - ХЗТ, за да се достигне оптимална ПКМ. (85)

XX – гонадната дисгенезия е рядка, с честота 1 на 10 000. Може да възникне спорадично или фамилно и е хетерогенно обусловена. Фамилната форма се наследява автосомно – рецесивно и е свързана с мутация на гена за FSH – рецептора локализиран върху хромозома № 2. FSH е антиапоптичен фактор за гранулозните клетки и при дефект в неговия рецептор, обграждащите овоцитите гранулозни клетки загиват ускорено, което води до последваща дегенерация на овоцитите. 46, XX гонадна дисгенезия може да бъде част от полималформативен синдром, както в съчетание с малкомозъчна атаксия, когнитивни затруднения, невросензорна глухота (Perrault syndrome), чуплива X - хромозома. Може да се дължи на засягане на гените кодиращи LH, FSH, както и на техните рецептори. Среща се в съчетание с нарушения на въглехидратния метаболизъм (галактоземия). В някои случаи се обсъжда и ПОН, но в други съществува ПОН без данни за гонадна дисгенезия. (89)

Преждевременна овариална недостатъчност (ПОН) се характеризира със загуба на яйчниковата функция преди 40 годишна възраст. Среща се с честота около 1 %. ПОН всъщност обхваща хетерогенен спектър от състояния – хромозомни аномалии (синдром на Turner - 45,X0, делеции или транслокации засягащи X хромозомата и др.), 10-15 % от жените с ПОН имат фамилна анамнеза за това заболяване, автоимунни механизми, инфекции (туберкулоза, малария, варицела, шигела, цитомегаловирус и херпес симплекс), ятрогенно повлияване (химио- и лъчетерапия), като се очертават два основни механизма: фоликуларна дисфункция или изчерпване. ПОН не е синоним на преждевременна менопауза. При част от пациентките са наблюдава спонтанно възобновяване на яйчниковата функция, след като е била поставена диагноза (3 – 10 %). Най-често ПОН се

проявява с вторична аменорея или различни менструални нарушения свързани с естрогенов дефицит. В 25 % от случаите диагностицирането на проблема отнема повече от пет години, което заедно с естрогеновият дефицит довежда до намаляване на костната плътност. (90, 91, 92)

Дори при жени с интермитентна загуба на яйчниковата функция е уместно да се включи ХЗТ с цел да се предотврати ускорената костна загуба. (94) Пациентки с ПОН са показали по-висок риск от фрактури в сравнение с пациентки развили остеопороза, поради различни от ПОН причини (като хипертиреоидизъм, лечение с кортикостероиди, хиперпаратиреоидизъм). (95)

Синдромът на пълна андрогенна нечувствителност (синдром на Morris – CAIS) е Х – свързано заболяване и е едно от най-честите нарушения на половото развитие и е резултат от мутация на гена, кодиращ рецептора за андрогени. Честотата на този синдром е 4,1 на 100 000 живородени от женски пол. Кариотипът на тези пациенти е 46, ХУ и поради наличието на Y- хромозома, гонадите са тестиси. Липсата на активни андрогенни рецептори в организма обаче води до изява на женски фенотип. Антимюлеровият хормон (АМХ) продуциран от тестисите води до регресия на мюлеровите структури и липса на маточно тяло, шийка и горна трета на влагалището през итраутробното развитие на плода.

Най - често клиничната картина включва ингвинална (много рядка при женски пол) или лабиална херния в детството и първична аменорея в периода на пубертета. Характерно за този синдром са високи базални нива на тестостерон и LH (доказателство за нарушената обратна връзка с предния дял на хипофизата), като в същото време обикновено серумните нива на FSH са нормални. Нивата на E₂ са нормални за мъжкия, но ниски за женския пол.

При повишени серумни нива на АМХ и тестостерон при новородени трябва да се заподозре тази диагноза и да се изключи наличието на гонадна дисгенезия. (96,97) При пациенти с CAIS обикновено пубертетът закъснява и след започването му, промените настъпват по-бавно в сравнение със здрави момичета на същата възраст.

При тези пациентки гърдите са развити, както и натрупването на мазнини от женски тип в резултат от действието на естрогените получени от периферната ароматизация на тестостерона. Липсва пубисно и аксиларно окосмяване или то е много слабо изразено, поради зависимостта му от действието на андрогените. Пациентките с CAIS обикновено са по-високи от здравите момичета на тяхната възраст. (98) ХЗТ се включва след гонадектомия, която се извършва по различно време от развитието, но най-често - в края на пубертета. По този начин се купират симптомите свързани с хипоестрогенизма. Когато

гонадектомията е направена в детството (преди пубертета), той се индуцира, поддържат се вторичните полови белези и се постига оптимална КМП. (99)

При жени с CAIS, при които не са отстранени гонадите се открива ниска КМП в лумбалната област на гръбначния стълб, докато в областта на бедрената шийка се тя е нормална. (100)

В други проучвания се открива редуцирана КМП в областта на гръбначния стълб и бедрената шийка, но не се намира връзка между възрастта, на която е направена гонадектомията, а също и след извършването ѝ не откриват промяна в КМП. (101) Според Han et al. андрогените играят ключова роля в минерализацията на кортикалната кост при жени с CAIS, най-вероятно посредством ER - а или директно чрез периферната им ароматизация до естрогени. Те намират, че по-късно извършената гонадектомия може да доведе до достигане на по-висока КМП. (102)

Вродената надбъбречна хиперплазия (ВНХ) е автозомно рецесивно заболяване дължащо се на ензимен дефект в стероидогенезата на надбъбречните жлези водещ до нарушен синтез на кортизол. В зависимост от вида и тежестта на стероидния блок може да се засегне синтеза на глюкокортикоиди, минералкортикоиди или на половите стероиди.

Клиничната картина варира от сол – губеща форма в периода на новороденото, съчетана с атипични гениталии, до хирзуитизъм и нарушени менструални цикли в по-късна възраст. В 95 % от случаите ВНХ се дължи на 21 – хидроксилазен дефицит характеризиращ се с нарушен синтез на кортизол и алдостерон и с излишък на надбъбречни андрогени – класическа форма, като тя се разделя на сол – губеща и негубеща. (103) При сол – губещата форма диагнозата обикновено се поставя в периода на новороденото поради екстремно ниската активност на ензима, което води до тежък дефицит на кортизол и алдостерон и развитие на картина на надбъбречна криза – повръщане, дехидратация, хипогликемия, хипотензия, хиперкалиемия, хипонатриемия през първата седмица след раждането. При негубещата – сол форма активността на 21– хидроксилазата е много ниска, но достатъчна за синтез на кортизол и алдостерон. И при двете форми съществува вирилизация на външните полови белези, изразяваща се в различна степен на сливане на лабиите и клиторомегалия. Възрастните с това заболяване са по-ниски в сравнение със здравите индивиди на тяхната възраст, поради преждевременния пубертет индуциран от високите нива на надбъбречните андрогени. В много проучвания се съобщава за висок ВМІ наблюдаван при деца, юноши и възрастни с ВНХ в сравнение с общата популация (особено при млади момичета). Проучвания при възрастни показват редуцирана КМП при тези

пациенти. (104) 21 – хидроксилазният дефицит има честота 1 на 12 000 живородени момичета (тежките форми на класическа ВНХ) и 1 на 2500 за леките форми манифестиращи се през пубертета. (105)

Наблюдаваните при тези пациенти менструални нарушения вариращи от опсоменорея, аменорея, ановулаторни менструални цикли или менометрорагии, основно се дължат на повишените нива на надбъбречните андрогени съчетани с ненавременна или инсуфициентна кортикостероидна терапия. Именно дълго прилагана заместителна терапия с кортикостероиди е в основата на намалената КМП, остеопенията и остеопорозата при пациенти с това заболяване. (106)

5 α – редуктазен дефицит – 2 е друго заболяване част от семейството на нарушенията в сексуалното развитие. Кариотипът на тези пациенти е 46, XY, но външните полови органи са женски с или без клиторомегалия. 5 α – редуктазата превръща тестостерона в дехидротестостерон, който е метаболитно активен и е отговорен за маскулинизирание на външните гениталии. Тестостеронът не е достатъчен сам по себе си да поддържа постнаталната вирилизация. (107, 108)

Изследвания на възрастни пациенти с 5 α – редуктазен дефицит – 2 (при които не са отстранени гонадите и не е даване ХЗТ) показват, че КМП при тях не се различава от тази при здрави контроли. (109) При последващи измервания на КМП се стига до извода, че дехидротестостеронът не е нужен за поддържане на нормалното костно здраве. (110)

Това автозомно – рецесивно заболяване е много рядко срещано, като са описани 24 семейства със засегнати 38 деца в Доминиканската република, където вътреродствените бракове са разрешени. Впоследствие се съобщава за такива случаи и в Южен Ливан и Турция. (111, 112, 113) Клиничната изява е разнообразна, варираща от външно женски гениталии със сляпо завършващо влагалище, до напълно мъжки фенотип с хипоспадия и микропенис, крипторхизъм (с нормална или намалена сперматогенеза) и рудиментарна простата. Тестисите обикновено се намират двустранно в ингвиналните канали. При някои индивиди те могат да бъдат намерени в лабиоскроталните гънки или задържани в корема.

При около 2/3 от пациентите при раждането се определя женски фенотипен пол на гениталиите. Поради нормалното действие на Мюлеровия инхибиращ фактор, произвеждан от тестисите в утробата, при лицата с 5 α – редуктаза липсват матка и фалопиеви тръби. (114, 115, 116) В България до момента са диагностицирани 4 случая с 5 α – редуктазен дефицит – 2, при които поначало е била поставена диагноза CAIS. (117)

2.7 Еугонадотропен еугонадизъм

Представител на еугонадотропния еугонадизъм е **синдромът на поликистозните яйчници (Polycystic ovarian syndrome - PCOS)**. PCOS е хетерогенно ендокринно заболяване, което засяга 1 на 15 жени в световен мащаб. Водещото ендокринно нарушение характеризиращо този синдром е прекомерната андрогенна секреция или активност. Голяма част от засегнатите жени имат и абнормна инсулинова активност. (118)

Обикновено това заболяване се отключва по време на юношеството, като клиничната му изява се характеризира с ановулаторни цикли (аменорея, опсоменорея, нерегулярни менструални цикли) в комбинация със симптоми произлизащи от хиперандрогенемията (хирзутизъм, акне, алопеция). При ехографското изследване се установяват уголемени яйчници, с множество 8 - 10 милиметрови фоликули, разположени субкапсуларно.

Параклинично при синдрома се откриват повишени серумни нива на андрогени и LH, докато серумните нива на FSH обичайно са нормални, хиперинсулинемия съчетана с инсулинова резистентност. Поради разнообразното представяне на синдрома, *European Society for Human Reproduction and Embryology (ESHRE)* и *American Society for Reproductive Medicine (ASRM)* приемат диагнозата да се поставя при изпълнение на поне два от т. нар. „*Ротердамски критерии*“:

- Ултразвукови данни за поликистозни яйчници
- Ановулаторни менструални цикли
- Данни за андрогенен излишък – клинични и/или параклинични (119)

Етиологията на това заболяване е все още ненапълно ясна. Съобщава се за дефект в thesa-клетките на яйчника, който довежда до прекомерния синтез на андрогени. В множество проучвания се посочват генетична предиспозиция, включително и етнически произход.

Едно от базисните нарушения при този синдром е покачването на серумните нива на LH и нарушено съотношение между LH и FSH. Параклиничната характеристика на пациенти с PCOS е: повишени серумни нива на LH и нормални на FSH. Смята се, че то се дължи на повишена честота на освобождаване на GnRH от хипоталамуса, което довежда до хиперфункция на thesa – клетките.

Нерядко се наблюдават също така и инсулинова резистентност дължаща се на пострецепторен дефект в мастната тъкан и мускулите (абнормно фосфорилиране на тирозин киназата) или дисфункция на β - клетките на панкреаса, както и затлъстяване.

Трудно е да се прецени кое от гореизброените е причина и кое следствие. (120) Серумните нива на E_2 се сравними с тези при здрави контроли, но все пак са по-ниски стойности като остават константни по време на целия менструален цикъл.

АМН обикновено е със значимо по-високи стойности при пациентки с PCOS, независимо дали са с обезитет и данни за андрогенен излишък, въпреки че в други проучвания статистически значима разлика между здрави контроли и тези пациентки не се намира. (222, 223)

Нивата на инсулина са по-високи от тези при здрави жени на същата възраст.

При пациентки с PCOS се открива значително по-ниска КМП в сравнение със здрави контроли, което може да се свърже с нарушенията на менструалните цикли – ановулацията и свързаните с това много ниски серумни нива на прогестерона. (121)

В други проучвания се докладва за позитивният ефект на хиперинсулинемията върху КМП, който влияе чрез директно стимулиране на остеобластите от инсулина и индиректно чрез потискане продукцията на sex hormone binding globulin (SHBG) и на insulin-like growth factor binding protein (IGFBP).

Ниските нива на SHBG и IGFBP най-вероятно са отговорни за повишената бионаличност на половите хормони и на Insulin Growth Factor (IGF). (122, 123)

Друг фактор имащ позитивен ефект върху КМП е хиперандрогенемията, която действа чрез директния си стимулиращ ефект върху остеобластите и индиректно – чрез периферна си ароматизация до естрогени. Предполага се, че андрогените могат да доведат до намаляване на синтеза на interleukin - 6 (IL - 6), да инхибират продукцията на простагландини и да потиснат ефекта на PTH върху остеобластите. (124, 125)

По-голямата част от пациентките с PCOS са с висок BMI, което предпазва от аменорея/олигоменорея индуцираната костна загуба. Адипоцитите и стромалните клетки в мастната тъкан експресират P450 ароматаза, чрез която надбъбречният и яйчниковият тестостерон и андростендион се конвертират до 17β - естрадиол и естрон. На второ място механичното натоварване стимулира образуването на костна тъкан чрез намаляване на апоптозата и увеличаване на пролиферацията и диференциацията на остеобластите и остеоцитите, посредством Wnt/ β - catenin сигналния път.

Повишаване на BMI се свързва с повишение на КМП. Съобщава се за по-нисък риск от остеопорозни фрактури при жени с наднормно тегло в сравнение с тези с нормален и особено поднормни стойности на BMI. (246, 247) Ravn et al. сравняват жени с обеситас с еднакви по възраст жени с нормално тегло и стигат до заключение, че при първата група има значително по-нисък риск от развитие на остеопороза. (248) От друга страна обеситетът може да доведе до костна загуба, чрез стимулиране образуването и отделянето на проинфламаторни цитокини - IL - 6 и на tumour necrosis factor - α , които стимулират остеокластната активност. (126, 127)

Аменорея, характеризираща се с еугонадотропен еугонадизъм се наблюдава при Мюлеровите дисгенезии дължащи се на нарушения в сливането на двата мюлерови канала. **Meyer – Rokitansky – Kuster – Hauser (MRKH) syndrome** е една от най-честите причини за първична аменорея. Честотата му е 1 на 4500 живородени момичета. Характеризира се с утеровагинална аплазия при нормален женски фенотип и 46, XX кариотип.

MRKH се разделя на два типа: тип 1 (MRKH I) – изолирана форма и тип 2 (MRKH II), която е съчетана с екстрагенитални малформации.

Повечето от случаите възникват спорадично, но се съобщава и за засегнати семейства, което показва вероятно наличие на генетична причина. Типът на унаследяване е автозомно – доминантен с непълна пенетрация и променлива експресия.

При MRKH II в 40 % от случаите се наблюдават бъбречни аномалии (едностранна бъбречна агенезия, ектопия на единия или двата бъбрека, бъбречна хипоплазия, подковообразен бъбрек, хидронефроза). Най-честите скелетни аномалии са със засягане на гръбначния стълб в 30 – 40 % - Klippel – Feil аномалия и сколиоза. Мюлерова хипоплазия, бъбречна агенезия и дисплазия на цервикоторакален сегмент описват една от най-тежките форми на MRKH II. Много по-рядко може да се съчетае с невросензорна глухота, сърдечни малформации. (128, 129)

Клиничната изява на синдрома е първична аменорея на фона на добре развити вторични полови белези, нормален кариотип и нормално функциониращи яйчници без данни за андрогенен излишък. (130, 131) При пациенти с MRKH серумните нивата на FSH, LH и 17 β - oestradiol са нормални, което е показател за ненарушената яйчникова функция. (132) При тези пациентки гонадите са незасегнати. Не се наблюдават отклонение в серумните нива на половите хормони и костната плътност.

Синдромът на Asherman (AS) се характеризира с интраутеринни или ендцервикални адхезии, които могат да доведат до хипоменорея/аменорея, нарушен

фертилитет, аборт и нарушена плацентация. Около 90 % от случаите с AS възникват след свързан с бременност кюретаж. (133) Синдромът може да се развие и без наличие на бременност вследствие инфекции или хирургични намеси. Противоречиви са мненията за инфекцията като фактор за развитие на интраутеринни адхезии. Единствено гениталната туберкулоза води до деструкция на ендометриума и облитерация на маточната кухина. (134)

Гениталната туберкулоза (ГТ) е рядко срещано заболяване в развитите страни, докато в развиващите се страни е с много висока честота. На ГТ се дължат 15 – 20 % от екстрапулмоналната туберкулоза. Инфекцията засяга най-често мукозата на фалопиевите тръби (90 - 100 %) следвана от ендометриума (70 – 90 %), яйчниците (20 - 25 %), маточна шийка, влагалище и вулва – 1 %. Разпространението на *Mycobacterium tuberculosis* е по хематогенен път, лимфогенно или по съседство, но винаги инфекцията на гениталиите е вторична, след първично засягане на белите дробове. (135, 136, 137)

AS се среща след оперативна корекция на Мюлерови дефекти – отстраняване на интраутеринни септуми и метропластики за корекция на uterus duplex. (138) При итактни яйчници не се наблюдават отклонения в параклиниката, серумните нива на половите хормони и костната плътност.

2.8 Методи за изследване и оценка на хипоменструалните нарушения

Детайлно снетата анамнеза, общия и гинекологичен преглед, параклиничните изследвания обикновено са достатъчни за разпознаването на най-честите причини водещи до нарушения на менструалните цикли и за поставянето на вярна диагноза. Във всеки един случай, разбира се, трябва да се изключи бременност. (139)

2.8.1 Анамнеза

Пациентките трябва да бъдат разпитани за хранителните им навици, физическо натоварване, стрес, за промени в теглото, предишни менструации, хронични заболявания и прием на медикаменти, галакторея, симптоми свързани с андрогенен излишък, функция на щитовидната жлеза. Фамилната анамнеза трябва да включва възраст на menarche, заболявания, които се предават по наследство. (139, 140)

2.8.2 Физикално изследване

Измерване на височина, тегло, BMI, степен на пубертетно развитие по Tanner. Развитието на гърдите е отличен маркер за продукцията на естрогени от яйчника.(141) Акне, наличие на признаци на вирилизация, хирзутизъм предполагат хиперандрогенемия. (142) При преглед на външните полови органи трябва да се търсят признаци на вирилизация – клиторомегалия, сливане на лабиите, гинатрезии или малформативен или липсващ орган.

Обръща се внимание на ръста (необичайно нисък или висок), на евентуално наличие на полов инфантилизъм, pterygium coli, на ниско разположени малформативни ушни миди (асоциират с TS) (143, 144), както и на висок ръст, добре развити гърди и липса на пубисно и аксиларно окосмяване съчетани с първична аменорея (асоциира се с CAIS). (145)

2.8.3 Оценка функцията на ХХЯ – ос

Изследване на абсолютните стойности на LH, FSH, както и на съотношението LH/FSH – в кръвна проба, взета на 3 – 7 ден от началото на менструалното кървене, както и на естрадиол, пролактин и тестостерон.

Диференциална диагноза:

При нормални серумни нива на **LH и FSH**, развити гърди, ако чрез ултразвуково изследване се открие хематоколпос най-вероятната диагноза е гинатрезия.

При нормални стойности на LH и FSH и ехографски данни за липса на матка – Мюлерови агенезии или CAIS. При случаите с MRKH – серумните нива на тестостерон са в нормални за жените нива, докато при CAIS тестостеронът е нормален за мъжки индивиди. (141) При покачване на нивото на LH и повишено съотношение LH/FSH (нормално то е под и около 1) – PCOS.(146)

Ако серумните нива на **LH и FSH** са ниски и ехографски се визуализира матка, диагнозата по-нататък зависи от пубертетното развитие по Tanner. Тук се включват – конституционално обусловен късен пубертет, GnRH – дефицит, FHA – индуцирана от алиментарен дефицит, стрес или прекомерно физическо натоварване. (141)

При високи серумни нива на LH и FSH, съизмерими с тези в менопаузата – синдром на Swyer, TS и чиста гонадна дисгенезия, ПОН. (91, 147, 209, 211)

Естрадиол (E₂) – при пациенти с FHA E₂ е с много ниски стойности съответстващи на състоянието на хипоестрогенизъм, характерно за този вид менструално разстройство.

При пациенти с трайно ниски стойности на E₂ (под 20 pg/ml) – единственият тест за разграничаване на FHA от хипогонадотропен хипогонадизъм е чрез екзогенен GnRH. При хипогонадотропния хипогонадизъм отговорът на LH ще бъде слаб. Нивата на E₂ са много ниски стойности и при ПОН, хиперпролактинемия, неklasическа ВHX. При PCOS E₂ обикновено е на долна граница на нормата, като в средата на цикъла не показва характерният преовулаторен пик (24 – 36 часа преди очакваната овулация). (220)

Пролактин (Prl) – изследва се от венозна кръв взета сутрин между 08:00 и 10:00 часа, след половин час покой. Стрес, физически натоварвания, някои медикаменти водят до умерено покачване нивата на хормона, докато наличието на аденом води до стойности много над горната референтна граница. При хипо - и хипергонадотропния хипогонадизъм нивата на пролактина остават нормални. В 5 - 30 % от пациентите с PCOS се наблюдава лекостепенно повишение на нивото на пролактина. (148, 149)

Тестостерон (Т), андростендион и дехидроепиандростерон сулфат (DHEAS) – изследват се при съмнение за PCOS и CAIS. По-показателен е свободният тестостерон, който представлява биологично активната част от общия тестостерон. Т при PCOS може да бъде и в нормални граници, но по-често е горнограничен.

DHEAS (маркер за андрогенна продукция на надбъбречните жлези) и **андростендион** (маркер за андрогенна продукция на яйчниците) обичайно са в нормални референтни граници. (149) При CAIS Т е в нормални за мъжките индивиди стойности. (150)

Допълнително могат да се изследват **Тиреостимулиращ хормон TSH** (за да се изключи патология на щитовидната жлеза), **17 – ОН - прогестерон** (късна форма на ВHX), **имунореактивен инсулин и глюкоза на гладно** (изчислява се НОМА индекс при PCOS).

Анти - Мюлеров хормон (AMX) – синтезира се от гранулозните клетки на антралните и преантралните фоликули от 36 гестационна седмица и играе роля в контрола на фоликуларния растеж.

При мъжки пол се наблюдават високи стойности веднага след раждането, като се задържат такива до настъпване на пубертета. При женски пол след раждането серумните нива на AMX са ниски и се покачват постепенно по време на детството до пубертета, като след това остават относително стабилни до тридесетата година.

Повишени стойности се наблюдават при късен пубертет, PCOS, а ниски стойности има при гонадна дисгенезия, хипогонадотропен хипогонадизъм, ПОН.

Нормални стойности на AMX се наблюдават при пациенти с функционална хипоталамична аменорея. (151-153, 210, 211, 216, 221)

Високата диагностична надеждност на АМХ като сурогатен маркер допълващ критериите на Ротердам в диагностичния процес на пациентки с PCOS е доказана в множество проучвания. (258 - 263)

Visser and Lunding съобщават за обещаващи резултати по отношение на АМН, а именно за ниски до неоткриваеми стойности при повечето пациентки с липсващо развитие на спонтанен пубертет и нормални стойности при повечето момичета със спонтанно настъпил пубертет. (210, 264)

Hagen et al. правят заключение, че АМН има висока чувствителност и специфичност, и може да бъде ползван за оценка овариалната функция при здрави момичета и такива с гонадна дисгенезия. (217)

Прогестерон – не се налага неговото измерване, тъй като серумните му нива са под 1 ng/ml при всички състояния, свързани с липса на овулация.

Функционални тестове:

Прогестеронов тест (ПТ) – перорално даден прогестерон (medroxyprogesterone, Provera, 10 mg дневно за 10 дни), Lynestrenol (Ogametril) 2 x 5 mg дневно за 5 дни. След спиране на прогестеронония прием се очаква отпадно кървене. Наличието на отпадно кървене показва нива на ендогенен E_2 около ≥ 40 pg/mL. При липса на такова, причината най-вероятно е недостатъчно ендогенни естрогени, които да стимулират развитието на ендометриума, деструкция на самия ендометриум или обструкция по пътя на оттичащата се кръв.

Естроген – прогестеронов тест (ЕПТ) – ако не се постигне кървене след ПТ, следващата стъпка е ЕПТ, който обикновено се реализира, чрез прием на орални контрацептиви (ОК). При интактен ендометриум и липса на гинатрезии, естрогенната компонента на ОК стимулира развитието на ендометриума и спирането на приема им трябва да доведе до отпадно кървене. При негативен ПТ и позитивен ЕПТ най-вероятната причина е хипогонадизъм. (155, 156, 157, 158)

GnRH – агонисти – прилагани циклично, в ниски дози (на 4 – 5 дневен интервал) могат да бъдат полезни в диагностициране на вроден GnRH дефицит и разграничаване на хипоталамична от хипофизарна патология. (159, 160)

Кариотипизиране – прави се в случаите с вероятност за наличие на Y – хромозома с оглед високият ѝ онкогенен потенциал и високия риск за развитие на гонадобластом и дисгермином. Това най-често са пациенти с TS – мозаицизъм, CAIS и синдром на Swyer.

(161,162) Честотата на злокачествено променени гонади при пациентки с Y – хромозома е 20 % - 30 %. (163,164)

2.8.4. Оценка на костното здраве

Костната тъкан е метаболитно активна през целия живот на човека. Мониторирането на костния метаболизъм се извършва посредством **оценка на маркери за костно формиране (алкална фосфатаза, остеокалцин, колагенни пропептиди) и маркери за костна резорбция (beta C - terminal cross - linked telopeptide of type I collagen, бСТХ).**

Костните маркери са най-високи при раждането и остават такива през детството, отразявайки най-бързия костен растеж и интензивно извършващите се процеси на моделиране и ремоделиране на костта. Следва постепенно спадане нивата на маркерите и едва по време на пубертетния растежен скок (12 – 15 годишна възраст) настъпва нов подем, като пикът при момичета е между 10 и 13 годишна възраст. (207, 233)

Пубертетният период се свързва с ускорен костен метаболизъм. (229 - 231) След пубертета отново се наблюдава спад в нивата на костните маркери (най–силно изразен между 30 до 50 годишна възраст) и с навлизането на жената в менопаузата отново се наблюдава подем в техните стойности, поради прекия ефект на самата менопауза и свързаният с нея хормонален дефицит. (166)

Един от най–добрите маркери за **остеокластна активност е β - CrossLaps** (деградационен продукт на тип 1 колаген – използван за оценка на костната резорбция), а за **остеобластната активност – остеокалцин** (най-важният неколагенов протеин в костния матрикс, който се синтезира от остеобластите по време на костното изграждане). (167)

Добре известен факт е, че дефицитът на полови хормони води до повишен костен търновър и последваща костна загуба. (168) В България се използват главно измерване серумните нива на остеокалцин и бета-крослапс, а също и деоксипиридинолин – уринен маркер за костно разграждане.

- **При пациенти с TS** се наблюдава – повишени серумни нива на маркерите за костна резорбция и нормални или понижени маркери за костно формиране. (174 -176, 224 - 226)
- **При пациенти с конституционално обусловен късен пубертет** маркерите за костен метаболизъм (костно формиране и костно резорбция) са в нормални

референтни граници, а костната плътност се увеличава по начин, подобен на този при здравите деца и юноши. (234, 235)

- **При пациентки с АН** в юношеска възраст се наблюдават ниски нива на маркерите за костно формиране и костна резорбция в сравнение със здрави контроли показващо потиснат костен търновър, което е в контраст със състоянието на повишен костен търновър, по принцип характерен за тази възраст. (169, 173, 236, 241) В други проучвания се докладват повишени нива на маркерите за костна резорбция и ниски нива на костно формиране. (170 - 172)
- **При пациенти занимаващи се активно със спорт или подложени на екстремно физическо натоварване** и аменорея се наблюдават ниски серумни нива на двата вида маркери в сравнение с еуменорични спортисти и здрави контроли. (177) Тежките физически натоварвания заедно с олиго-/аменореята водят до хипоестрогенни състояния, характеризиращи се с потисната остеобластна активност и може да доведат до нарушения в костното ремоделиране и повишена костна резорбция. (178)
- **При пациенти със стрес индуцирана аменорея** се наблюдават с до 50 % по-ниски серумни нива на маркерите за костно формиране и с до 40 % по-ниски нива на маркерите за костна резорбция в сравнение със здрави контроли, което показва потиснат костен метаболизъм. (240)
- **При пациентки с PCOS** съществуват противоречиви данни по отношение на маркерите за костен метаболизъм, като едни автори съобщават за сигнификантно по-ниски стойности на маркерите за костно формиране и нормални или по-ниски нива на маркерите за костна резорбция. Тези данни не се потвърждават от други проучвания правени сред пациентки в юношеска възраст с PCOS, при които не е открита сигнификантна разлика с контролната група по отношение на костния метаболизъм и КМП. (241 - 245)

Витамин D (Vitamin D - 1,25 (OH)₂ витамин D) – играе централна роля в костното формиране и ремоделиране. (179,180,181) Множество проучвания показват важноста на поддържане на адекватни серумни нива на Vitamin D с цел протекция срещу възникване на костни фрактури. (182 - 187)

Vitamin D играе изключително важна роля в калциево – фосфорната ($\text{Ca}^{2+} \times \text{HPO}_4^{2-}$) обмяна и осигурява едни постоянни серумни нива на двата микроелемента за

метаболитните нужди и минерализацията на костта. (188, 189) Дефицитът на Vitamin D води до вторичен хиперпаратиреоидизъм свързан с остеокластогенеза и повишена костна резорбция превишаваща остеобласт – медираното костно формиране. Вторичният хиперпаратиреоидизъм поддържа серумния калций в нормални граници за сметка на мобилизирането на калция от скелета и повишаване на загубата на фосфор от бъбреците. (190, 193)

Vitamin D поддържа нивата на PTH в нормални физиологични граници, стимулира остеобластната активност, подобрява костната минерализация. (191,192) Когато витамин D е в достатъчно количество, той повишава калциевата и фосфорна абсорбция. В проведено в България проучване обхващащо 2032 лица става ясно, че средното популационно ниво на vitamin D (25(OH)D) в България е 38.75 nmol/l. Не са открити статистически значими разлики в серумните нива на 25(OH)D в зависимост от възрастта, но женският пол е с по-ниски средни стойности в сравнение с мъжкия.

Честотата на дефицит на vitamin D е 21.3 %, а на недостатъчност – 54.5 %. В световен мащаб дефицитът и недостатъчността на vitamin D е широко застъпен – от 53.4 % в Южна Америка до 81.8 % в Средния Изток. В Южна Европа дефицитът на vitamin D е по-висок отколкото в Северна Европа. (249)

Gordon et al. докладват висока честота на недостатъчност на vitamin D сред деца и юноши в Америка, като не намират връзка с пол, етническа принадлежност или годишен сезон. Absoud et al. съобщават за подобни резултати във Великобритания. (250, 251)

Съществуват редица проучвания, в които не се съобщава за сигнификантна разлика между серумните нива на vitamin D при пациентки с PCOS и контроли (252 - 254), но в други се съобщава за статистически значимо по-високи нива при PCOS в сравнение със здрави лица на същата възраст. (255, 256) Lagowska изследва серумните нива на vitamin D на 77 пациентки с опсо- (PCOS) и аменорея (първична и вторична), и контролна група от жени с нормален менструален цикъл, при което открива сигнификантно по-ниски стойности при пациентките с хипоменструални нарушения в сравнение с контролите. Наблюдения дефицит на vitamin D при пациентки свързва с повишени нива на PTH, ановулация, хиперандрогенемия и инфертилитет. (567)

Калциево – фосфорна хомеостаза (Ca - P) – в плазмата Ca циркулира в различни форми – 40 % е свързан с албумин, 15 % в комплекс с цитрат, фосфат или сулфат и 45 % е в йонизирана (Ca²⁺ - свободна) форма.

Също като Са, Р в плазмата съществува в две форми – органична и неорганична. Неорганичните фосфати са напълно йонизирани и са представени предимно от HPO_4^{2-} или H_2PO_4 в съотношение 4:1 в плазма с рН - 7.40.

Много малка фракция от тоталното съдържание на двата елемента в тялото се намират в плазмата. Са – Р баланс се медира главно от РТН и Vitamin D, които повлияват интестиналната резорбция, костния търновър и уринната екскреция. (194, 195, 196)

2.8.5. Инструментални изследвания

Ултразвукова оценка на матка, лигавица и гонади – най-честите индикации за използване на ултразвук в детско - юношеска възраст са: затруднения в определянето на пола, предпубертетно кървене, първична и вторична аменорея, болки или неясна маса в областта на малкия таз.

За извършване на оптимален трансабдоминален ултразвуков преглед в тази възраст е необходимо пикочният мехур да бъде пълен. Трансперинеалният достъп е подходящ при момичета с урогенитални малформации, хематоколпос, наличие на лабиална маса, атрезия на ануса.

При половоактивни момичета трансвагиналният УЗ преглед допълва трансабдоминалния. (197) За да се постави адекватна диагноза, е необходимо да се познаят промените, които претърпяват матката и яйчниците по време на детството и пубертета. (198)

В неонаталния период матката е с относително големи размери, поради преминалите трансплацентарно майчини хормони. Маточното тяло е по-голямо от маточната шийка, като дължината на матката е 3.5 см. Яйчниковият обем е по-голям в сравнение с този в детска възраст и в 84 % от случаите се визуализират фоликули с размери < 1 см. (201)

В полово – спокойния период, между 2 и 6 години размерите остават относително стабилни с яйчников обем 2 cm^3 и фоликули с размери < 9 мм, дължина на матката – 4 см (199, 200) Нарастването на яйчниковият обем започва след 6 годишна възраст. При момичета преди пубертета (между 6 и 10 годишна възраст) обемът на яйчниците е между 1.2 и 2.3 cm^3 , като във възрастта между 11 – 12 години достига $2 - 4 \text{ cm}^3$.

В пубертета техният размер достига 8 cm^3 . (201) Общо растежът на матката и яйчниците е пропорционален на хронологичната възраст, костната възраст и пубертетното развитие по Tanner. (202) Оценката на размера и обема на матката помага в

диагностициране на състояния като – нарушения в сексуалното развитие, преждевременен или закъснял пубертет, менструални нарушения. Главната промяна в размера на матката е през пубертета, когато тя нараства под въздействие на ендокринните стимули и се променя от по-скоро тубуларна форма до форма на круша.

В детската възраст дължината на маточното тяло е 25 мм, като ендометриум обичайна не се визуализира. През пубертета, когато половите хормони достигнат нивата на възрастен индивид, дължината се променя на 50 – 80 мм, предно – заден размер – 30 мм, вече става възможна и визуализацията на ендометриума. Отношението маточно тяло : маточна шийка също се променя – от 1:1 преди пубертета до 2:1 – 3:1 след завършване на този период. (198, 203)

При пациентки с TS ехографската картина може да варира от невъзможност за визуализация на яйчниците - streak gonads с липса на фоликули, до яйчници с напълно нормална морфология и функция, при пациентки с мозаицизъм.

При тези случаи ултразвуковата оценка на броя антрални фоликули може да бъде използван за да се предскаже евентуално настъпването на ПОН. Маточният обем при тези пациентки остава по-малък във всички възрастови групи в сравнение със здрави контроли. (204, 205)

При неясен пол чрез ултразвуковият преглед се търсят матка и яйчници. При клинични данни за “двойствени“ гениталии и ултразвукови данни за наличие на матка, както и уголемени надбъбречни жлези, най-вероятната диагноза е ВНХ.

При липсата на яйчници и хипопластична матка трябва да се изключи 46,XY. При пациентки с PCOS се визуализират уголемени 1.5 – 3 пъти яйчници, по-ехогенни и с изразена стромална хипертрофия, както и множество малки, незрели, субкортикално подредени фоликули. В ултразвуковите протоколи приети от ESHRE/ASRM описват поликистозните яйчници като съдържащи 12 и повече фоликули с размери 2 – 9 мм и/или яйчников обем над 10 см³. Субективната оценка на стромалната ехогенност и начина на подреждане на фоликулите вече не е включен. (206)

2.8.6 Измерване на костна плътност

ПКМ не се достига на всички места в скелета по едно и също време. Най-рано се достига в областта на проксималния фемур и в прешленните тела, а много по-късно на другите места (китка и пета).

Съгласно изискванията на *International Society for Clinical Densitometry (ISCD)*, 2019, диагнозата остеопороза при деца и юноши се поставя при :

- При наличие на една или повече компресионни фрактури, в отсъствие на локално заболяване или високо – енергийна травма
- Диагнозата остеопороза в детско – юношеска възраст не трябва да бъде поставяна само въз основа на денситометричното изследване
- При липса на вертебрални компресионни фрактури, диагнозата остеопороза се поставя при данни за наличие на клинично значима фрактура и **BMD Z - score \leq - 2.0 SD**. Като клинично значима фрактура се класифицира – две или повече фрактури на дълги кости до 10 годишна възраст ; три или повече фрактури на дълги кости до 19 годишна възраст. А **BMC/BMD Z - score $>$ - 2.0** неповишен фрактурен риск

Понастоящем златен стандарт за измерване на КМП е **DXA (Dual X-ray Absorptiometry)**. Данните от остеоденситометрията се представят като **T - score** (стандартни отклонения от нормите за млади зрели жени) или като **Z - score** (стандартни отклонения от очакваните стойности за индивиди от същия пол, възраст и телесни размери). **T – score** не се използва в детско – юношеска възраст за оценка на КМП. Терминът “остеопения” не се използва в детско – юношеската възраст, а за остеопороза се говори само, когато има анамнеза за клинично значими фрактури. “Ниска костна минерална маса/плътност“ се използват, когато измерената КМП е \leq -2 SD.

Прецизността на DXA е по-голяма от тези на другите методи, дозата за радиация е ниска -10 mrem.

При млади пациенти се използва **Z - score** за оценка на КМП. За патологични стойности на остеоденситометричното изследване се приемат – **Z - score \leq -2 SD**, което показва неадекватна костна минерализация и ниска костна минерална плътност за съответната възраст.

Други техники за измерване на КМП са **SPA (Single - Photon Absorptiometry)** и **SXA (Single X - Ray Absorptiometry)** – по-стари, не са широко разпространени в момента. **Компютърна томография (КТ/QCT)** и **Ядрено магнитен резонанс (ЯМР/MRI)** нямат

още широко приложение поради по-висока доза облъчване и високата цена на изследването.
Никога диагнозата остеспороза не се базира само на данните от измерената КМП. (3, 208)

3. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

Липсват достатъчно проучвания в нашата страна, които да отдиференцират хормоналната констелация при хипоменструалните нарушения с различна етиология в юношеска възраст и свързаните с тях промени в костния метаболизъм. Това определя и целта на настоящото проучване, а именно:

Цел: Да се оцени хормоналният статус при различните по етиология хипоменструални нарушения в юношеската възраст и произтичащите от тях промени в костния метаболизъм.

Задачи :

1. Да се сравнят хормоналните констелации на контролната група и пациентките с хипоменструални нарушения.
2. Да се оцени как влияят различните причини довели до менструални нарушения върху хормоналния статус.
3. Да се оцени при кой тип менструални нарушения се наблюдават отклонения в костния метаболизъм.
4. Да се оценят серумните нива на витамин Д в изследваните групи.
5. Да се оценят хормоналните констелации въз основа на пубертетното развитие.
6. Да се направи съпоставка между индекс на телесната маса и промените в хормоналните нива, както и костния метаболизъм.

4. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

4.1 КЛИНИЧЕН МАТЕРИАЛ

В проведеното проучване бяха изследвани 174 пациентки на възраст от 12 до 18 години, като от тях 42 здрави - “контроли“, 25 пациентки с първична аменорея, 71 пациентки с вторична аменорея и 36 пациентки с опсоменорея.

Родител – настойник е декларирал писмено информирано съгласие за участие в проучването.

Етични аспекти

Проучване е направено в съгласие със законите и етичните норми на нашата страна и е осигурило максимална защита на участващите индивиди.

Защита на пациента и информирано съгласие:

Всички участници в изследването бяха информирани за неговите цели, процедурите, на които ще бъдат подложени и последващото им проследяване. Те бяха запознати със стриктната конфиденциалност на техните данни, но и с това, че медицинските данни могат да бъдат ползвани освен от техните лекуващи лекари и от оторизирани изследователи.

Идентификация на пациента:

Конфиденциалността на личните данни на включените пациенти беше спазена чрез стриктна вътрешно осигурена анонимност на всички проби.

Изследваните групи са статистически уеднаквени по фактор възраст, което позволява коректното им съпоставяне по всички изследвани показатели.

Обект на наблюдението

Обект на наблюдението са зависимостите между клиниколабораторните показатели включващи хормони – LH, FSH, Estradiol, Prolactin и маркери отразяващи костния метаболизъм - Osteocalcin и β – CrossLaps, както и Ca, P и Vitamin D. На част от пациентките е извършено остеодензитометрично изследване, като резултатите от него са съпоставени с изработените хормонални профили характеризиращи всяка една от изследваните групи.

Техническа единица

Кабинет по Детско – юношеска гинекология към СБАЛАГ “Майчин дом“, София

III-та Гинекологична клиника, “Репродуктивно здраве“ към СБАЛАГ “Майчин дом“ ЕАД,
София

Логическа единица

Определени бяха четири основни групи участващи девойки, като бяха използвани критерии за включване и изключване на единиците в проучването, които са посочени в **табл. 1**:

Табл. 1 Използвани критерии за обособяване на участващите в проучването групи

| Групи | Включващи критерии | Изключващи критерии |
|------------------------|---|--|
| Контролна група | <ol style="list-style-type: none"> 1. Момичета във възрастов диапазон от 12 до 18 години 2. Писмено съгласие за участие в изследването 3. Нормален менструален цикъл 4. Трансабдоминална или транвагинална ехография на матка и яйчници без патологични отклонения 5. Референтни серумни нива на LH, FSH, Estradiol, Prolactin и др. | <ol style="list-style-type: none"> 1. Ендокринна патология с тиреоиден, надбъбречен произход 2. Тежки остри и хронични заболявания 3. Вродени заболявания засягащи опорно – двигателния апарат 4. Първична аменорея поради синдром на Суайър, синдром на Морис, синдром на MRKH 5. Прием на Орални контрацептиви, ГКС 6. Бременност 7. Отказ за участие в проучването |

| | |
|-----------------------------------|---|
| Случаи с първична аменорея | <ol style="list-style-type: none"> 1. Момичета във възрастов диапазон от 15 до 18 години 2. Писмено съгласие за участие в изследването 3. Липса на menarche до 15 годишна възраст и/или развити вторични полови белези до 13 годишна възраст |
| Случаи с вторична аменорея | <ol style="list-style-type: none"> 1. Момичета във възрастов диапазон от 12 до 18 години 2. Писмено съгласие за участие в изследването 3. Липса на менструация за 3 месеца при нормални менструални цикли до момента или липса на менструация за 6 месеца при поначало нередовни менструални цикли |
| Случаи с опсоменорея | <ol style="list-style-type: none"> 1. Момичета във възрастов диапазон от 12 до 18 години 2. Писмено съгласие за участие в изследването 3. Критерии за PCOS ASRM/ESHRE 2003 |

Органи на наблюдение

Докторантът и лекари – специалисти по клинична лаборатория и ендокринология.

Дизайн и постановка на проучването

С оглед изпълнението на целта и задачите, настоящото изследване беше изградено като проспективно сравнително клинично проучване тип “случай – контрола“ при българската популация на случаи с хипоменструални нарушения и здрави контроли с общ брой 174 участнички. Бяха обособени следните групи :

- Здрави пациентки – контролна група – 42 момичета
- Пациентки с първична аменорея – 25 момичета
- Пациентки с вторична аменорея – 71 момичета
- Пациентки с опсоменорея – 36 момичета

Протокол на изследването

- I. **Обща част** – данни за физическата характеристика на пациентката – име, възраст, ръст, телесна маса, BMI.
- II. **Клинична част** – menarche, особености на менструалния цикъл, придружаващи заболявания, акушеро – гинекологична анамнеза, стадии на пубертетно развитие по Tanner, особености в хранителните навици, спортуване, стрес, промяна в телесното тегло, ултразвуково изследване, остеодензитометрия, кариотипизиране (където е било показано такъв вид изследване).
- III. **Клиниколабораторна част** – серумни нива на LH, FSH, Prolactin, Estradiol, Vit. D, Osteocalcin, β – CrossLaps, AMH.

Клинична част – изследвани показатели

Всяко момиче беше изследвано по индивидуална програма, в която за всеки отделен случай бе пресметнато на коя дата, кое изследване да бъде проведено.

След подробно снетата **фамилна и настояща анамнеза**, и попълване на фиш (за всеки отделен случай) беше оценена степента на развитие на вторичните полови белези съгласно възприетата в литературата и практиката у нас класификация на Tanner – телархе, пубархе, адренархе. Беше направена оценка на наличието или липсата на хирзутизъм мустаци, под брадата, долна част на корема, стернум, пубис.

Телархе :

I степен – стадий на “гърдното зърно“, когато е повдигната само папилата.

II степен – стадий на “гърдната пъпка“, “бутон“, повдигане на папилата и гърдата. Ареолата се увеличава и пигментира интензивно.

III степен – стадий на “двете могилки“. По – нататъшно увеличаване на гърда и ареола, без да се отделят контурите им.

IV степен – изпъкване на ареолата и папилата, които образуват вторична изпъкналост над нивото на гърдата.

V степен – стадий на зряла гърда. Няма разлики между нивото на ареолата и гърдата. Папилата е издигната. Гърдата е с характерната полусферична форма.

Адренархе :

I степен – без окосмеване.

II степен – единични прави, дълги, пигментирани косми.

III степен – рядко оксмяване.

IV степен – поява на къдравост на космите.

V степен – гъсто оксмяване с къдрави и пигментирани косми.

Пубархе :

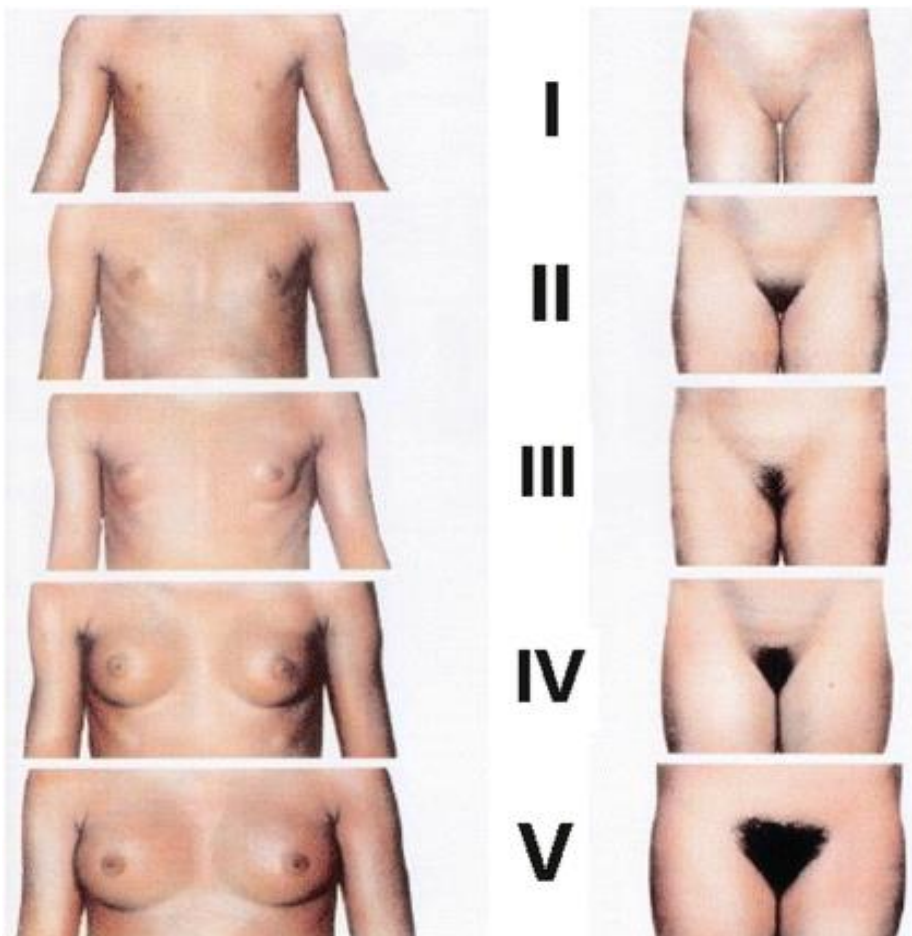
I степен – без окосмеване.

II степен – единични прави, дълги, пигментирани косми.

III степен – окосмяването се разширява със засилено пигментирани и къдрави косми.

IV степен – окосмяването е като при зряла жена, но заема по-малко площ.

V степен – окосмяването звършва отгоре с хоризонтална права линия и преминава отчасти по вътрешната повърхност на бедрата.



Фигура № 1. Стадии на пубертетно развитие по Tanner

Първична аменорея – липса на първа менструация до 15 годишна възраст и/или липса на развити вторични полови белези до 13 годишна възраст.

Вторична аменорея – Липса на менструация за 3 месеца при предходен стабилен менструален цикъл и липса на менструация за 6 месеца при предходен нередовен/нестабилна менструален цикъл.

Опсоменорея – Менструални интервали по-дълги от 35 дни.

Инструментално изследване

Трансабдоминална или трансвагинална ехография на малък таз – с цел оценка наличие на фоликули, дебелина на маточна лигавица, ПЗР на матка. Изследването се извърши с MEDISON Accuvix V 20.

Остеодензитометрия - използван софтуер, специализиран за измерване на костна плътност и изчисляване на Z – score (стандартни отклонения от очакваните стойности за индивиди от същия пол, възраст и телесни размери) в детско – юношеска възраст.

Клиниколабораторна част

Серумните нива на LH, FSH, Estradiol, AMH, Prolactine бяха измервани по време на ранната фоликуларна фаза на менструалния цикъл, като при пациентките с менструални нарушения времето на изследване на показателите беше съобразено с конкретната патология или след предизвикано маточно кървене посредством прогестини. Пробите се вземаха сутрин между 8:00 и 10:00 часа на гладно след покой половин час преди венепункцията.

Основни клиниколабораторни показатели

Фоликулостимулиращият хормон (FSH), лутеинизиращият хормон (LH) и пролактинът бяха измервани в серум с високочувствителни имунорадиометрични методи (ИРМА), използващи две моноклонални антитела, с китове на фирмата „Immunotech“, France.

Референтни стойности жени фоликуларна фаза:

FSH – 1 – 10 IU/L

LH – 2 – 10 IU/L

Prolactin - до 600 mIU/L

Естрадиол (E₂) беше определян в серум с радиоимунологичен метод (РИА) с китове от „Immunotech“, France.

Референтни стойности - жени във фоликуларна фаза: 90 – 550 pmol/L

Анти–Мюлеровият хормон (АМН) беше определян в серум по метод „АМН Gen II ELISA” (Beckman Coulter, USA). Анализът е считан за най-чувствителния понастоящем и използва две моноклонални антитела от Diagnostic Systems Laboratories, USA.

Аналитична чувствителност 0.08 ng/ml;

Прецизност: intra-assay 3.4 – 5.4 %; inter-assay 4 – 5.6 %.

Референтни стойности според метода: момичета - 1 – 8.9 ng/ml

N – MID Osteocalcin, β – CrossLaps и 25 Hydroxyvitamin D total (25OHD) бяха измервани чрез електрохемилюминисцентен анализ (ECLIA) на имуноанализатор „Cobas e411”, Roche.

Референтни стойности

N – MID Osteocalcin

10 - 13 години 49 - 167 ng/ml

14 - 17 години 14 - 85 ng/ml

> 17 години 8 - 32 ng/ml

β – CrossLaps

10-13 години 0.519 - 2.415 ng/ml

14-17 години 0.242 - 1.291 ng/ml

25OHD

< 10 ng/ml – тежък дефицит

10 – 20 ng/ml – дефицит

20 – 30 ng/ml – недостатъчност

Над 30 ng/ml – нормални серумни нива

Показатели за уточняване и изключване на друга ендокринна патология

**Ca – Calcium / Калций общ – спектрофотометрия с
хромоген NM – ВАРТА (Roche/Hitachi cobas c)**

Референтни стойности :

Ca – Calcium / Калций общ

12 – 18 години 2.1 – 2.55 mmol/L

**P – Phosphate / общ фосфор – спектрофотометрия с молибдат
(Roche/Hitachi cobas c)**

P – Phosphate / общ фосфор

12-15 години 0.9 – 1.65 mmol/L

15-18 години 0.8 – 1.6 mmol/L

4.2 СТАТИСТИЧЕСКИ МЕТОДИ

Данните са въведени и обработени със статистическия пакет **IBM SPSS Statistics 25.0** и **MedCalc Version 14.8.1**. За ниво на значимост, при което се отхвърля нулевата хипотеза бе прието $p < 0.05$.

Бяха приложени следните методи:

1. **Дескриптивен анализ** – в табличен вид е представено честотното разпределение на разглежданите признаци, разбити по групи на изследване.
2. **Графичен анализ** – за визуализация на получените резултати.
3. **Вариационен анализ** – изчисляване оценките на централната тенденция и разсейване.
4. **Сравняване на относителни дялове**.

5. **Екзактен тест на Fisher и χ^2** – за проверка на хипотези за връзка между категорийни признаци.

6. **Непараметричен тест на Колмогоров - Смирнов и Шапиро - Уилк** – за проверка вида на разпределението.

7. **Еднофакторен дисперсионен анализ ANOVA** – за проверка на хипотези за влияние на категорийни фактори с повече от две нива.

8. **Непараметричен тест на Крускал - Уолис** – за търсене на сигнификантни различия между няколко независими извадки.

9. **T-тест на Стюдънт** – параметричен тест за проверка на хипотези за различие между две независими извадки.

10. **Непараметричен тест на Ман - Уитни** – за проверка на хипотези за различие между две независими извадки.

11. **Корелационен анализ** – за търсене на линейна зависимост между количествени променливи.

12. **ROC curve** – за определяне на прагови стойности при количествени променливи.

13. **Критерии за валидизация на скрининг тестове.**

За оценяване **валидността** на скринирация (диагностициращия) тест се използват следните критерии¹:

- Чувствителност;
- Специфичност;
- Положителна предсказваща стойност;
- Отрицателна предсказваща стойност;
- Прецизност (% на верните отговори).

Възможни резултати от теста

| Резултати от теста | Със заболяване | Без заболяване | Общо |
|--------------------|------------------------------|------------------------------|---------|
| Положителен | A истински положителни | B фалшиво положителни | a+b |
| Отрицателен | C фалшиво отрицателни | D истински отрицателни | c+d |
| Общо | a+c | b+d | a+b+c+d |

Чувствителността (Sensitivity) представлява способността на теста да открива лицата със заболяване. Измерва се с вероятността за *позитивен* тест при скринираните болни лица:

$$Se = \frac{a}{a + c}$$

Специфичността (Specificity) характеризира способността на теста да открива здравите лица. Измерва се с вероятността за *отрицателен* тест при скринираните здрави лица:

$$Sp = \frac{d}{b + d}$$

Положителната предсказваща стойност (*Positive predictive value*) на теста се измерва с вероятността за *наличие на заболяване* при лицата с *положителен тест*:

$$PV = \frac{a}{a + b}$$

Отрицателната предсказваща стойност (*Negative predictive value*) на теста се измерва с вероятността за *отсъствие на заболяване* при лицата с *отрицателен тест*:

$$NV = \frac{d}{c + d}$$

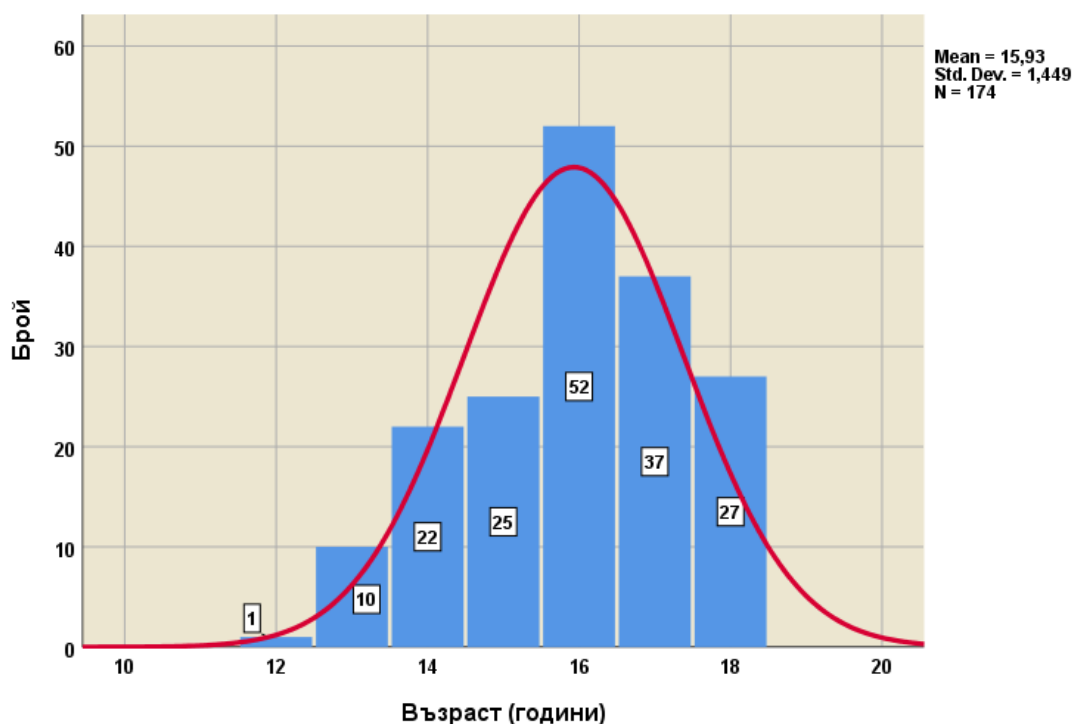
Прецизност (*Accuracy*) – относителен дял на верните отговори:

$$Ac = \frac{a + d}{a + b + c + d}$$

5. РЕЗУЛТАТИ

5.1 ВЪЗРАСТОВА ХАРАКТЕРИСТИКА НА КОНТИНГЕНТА

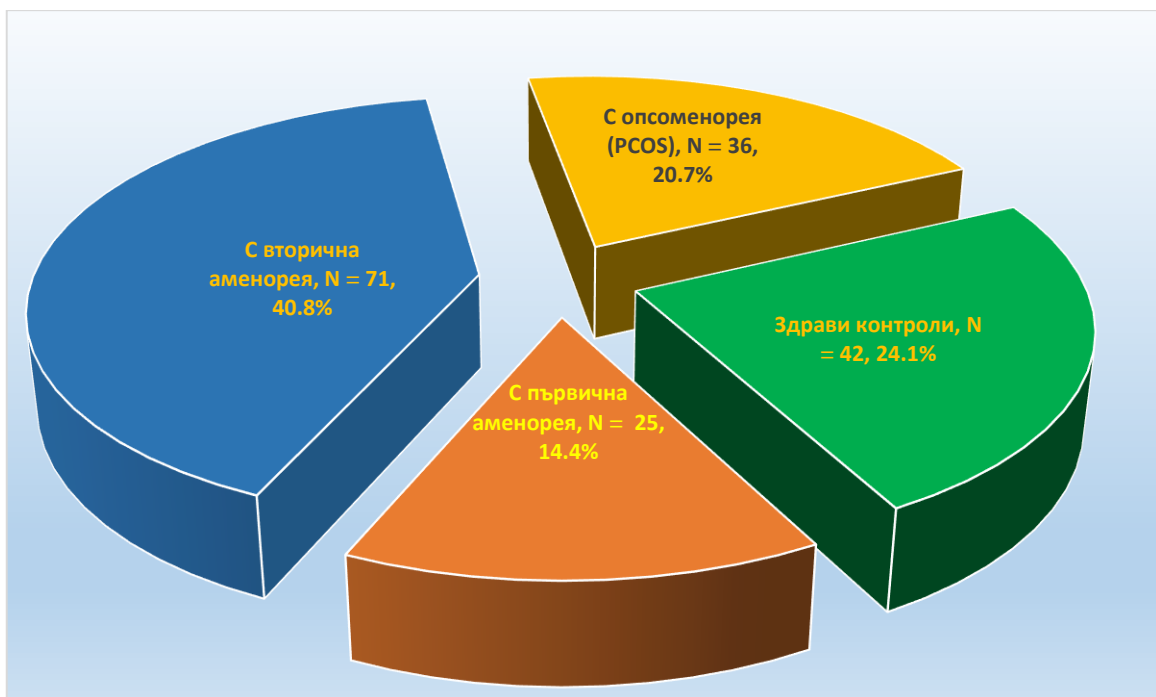
Изследваният клиничен контингент обхваща 174 момичета със средна възраст 15.93 ± 1.45 години в интервала между 12 и 18. Най-много (52) са участничките в проучването на възраст 16 години, следвани от тези на 17 (37), а най-малко (1) на 12 години (**фиг. 2**).



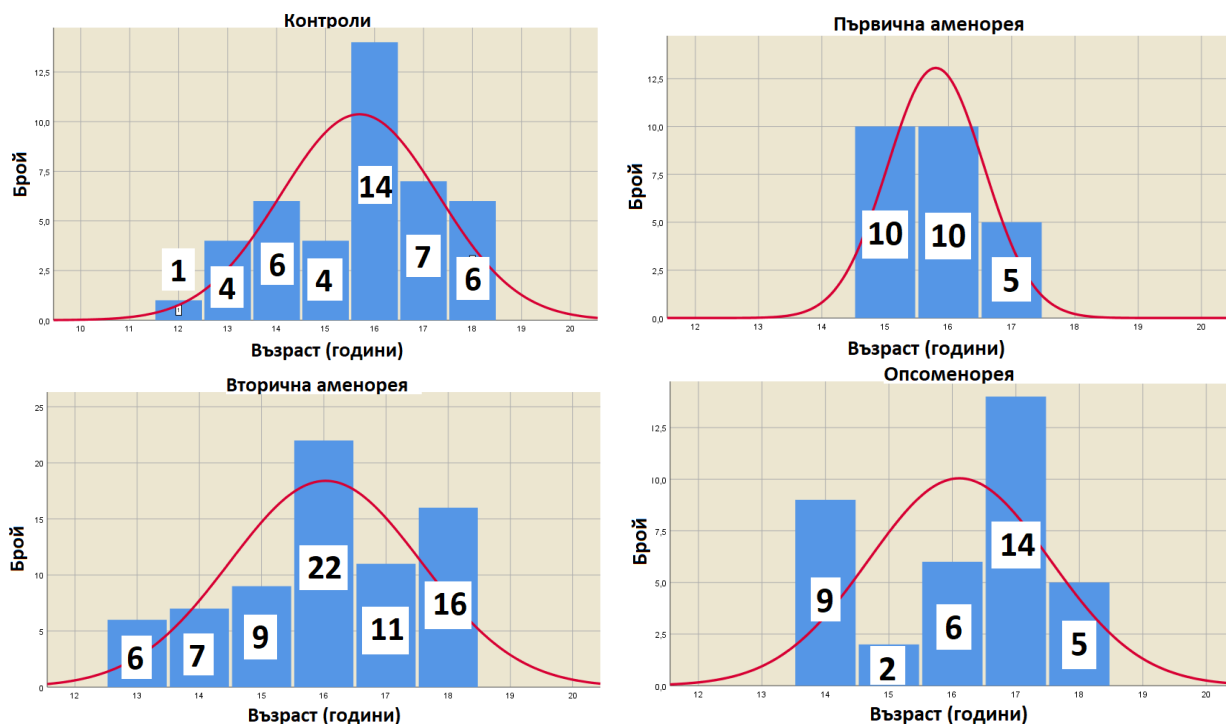
Фигура 2: Честотно разпределение на изследвания контингент по възраст

Участничките в проучването принадлежат към една от следните групи (**фиг. 3**):

- Здрави контроли – 42
- Момичета с първична аменорея – 25
- Момичета с вторична аменорея – 71
- Момичета с опсоменорея (PCOS) – 36



Фигура 3: Честотно разпределение на изследвания контингент по групи на изследване



Фигура 4: Честотно разпределение на четирите групи на изследване по възраст

На **табл. 2** се вижда, че четирите изследвани групи са статистически изравнени по известния замъгляващ фактор възраст, което осигурява коректност на последващите сравнения.

Таблица 2: Сравнителен анализ на четирите изследвани групи по възраст

* - еднаквите букви по вертикалите указват на липса на сигнификантна разлика, а различните – наличие на такава ($p < 0.05$)

| Групи | Възраст | | |
|----------------------|---------|--------------------|------|
| | N | \bar{X} | SD |
| Контролна | 42 | 15.69 ^a | 1.62 |
| С първична аменорея | 25 | 15.8 ^a | 0.76 |
| С вторична аменорея | 71 | 16.03 ^a | 1.54 |
| С опсоменорея (PCOS) | 36 | 16.11 ^a | 1.43 |

5.2 MENARCHE

Средната възраст за менарче на цялата извадка е 12.38 ± 0.52 години в интервала между 11 и 13. От **табл. 3** става ясно, че контролната група има сигнификантно по-ниска средна възраст за менарче (12.19 години) спрямо групите с вторична аменорея и опсоменорея, които не се различават статистически помежду си по този показател.

Таблица 3: Сравнителен анализ на три от изследвани групи по менарче

* - еднаквите букви по вертикалите указват на липса на сигнификантна разлика, а различните – наличие на такава ($p < 0.05$)

| Групи | Menarche | | |
|----------------------|----------|--------------------|------|
| | N | \bar{X} | SD |
| Контролна | 42 | 12.19 ^a | 0.51 |
| С вторична аменорея | 71 | 12.42 ^b | 0.5 |
| С опсоменорея (PCOS) | 36 | 12.53 ^b | 0.51 |
| Цяла извадка | 149 | 12.38 | 0.52 |

Рано настъпилото menarche се свързва с рано установяване на овулаторни цикли. Когато първата менструация настъпи по - рано от 12 години, 50 % от менструалните цикли са овулаторни през първата година след menarche. При късно настъпило menarche може да отнеме осем до дванайсет години, докато всички менструални цикли станат овулаторни. По-късно настъпила първа менструация и менструални нарушения говорят за нарушена функция на ХХЯ – ос и могат да бъдат важен рисков фактор за недостатъчно и неадекватно натрупване на костна маса.

5.3 ГРУПИРАНЕ ПО ПРИЧИНИ ВОДЕЩИ ДО АМЕНОРЕЯ

От табл. 4 става ясно, че:

Таблица 4: Честотно разпределение на причините за аменорея по групи

* - сумата от процентите надхвърля 100, тъй като някои от момичетата са указали по повече от една причина

| Причини | Момичета с първична аменорея | | Момичета с вторична аменорея | |
|--|------------------------------|----|------------------------------|------|
| | N | % | N | % |
| Pubertas tarda (късен пубертет) | 15 | 60 | | |
| Gonadal dysgenesis (гонадна дисгенезия) | 10 | 40 | | |
| Алиментарен дефицит | | | 48 | 67.6 |
| Екстремни физически натоварвания (спорт) | | | 16 | 22.5 |
| Стрес | | | 22 | 31 |

При изследваните от нас момичетата с първична аменорея се установяват две от причините за това състояние - късен пубертет (при 60 % от тях) и гонадна дисгенезия (при 40 %).

Момичетата с вторична аменорея се групират основно според три причини - алиментарен дефицит (при 67.6 % от тях), следвани от стрес с 31 % и на последно място - екстремни физически натоварвания (22.5 %).

С уточнена причина за аменорея са общо 96, от които на възраст до 14 години – 13, а над 14 – 83. Сравнителният анализ на причините по възрастови групи е показан на **Табл. 5**.

Таблица 5: Сравнителен анализ на причините за аменорея по възрастови групи

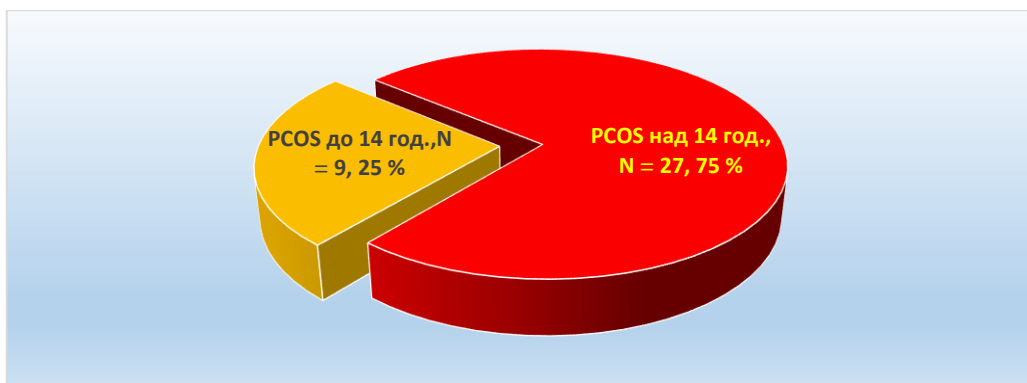
* - сумата от процентите надхвърля 100, тъй като някои от момичетата са указали по повече от една причина

| Група на изследване | Причини | Възрастова група (години) | | | | P |
|------------------------------|--|---------------------------|------|--------|------|-------|
| | | До 14 | | Над 14 | | |
| | | N | % | N | % | |
| Момичета с първична аменорея | Pubertas tarda (късен пубертет) | 0 | 0 | 15 | 18.1 | 0.208 |
| | Gonadal dysgenesis (гонадна дисгенезия) | 0 | 0 | 10 | 12 | 0.406 |
| Момичета с вторична аменорея | Алиментарен дефицит | 6 | 46.2 | 42 | 50.6 | 0.997 |
| | Екстремни физически натоварвания (спорт) | 4 | 30.8 | 12 | 14.5 | 0.287 |
| | Стрес | 6 | 46.2 | 16 | 19.3 | 0.073 |

Две от причините водещи до първична аменорея - късен пубертет и гонадна дисгенезия се установяват изцяло при по-възрастните момичета (над 14 години), поради факта, че по презумпция за първична аменорея може да се говори при липса на първа менструация при навършени 15 години и обикновено първия преглед-консултация се извършва след навършването им.

Останалите три причини за аменорея, при изследваните от нас момичета, се разпределят както следва - с по-висок относителен дял при по-възрастните - алиментарен дефицит, а с по-нисък - екстремни физически натоварвания (спорт) и стрес, като разликата има гранична сигнификантност ($p = 0.073$) единствено при стреса.

PCOS се наблюдава единствено в групата с вторична аменорея. Преобладава при по-възрастните – 75 % спрямо по-младите (до 14 години) с 25 % (**фиг. 5**).



Фигура 5: Честотно разпределение на PCOS в двете възрастови групи

В групата на пациентките с вторична аменорея средната продължителност на аменореята преди пациентката да потърси лекарска помощ е 12.63 ± 7.42 месеца, в интервала между 3 и 24 месеца.

5.4 ИНДЕКС НА ТЕЛЕСНАТА МАСА - ИТМ (BMI)

При извършения анализ по отношение на ИТМ при изследваните групи стана ясно, че: (Таблица 6)

Таблица 6: Честотно разпределение на участничките в проучването по ИТМ и група на изследване

* - еднаквите букви по хоризонталите указват на липса на сигнификантна разлика, а различните – наличие на такава ($p < 0.05$)

| ИТМ | Статистика | Групи | | | | Общо |
|--------------|------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|------|
| | | Контроли | Първична аменорея | Вторична аменорея | Опсоменорея | |
| Поднормен | N | 1 | 8 | 21 | 1 | 31 |
| | % | 2.4 ^a | 32 ^b | 29.6 ^b | 2.8 ^a | 17.8 |
| Нормален | N | 36 | 15 | 49 | 18 | 118 |
| | % | 85.7 ^a | 60 ^{bc} | 69 ^{ac} | 50 ^{bc} | 67.8 |
| Наднормен | N | 4 | 2 | 1 | 14 | 21 |
| | % | 9.5 ^a | 8 ^a | 1.4 ^a | 38.9 ^b | 12.1 |
| Затлъстяване | N | 1 | 0 | 0 | 3 | 4 |
| | % | 2.4 ^a | 0 ^a | 0 ^a | 8.3 ^a | 2,3 |
| Общо | N | 42 | 25 | 71 | 36 | 174 |
| | % | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |

Най-малко отклонения спрямо нормалните стойности има при контролите – 14.3 %, от които 2.4 % поднормни, 9.5 % - наднормни и в 2.4 % със затлъстяване.

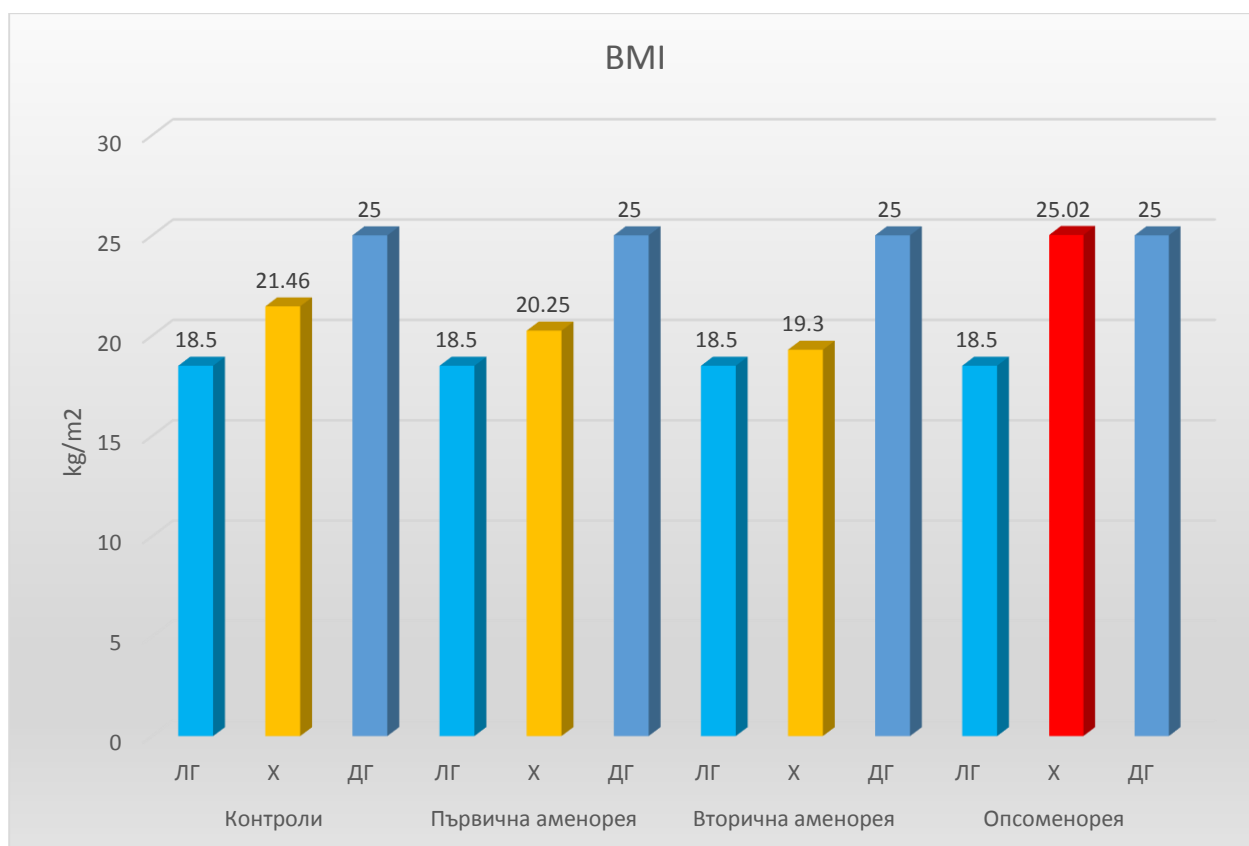
Най-висок процент абнормни стойности има в групата с опсоменорея (50 %) – 2.8 % поднормен и 47.2 % наднормен (38.9 %) и затлъстяване (8.3 %).

На второ място по абнормни стойности е групата с първична аменорея (40 %), от които по-голямата част (32 %) са поднормени и само 8 % - наднормени.

Респективно на трето място са момичетата с вторична аменорея (при 31 % от момичетата), при които отново доминират поднормените стойности.

Заслужава да се отбележи, че групите с аменорея (първична и вторична) имат сигнификантно по-висок процент поднормени стойности на ИТМ спрямо контролите и групата с опсоменорея, която пък от своя страна е със статистически достоверно по-висок относителен дял на наднормените стойности спрямо контролната и останалите групи, които не се различават статистически помежду си.

При оценка средните стойности на ИТМ прави впечатление, че пациентките с опсоменорея са със статистически значимо по-високи (25.02 kg/m^2) средни стойности (отбелязано в червено – $p < 0.001$) в сравнение с контролната и другите две групи, които от своя страна не се различават значимо помежду си (**Фигура 6**).

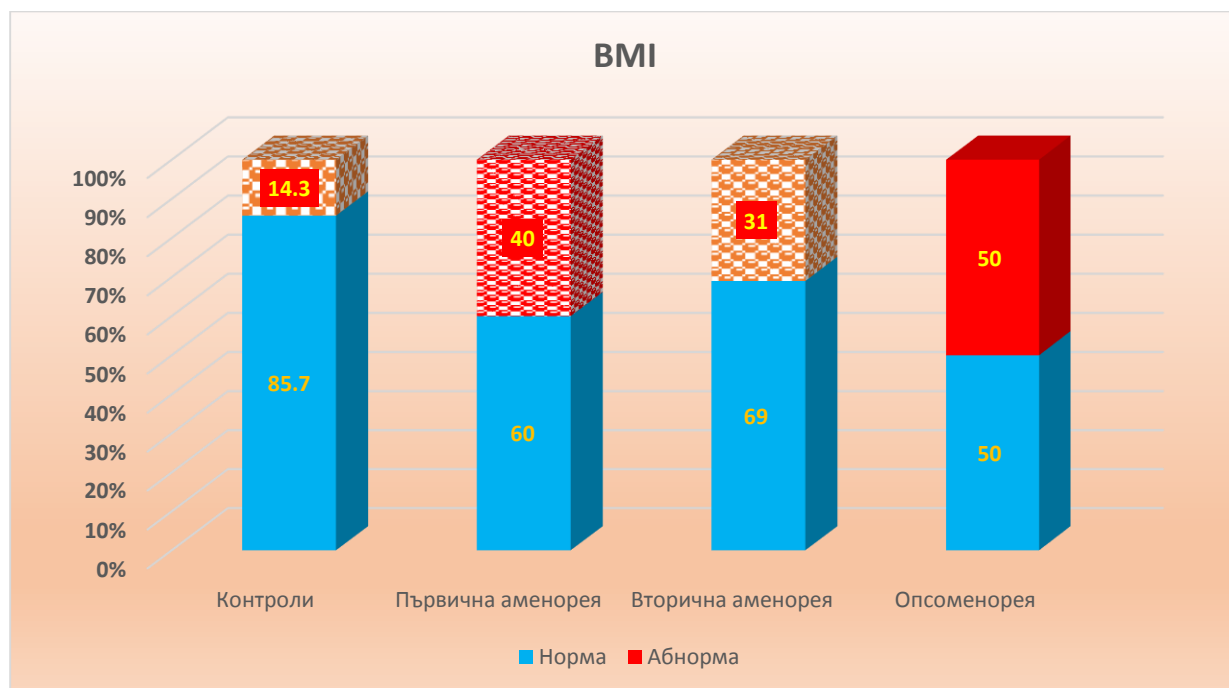


Фигура 6 :Референтни и средни стойности на ВМІ (ИТМ) по групи на изследване.
ЛГ – долна референтна граница, X- средна стойност, ДГ-горна референтна граница

При ВМІ (ИТМ) процентът абнормни стойности на имащите първична аменорея (40 %) и опсоменорея (50 %) са сигнификантно по високи в сравнение с контролната група (14.3 %) Пациентките с вторична аменорея не се различават значимо с контролите (Таблица и фигура 7).

Таблица: 7. Честотно разпределение на участничките в проучването по абнормни стойности на BMI и групи на изследване (Chi-Square Tests)

| ИТМ | Статистика | Групи | | | | Общо | X ² | df | P |
|-----------|------------|----------|-------------------|-------------------|-------------|--------|----------------|----|--------|
| | | Контроли | Първична аменорея | Вторична аменорея | Опсоменорея | | | | |
| <18.5 | N | 1 | 8 | 21 | 1 | 31 | | | |
| | % | 2.40% | 32% | 29.60% | 2.80% | 17.80% | | | |
| 18.5-25.0 | N | 36 | 15 | 49 | 18 | 118 | 58.66 | 6 | <0.001 |
| | % | 85.70% | 60% | 69% | 50% | 67.80% | | | |
| >25.0 | N | 4 | 2 | 1 | 14 | 21 | | | |
| | % | 9.50% | 8% | 1.40% | 38.90% | 12.10% | | | |
| Общо | N | 42 | 25 | 71 | 36 | 174 | | | |
| | % | 100% | 100% | 100% | 100% | 100% | | | |



Фигура: 7 Честотно разпределение на участничките в проучването по абнормни стойности на BMI и групи на изследване

5.5 КЛИНИКОЛАБОРАТОРНИ ПАРАМЕТРИ

При всяка от изследваните групи беше направена оценка на основните клиничколабораторни показатели – LH, FSH, Estradiol, AMH, Prolactin, Osteocalcin, β – CrossLaps, Ca и P, и наличието на отклонени от приетите референтни стойности за всеки един от показателите.

Установените стойности на **LH** при изследваните момичета са представените в **табл. 8**:

Таблица 8: Честотно разпределение на участничките в проучването по процента на пациентки със стойности на LH под и над референтните стойности, и група на изследване
* - еднаквите букви по хоризонталите указват на липса на сигнификантна разлика, а различните – наличие на такава ($p < 0.05$)

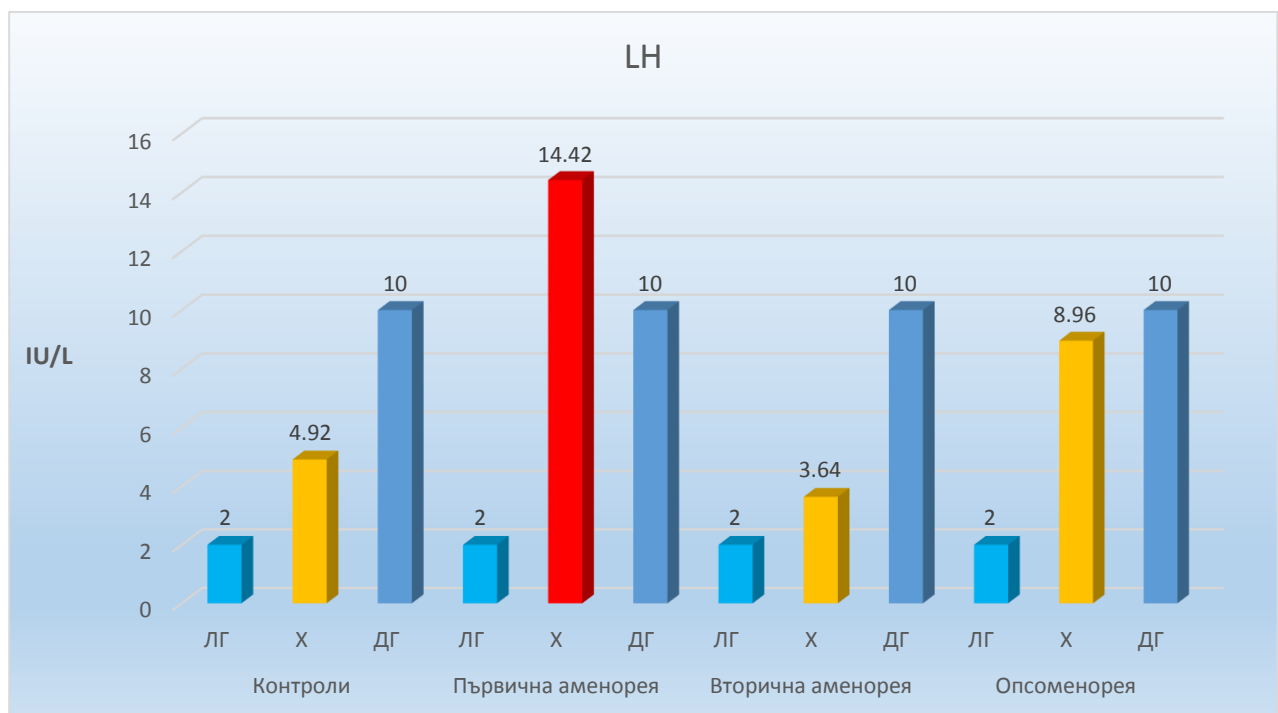
| LH | Статистика | Групи | | | | Общо |
|-----------------|------------|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|------|
| | | Контроли | Първична аменорея | Вторична аменорея | Опсоменорея | |
| < 2 IU/L | N | 4 | 0 | 33 | 0 | 37 |
| | % | 9.5 ^a | 0 ^a | 46.5 ^b | 0 ^a | 21.3 |
| ≥ 2 & ≤ 10 IU/L | N | 38 | 15 | 30 | 29 | 112 |
| | % | 90.5 ^a | 60 ^{bc} | 42.3 ^b | 80.6 ^{ac} | 64.4 |
| > 10 IU/L | N | 0 | 10 | 8 | 7 | 25 |
| | % | 0 ^a | 40 ^b | 11.3 ^{ac} | 19.4 ^{bc} | 14.4 |
| Общо | N | 42 | 25 | 71 | 36 | 174 |
| | % | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |

Статистически значимо най-висок процент (46.5 %) на поднормени стойности (под 2 IU/L) на **LH** се установява в групата с вторична аменорея спрямо контролната и останалите две групи, които не се различават статистически помежду си.

Сигнификантно най-висок процент (40 %) на наднормени стойности (над 10 IU/L) се наблюдава в групата с първична аменорея в частност - пациентките с гонадна дисгенезия, спрямо контролите и имащите вторична аменорея (11.3 %), но не и спрямо момичетата с опсоменорея, чийто процент (19.4 %) заема второ място и е значимо по-висок от този на контролите, но не и от този на имащите вторична аменорея.

Пациентките с първична аменорея (гонадна дисгенезия) и вторична аменорея са със сигнификантно по-висок процент на наднормни (40 % от пациентките с гонадна дисгенезия) и поднормни стойности (при 46.5 % от пациентките с вторична аменорея) на изследвания показател в сравнение с контролната група. При пациентките с опсоменорея не се открива сигнификантна разлика с контролите. С най-висок относителен дял на нормални стойности са контролите (90.5 %).

На **фигура 8** са показани референтните (оцветени в синьо) и средните (жълто и червено – показва сигнификантно най-високата средна стойност) стойности на LH при изследваните групи. От графиката става ясно, че със сигнификантно най-високи средни стойности на LH (14.42 UI/L) е групата с първична аменорея (дължащо се на подгрупата с гонадна дисгенезия) спрямо контролите. Пациентките с опсоменорея (8.96 UI/L) са със значимо по-високи средни стойности, докато пациентките с вторична аменорея (3.64 %) са със значимо по-ниски средни стойности спрямо контролната група (4.92 %).



Фигура 8: Референтни и средни стойности на LH по групи на изследване.

(ЛГ – долна референтна граница, X- средна стойност, ДГ- горна референтна граница)

Установените стойности на **FSH** при изследваните момичета са показани на **таблица 9**:

Таблица 9: Установени стойности на FSH.

* - еднаквите букви по хоризонталите указват на липса на сигнификантна разлика, а различните – наличие на такава ($p < 0.05$)

| FSH | Статистика | Групи | | | | Общо |
|-----------------|------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|------|
| | | Контроли | Първична аменорея | Вторична аменорея | Опсоменорея | |
| < 1 IU/L | N | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | % | 2.4 ^a | 0 ^a | 0 ^a | 0 ^a | 0.6 |
| ≥ 1 & ≤ 10 IU/L | N | 41 | 15 | 61 | 31 | 148 |
| | % | 97.6 ^a | 60 ^b | 85.9 ^a | 86.1 ^a | 85.1 |
| > 10 IU/L | N | 0 | 10 | 10 | 5 | 25 |
| | % | 0 ^a | 40 ^b | 14.1 ^c | 13.9 ^c | 14.4 |
| Общо | N | 42 | 25 | 71 | 36 | 174 |
| | % | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |

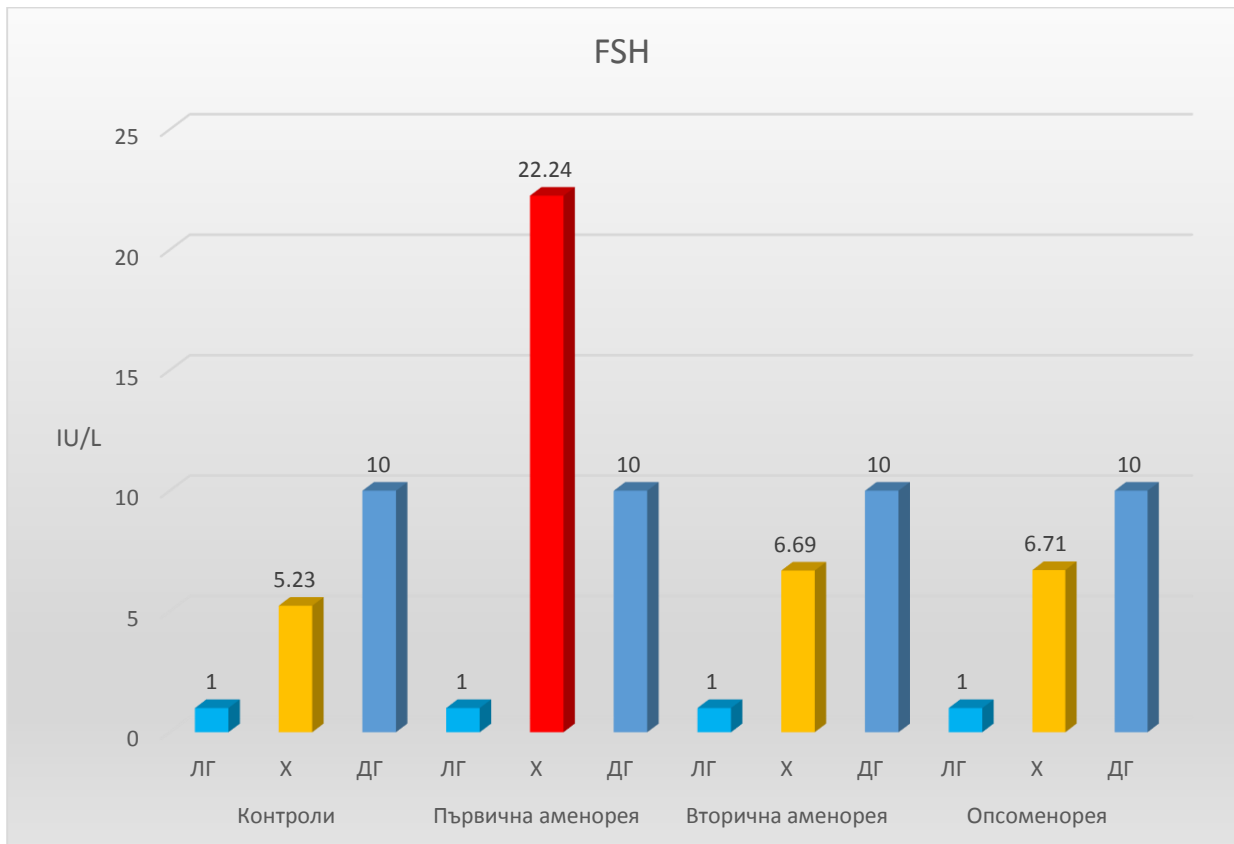
Поднормени стойности почти няма – само една в групата на контролите, поради което за статистическо различие с останалите групи не може да се говори.

Сигнификантно най-висок процент наднормени стойности се наблюдават единствено в групата с първична аменорея (подгрупа – гонадна дисгенезия) спрямо контролите и всички останали групи. Групите „вторична аменорея и опсоменорея“ имат статистически значимо по-високи относителни дялове на такива стойности спрямо контролите, докато помежду си не се различават статистически.

При първична аменорея поради закъснял пубертет е нормално да има ниски или към - нормални стойности на LH и FSH, докато при гонадна дисгенезия тези стойности е нормално да са високи и много високи.

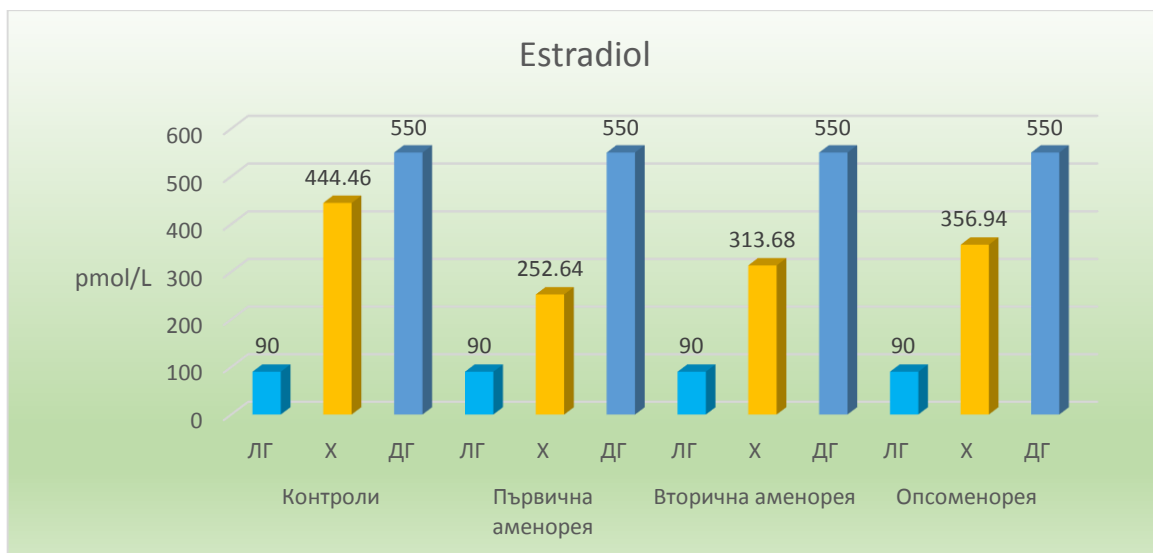
При оценка на средните стойности на серумните нива на FSH отново групата с първична аменорея има статистически значимо по-високи (22.24 UI/L) средни стойности (поради включените в тази група пациентки с гонадна дисгенезия) в сравнение с

контролната и останалите групи, които от своя страна не се различават статистически помежду си. (фигура 9)



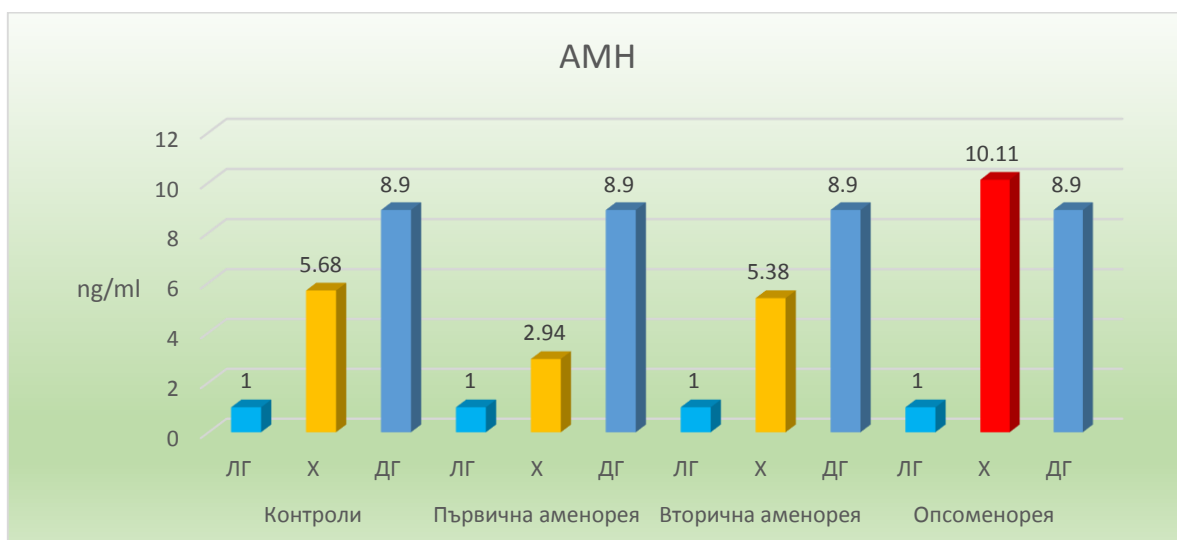
Фигура 9: Референтни (оцветени в синьо) и средни стойности (червено и жълто) на FSH по групи на изследване. (ЛГ – долна референтна граница, X - средна стойност, ДГ- горна референтна граница).

Статистически значимо най-ниски средни стойности на **Estradiol** се откриха при пациентките с първична аменорея (252.54 pmol/L) спрямо контролната (444.46 pmol/L) и останалите две групи. Пациентките с опсоменорея (356.94 pmol/L) и вторична аменорея (313.68 pmol/L) не се различават статистически значимо помежду си, но са значимо по-ниски в сравнение с тези при контролите. (Фигура 10)



Фигура 10: Референтни и средни стойности на Estradiol по групи. ЛГ – долна референтна граница, X - средна стойност, ДГ- горна референтна граница.

Установените стойности на **АМН** при изследваните момичета са показани на **Фиг. 11**



Фигура 11: Референтни и средни стойности на АМН по групи на изследване.

ЛГ – долна референтна граница, X - средна стойност, ДГ- горна референтна граница

Статистически значимо по-високи средни серумни нива на **АМН** се наблюдаваха при пациентките с опсоменорея (10.11 ng/ml), докато сигнификантно най-ниски те бяха при пациентките с първична аменорея – в частност подгрупа “гонадна дисгенезия“ (2.94 ng/ml),

в сравнение с контролната група (5.68 ng/ml), която от своя страна не се различава значимо от пациентките с вторична аменорея (5.38 ng/ml).

Установените стойности на **Prolactine** при изследваните момичета са показани на **Фиг. 12**.



Фигура 12: Референтни и средни стойности на Prolactine по групи на изследване.

ЛГ – долна референтна граница, X - средна стойност, ДГ- горна референтна граница

От сравнителния анализ на серумните нива на Prolactin при четирите групи се вижда, че най-високи средни стойности имаше при пациентките с опсоменорея (385.1 mIU/L), следвани от здравите контроли (332.71 mIU/L), пациентките с първична аменорея (319.36 mIU/L) и тези с вторична аменорея (229.83 mIU/L). При всички изследвани групи средните стойности на изследвания показател бяха в референтни граници и не се отличаваха статистически от контролната група.

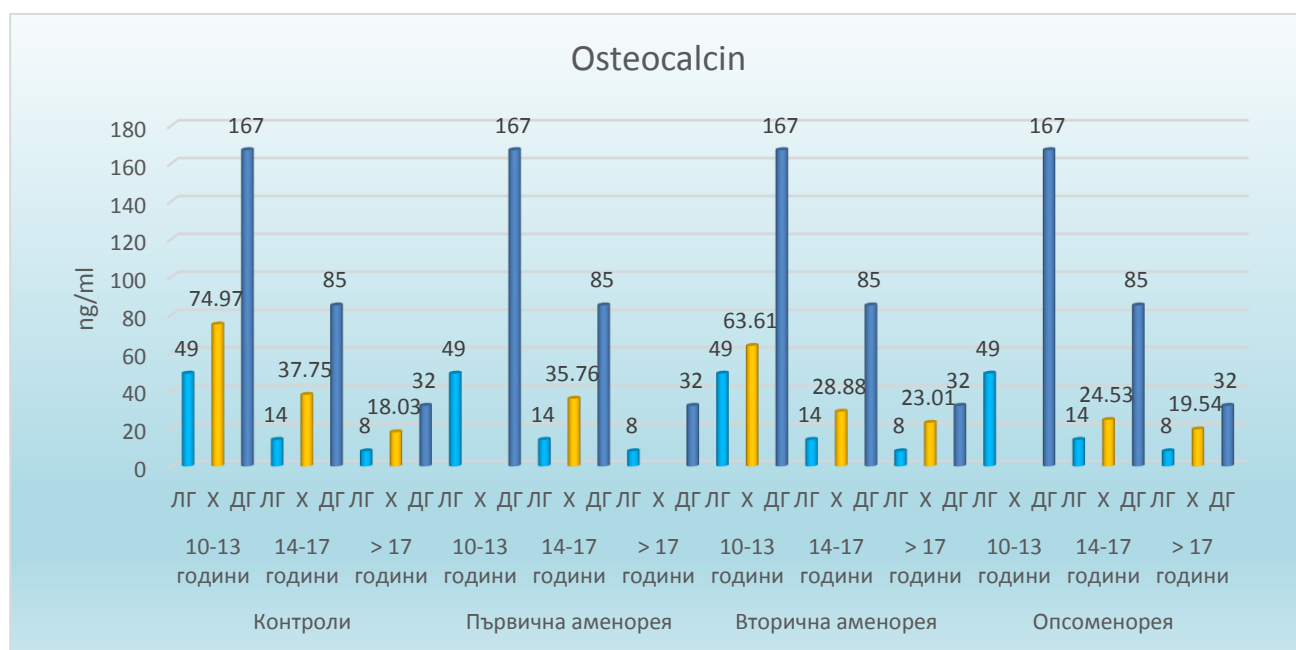
Маркери за костно формиране. **Osteocalcin**.

От извършения сравнителен анализ на маркера за костно формиране **Osteocalcin** при обособените групи стана ясно, че серумните му нива са най-високи във възрастта до 14 години, което съответства на повишеният костен метаболизъм в тази възраст.

Най-високи средни стойности са при здравите контроли (74.97 ng/ml), следвани от пациентките с вторична аменорея (63.61 ng/ml). Сигнификантна разлика между двете групи не се откри. В тази възрастова група няма пациентки с първична аменорея и опсоменорея.

При момичетата във възрастова група до 17 години има представителна извадка от всички групи. Сигнификантно по-ниски стойности имат пациентките с вторична аменорея (28.88 ng/ml) и опсоменорея (24.53 ng/ml) спрямо контролната група (37.75 ng/ml), като между нея и пациентките с първична аменорея (35.76 ng/ml) липсва значима разлика.

При момичетата до и на 18 години средните стойности на серумните нива на Osteocalcin са най-високи при пациентките с вторична аменорея (23.01 ng/ml), следвани от тези с опсоменорея (19.54 ng/ml) и контролната група (18.03 ng/ml), като значима разлика между трите групи не се откри. В тази възрастова група липсват пациентки с първична аменорея (Фигура 13).



Фигура 13: Референтни и средни стойности на Osteocalcin по групи на изследване.

* Разделението на възрастови групи произтича от приетите референтни стойности за този показател. (раздел – 4.1 клиничен материал)

ЛГ – долна референтна граница, X - средна стойност, ДГ - горна референтна граница

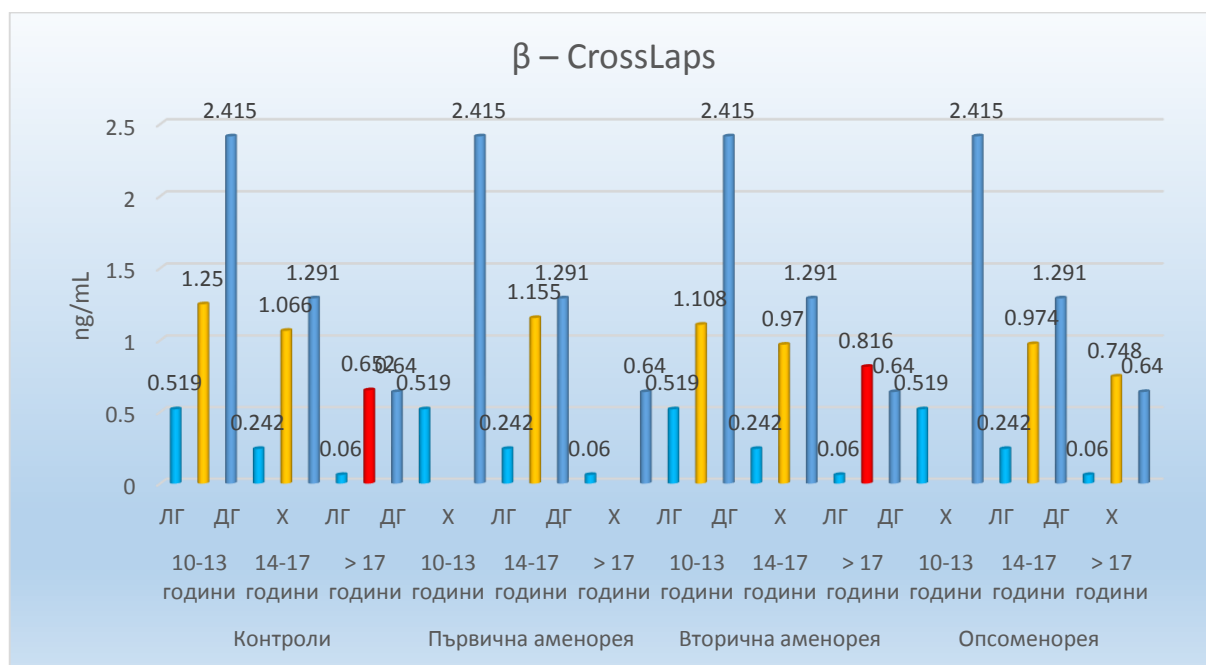
Маркер за костно разграждане. β – CrossLaps

При сравнителния анализ на маркера за костно разграждане β – CrossLaps стана ясно, че във възрастовата група до 14 години най-високи средни стойности имаше контролната група (1.25 ng/ml) следвани от пациентките с вторична аменорея (1.108 ng/ml) без наличие на статистически значима разлика между тях. В тази възрастова група липсват представители на пациентки с първична аменорея и опсоменорея.

Във възрастта до 17 години значимо най-високи средни стойности на β – CrossLaps се установяват при пациентките с първична аменорея (1.155 ng/ml) спрямо здравите контроли (1.066 ng/ml), докато при пациентките с опсоменорея (0.974 ng/ml) и тези с вторична аменорея (0.97 ng/ml) стойностите са значимо по-ниски в сравнение с контролната група.

Във възрастовата група до и на 18 години статистически значимо по-високи средни стойности на β – CrossLaps се установяват при пациентките с вторична аменорея (0.816 ng/ml) и момичетата с опсоменорея (0.748 ng/ml) спрямо контролната група (0.652 ng/ml). В тази възрастова група липсват пациентки с първична аменорея (**Фигура 14**).

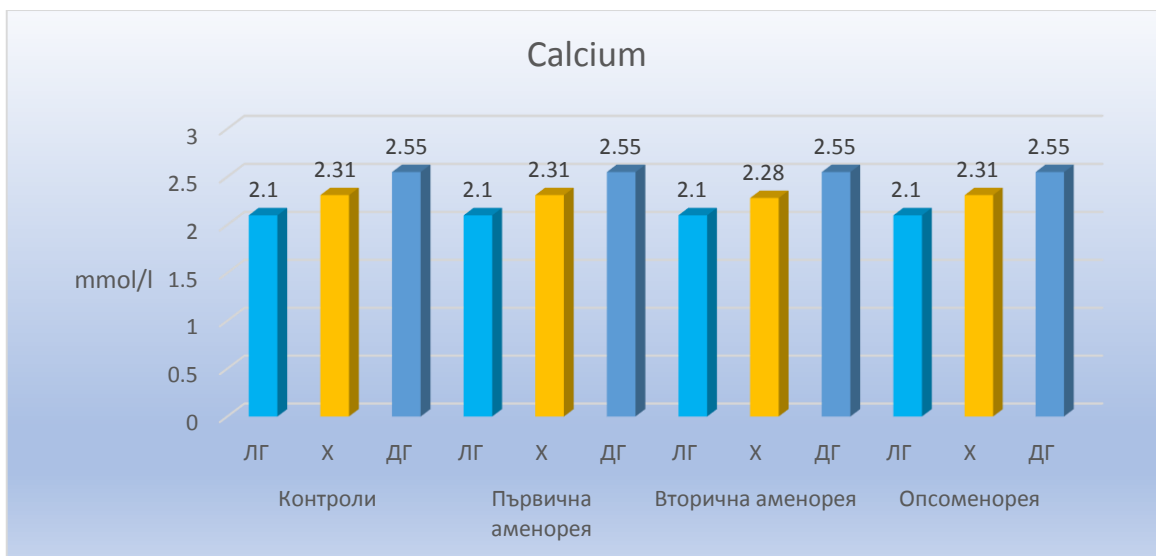
* Разделението на възрастови групи произтича от приетите референтните стойности за този показател. (раздел – 4.1 клиничен материал)



Фигура 14: Референтни и средни стойности на β – CrossLaps по групи на изследване.

ЛГ – долна референтна граница, X – средна стойност, ДГ – горна референтна граница

Анализ на средните серумни стойности на калция (Ca).



Фигура 15: Референтни и средни стойности на Calcium по групи на изследване.

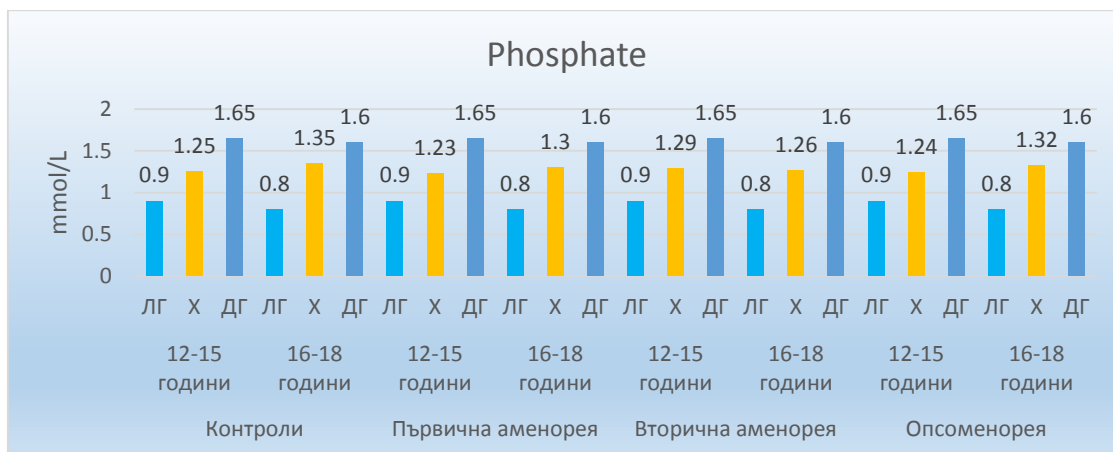
ЛГ – долна референтна граница, X - средна стойност, ДГ - горна референтна граница

Извършения сравнителен анализ на серумни стойности на **Ca** показва, че и при четирите изследвани групи средните стойностите бяха в референтни граници, както следва – контролна група (2.31 mmol/l), първична аменорея (2.31 mmol/l) и опсоменорея (2.31 mmol/l) и вторична аменорея (2.28 mmol/l).

Анализ на средните серумни стойности на фосфора (P - Phosphate).

Серумните нива на P бяха разгледани в две възрастови групи съобразно приетите референтните стойности на този показател (раздел 4.1 клиничен материал). Във възрастовата група от 12 до 15 години, средните стойности на P при пациентките с вторична аменорея (1.29 mmol/l), здрави контроли (1.25 mmol/l), опсоменорея (1.24 mmol/l) и първична аменорея (1.23 mmol/l) не се различават статистически помежду си.

Във възрастовата група от 16 до 18 години отново липсва статистически значима разлика в стойности на изследваните групи - контролната група (1.35 mmol/l), пациентките с опсоменорея (1.32 mmol/l), с първична аменорея (1.3 mmol/l) и вторична аменорея (1.26 mmol/l) (**Фигура 16**).



Фигура 16: Референтни и средни стойности на Phosphate по групи на изследване.

ЛГ – долна референтна граница, Х - средна стойност, ДГ- горна референтна граница

Беше направен **сравнителен анализ на четирите групи** по процент на абнормни (над горна и под долна референтна граница) стойности на всеки от изследваните показатели в зависимост от приетите референтни граници за всеки един от тях и в сравнение с контролната група (**Таблица 10**).

Таблица 10: Сравнителен анализ на четирите групи на изследване по процент на абнормните стойности

* - еднаквите букви по хоризонталите означават липса на сигнификантна разлика, а различните – наличие на такава ($p < 0.05$)

| Показатели | Контроли | | Първична аменорея | | Вторична аменорея | | Опсоменорея | | Общо | |
|-------------|----------|-------------------|-------------------|------------------|-------------------|-------------------|-------------|--------------------|------|------|
| | N | % | N | % | N | % | N | % | N | % |
| LH | 4 | 9.5 ^a | 10 | 40 ^{bc} | 41 | 57.7 ^b | 7 | 19.4 ^{ac} | 62 | 35.6 |
| FSH | 1 | 2.4 ^a | 10 | 40 ^b | 10 | 14.1 ^a | 5 | 13.9 ^a | 26 | 14.9 |
| Estradiol | 13 | 31.7 ^a | 12 | 48 ^a | 9 | 12.7 ^b | 4 | 11.1 ^b | 38 | 22 |
| Prolactine | 0 | 0 ^a | 0 | 0 ^a | 1 | 1.4 ^a | 3 | 8.3 ^a | 4 | 2.3 |
| Calcium | 1 | 2.4 ^a | 5 | 20 ^{bc} | 5 | 7 ^{ac} | 3 | 8.3 ^a | 14 | 8 |
| BMI | 6 | 14.3 ^a | 10 | 40 ^{bc} | 22 | 31 ^{ac} | 18 | 50 ^{bc} | 56 | 32.2 |
| AMH | 11 | 26.2 ^a | 10 | 40 ^{ac} | 15 | 21.1 ^a | 24 | 66.7 ^{bc} | 60 | 34.5 |
| Phosphate | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Osteocalcin | 0 | 0 ^a | 1 | 4 ^a | 8 | 11.3 ^a | 2 | 5.6 ^a | 11 | 6.3 |
| β-CrossLaps | 12 | 19.4 ^a | 5 | 20 ^a | 23 | 32.4 ^a | 7 | 28.6 ^a | 47 | 27 |

По отношение на **LH** се установи статистически значима разлика между контролната и изследваните групи, както следва: най-висок процент абнормни стойности имаше при пациентките с вторична аменорея (46.5 % - под долна референтна граница и 11.2 % – над горна референтна граница), следвани от тези с първична аменорея (40 % от момичетата бяха със стойности над горна референтна граница) и опсоменорея (19.4 % от момичетата бяха със стойности над горна референтна граница).

При **FSH** статистически значима разлика се откри при момичетата с първична аменорея – гонадна дисгенезия (40 % от момичетата бяха със стойности над горна референтна граница) в сравнение с контролната и останалите две групи, които от своя страна не се различаваха статистически значимо помежду си – контролна група (2.4 % - под долна референтна граница), вторична аменорея (14.1 % от момичетата бяха със стойности над горна референтна граница) и опсоменорея (13.9 % от момичетата бяха със стойности над горна референтна граница).

По отношение на **Estradiol (E₂)** изследваните групи показват значимо по-висок процент на поднормни стойности в сравнение с контролната група.

При оценка абнормните стойности на **Prolactin** не се откри статистически значима разлика между четирите групи, но в две от групите стойностите бяха горногранични – при пациентките с опсоменорея в 8.3 % и при 1.4 % от пациентките с вторична аменорея (стрес индуцирана аменорея).

При **Ca** се откри значимо по-висок процент на поднормни стойности при пациентките с първична аменорея (20 % от пациентките се откриха поднормни стойности) в сравнение с здравите контроли (2.4 % - стойности над горна референтна граница N = 2). Между пациентките с опсоменорея (8.3 % горногранични стойност) и тези с вторична аменорея (7 % долногранични стойности) не се откри значима разлика спрямо контролната група.

При оценка на **P** не се откриха абнормни стойности в изследваните групи.

По отношение на **AMH** при пациентките с опсоменорея (66.7 % от момичетата бяха със стойности на и над горна референтна граница) се установиха сигнификантно по-висок процент горно и надгорногранични стойности в сравнение с контролната група (26.2 % от момичетата бяха със стойности над горна референтна граница).

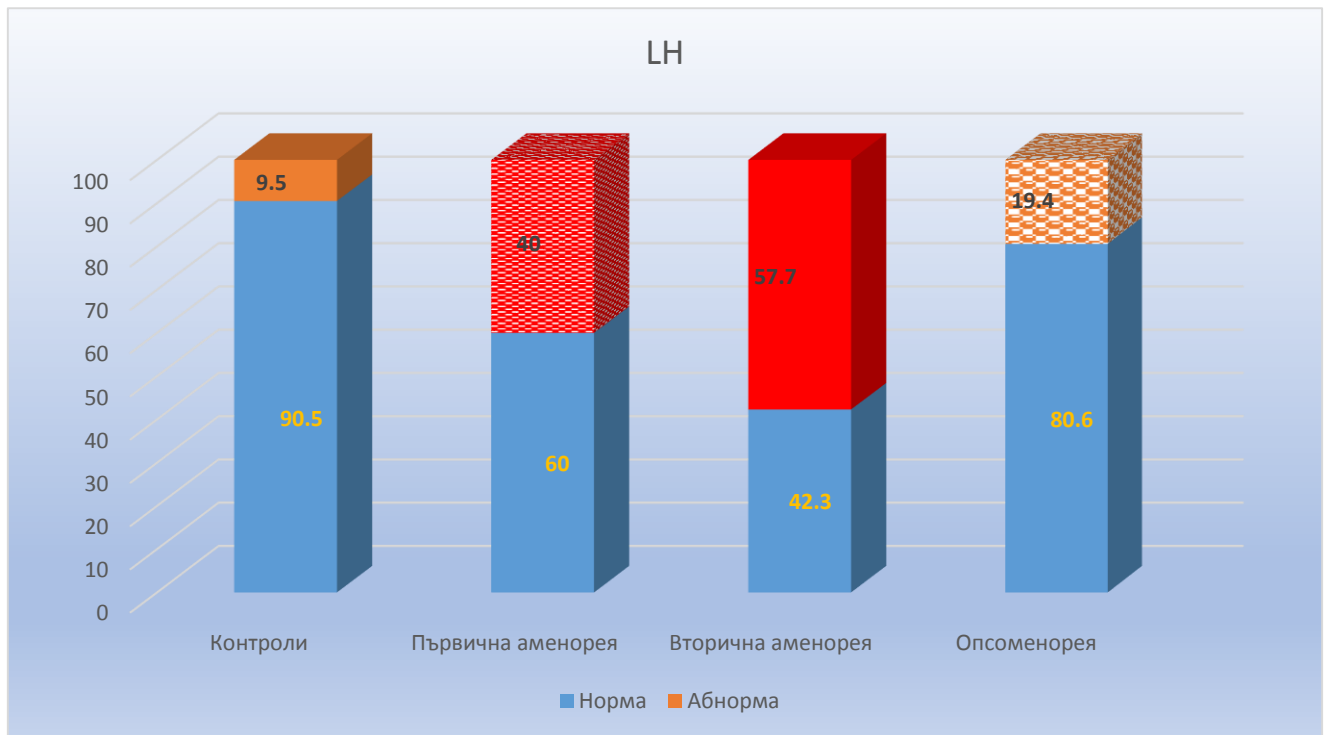
Пациентките с първична аменорея (40 % от пациентките бяха със стойности на и под долна референтна граница) бяха със значимо по-висок процент долно и поддолно гранични стойности в сравнение с контролите.

Между пациентките с вторична аменорея и контролната група не се откри значима разлика.

При оценка на маркера за костно формиране **Osteocalcin** не се откриха абнормни стойности в контролната група, докато в останалите групи те бяха както следва: пациентки с първична аменорея (4 % от пациентките бяха със стойности под долна референтна граница), вторична аменорея (11.3 % от пациентките бяха със стойности под долна референтна граница) и опсоменорея (5.6 % от пациентките бяха със стойности под долна референтна граница) – стойности под долна референтна граница за изследвания показател.

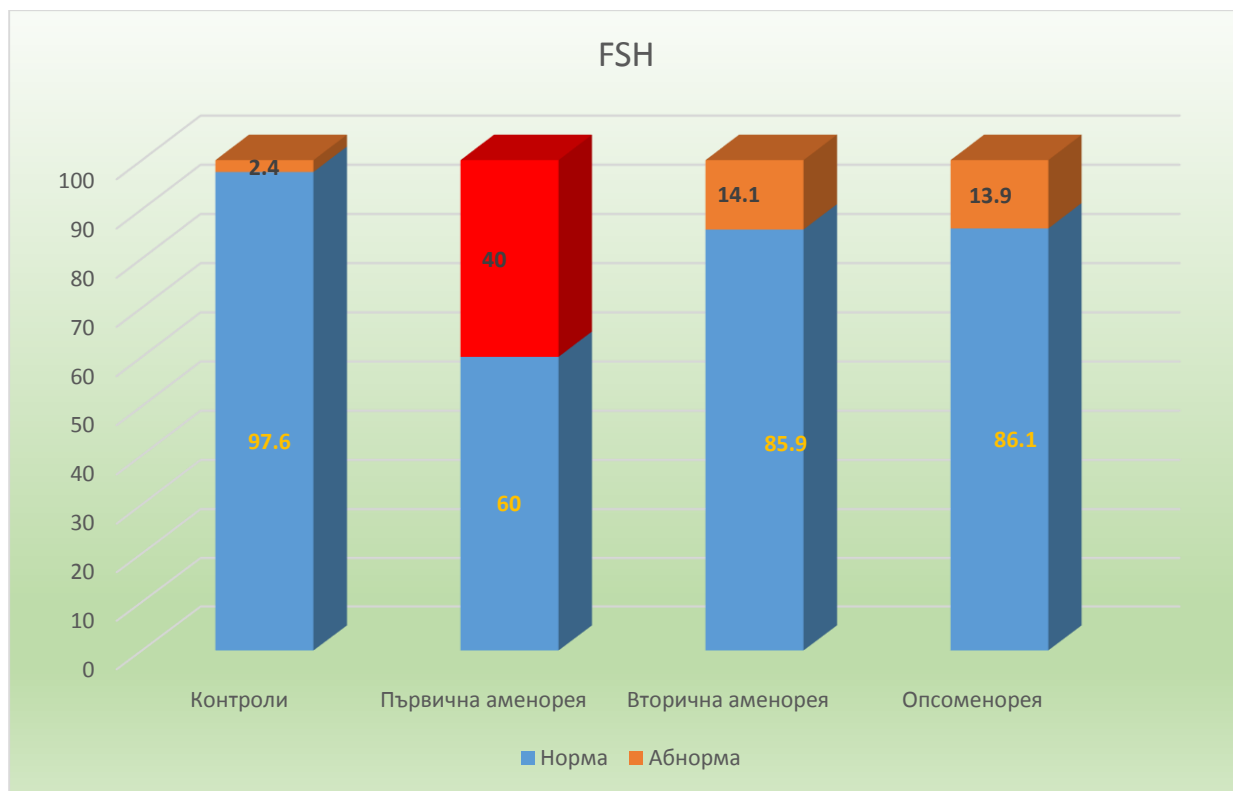
При маркера за костно разграждане – **β – CrossLaps** - пациентките с вторична аменорея (32.4 % от пациентките бяха със стойности над горна референтна граница), с опсоменорея (19.4 % - над горна референтна граница), здравите контроли (10.6 % - от момичетата бяха със стойности над горна граница и 8 % - под долна референтна граница) и момичетата с първична аменорея (20 % от пациентките бяха със стойности над горна референтна граница) (**Таблица 10**).

От графичното представяне на стойности над горна референтна граница на LH и FSH прави впечатление, че в групата на пациентките с първична аменорея те са 40 % и за двата изследвани хормона. Това е така, защото в тази група са включени пациентки с гонадна дисгенезия, които се характеризират с хипергонадотропен хипогонадизъм, т.е. високи и надгорногранични стойности на двата гонадотропни хормона (**Фигури 17 и 18**). При LH процентът на стойности под долна референтна граница (< 2 UL/L) в групата с вторична аменорея е 57.7 %, докато в групата на пациентките с опсоменорея в 19.4 % се наблюдават стойности над горна референтна граница (> 10 UI/L) (**Фигура 17**).



Фигура 17: Честотно разпределение на участничките в проучването по стойности на LH – под и над референтните граници

При **FSH**, статистически достоверно по-висок относителен дял на стойности над горна референтна граница (> 10 UI/L) се установява само в групата с първична аменорея (40 % от пациентките – в частност тези с гонадна дисгенезия) спрямо контролите и останалите две групи.



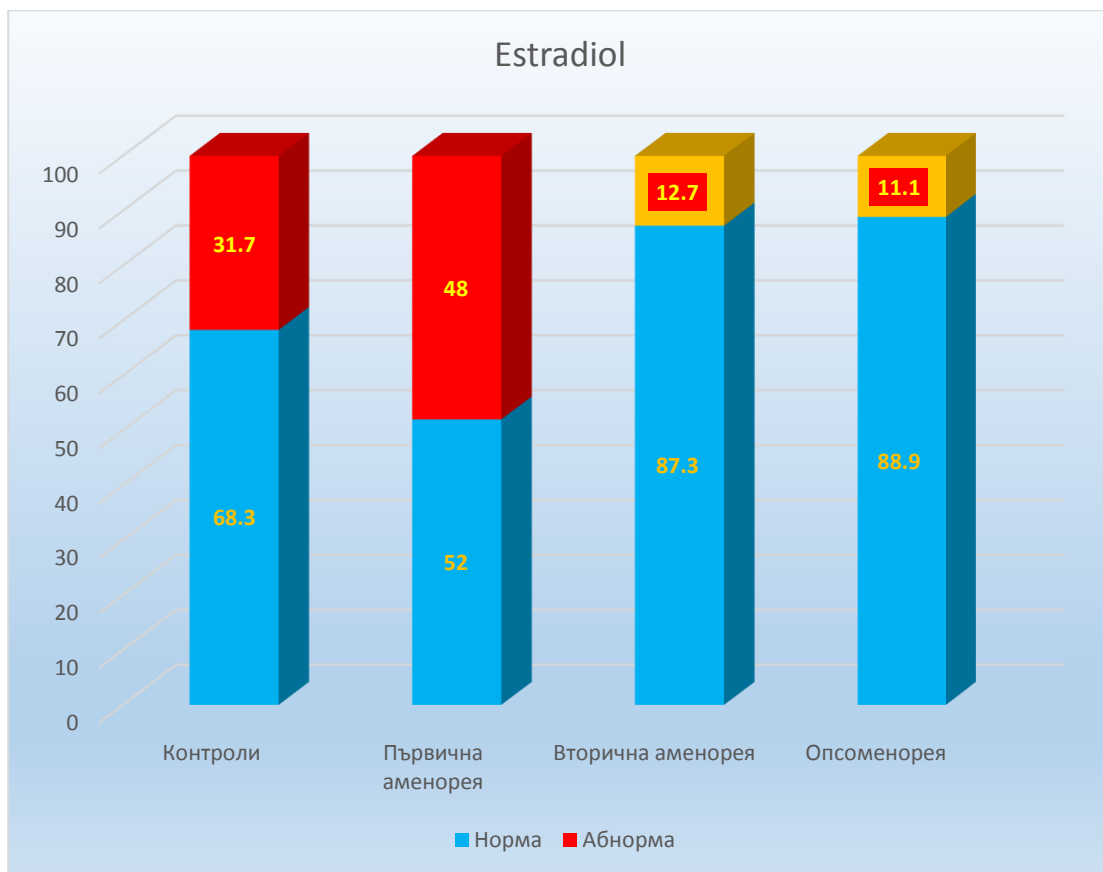
Фигура 18: Честотно разпределение на участничките в проучването по стойности на FSH под и над референтните граници за изследвания показател

При оценка на абнормните стойности при **Estradiol** отново прави впечатление високият процент в групата на пациентките с първична аменорея (48 % от момичетата са със стойности под долна референтна граница), което съответства на хипергонадотропния хипогонадизъм характерен за момичета с гонадна дисгенезия.

При пациентките с конституционално обусловен късен пубертет, все още няма менструации и нивото на LH, FSH и съответно на Estradiol още не са достигнали своите пубертетни стойности.

При контролната група високият процент (31.7 %) горно и над горногранични стойности (> 550 pmol/L) на Estradiol е вариация на нормата, и е в зависимост от фазата на менструалния цикъл.

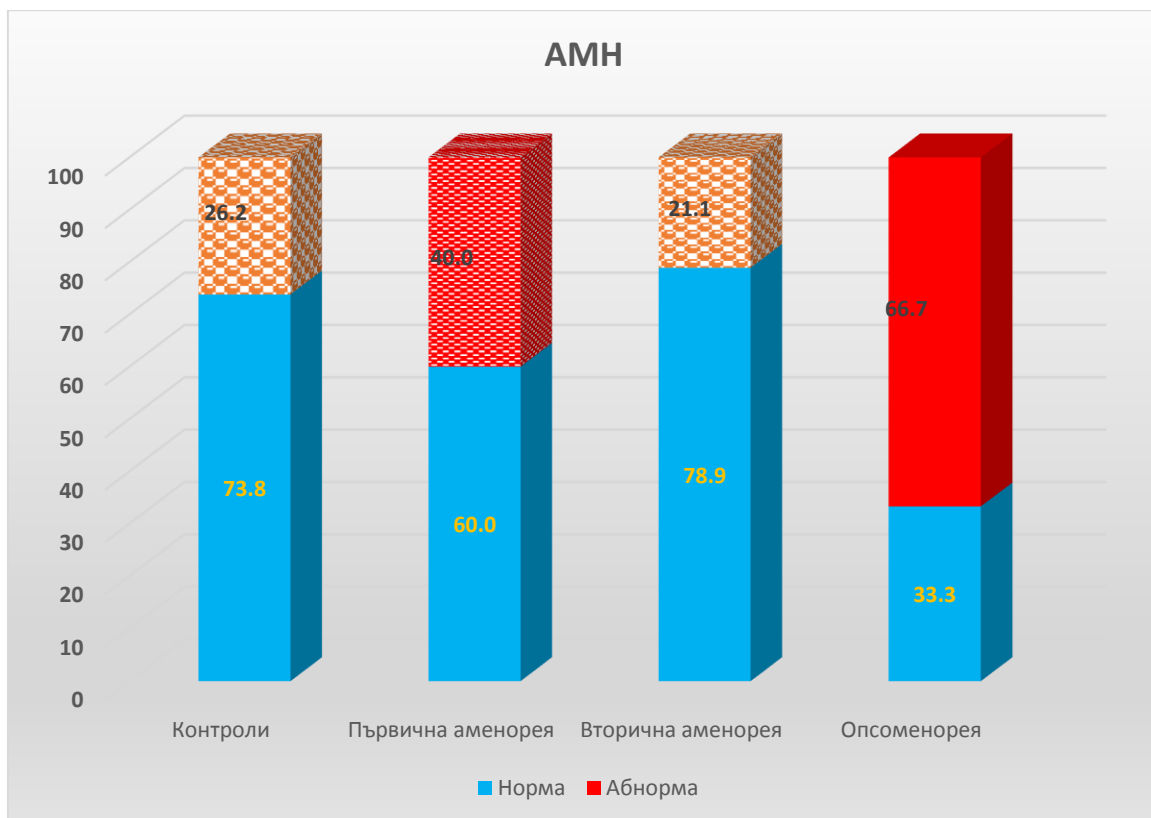
При другите две групи – опсоменорея (11.1 %) и вторична аменорея (12.7 % - от момичетата) стойностите на този показател са под долна референтна граница, като се различават сигнификантно от контролната група (**Фигура 19**).



Фигура 19: Честотно разпределение на участничките в проучването по абнормни стойности на Estradiol и групи на изследване

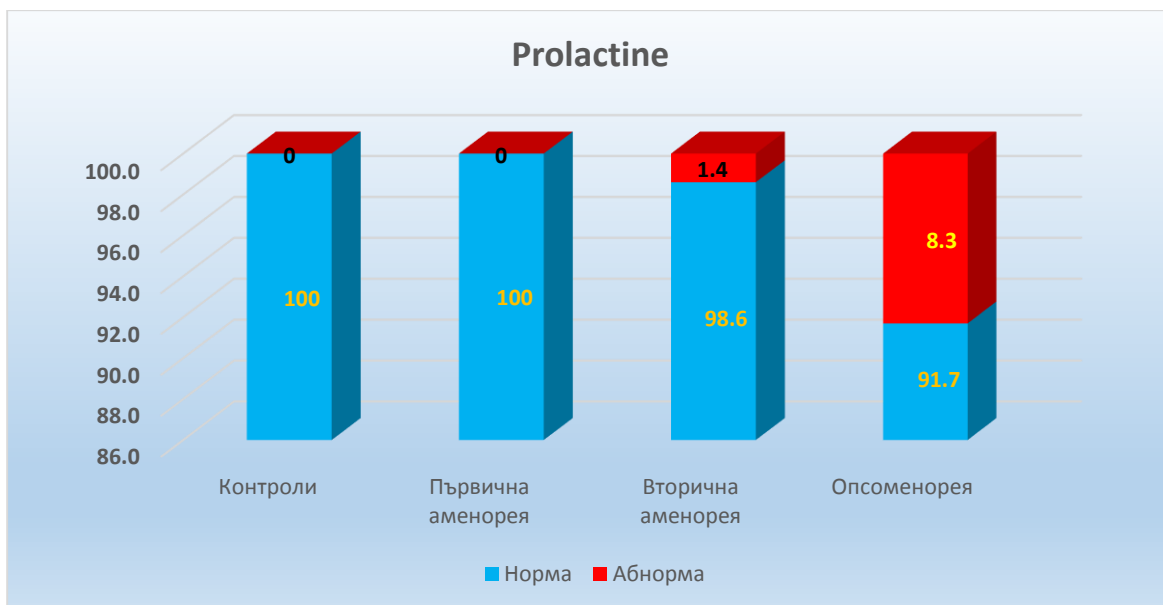
АМН - отново при пациентките с първична аменорея (гонадна дисгенезия) имаше статистически значимо по-висок процент стойности (40 %) под долна референтна граница за изследвания показател спрямо контролната група. Поради генетично обусловен дефект или пълна липса на герминативни клетки в яйчника, при част от групата на пациентките с първична аменорея в резултат на гонадна дисгенезия има изразен дефицит на този хормон. При останалата част от групата (Късен пубертет – 60 %) такъв дефицит не се откри. При пациентките с опсоменорея се установи статистически значимо по-висок процент (66.7 %) на горногранични и над горнограночни стойности на изследвания показател спрямо контролите, което е следствие на фоликулната атрезия, наблюдавана при тези пациентки.

Между контролната група (26.2 % от момичетата са със горногранични стойности) и момичетата с вторична аменорея (21.1 % от момичетата са със горногранични стойности) не се откри статистически значима разлика (**Фигура 20**).



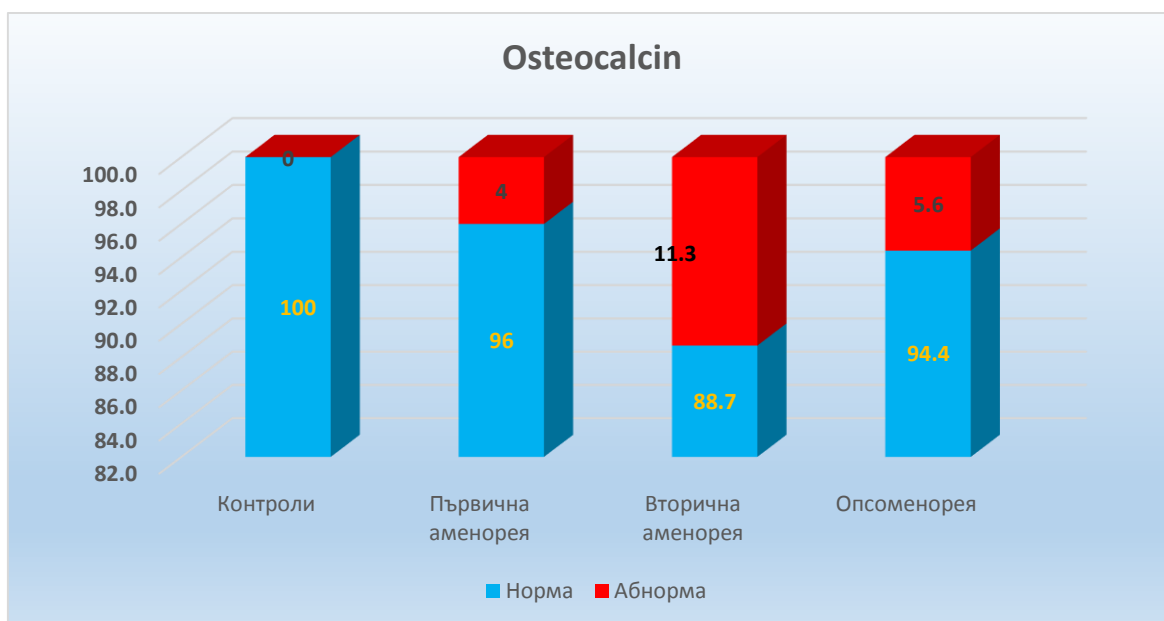
Фигура 20: Честотно разпределение на участничките в проучването по абнормни стойности на AMH и групи на изследване

При оценката на стойности на серумните нива на **Prolactine** се установи, че при 8.3 % от пациентките с опсоменорея и 1.4 % от тези с вторична аменорея (стрес индуцирана аменорея/вторична аменорея) – стойностите са над горна референтна граница (> 600.0 mIU/L). Статистически значима разлика между контролната и другите три групи не се откри (**Фигура 21**).



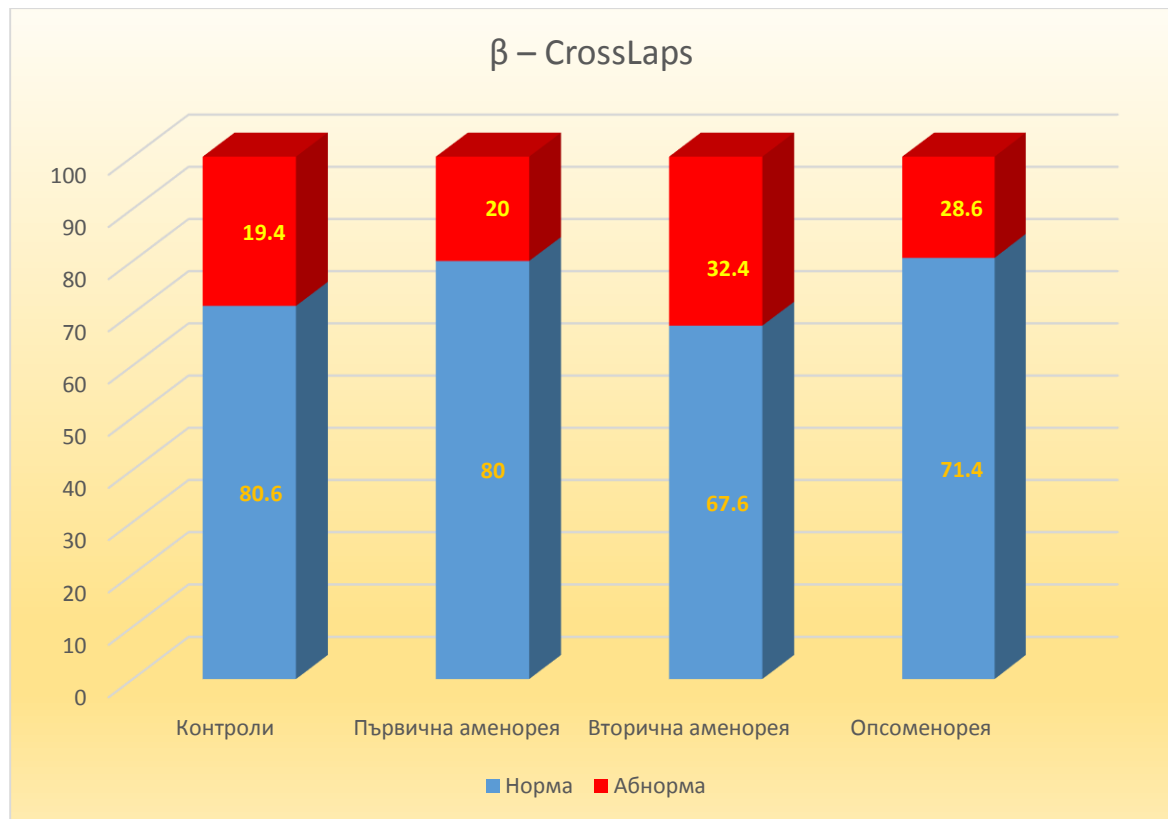
Фигура 21: Честотно разпределение на участниците в проучването на стойности над горна референтна граница за prolactine

Най-висок процент на стойности под долна референтна граница за Osteocalcin се установиха при пациентките с вторична аменорея (11.3 %), следвани от тези с опсоменорея (5.6 %) и първична аменорея (4 %) (**Фигура 22**).



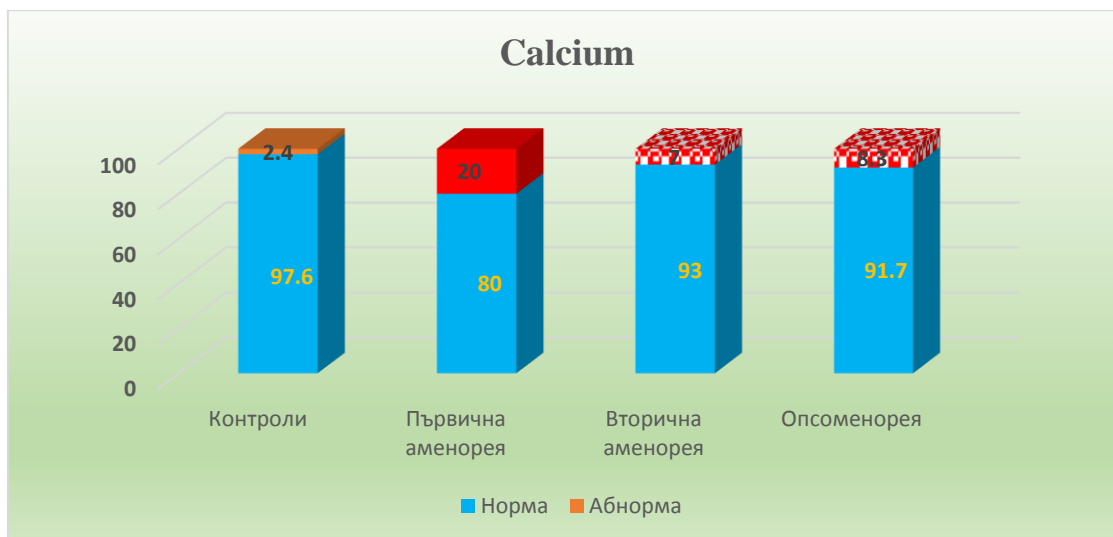
Фигура 22: Честотно разпределение на участниците в проучването по абнормни стойности на Osteocalcin и групи на изследване

При β – CrossLaps най-нисък процентът на имащите стойности над горна референтна граница бяха момичетата от контролната група (19.4 %), докато при останалите пациентки този процент беше в групата с вторична аменорея (32.4 %), имащите първична аменорея (20 %) и опсоменорея (28.6 %) бяха значително по-високи в сравнение с нея (**Фигура 23**).



Фигура 23: Честотно разпределение на участничките в проучването по стойности на β – CrossLaps над горна референтна граница

При **Са** значително статистически достоверно най-висок относителен дял на поднормни стойности се установиха в групата с първична аменорея в частност пациентките с гонадна дисгенезия (20 %) в сравнение с контролната група. Между другите две групи и контролите не се установи статистически значима разлика по отношение на изследвания показател (**Фигура 24**).



Фигура 24: Честотно разпределение на участничките в проучването по стойности на Calcium под долна референтна граница

При оценка на показателя **Phosphorus (P)** на бяха открити абнормни стойности.

5.6 УЛТРАЗВУКОВА ОЦЕНКА

Анализът на случаи с хипоплазия на матката (**ПЗД < 2 см**) показва, че единствено в групата с първична аменорея съществуват ултразвукови данни за наличие такава, което съответства на хипергонадотропния хипогонадизъм наблюдаван при пациентките с гонадна дисгенезия (подгрупа на първичната аменорея) (**табл. 11**).

Таблица 11: Честотно разпределение на участничките в проучването по процент с хипоплазия на матката (ПЗД < 2 см) и група на изследване

* - еднаквите букви по хоризонталите указват на липса на сигнификантна разлика, а различните – наличие на такава ($p < 0.05$)

| Хипоплазия на матката | Статистика | Групи | | | | Общо |
|-----------------------|------------|----------------|-------------------|-------------------|----------------|------|
| | | Контроли | Първична аменорея | Вторична аменорея | Опсоменорея | |
| Не | N | 42 | 19 | 71 | 36 | 168 |
| | % | 100 | 76 | 100 | 100 | 96.6 |
| Да | N | 0 | 6 | 0 | 0 | 6 |
| | % | 0 ^a | 24 ^a | 0 ^a | 0 ^a | 3.4 |
| Общо | N | 42 | 25 | 71 | 36 | 174 |
| | % | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |

Най-висок процент на ехографски оценена липса на фоликули имаше при пациентките с първична аменорея (при 36 % от момичетата с гонадна дисгенезия и 16 % от момичетата с късен пубертет не се визуализират ехографски фоликули) и вторична аменорея (40.8 %), като между тях няма статистически значима разлика, но има такава спрямо контролната група. Между пациентките с опсоменорея и здравите контроли значима разлика не се откри (Таблица 12).

Таблица 12: Честотно разпределение на участничките в проучването по процент от пациентките, при които не се визуализират ехографски фоликули и група на изследване

* - еднаквите букви по хоризонталите указват на липса на сигнификантна разлика, а различните – наличие на такава ($p < 0.05$)

| Фоликули | Статистика | Групи | | | | Общо |
|--------------------|------------|----------------|-------------------|-------------------|----------------|------|
| | | Контроли | Първична аменорея | Вторична аменорея | Опсоменорея | |
| Не се визуализират | N | 0 | 13 | 29 | 0 | 42 |
| | % | 0 ^a | 52 ^b | 40.8 ^b | 0 ^a | 24.1 |
| Се визуализират | N | 42 | 12 | 42 | 36 | 132 |
| | % | 100 | 48 | 59.2 | 100 | 75.9 |
| Общо | N | 42 | 25 | 71 | 36 | 174 |
| | % | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |

5.7 СТАДИИ НА ПУБЕРТЕТНО РАЗВИТИЕ ПО TANNER

От показаните резултати на **табл. 13** и **фиг. 25** става ясно, че:

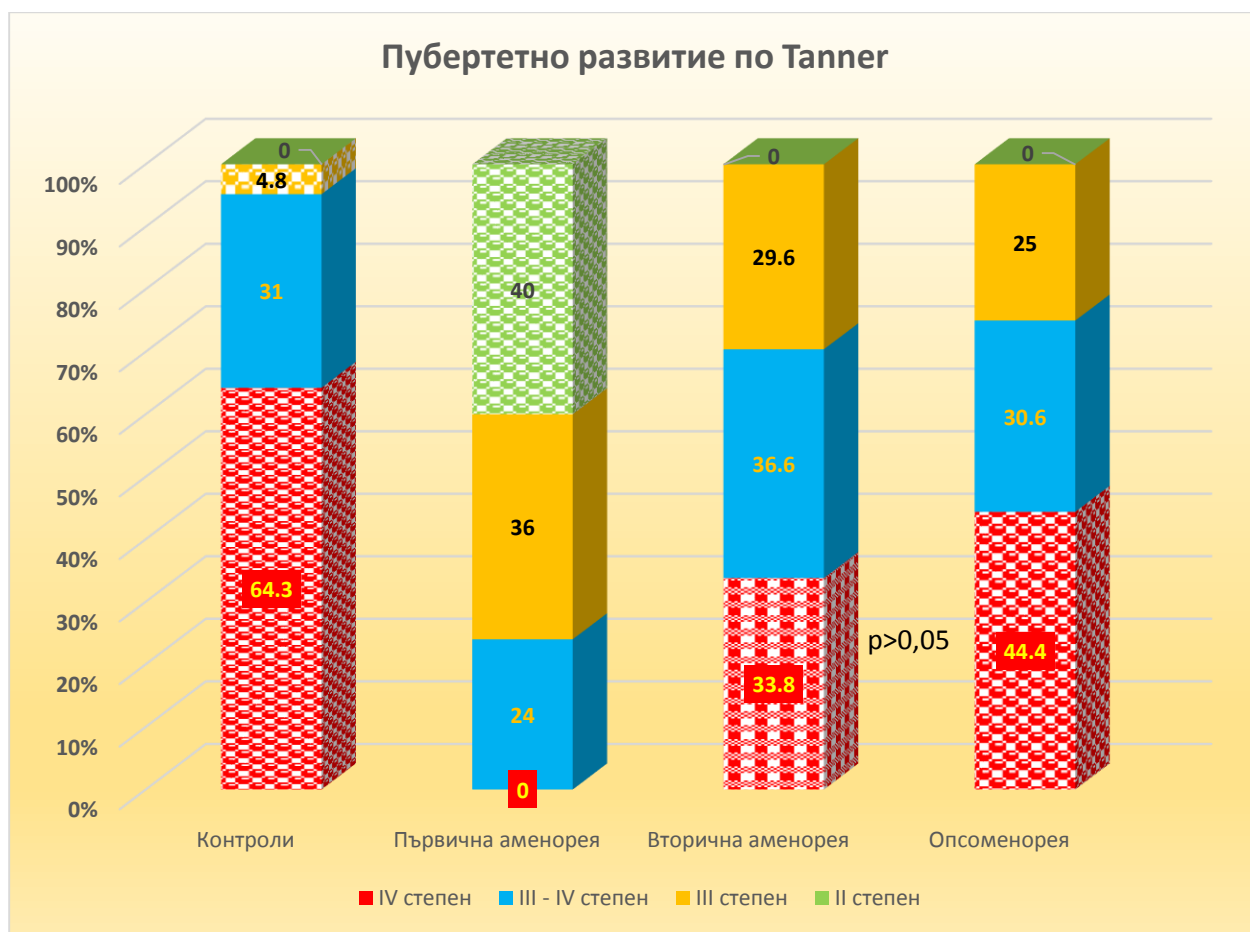
Таблица 13: Честотно разпределение на участничките в проучването по пубертетно развитие по Tanner и група на изследване

* - еднаквите букви по хоризонталите указват на липса на сигнификантна разлика, а различните – наличие на такава ($p < 0.05$)

| Пубертетно развитие по Tanner | Статистика | Групи | | | | Общо |
|-------------------------------|------------|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|------|
| | | Контроли | Първична аменорея | Вторична аменорея | Опсоменорея | |
| 0 - II степен | N | 0 | 10 | 0 | 0 | 10 |
| | % | 0 ^a | 40 ^b | 0 ^a | 0 ^a | 5.7 |
| III степен | N | 2 | 9 | 21 | 9 | 41 |
| | % | 4.8 ^a | 36 ^b | 29.6 ^b | 25 ^b | 23.6 |
| III - IV степен | N | 13 | 6 | 26 | 11 | 56 |
| | % | 31 ^a | 24 ^a | 36.6 ^a | 30.6 ^a | 32.2 |
| IV степен | N | 27 | 0 | 24 | 16 | 67 |
| | % | 64.3 ^a | 0 ^b | 33.8 ^{cd} | 44.4 ^{ad} | 38.5 |
| Общо | N | 42 | 25 | 71 | 36 | 174 |
| | % | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |

Четири изследвани групи се различаваха сигнификантно по три от степените на пубертетно развитие по Tanner. II степен се наблюдаваше единствено в групата с първична аменорея (40 % - подгрупата с гонадна дисгенезия), като процентът ѝ е значимо по-висок от този на останалите три групи, които не се различаваха статистически помежду си.

III степен се срещаше статистически достоверно по-малко при контролите (4.8 %) спрямо останалите три групи – пациентки с първична аменорея (36 % - подгрупа с конституционално обусловен късен пубертет), с вторична аменорея (29.6 %) и тези с опсоменорея (25 %). IV степен е със сигнификантно по-висок процент при контролите (64.3 %) спрямо групите с аменорея, но не и спрямо тези на имащите опсоменорея (44.4 %), който от своя страна е значимо по-висок от този на групата с първична аменорея (0 %), но не и от този на имащите вторична аменорея (33.8 %). Със статистически достоверно най-нисък относителен дял на IV степен спрямо всички останали групи беше групата с първична аменорея.



Фигура 25: Честотно разпределение на участничките в проучването по пубертетно развитие по Tanner и група на изследване

Оценката на серумните нива на **маркерите за костен метаболизъм в зависимост от степента на пубертетно развитие** са представени на **табл. 14**, където става ясно, че:

Таблица 14: Сравнителен анализ на изследваните групи по показателите Osteocalcin и β – CrossLaps в изследваните групи според стадия по Tanner

* - еднаквите букви по хоризонталите указват на липса на сигнификантна разлика, а различните – на наличие на такава ($p < 0.05$)

| Групи | Показатели | Tanner stage | | | | | | | | | | | |
|------------------------------|---------------------|---------------|-------------------|------|------------|--------------------|-------|-----------------|--------------------|-------|-----------|--------------------|-------|
| | | 0 - II степен | | | III степен | | | III – IV степен | | | IV степен | | |
| | | N | \bar{X} | SD | N | \bar{X} | SD | N | \bar{X} | SD | N | \bar{X} | SD |
| Здрави контроли | Osteocalcin | 0 | - | - | 2 | 67.92 | 21.21 | 13 | 41.57 ^a | 22.67 | 27 | 36.19 ^a | 18.55 |
| | β – CrossLaps | 0 | - | - | 2 | 1.13 | 0.15 | 13 | 1.10 ^a | 0.32 | 27 | 0.99 ^a | 0.45 |
| Момичета с първична аменорея | Osteocalcin | 10 | 20.2 ^a | 9,86 | 9 | 46.2 ^b | 10.73 | 6 | 46.01 | 10.23 | 0 | - | - |
| | β – CrossLaps | 10 | 1.17 ^a | 0,66 | 9 | 1.27 ^a | 0.42 | 6 | 0.97 | 0.11 | 0 | - | - |
| Момичета с вторична аменорея | Osteocalcin | 0 | - | - | 21 | 28.91 ^a | 15.03 | 26 | 31.43 ^a | 15.92 | 24 | 30.87 ^a | 21.65 |
| | β – CrossLaps | 0 | - | - | 21 | 0.94 ^a | 0.36 | 26 | 0.99 ^a | 0.37 | 24 | 0.91 ^a | 0.32 |
| Момичета с опсоменорея | Osteocalcin | 0 | - | - | 9 | 26.52 ^a | 9.03 | 11 | 23.59 ^a | 10.04 | 16 | 22.5 ^a | 8.06 |
| | β – CrossLaps | 0 | - | - | 9 | 1.04 ^a | 0.27 | 11 | 0.95 ^a | 0.35 | 16 | 0.88 ^a | 0.24 |

В групата на здравите контроли статистическа представителност имат момичетата с III - IV и IV степен по Tanner, но сигнификантна разлика между тях по разглежданите показатели (osteocalcin и β – CrossLaps) не се установява.

При момичетата с първична аменорея статистическа представителност имат момичетата с 0 - II и III степен по Tanner, но сигнификантна разлика между тях имаше само по показателя Osteocalcin – значимо по-висока средна стойност се установи при имащите III степен, като това е за сметка на подгрупата с конституционално обусловен късен пубертет.

В групата на момичетата с вторична аменорея и опсоменорея статистическа представителност имат момичетата с III, III - IV и IV степен по Tanner, но сигнификантна разлика между тях, както и с контролната група, по разглежданите показатели не се установи.

Таблица 15: Сравнителен анализ на показателите LH, FSH, estradiol според Tanner stage (цяла извадка)

* - еднаквите букви по хоризонталите указват на липса на сигнификантна разлика, а различните – на наличие на такава ($p < 0.05$)

| Показа- тели | Tanner stage | | | | | | | | | | | |
|-----------------|---------------|--------------------|-------|------------|---------------------|--------|-----------------|---------------------|--------|-----------|---------------------|--------|
| | 0 - II степен | | | III степен | | | III – IV степен | | | IV степен | | |
| | N | \bar{X} | SD | N | \bar{X} | SD | N | \bar{X} | SD | N | \bar{X} | SD |
| LH | 10 | 30.23 ^a | 10.15 | 41 | 4.57 ^b | 3.28 | 56 | 4.81 ^b | 3,01 | 67 | 5.8 ^b | 4.71 |
| FSH | 10 | 49.57 ^a | 20.55 | 41 | 6.03 ^{bd} | 2.86 | 56 | 5.19 ^{cd} | 2.58 | 67 | 6.84 ^b | 3.77 |
| Estradiol | 10 | 53.7 ^a | 21.59 | 41 | 372.61 ^b | 168.46 | 56 | 317.95 ^b | 151.71 | 66 | 394.56 ^b | 247.75 |

Установи се, че показателят **LH** има сигнификантно по-висока средна стойност в групата на момичетата с 0 - II степен от подгрупа гонадна дисгенезия (30.23 UI/L) по Tanner спрямо останалите участници в проучването с по-високи степени, чиито средни стойности не се различаваха статистически.

При **FSH** се установиха статистически достоверно по-висока средна стойност също в групата на момичетата с 0 - II степен от подгрупа гонадна дисгенезия (49.57 UI/L) по Tanner спрямо останалите участници в проучването. Момичетата с III – IV степен (5.19

UI/L) , IV степен (6.84 UI/L) и тази с III степен (6.03 UI/L) на пубертетно развитие бяха със статистически еднакви средни стойности на FSH.

При пациентките с 0 - II степен на пубертетно развитие се наблюдаваха и статистически достоверни най-ниски стойности на маркера за костно формиране – **Osteocalcin**.

Показателят **Estradiol** имаше сигнификантно по-ниска средна стойност в групата на момичетата с 0 - II степен от подгрупа гонадна дисгенезия (53.7 pmol/L) по Tanner спрямо останалите участнички в проучването с по-високи степени, чиито средни стойности не се различават статистически помежду им.

От направеният анализ в **таблицы 14 и 15** може да се заключи, че при пациентките с пубертетно развитие 0 - II степен по Tanner (пациентките от подгрупа гонадна дисгенезия) се наблюдава хипергонадотропен хипогонадизъм и като резултат подтиснат костен метаболизъм с ниски серумни нива на маркера за костно формиране – **Osteocalcin**.

5.8 СРАВНИТЕЛЕН АНАЛИЗ НА ИЗСЛЕДВАНИТЕ ПОКАЗАТЕЛИ В РАЗГЛЕЖДАНИТЕ ГРУПИ

Сравнителният анализ на изследваните групи по показателите LH, FSH, Estradiol и АМН (табл. 16) установи, следното:

Таблица 16: Сравнителен анализ на изследваните групи по показателите LH, FSH, Estradiol и АМН

* - еднаквите букви по хоризонталите указват на липса на сигнификантна разлика, а различните – на наличие на такава ($p < 0.05$)

| Показатели | Здрави контроли | | | Момичета с първична аменорея | | | Момичета с вторична аменорея | | | Момичета с опсоменорея | | |
|------------|-----------------|---------------------|-------|------------------------------|---------------------|--------|------------------------------|----------------------|--------|------------------------|----------------------|--------|
| | N | \bar{X} | SD | N | \bar{X} | SD | N | \bar{X} | SD | N | \bar{X} | SD |
| LH | 42 | 4.92 ^a | 1.83 | 25 | 14.42 ^c | 14.61 | 71 | 3.64 ^b | 4.34 | 36 | 8.96 ^a | 2.7 |
| FSH | 42 | 5.23 ^a | 1.91 | 25 | 22.24 ^a | 26.06 | 71 | 6.69 ^a | 4.1 | 36 | 6.71 ^a | 2.39 |
| Estradiol | 41 | 444.46 ^a | 207.3 | 25 | 252.64 ^b | 230.39 | 71 | 313.68 ^{bd} | 204.19 | 36 | 356.94 ^{cd} | 157.91 |
| АМН | 42 | 5.68 ^a | 3.25 | 25 | 2.94 ^b | 2.56 | 71 | 5.38 ^a | 3.62 | 36 | 10.11 ^c | 2.67 |

По отношение на показателя **FSH** не се установи статистически достоверна разлика между отделните групи.

Показателят **LH** имаше сигнификантно най-ниска средна стойност в групата на момичетата с вторична аменорея (3.64 UI/L) спрямо контролната група. Статистически значимо по-високи бяха стойностите на LH при пациентките с първична аменорея (14.42 UI/L) за сметка на подгрупата гонадна дисгенезия спрямо контролите. Между контролната група и пациентките с опсоменорея не се откри значима разлика.

По отношение на **Estradiol** контролната група имаше значимо най-висока средна аритметична стойност (444.46 pmol/L), като средните стойности при останалите групи - пациентките с опсоменорея (356.94 pmol/L), с първична аменорея (252.64 pmol/L) и тази на имащите вторична аменорея (313.68 pmol/L) бяха статистически значимо по-ниски от тези на контролната група.

При **АМН** статистически значимо по-висока средна стойност имаха момичетата с опсоменорея (10.11 ng/ml) в сравнение с контролната група (5.68 ng/ml), докато при момичетата с първична аменорея (2.94 ng/ml) средната аритметична (отново за сметка на пациентките с гонадна дисгенезия) беше сигнификантно по-ниска от тази

на контролите. Пациентките имащи вторична аменорея (5.38 ng/ml) не се различаваха статистически от здравите контроли.

5.9 СРАВНИТЕЛЕН АНАЛИЗ НА ИЗСЛЕДВАНИТЕ ПОКАЗАТЕЛИ В РАЗГЛЕЖДАНИТЕ ГРУПИ ПРИ УЧАСТНИЧКИ ДО И НА 14 ГОДИШНА ВЪЗРАСТ

Възрастовото разделяне на участничките на група „до и на 14 години“ се наложи от факта, че при здрави момичета до 14 годишна възраст обичайно се наблюдава усилен костен метаболизъм, след което настъпва фаза на стабилизиране или т. нар. плато в стойностите на маркерите за костно формиране и разграждане (Osteocalcin и β – CrossLaps).

Сравнителният анализ на изследваните групи по показателите LH, FSH, Estradiol, Osteocalcin, β – CrossLaps и Z – score (възраст до 14 години) показва (**табл. 17**):

* В него няма група „Първична аменорея“, тъй като в тази група по презумпция са набрани само момичета от 15 г.в. нагоре.

Таблица 17: Сравнителен анализ на изследваните групи по показателите LH, FSH, Estradiol, Osteocalcin, β – CrossLaps и Z – score (възраст до 14 години)

* - еднаквите букви по хоризонталите указват на липса на сигнификантна разлика, а различните – на наличие на такава ($p < 0.05$)

| Показатели | Здрави контроли | | | Момичета с вторична аменорея | | | Момичета с опсоменорея | | |
|---------------------|-----------------|---------------------|--------|------------------------------|----------------------|--------|------------------------|---------------------|--------|
| | N | \bar{X} | SD | N | \bar{X} | SD | N | \bar{X} | SD |
| LH | 11 | 3.64 ^a | 1.77 | 13 | 5.04 ^{ac} | 4.06 | 9 | 7.17 ^{bc} | 1.45 |
| FSH | 11 | 3.64 ^a | 1.36 | 13 | 8.73 ^b | 6.95 | 9 | 5.77 ^b | 1.62 |
| Estradiol | 11 | 414.73 ^a | 142.85 | 13 | 375.08 ^{ab} | 293.76 | 9 | 330.33 ^c | 100.47 |
| Osteocalcin | 11 | 62.97 ^a | 17.63 | 13 | 48.72 ^{ac} | 28.19 | 9 | 30.98 ^{bc} | 10.92 |
| β – CrossLaps | 11 | 1.18 ^a | 0.17 | 13 | 0.95 ^a | 0.41 | 9 | 1.07 ^a | 0.21 |
| Z – score | 8 | 0.30 ^a | 0.85 | 9 | -0.47 ^a | 0.90 | 6 | 0.55 | 0.73 |

При **LH** сигнификантно по-висока средна стойност беше установена в групата с опсоменорея (7.17 UI/L) спрямо контролите (3.64 UI/L), но не и спрямо имащите вторична аменорея (5.04 UI/L), чиято средна не се различаваха статистически от тези на останалите представителни групи.

Стойностите на **FSH** бяха статистически достоверно по-високи при патологичните групи в сравнение с контролната (3.24 UI/L), като помежду им не се установи статистически значима разлика.

Стойностите на **Estradiol** бяха значимо по-ниски в двете патологични групи в сравнение с контролната група.

При **Osteocalcin** сигнификантно по-висока средна стойност се установи в групата на контролите (62.97 ng/mL) спрямо тази на момичетата с опсоменорея (30.98 ng/mL) и имащите вторична аменорея (48.72 ng/mL).

При **β – CrossLaps**, както и в оценката на **Z – score** не се откри сигнификантна разлика между контролната и другите две групи.

От направения анализ може да се заключи, че във възрастовата група до и на 14 години при пациентките от двете патологични групи се наблюдават значимо по-ниски серумни нива на **Estradiol** и маркера за костно формиране **Osteocalcin**, което показва подтисната остеобластна активност при тези пациентки спрямо контролите.

5.10 СРАВНИТЕЛЕН АНАЛИЗ НА ИЗСЛЕДВАНИТЕ ПОКАЗАТЕЛИ В РАЗГЛЕЖДАНИТЕ ГРУПИ ПРИ УЧАСТНИЧКИ НАД 14 ГОДИШНА ВЪЗРАСТ

Анализът на показателите LH, FSH, Estradiol, Osteocalcin, β – CrossLaps и Z – score при момичетата над 14 години показва (табл. 18):

Таблица 18: Сравнителен анализ на изследваните групи по показателите LH, FSH, Estradiol, Osteocalcin, β – CrossLaps и Z – score (възраст над 14 години)

* еднаквите букви по хоризонталите указват на липса на сигнификантна разлика, а различните – на наличие на такава ($p < 0.05$)

| Показа - тели | Здрави контроли | | | Момичета с първична аменорея | | | Момичета с вторична аменорея | | | Момичета с Опсоменорея | | |
|------------------------|--------------------|---------------------|--------|---------------------------------|---------------------|--------|---------------------------------|----------------------|--------|---------------------------|----------------------|--------|
| | N | \bar{X} | SD | N | \bar{X} | SD | N | \bar{X} | SD | N | \bar{X} | SD |
| LH | 31 | 5.37 ^a | 1.64 | 25 | 14.42 ^{ad} | 14.61 | 58 | 3.33 ^b | 4.37 | 27 | 9.55 ^{cd} | 2.77 |
| FSH | 31 | 5.79 ^a | 1.77 | 25 | 22.24 ^a | 26.06 | 58 | 6.23 ^a | 3.06 | 27 | 7.02 ^a | 2.54 |
| Estradiol | 30 | 455.37 ^a | 227.56 | 25 | 252.64 ^b | 230.39 | 58 | 299.91 ^{bc} | 178.83 | 27 | 365.81 ^{ac} | 173.59 |
| Osteocalcin | 31 | 30.99 ^{ad} | 14.27 | 25 | 35.76 ^a | 16.27 | 58 | 26.41 ^{cd} | 10.99 | 27 | 21.46 ^b | 6.69 |
| β – CrossLaps | 31 | 0.98 ^{ac} | 0.45 | 25 | 1.16 ^a | 0.48 | 58 | 0.95 ^{bc} | 0.34 | 27 | 0.90 ^{bc} | 0.29 |
| Z – score | 12 | 0.63 ^a | 0.68 | 15 | -0.85 ^b | 1.24 | 21 | -0.42 ^{bc} | 1.3 | 12 | 0.3 ^{ac} | 1.1 |

При **FSH** не се наблюдаваха статистически достоверна разлика при изследваните групи.

При **LH** сигнификантно по-висока средна стойност се установи в групата на момичетата с първична аменорея (14.42 UI/L) и тези с опсоменорея (9.55 UI/L) спрямо контролите (5.37 UI/L). В групата на имащите вторична аменорея (3.33 UI/L) средната стойност на LH беше статистически значимо по-ниска в сравнение с контролната група. Сигнификантно най-висока средна стойност се наблюдаваше при пациентките с гонадна дисгенезия, които са подгрупа на момичетата с първична аменорея.

И в трите групи аменорея се откриха статистически значимо по-ниски стойности на **Estradiol** първична аменорея – 252.64 pmol/L, вторична аменорея – 299.91 pmol/L и опсоменореята – 365.81 pmol/L) в сравнение с контролите (455.37 pmol/L).

При **Z – score** средните стойности на двете групи с аменорея – първична (- 0.85) и вторична аменорея (- 0.42) бяха значимо по-ниски от контролите (0.63). Момичетата с опсоменорея (0.30) не се различаваха сигнификантно от контролната група.

При **Osteocalcin** сигнификантно по-висока средна стойност се установи в групата на имащите първична аменорея (35.76 ng/ml), което е резултат на високите му стойности при пациентките с късен пубертет (46.13 ng/ml), докато в другата подгрупа на първична аменорея – пациентките с гонадна дисгенезия (20.2 ng/ml) стойностите на този показател бяха значимо по-ниски спрямо контролите (30.99 ng/ml). В групата на пациентките с опсоменорея (21.46 ng/ml) и на тези с вторична аменорея (26.41 ng/ml) също се наблюдаваха статистически значимо по-ниски стойности в сравнение с контролите.

При **β – CrossLaps** сигнификантно разлика между контролната група (0.98 ng/ml) и останалите групи не се откри. По-висока средна стойност се установи в групата на имащите първична аменорея (1.16 ng/ml) спрямо тази на момичетата с вторична аменорея (0.95 ng/ml) и опсоменорея – 0.91 ng/ml (чиито средни не се различават статистически).

От направения анализ прави впечатление, че във възрастта след 14 години при патологичните групи имаше значимо по-ниски серумни нива на **Estradiol, Osteocalcin** (с изключение на пациентките с късен пубертет) и **Z – score** в сравнение с контролната група, което показва подтиснат костен метаболизъм и риск от непълноценно натрупване на костна маса.

5.11 ВЪТРЕГРУПОВО СРАВНЕНИЕ НА ИЗСЛЕДВАНИТЕ ПОКАЗАТЕЛИ

Таково сравнение се направи с цел, да бъде оценено влиянието на различните причини водещи до проява на аменорея – първична и вторична, както и опсоменорея върху хормоналния статус и костния метаболизъм.

Сравнителният анализ на показателите LH, FSH и Estradiol в зависимост от водещите причини при момичетата с първична аменорея и контролите е представено на **табл. 19:**

Таблица 19: Сравнителен анализ на показателите LH, FSH и Estradiol по причини при момичетата с първична аменорея и контролите

* - еднаквите букви по хоризонталите указват на липса на сигнификантна разлика, а различните – наличие на такава ($p < 0.05$)

| Показатели | Групи | | | | | | | | |
|------------|----------|---------------------|--------|---------------------------------|---------------------|--------|---|--------------------|-------|
| | Контроли | | | Pubertas tarda (късен пубертет) | | | Gonadal dysgenesis (гонадна дисгенезия) | | |
| | N | \bar{X} | SD | N | \bar{X} | SD | N | \bar{X} | SD |
| LH | 42 | 4.92 ^a | 1.83 | 15 | 3.87 ^b | 1.34 | 10 | 30.23 ^c | 10.15 |
| FSH | 42 | 5.23 ^a | 1.91 | 15 | 4.03 ^b | 1.94 | 10 | 49.57 ^c | 20.55 |
| Estradiol | 41 | 444.46 ^a | 207.31 | 15 | 385.27 ^a | 208.75 | 10 | 53.70 ^b | 21.59 |

При **LH** и **FSH** статистически значимо най-високи средни стойности имаха момичетата от патологичната подгрупа с причина за заболяването гонадна дисгенезия (30.23 UI/L и 49.57 UI/L) спрямо контролите (4.92 UI/L и 5.23 UI/L), докато при момичета от същата патологична група с причина за заболяването късен пубертет (3.87 UI/L и 4.03 UI/L) се наблюдаваха значимо по-ниски стойности в сравнение с контролите.

При **Estradiol** момичетата с първична аменорея и причина за заболяването гонадна дисгенезия (53.7 pmol/L) имаха сигнификантно по-ниска средна стойност спрямо момичета от същата патологична група с причина за заболяването късен пубертет (385.27 pmol/L) и контролите (444.46 pmol/L), като между подгрупата с късен пубертет и контролната група няма статистически значима разлика.

От табл. 20 става ясно, че:

Таблица 20: Сравнителен анализ на показателите LH, FSH и Estradiol по фоликули при момичетата с първична аменорея.

| Показатели | Фоликули | | | | | | P |
|------------|-------------------------------|-----------|--------|---------|-----------|--------|--------|
| | Не се визуализират ехографски | | | Налични | | | |
| | N | \bar{X} | SD | N | \bar{X} | SD | |
| LH | 13 | 24.05 | 14.67 | 12 | 3.98 | 1.37 | <0,001 |
| FSH | 13 | 39.55 | 26.07 | 12 | 3.49 | 1.52 | <0,001 |
| Estradiol | 13 | 198.08 | 280.64 | 12 | 311.75 | 150.21 | 0.019 |

Момичетата с първична аменорея (подгрупа – гонадна дисгенезия N = 10 и при част от момичетата с късен пубертет N = 3), при които фоликулите не се визуализират ехографски са със значимо по-високи средни стойности на LH и FSH (24.05 и 39.55 UI/L) и статистически достоверно по-ниска средна аритметична на Estradiol (198.08 pmol/L).

На табл. 21 се вижда, че:

Таблица 21: Сравнителен анализ на показателите LH, FSH и Estradiol в зависимост от пубертетното развитие по Tanner при момичетата с първична аменорея

* - еднаквите букви по хоризонталите указват на липса на сигнификантна разлика, а различните – наличие на такава (p < 0.05)

| Показатели | Пубертетно развитие по Tanner | | | | | | | | |
|------------|-------------------------------|--------------------|-------|-----------------|---------------------|--------|-----------------|-----------|-------|
| | 0 - I степен | | | II - III степен | | | III - IV степен | | |
| | N | \bar{X} | SD | N | \bar{X} | SD | N | \bar{X} | SD |
| LH | 10 | 30.23 ^a | 10.15 | 9 | 3.22 ^b | 1 | 6 | 4.85 | 1.23 |
| FSH | 10 | 49.57 ^a | 20.55 | 9 | 4.26 ^b | 2.17 | 6 | 3.68 | 1.67 |
| Estradiol | 10 | 53.70 ^a | 21.59 | 9 | 399.22 ^b | 264.81 | 6 | 364.33 | 94.56 |

Момичетата с първична аменорея и 0 - I степен степен на пубертетно развитие по Tanner (подгрупа гонадна дисгенезия) са със значимо по-високи средни стойности на LH

и FSH (30.23 UI/L и 49.57 UI/L) спрямо имащите II - III степен (3.22 UI/L и 4.26 UI/L) и III - IV степен (4.85 UI/L 3.68 UI/L) на момичетата с късен пубертет, и статистически достоверно по-ниска средна аритметична стойност на Estradiol (53.7 pmol/L в сравнение с 399.22 pmol/L и 364.33 pmol/L).

Сравнителния анализ на показателите LH, FSH и Estradiol в зависимост от водещата причина при момичетата с вторична аменорея и с контролната група показва (табл. 22):

Таблица 22: Сравнителен анализ на показателите LH, FSH и Estradiol по причини при момичетата с вторична аменорея и с контролите

* - еднаквите букви по хоризонталите указват на липса на сигнификантна разлика, а различните – на наличие на такава ($p < 0.05$)

| Показатели | Контроли | | | Причини | | | | | | | | |
|------------|----------|---------------------|--------|---------------------|----------------------|--------|--|----------------------|------|-------|---------------------|-------|
| | | | | Алиментарен дефицит | | | Екстремни физически натоварвания (спорт) | | | Стрес | | |
| | N | \bar{X} | SD | N | \bar{X} | SD | N | \bar{X} | SD | N | \bar{X} | SD |
| LH | 42 | 4.92 ^a | 1.83 | 34 | 4.68 ^{ad} | 5.65 | 11 | 3.74 ^{bd} | 1.36 | 11 | 1.65 ^c | 1.9 |
| FSH | 42 | 5.23 ^a | 1.91 | 34 | 7.58 ^{bc} | 2.87 | 11 | 6.45 ^{ac} | 2.37 | 11 | 7.16 ^{ac} | 8.01 |
| Estradiol | 41 | 444.46 ^a | 207.31 | 34 | 364.68 ^{bd} | 246.68 | 11 | 323.91 ^{bd} | 70.9 | 11 | 213.45 ^c | 132.8 |

Момичетата с аменорея вследствие на **екстремни физически натоварвания** (3.74 UI/L и 323.91 pmol/L) и **стрес** (1.65 UI/L и 213.45 pmol/L) и **алиментарен дефицит** (4.68 UI/L и 364.68 pmol/L) имат статистически значими по-ниски стойности на **LH** и **Estradiol** спрямо контролите (4.92 UI/L и 444.46 pmol/L).

При пациентките със **стрес – индуцирана аменорея** има сигнификантно най - ниски стойности на **LH** и **Estradiol**, както в сравнение с контролите, така и в сравнение с останалите подгрупи. При тях има параклинични данни за хипогонадотропен хипогонадизъм.

При **FSH** значима разлика между контролите и отделните подгрупи на вторична аменорея не се установява.

Проведеният корелационен анализ между показателите **Osteocalcin**, β – **CrossLaps** и **Z – score** с продължителността на аменореята в групата на момичетата с вторична аменорея показва наличие на слаба, обратнопропорционална корелация единствено между Osteocalcin и продължителността на аменореята, т.е колкото по - дълъг е периодът на аменорея, толкова повече се задълбочава супресията върху остеобластите и се нарушава ритъма на костния метаболизъм. (**табл. 23**) Средната продължителност на аменорея при тези пациентки беше изчислена – 12.63 ± 7.42 месеца (интервал между 3 и 24 месеца преди да потърсят лекарска помощ).

Таблица 23: Корелационни коефициенти между показателите Osteocalcin, β – CrossLaps и Z – score с продължителността на аменореята (група вторична аменорея) *
- $p < 0.05$

| Показатели | Продължителност на аменореята |
|--------------------|-------------------------------|
| Osteocalcin | -0.241* |
| β -CrossLaps | -0.023 |
| Z-score | -0.172 |

Сравнителният анализ на изследваните групи по показателите Prolactin и LH/FSH показва че (**табл. 24**):

Таблица 24: Сравнителен анализ на изследваните групи по показателите Prolactin и LH/FSH

* - еднаквите букви по хоризонталите указват на липса на сигнификантна разлика, а различните – на наличие на такава ($p < 0.05$)

| Показатели | Здрави контроли | | | Момичета с първична аменорея | | | Момичета с вторична аменорея | | | Момичета с опсоменорея | | |
|------------|-----------------|---------------------|--------|------------------------------|---------------------|-------|------------------------------|----------------------|--------|------------------------|---------------------|-------|
| | N | \bar{X} | SD | N | \bar{X} | SD | N | \bar{X} | SD | n | \bar{X} | SD |
| Prolactin | 42 | 332.71 ^a | 133.57 | 25 | 319.36 ^a | 116.9 | 71 | 229.83 ^{bc} | 138.26 | 36 | 385.1 ^{ac} | 149.4 |
| LH/FSH | 42 | 0.99 ^a | 0.35 | 25 | 0.97 ^a | 0.5 | 71 | 0.54 ^b | 0.52 | 36 | 1.39 ^c | 0.32 |

При показателят **Prolactin** при всички групи стойностите му са в нормални референтни граници. Значимо най-ниска средна стойност имат момичетата с вторична аменорея (229.83 mIU/L) спрямо контролите (332.71 mIU/L) и имащите първична

аменорея (319.36 mIU/L), но не и спрямо тези с опсоменорея (385.10 mIU/L), чиято средна аритметична не се различава статистически от тези на останалите три групи.

Единствената група, в която съотношението **LH/FSH** е по-голямо от единица е тази на пациентките с опсоменорея (1.39). В другите изследвани групи това съотношение е по-малко от единица - здравите контроли (0.99), момичетата с първична аменорея (0.97) и пациентки с вторична аменорея (0.54), като между тях няма статистически значима разлика.

При направения сравнителен анализ на всички формирани подгрупи става ясно, че (табл. 25):

Таблица 25: Анализ на зависимостта между причини и Osteocalcin, β – CrossLaps и Z - score

* - еднаквите букви по вертикалите указват на липса на сигнификантна разлика, а различните – на наличие на такава ($p < 0.05$)

| Причини | Osteocalcin | | | β – CrossLaps | | | Z – score | | |
|---|-------------|-----------------------|-------|---------------------|------------------------|------|-----------|---------------------|-------|
| | N | \bar{X} | SD | N | \bar{X} | SD | N | \bar{X} | SD |
| Контроли | 42 | 39.36 ^{ade} | 20.68 | 42 | 1.03 ^{ac} | 0.4 | 20 | 0.5 ^a | 0.749 |
| Pubertas tarda (късен пубертет) | 15 | 46.13 ^a | 10.16 | 15 | 1.15 ^a | 0.36 | 12 | -0.483 ^b | 1.099 |
| Gonadal dysgenesis (гонадна дисгенезия) | 10 | 20.2 ^{bg} | 9.86 | 10 | 1.17 ^{ade} | 0.66 | 3 | -2.333 | 0.208 |
| Алиментарен дефицит | 34 | 31.23 ^{fij} | 20.08 | 34 | 0.95 ^{bcdfgi} | 0.43 | 17 | -0.635 ^b | 1.276 |
| Екстремни физически натоварвания (спорт) | 11 | 40.9 ^{cd} | 16.88 | 11 | 0.94 ^{afj} | 0.3 | 2 | 0.1 | 0.707 |
| Стрес | 11 | 28.59 ^{egik} | 16.15 | 11 | 0.9 ^{cegjk} | 0.35 | 6 | 0.1 | 1.068 |
| PCOS (Поликистозна болест на яйчниците) | 36 | 23.84 ^{bjk} | 8.83 | 36 | 0.94 ^{aik} | 0.28 | 18 | 0.383 ^a | 0.973 |

Показателят **Osteocalcin** има сигнификантно най-висока средна стойност при момичетата с късен пубертет (46.13 ng/mL), спрямо тези от останалите подгрупи, разбити според изследваните причини, но не и спрямо контролите (39,36 ng/mL). На второ място (но пак статистически значимо) с по-ниска средна стойност, са момичетата с причина „екстремни физически натоварвания“ (40.90 ng/mL), които са над средните на останалите подгрупи без контролите.

Статистически значимо по-ниски стойности на **Osteocalcin** в сравнение с контролната група се наблюдават при пациентките с гонадна дисгенезия (20.2 ng/mL), PCOS (23.84 ng/mL), стрес (28.59 ng/mL) и алиментарен дефицит (31.23 ng/mL).

При показателя β – **CrossLaps** няма статистически достоверна разлика между образуваните според наличните причини подгрупи. В алгебричен план с най-висока средна стойност са момичетата с причина за аменореята гонадна дисгенезия (1.17 ng/mL), следвани от тези с късен пубертет (1.15 ng/mL) и контролите (1.03 ng/mL), а с най-ниска стойност са имащите стрес (0.9 ng/mL).

При **Z – score** само 3 от подгрупите и контролите имат статистическа представителност. Средните аритметични на контролите (0.5) и пациентките с PCOS (0.38) не се различават статистически помежду си. Средните стойности на пациентките с късен пубертет (- 0.48) и алиментарен дефицит (- 0.63), които също не се различават статистически помежду си, са значимо по-ниски в сравнение с контролната група. Най-ниски стойности се наблюдават при пациентките с гонадна дисгенезия (- 2.33), като между тях и контролната група, както и с останалите подгрупи съществува сигнификантна разлика. Тези стойности на **Z – score** се приемат за патологични.

На табл. 26 се вижда, че:

Таблица 26: Сравнителен анализ на показателите LH и FSH по причини при момичетата с първична аменорея, вторична аменорея, опсоменорея и с контролите

* - еднаквите букви по вертикалите указват на липса на сигнификантна разлика, а различните – на наличие на такава ($p < 0.05$)

| Причини | Показатели | | LH | | FSH | |
|--|------------|--------------------|-------|----|----------------------|-------|
| | N | \bar{X} | SD | N | \bar{X} | SD |
| Контролна група | 42 | 4.92 ^a | 1.83 | 42 | 5.23 ^a | 1.91 |
| Pubertas tarda (късен пубертет) | 15 | 3.87 ^b | 1.34 | 15 | 4.03 ^{bd} | 1.94 |
| Gonadal dysgenesis (гонадна дисгенезия) | 10 | 30.23 ^c | 10.15 | 10 | 49.57 ^c | 20.55 |
| Алиментарен дефицит | 34 | 4.68 ^b | 5.65 | 34 | 7.58 ^{egh} | 2.87 |
| Екстремни физически натоварвания (спорт) | 11 | 3.74 ^b | 1.36 | 11 | 6.45 ^{agi} | 2.37 |
| Стрес | 11 | 1.65 ^d | 1.90 | 11 | 7.16 ^{adhj} | 8.01 |
| PCOS (Поликистозна болест на яйчниците) | 36 | 8.96 ^e | 2.7 | 36 | 6.71 ^{fij} | 2.39 |

Показателят **LH** има сигнификантно най-висока средна стойност при имащите гонадна дисгенезия (30.23 UI/L) както спрямо контролите, така и в сравнение с останалите подгрупи. Пациентките с PCOS (8.96 UI/L) са със значимо по-високи стойности сравнени с контролната група, а със статистически значимо най-ниски средни стойности са пациентките със стрес - индуцирана аменорея (1.65 UI/L).

При показателя **FSH** отново със сигнификантно най-висока средна стойност са момичетата с гонадна дисгенезия (49.57 UI/L), но между другите подгрупи няма ясно изразено статистическо разграничение.

Резултатите от **табл. 27** показват, че:

Таблица 27: Сравнителен анализ на показателите Estradiol и АМН по причини при момичетата с първична аменорея, вторична аменорея, опсоменорея и с контролите

* - еднаквите букви по вертикалите указват на липса на сигнификантна разлика, а различните – на наличие на такава ($p < 0.05$)

| Показатели Причини | Estradiol | | | АМН | | |
|--|-----------|-----------------------|--------|-----|---------------------|------|
| | N | \bar{X} | SD | N | \bar{X} | SD |
| Контроли | 41 | 444.46 ^a | 207.31 | 42 | 5.68 ^a | 3.25 |
| Pubertas tarda (късен пубертет) | 15 | 385.27 ^{ac} | 208.75 | 15 | 4.70 ^{ad} | 1.70 |
| Gonadal dysgenesis (гонадна дисгенезия) | 10 | 53.7 ^b | 21.59 | 10 | 0.30 ^b | 0.34 |
| Алиментарен дефицит | 34 | 364.68 ^{bf} | 246.68 | 34 | 5.74 ^{af} | 3.73 |
| Екстремни физически натоварвания (спорт) | 11 | 323.91 ^{ag} | 70.9 | 11 | 3.85 ^{cdf} | 1.14 |
| Стрес | 11 | 213.45 ^d | 132.81 | 11 | 6.49 ^a | 3.18 |
| PCOS (Поликистозна болест на яйчниците) | 36 | 356.94 ^{efg} | 157.91 | 36 | 10.11 ^e | 2.67 |

Показателят **Estradiol** има сигнификантно най-ниска средна стойност при пациентките с гонадна дисгенезия (53.7 pmol/L), спрямо момичетата от контролната група и всички останали подгрупи. Значимо по-ниски са стойностите на изследвания показател и в подгрупите на алиментарен дефицит, стрес – индуцирана аменорея, вследствие на екстремни физически натоварвания и PCOS спрямо контролите.

Показателят **АМН** също има статистически достоверно най-ниска средна стойност при момичетата с гонадна дисгенезия (0.3 ng/ml) спрямо контролите и всички останали подгрупи. Значимо най-висока средна стойност се установява при имащите PCOS (10.11 ng/ml), докато между останалите подгрупи ясно изразени статистически значими разлики не се наблюдават.

При извършения сравнителен анализ между контролната група и всяка една формирана подгрупа стана ясно, че:

Таблица 28: Сравнителен анализ на контролите и пациентите с **Pubertas tarda** по показателите Osteocalcin, β – CrossLaps, Z - score, LH, FSH, Estradiol и AMH

| Показатели | Контроли | | | Pubertas tarda | | | P |
|---------------------|----------|-----------|--------|----------------|-----------|--------|-------|
| | N | \bar{X} | SD | N | \bar{X} | SD | |
| Osteocalcin | 42 | 39.36 | 20.68 | 15 | 46.13 | 10.16 | 0.069 |
| β – CrossLaps | 42 | 1.03 | 0.4 | 15 | 1.15 | 0.36 | 0.224 |
| Z-score | 20 | 0.5 | 0.75 | 12 | - 0.48 | 1.10 | 0.006 |
| LH | 42 | 4.92 | 1.83 | 15 | 3.87 | 1.34 | 0.009 |
| FSH | 42 | 5.23 | 1.91 | 15 | 4.03 | 1.94 | 0.042 |
| Estradiol | 41 | 444.46 | 207.31 | 15 | 385.27 | 208.75 | 0.349 |
| AMH | 42 | 5.68 | 3.25 | 15 | 4.7 | 1.7 | 0.457 |

Момичетата с диагноза „**Pubertas tarda**“ се различават сигнификантно по-ниски нива на гонадотропните хормони (LH – $p = 0.009$ и FSH – $p = 0.042$) и Z – score ($p = 0.006$) спрямо здравите контроли, което е резултат от по-късния растежен скок, който се наблюдава при пациентки с това състояние (**Таблица 28**).

Таблица 29: Сравнителен анализ на контролите и пациентите с Gonadal dysgenesis по показателите Osteocalcin, β – CrossLaps, Z - score, LH, FSH, Estradiol и AMH

| Показатели | Контроли | | | Gonadal dysgenesis | | | P |
|---------------------|----------|-----------|--------|--------------------|-----------|-------|--------|
| | N | \bar{X} | SD | N | \bar{X} | SD | |
| Osteocalcin | 42 | 39.36 | 20.68 | 10 | 20.2 | 9.86 | 0.002 |
| β – CrossLaps | 42 | 1.03 | 0.40 | 10 | 1.17 | 0.66 | 0.88 |
| Z-score | 20 | 0.50 | 0.75 | 3 | -2.33 | 0.21 | - |
| LH | 42 | 4.92 | 1.83 | 10 | 30.23 | 10.15 | <0.001 |
| FSH | 42 | 5.23 | 1.91 | 10 | 49.57 | 20.55 | <0.001 |
| Estradiol | 41 | 444.46 | 207.31 | 10 | 53.70 | 21.59 | <0.001 |
| AMH | 42 | 5.68 | 3.25 | 10 | 0.30 | 0.34 | <0.001 |

Момичетата с диагноза „**Gonadal dysgenesis**“ са със статистически значимо по-ниски серумни нива на гонадотропните хормони (LH – $p < 0.001$ и FSH – $p < 0.001$),

серумните нива на Estradiol ($p < 0.001$) и AMH ($p < 0.001$), както и в нивата на Osteocalcin ($p = 0.002$) спрямо контролната група. Тази група се разграничава от другите с превалиране на патологични стойности на Z -score ≤ -2 SD и може да се направи извод, че при тези пациентки има категорични доказателства за нарушаване в натрупването на костна маса като последица от хипогонадотропния хипогонадизъм характерен за това състояние.

Ниските серумни нива на маркера за костно формиране (Osteocalcin) сочат подтисната остеобластна активност и дисбаланс в костното ремоделиране (**Таблица 29**).

Таблица 30: Сравнителен анализ на контролите и пациентките с Алиментарен дефицит по показателите Osteocalcin, β – CrossLaps, Z -score, LH, FSH, Estradiol и AMH

| Показатели | Контроли | | | Алиментарен дефицит | | | P |
|---------------------|----------|-----------|--------|---------------------|-----------|--------|--------|
| | N | \bar{X} | SD | N | \bar{X} | SD | |
| Osteocalcin | 42 | 39.36 | 20.68 | 34 | 31.23 | 20.08 | 0.035 |
| β – CrossLaps | 42 | 1.03 | 0.40 | 34 | 0.95 | 0.43 | 0.16 |
| Z -score | 20 | 0.5 | 0.75 | 17 | -0.64 | 1.28 | 0.002 |
| LH | 42 | 4.92 | 1.83 | 34 | 4.68 | 5.65 | 0.008 |
| FSH | 42 | 5.23 | 1.91 | 34 | 7.58 | 2.87 | <0.001 |
| Estradiol | 41 | 444.46 | 207.31 | 34 | 364.68 | 246.68 | 0.026 |
| AMH | 42 | 5.68 | 3.25 | 34 | 5.74 | 3.73 | 0.950 |

В групата на пациентки с **вторична аменорея вследствие на алиментарен дефицит** се открива статистически значимо по-ниски серумни нивата на гонадотропните хормони (LH – $p = 0.008$ и FSH – < 0.001), Estradiol ($p = 0.026$) както и в нивата на Osteocalcin ($p = 0.035$) и Z -score ($p = 0.002$) в сравнение с контролната група. Тези резултати показват подтиснат костен метаболизъм и в частност костно формиране (**Таблица 30**).

Таблица 31: Сравнителен анализ на контролите и пациентите с **Екстремни физически натоварвания (спорт)** по показателите Osteocalcin, β – CrossLaps, Z - score, LH, FSH, Estradiol и АМН

| Показатели | Контроли | | | Екстремни физически натоварвания (спорт) | | | P |
|---------------------|----------|-----------|--------|--|-----------|-------|-------|
| | N | \bar{X} | SD | N | \bar{X} | SD | |
| Osteocalcin | 42 | 39.36 | 20.68 | 11 | 40.9 | 16.88 | 0.411 |
| β – CrossLaps | 42 | 1.03 | 0.4 | 11 | 0.94 | 0.3 | 0.546 |
| Z-score | 20 | 0.5 | 0.75 | 2 | 0.1 | 0.71 | - |
| LH | 42 | 4.92 | 1.83 | 11 | 3.74 | 1.36 | 0.041 |
| FSH | 42 | 5.23 | 1.91 | 11 | 6.45 | 2.37 | 0.08 |
| Estradiol | 41 | 444.46 | 207.31 | 11 | 323.91 | 70.9 | 0.003 |
| АМН | 42 | 5.68 | 3.25 | 11 | 3.85 | 1.14 | 0.026 |

При пациентките с **вторична аменорея вследствие екстремно физическо натоварване/спорт** се откри статистически значимо по-ниски серумни нива на LH – $p = 0.041$, Estradiol – $p = 0.003$ и АМН – $p = 0.026$ в сравнение с контролната група. В тази група пациентки са включени момичета, които не се занимават професионално със спорт. Трябва да се отбележи също, че при тях стойностите на ИТМ/ВМІ са в референтни граници, което може да се тълкува с липса на хранителни разстройства и елиминиране на адювантния им ефект върху костния метаболизъм (**Таблица 31**).

Таблица 32: Сравнителен анализ на контролите и пациентите с причина **Стрес** по показателите Osteocalcin, β – CrossLaps, Z - score, LH, FSH, Estradiol и АМН

| Показатели | Контроли | | | Стрес | | | P |
|---------------------|----------|-----------|--------|-------|-----------|--------|--------|
| | N | \bar{X} | SD | N | \bar{X} | SD | |
| Osteocalcin | 42 | 39.36 | 20.68 | 11 | 28.59 | 16.15 | 0.1 |
| β – CrossLaps | 42 | 1.03 | 0.4 | 11 | 0.9 | 0.35 | 0.263 |
| Z-score | 20 | 0.5 | 0.75 | 6 | 0.1 | 1.07 | - |
| LH | 42 | 4.92 | 1.83 | 11 | 1.65 | 1.9 | <0.001 |
| FSH | 42 | 5.23 | 1.91 | 11 | 7.16 | 8.01 | 0.645 |
| Estradiol | 41 | 444.46 | 207.31 | 11 | 213.45 | 132.81 | 0.001 |
| АМН | 42 | 5.68 | 3.25 | 11 | 6.49 | 3.18 | 0.392 |

При пациентките с **вторична аменорея** вследствие „стрес“ се откри статистически значимо по-ниски серумни нива на LH – $p < 0.001$ и Estradiol – $p = 0.001$ в сравнение с контролната група (**Таблица 32**).

Таблица 33: Сравнителен анализ на контролите и пациентите с **PCOS** по показателите Osteocalcin, β – CrossLaps, Z - score, LH, FSH, Estradiol и AMH

| Показатели | Контроли | | | PCOS | | | P |
|---------------------|----------|-----------|--------|------|-----------|--------|--------|
| | N | \bar{X} | SD | N | \bar{X} | SD | |
| Osteocalcin | 42 | 39.36 | 20.68 | 36 | 23.84 | 8.83 | <0.001 |
| β – CrossLaps | 42 | 1.03 | 0.4 | 36 | 0.94 | 0.28 | 0.44 |
| Z-score | 20 | 0.5 | 0.75 | 18 | 0.38 | 0.97 | 0.965 |
| LH | 42 | 4.92 | 1.83 | 36 | 8.96 | 2.7 | <0.001 |
| FSH | 42 | 5.23 | 1.91 | 36 | 6.71 | 2.39 | 0.017 |
| Estradiol | 41 | 444.46 | 207.31 | 36 | 356.94 | 157.91 | 0.043 |
| AMH | 42 | 5.68 | 3.25 | 36 | 10.11 | 2.67 | <0.001 |

В групата с **опсоменорея/PCOS** имаше статистически значима по-високи серумни нива на гонадотропните хормони (LH – $p < 0.001$ и FSH – $p = 0.017$), AMH ($p < 0.001$), спрямо контролите, докато нивата на Estradiol ($p = 0,043$) и Osteocalcin ($p < 0.001$) бяха статистически значимо по-ниски при тези пациентки в сравнение с контролната група. (**Таблица 33**)

Трябва да се отбележи, че при всички изследвани групи нивата на Osteocalcin бяха по-ниски в сравнение с контролната група, дори и при пациентките с вторична аменорея с водеща причина стрес и екстремно физическо натоварване/спорт.

5.12 ДИАГНОСТИЧНА НАДЕЖДНОСТ НА АМН

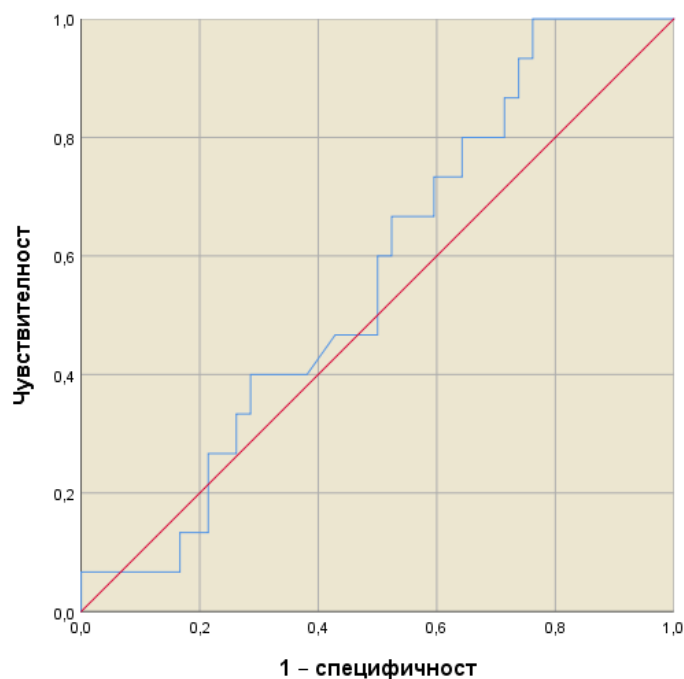
Прагови стойности на АМН и стойности на критериите за валидизация при отграничаването на контролната група от шестте подгрупи.

За да се определят праговите стойности на АМН бе приложен ROC curve анализ.

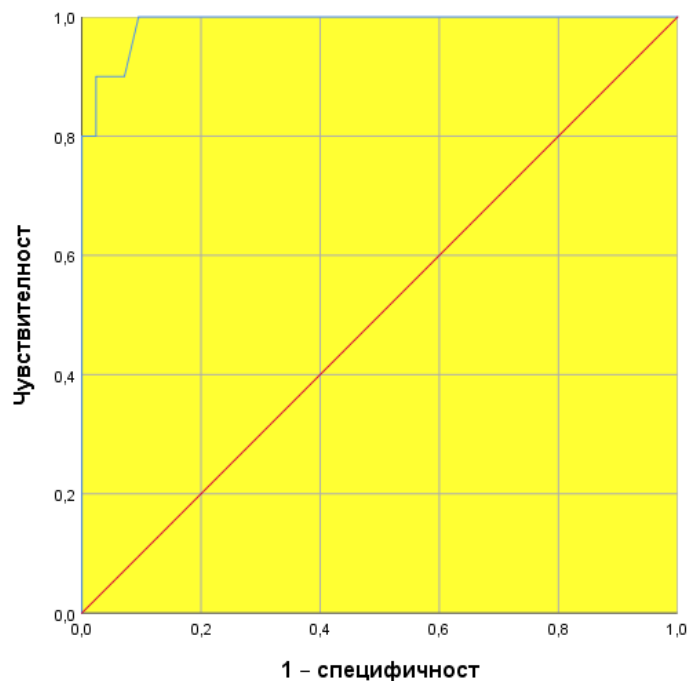
Получените резултати (фиг. 26 - 31) показват, че статистически значими прагови стойности могат да бъдат установени за две от причините: **Gonadal dysgenesis** и **PCOS**.

При избора на прагова величина критериите за оптимизация бяха висока чувствителност и прецизност. Според получените стойности на критериите за валидизация (**табл. 34**):

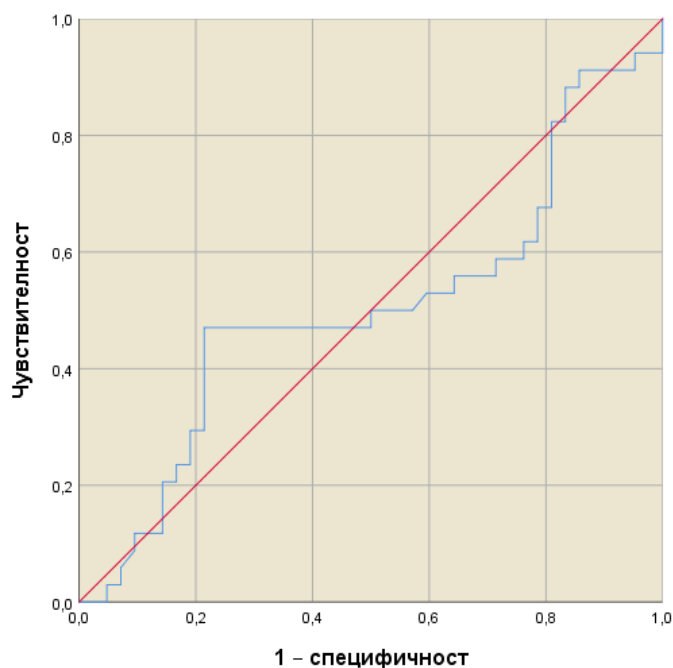
Показателят АМН е най-добър за отграничаване на имащите Gonadal dysgenesis от здравите индивиди (чувствителност 100 %, прецизност 92 %).



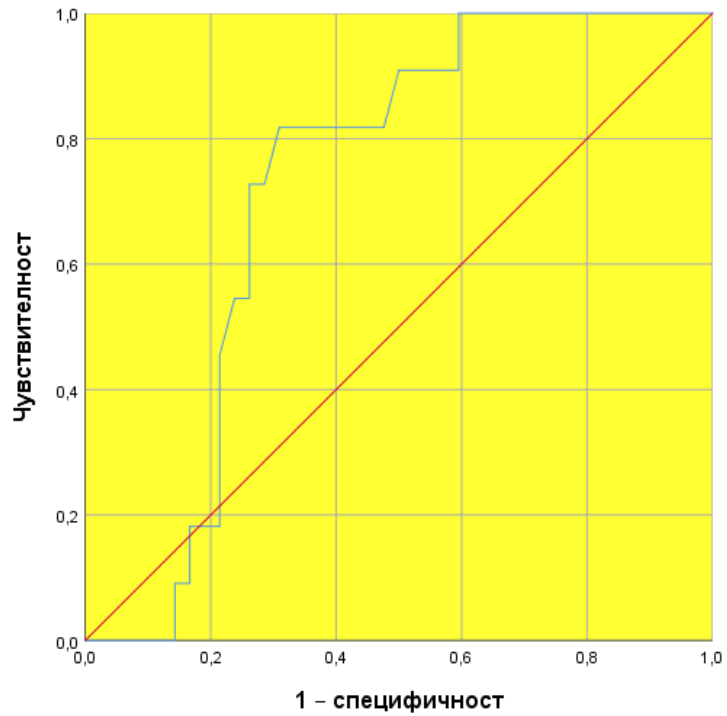
Фигура 26: ROC крива на АМН за определяне праговата му стойност при отграничаването на имащите Pubertas tarda от контролите (площ под кривата 0.565, $p = 0.457$)



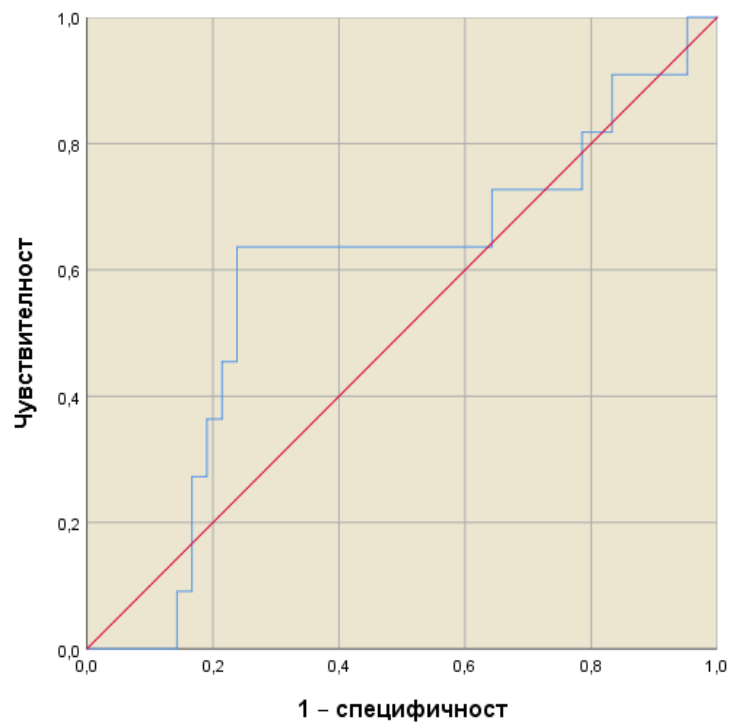
Фигура 27: ROC крива на АМН за определяне праговата му стойност при отграничаването на имащите Gonadal dysgenesis от контролите (площ под кривата 0.989, $p < 0.001$)



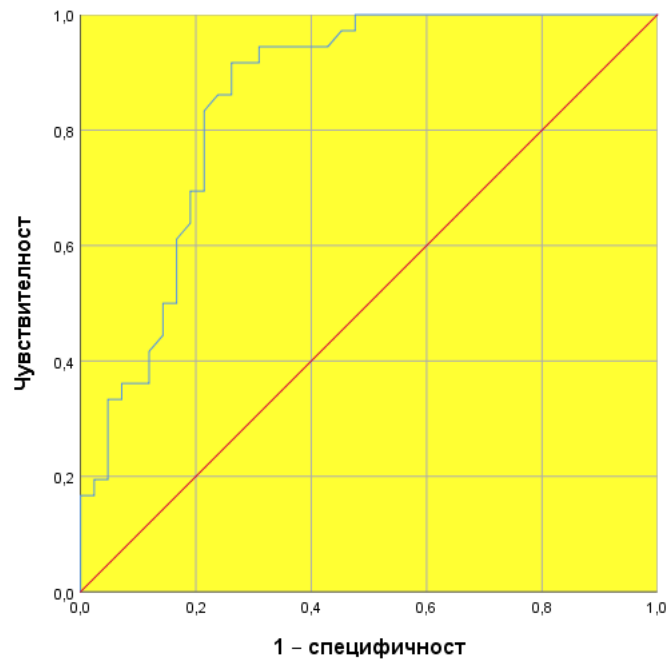
Фигура 28: ROC крива на АМН за определяне праговата му стойност при отграничаването на имащите Алиментарен дефицит от контролите (площ под кривата 0.504, $p = 0.950$)



Фигура 29: ROC крива на АМН за определяне праговата му стойност при отграничаването на имащите Спорт от контролите (площ под кривата 0.720, $p = 0.026$)



Фигура 30: ROC крива на АМН за определяне праговата му стойност при отграничаването на имащите Стрес от контролите (площ под кривата 0.584, $p = 0.392$)



Фигура 31: ROC крива на АМН за определяне праговата му стойност при отграничаването на имащите PCOS от контролите (площ под кривата 0.854, $p < 0.001$)

| Причина | Прагова величина | Чувствителност | Специфичност | Положителна предиктивна стойност | Отрицателна предиктивна стойност | % верни отговори |
|---------------------------|------------------|----------------|--------------|----------------------------------|----------------------------------|------------------|
| Gonadal dysgenesis | ≤ 1.32 | 100 | 90 | 71 | 100 | 92 |
| PCOS | ≥ 5.95 | 94 | 69 | 72 | 94 | 81 |

Таблица 34. Получените стойности на критериите за валидизация

От извършения анализ става ясно, че АМН може да бъде използван като сурогатен маркер при поставяне на диагноза при две от състоянията свързани с хипоменструални нарушения - Gonadal dysgenesis и PCOS. Прави впечатление високата чувствителност (100 %) и специфичност (90 %) на маркера по отношение на диагностициране на гонадна дисгенезия при прагова величина (cut - off) ≤ 1.32 ng/ml, което означава, че при стойности под тези вероятността да има такова заболяване е висока (площ под кривата 0.989, $p < 0.001$).

При пациентките с PCOS се откри чувствителност – 94 % и специфичност – 69 %, при прагова величина (cut - off) ≥ 5.95 ng/ml (площ под кривата 0.854, $p < 0.001$), което

показва реалната възможност АМН да бъде използван като сурогатен маркер в диагностичния процес.

5.13 ОЦЕНКА СЕРУМНИТЕ НИВА НА ВИТАМИН D В ИЗСЛЕДВАНИТЕ ГРУПИ

Проведеният сравнителен анализ на процента на недостатъчност на Vit. D (стойности на Vit. D под 30 ng/ml) в различните групи и общо в изследваната популация показва че: (табл. 35):

Таблица 35: Сравнителен анализ на процента на недостатъчност на Vit. D в различните групи и общо в изследваната извадка

* - еднаквите букви по вертикалите указват на липса на сигнификантна разлика, а различните – на наличие на такава ($p < 0.05$)

| Група | Пациенти с недостатъчност на витамин D | | |
|-------------------------------|--|--------------------|-----|
| | N | % | Sp |
| Здрави контроли | 25 | 59.5 ^{ac} | 7.6 |
| Момичета с първична аменорея | 17 | 68 ^{ac} | 9.3 |
| Момичета с вторична аменорея | 49 | 69 ^a | 5.5 |
| Момичета с опсоменорея (PCOS) | 16 | 44.4 ^{ac} | 8.3 |
| Цяла извадка | 107 | 61.5 | 3.7 |

Статистически значима разлика между изследваните групи по отношение на недостатъчност на Vit. D не се откри.

За цялата извадка относителният дял на имащите недостатъчност на Vit. D е 61.5 %.

Най-нисък процент на дефицит на Vit. D (стойности под 20 ng/ml) има в контролната група (5.5 %), следван от пациентките с първична аменорея (6.9 %), вторична аменорея (7.2 %) и опсоменорея (5.8 %). Няма статистически значима разлика между контролната и останалите групи (**Таблица 36**).

Таблица: 36 Сравнителен анализ на процента на дефицит на Vit. D в различните групи и общо в изследваната извадка

* еднаквите букви по вертикалите указват на липса на сигнификантна разлика, а различните – на наличие на такава ($p < 0.05$)

| Група | Пациенти с дефицит на витамин D | |
|-------------------------------|---------------------------------|------------------|
| | N | % |
| Здрави контроли | 2 | 5.5 ^a |
| Момичета с първична аменорея | 2 | 6.9 ^a |
| Момичета с вторична аменорея | 5 | 7.2 ^a |
| Момичета с опсоменорея (PCOS) | 3 | 5.8 ^a |
| Цяла извадка | 12 | 6.4 |

5.14 КОРЕЛАЦИОНЕН АНАЛИЗ МЕЖДУ ИЗСЛЕДВАНИТЕ ПОКАЗАТЕЛИ

Проведеният корелационен анализ между показателите LH, FSH, Estradiol, Osteocalcin, β – CrossLaps и Z – score показва, че (табл. 37):

- LH корелира обратнопропорционално и умерено с Z – score
- FSH корелира обратнопропорционално и слабо с Osteocalcin и β – CrossLaps
- Estradiol корелира правопрпорционално и слабо с Osteocalcin

Таблица 37: Коефициенти на корелация между LH, FSH, Estradiol и Osteocalcin и β – CrossLaps и Z – score (цяла извадка) * - $p < 0.05$, ** - $p < 0.01$, *** - $p < 0.001$

| Показатели | Osteocalcin | β – CrossLaps | Z – score |
|------------|-------------|---------------------|-----------|
| LH | - 0.088 | - 0.122 | - 0.300* |
| FSH | - 0.212** | - 0.181* | - 0.211 |
| Estradiol | 0.179* | - 0.044 | 0.114 |

Проведеният корелационен анализ между показателите BMI, Estradiol и Osteocalcin и β – CrossLaps и Z – score (цяла извадка) показва, че BMI корелира правопрпорционално и умерено по сила със Z – score, а Estradiol - правопрпорционално и слабо единствено с Osteocalcin (табл. 38).

Таблица 38: Коефициенти на корелация между BMI и Osteocalcin и β – CrossLaps и Z – score (цяла извадка) * - $p < 0.05$, ** - $p < 0.01$, *** - $p < 0.001$

| Показатели | Osteocalcin | β – CrossLaps | Z – score |
|------------|-------------|---------------------|-----------|
| BMI | 0.021 | 0.052 | 0.381*** |

От **табл. 39** става ясно, че участничките в проучването, при които ехографски се визуализират фоликули, имат сигнификантно по-висока средна стойност на показателя АМН.

Таблица 39: Сравнителен анализ на показателя АМН по фоликули (цяла извадка)

| Показатели | Фоликули | | | | | | P |
|------------|-------------------------------|-----------|------|---------|-----------|------|--------|
| | Не се визуализират ехографски | | | Налични | | | |
| | N | \bar{X} | SD | N | \bar{X} | SD | |
| АМН | 42 | 4.35 | 4.28 | 132 | 6.63 | 3.62 | <0.001 |

За да се установи дали има зависимост между количествените показатели LH, FSH, Estradiol и АМН, ПЗД, дебелина на ендометриума бе направен корелационен анализ, резултатите от който са показани на **табл. 40**:

Таблица 40: Корелационни коефициенти между показателите LH, FSH, estradiol и АМН, ПЗД, дебелина на ендометриума при момичетата с първична аменорея

* - $p < 0.05$, ** - $p < 0.01$, *** - $p < 0.001$

| Показатели | АМН | ПЗД | Дебелина на ендометриума |
|------------|-----------|-----------|--------------------------|
| LH | -0.686*** | -0.683*** | -0.715*** |
| FSH | -0.722*** | -0.742*** | -0.677*** |
| Estradiol | 0.680*** | 0.642** | 0.767*** |

Серумните нива на LH и FSH корелират обратнопропорционално и изразено с АМН и ПЗД, а обратнопропорционално и силно с дебелина на ендометриума. Тоест - при хипергонадотропния хипогонадизъм, наблюдаван в подгрупата с гонадна дисгенезия, повишените стойности на LH съответстват на долно и под долногранични стойности на АМН, хипоплазия на матоаното тяло и ендометриума.

Показателят Estradiol корелира правопрпорционално и изразено с АМН и ПЗД, а правопрпорционално и силно с дебелина на ендометриума.

Проведеният корелационен анализ между показателите АМН и ПЗД, дебелина на ендометриума (цяла извадка) показа, че АМН корелира еднопосочно и слабо с ПЗД и дебелината на ендометриума (**табл. 41**).

Таблица 41: Корелационни коефициенти между показателите АМН и ПЗД, дебелина на ендометриума (цяла извадка)* - $p < 0.05$, ** - $p < 0.01$, *** - $p < 0.001$

| Показатели | ПЗД | Дебелина на ендометриума |
|------------|---------|--------------------------|
| АМН | 0,255** | 0,192* |

6. ОБСЪЖДАНЕ

Остеопорозата е прогресивно социално значимо заболяване с епидемичен характер на разпространение. Проявата му е в зряла възраст, но се залага в детството и юношеството. (1) Основен патогенетичен механизъм е недостигане на оптимална пикова костна маса по време на детско – юношеския период (2), което може да е резултат от редица патологични фактори, в това число и от хормонални нарушения свързани с менструален цикъл.

В България, както и в световната литература липсват задълбочени проучвания, които да отдиференцират хормоналните констелации при различните типове хипоменструалните нарушения в юношеска възраст и свързаните с тях промени в костния метаболизъм, поради което акцента на настоящото проучване е насочен към оценка на хормоналния статус при етиологично различните хипоменструални състояния и свързаните с тях промени в костния метаболизъм. По този начин се цели, да се отдиференцират основните патологични състояния, при които има реална възможност за нарушения в достигане на оптимална пикова костна маса, а в последствие и по-ранно развитие на остеопороза. Ранното, насочено и осъзнато търсене на този вид патология би спомогнало за навременно профилактиране не само на репродуктивното здраве, но и на здравето на опорнодвигателния апарат, намаляване на броя на остеопорозните фрактури и последващата инвалидизация на засегнатите пациенти.

6.1 Хормонални констелации при основните групи хипоменструални нарушения

От включените в проучването групи пациентки с хипоменструални нарушения се разграничиха следните групи и подгрупи:

6.1.1. Група на момичета с първична аменорея, т.е. липса на поява на първата менструация до 15 годишна възраст. Те от своя страна бяха разделени на такива с **гонадна дисгенезия** и момичета с **конституционално обусловен късен пубертет**.

При пациентките с гонадна дисгенезия се получи типична картина на хипергонадотропен хипогонадизъм с повишени над горна граница серумни нива на **LH** (30.23 ± 10.15 UI/L) и **FSH** (49.57 ± 20.55 UI/L), съизмерими с нива в менопауза.

Серумните нива на **Estradiol** - 50.7 ± 21.59 pmol/L, както и нивата на **АМН** (0.3 ± 0.34 ng/ml) бяха долно и под долногранични.

Carpini et al. също описват в свое проучване картина на хипергонадотропен хипогонадизъм при изследваните от тях пациентки със синдром на Търнър (TS), първична аменорея и липса на развити вторични полови белези. При измерване стойностите на LH (12.97 ± 17.36 mUI/mL) и FSH (65.16 ± 69.55 mUI/mL) те са получили резултати близки до намерените в нашето проучване. (209, 211)

Visser et al. съобщават в тяхно проучване обхващащо 270 пациентки със синдром на Turner – 45,X0, както и такива с различен процент мозаицизъм - 45,X/46,XX по отношение на нормален и патологичен кариотип, стойности на АМН - 0.53 ng/ml ($0.12 - 2.10$ ng/ml) – съизмерими със стойностите в настоящото проучване. Намират също, че съществува тясна връзка между нивата на АМН и кариотипа на изследваните пациенти. Те откриват силна обратнопропорционална връзка между LH, FSH и АМН, каквато връзка намерихме и ние. Не намират сигнификантна връзка между серумните нива на Estradiol и АМН, докато в изследвания от нас контингент се откриха сигнификантно по-ниски стойности в групата с гонадна дисгенезия (53.70 ± 21.52 pmol/L – $p < 0.001$). (210).

В друго проучване обхващащо 507 пациентки с преждевременна овариална недостатъчност, в това число момичета и жени с 46,XX гонадна дисгенезия и синдром на Turner, авторите докладват стойности на LH (27 ± 10 UI/L), FSH (54 ± 15 UI/L), estradiol (279 ± 363 pmol/L) и АМН (0.3 ± 0.8 ng/ml) съпоставими с намерените от нас.(91)

В своето проучване обхващащо 85 момичета Hagen et al. съобщават, че ниски серумни нива на АМН под 8 pmol/L (1.12 ng/ml) са високо специфичен и чувствителен маркер за яйчникова недостатъчност при пациентки със синдром на Turner и може да бъде използван като сурогатен маркер за овариална недостатъчност в детско - юношеската възраст. Те също съобщават за обратнопропорционална корелация между FSH и АМН. (216, 217)

При другата подгрупа на участничките с първична аменорея – късен пубертет, въпреки че откриваме статистически значимо по-ниски стойности на гонадотропните хормони в сравнение с контролната група (LH – $p = 0.009$, FSH - $p = 0.042$), хормоналната характеристика е на еугонадотропен еугонадизъм с нормални стойности на двата хормона отговарящи на тези срещани в началото на пубертения период. При сравнение

нивата на АМН на пациентките в тази подгрупа (4.70 ± 1.70 ng/ml) не се установи статистически значима разлика в сравнение с контролната група ($p = 0.457$).

Winter et al. съобщават в своето проучване, обхващашо 14 момичета на средна възраст 14.05 ± 0.35 години, нормални стойности на LH и FSH, както и нива на Estradiol ≥ 15 pg/mL, което отговаря на 55.06 pmol/L, каквито стойности са описани и в други обзорни статии. (212, 215) Dwyer et al. намират ниски нива на гонадотропните и половите хормони при иначе здрави индивиди с конституционално обусловен късен пубертет. (213)

6.1.2 Група с вторична аменорея

Функционална хипоталамична аменорея, която се дължи на **алиментарен дефицит** (хранителни разстройства), **прекомерно физическо натоварване** и **стрес**. В групата на вторична аменорея дължаща се на алиментарен дефицит в 51.06 % (при 24 пациентки) се установиха поднормни нива на **LH** – под 2 UI/L, при стрес индуцираната аменорея – 81.82 % и най-малък процент се установи при пациентките с прекомерни физически натоварвания – 8.33 %. По отношение на **FSH** не бяха открити поднормни стойности – под 1 UI/L.

В редица статии се докладват ниски серумни нива на гонадотропните хормони и Estradiol, и нормални на АМН. (218) Naessén намира по-ниски нива на гонадотропни хормони и Estradiol в изследваната от него група пациентки с хранителни разстройства в сравнение с контролната група, каквито резултати сме получили и ние в нашето проучване. (45)

Berga et al. съобщават, че за пациентки със стрес индуцирана аменорея е характерен хипогонадотропен хипогонадизъм. Тази група пациентки и при нас е с най-ниски серумни нива на гонадотропни хормони със средни стойности – LH 1.65 ± 1.9 UI/L, FSH – 7.16 ± 8.01 UI/L и Estradiol 213.45 ± 132.81 pmol/L.

Нивата на АМН (6.49 ± 3.18 ng/ml) не се различават статистически от тези при здравите контроли. (64) The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine съобщават, че при функционална хипоталамична аменорея се наблюдават нормални или ниски серумни нива на FSH и Estradiol, поради обичайно съществуващата флукутация на изследваните хормони. (141) Два колектива – Gordon et al. и отделно от тях Klein and Poth посочват в предложените от тях алгоритми за диагностициране на

амеорея в юношеска възраст, че при функционална хипоталамична амеорея могат да се наблюдават нормални или ниски нива на гонадотропните хормони и Estradiol и трябва да бъдат оценени спрямо контекста на водещата до амеорея причина. (139, 220)

Според полски автори функционалната хипоталамична амеорея е причина за 25 – 30 % от случаите с вторична амеорея и 3 % от тези с първична амеорея. Те съобщават, че това състояние се характеризира с ниски гонадотропни нива и хипоестрогенизъм със серумни нива на Естрадиол под 20 pg/ml (73.43 pmol/L). (61)

Jonard et al. правят проучване, обхващащо 61 пациентки (от които 31 с функционална хипоталамична амеорея), като получават резултати съпоставими с нашите. По отношение на гонадотропните хормони те намират по-ниски нива в сравнение с контролната група, но в нормални референтни граници и правят уточнение, че поднормени стойности, като белег на хипогонадотропен хипогонадизъм, се наблюдават главно при тежки форми на анорексия нервоза. Те описват средни стойности на LH – 1.9 (0.5 – 3.9) UI/L, FSH – 4.8 (1.6 – 8.4) UI/L, АМН – 4.69 (2.66 – 8.6) ng/ml. (219) При пациентки с функционална хипоталамична амеорея серумните нива на АМН не се различават значимо от тези при здравите контроли, поради нормалния брой преантрални фоликули, при които също не се намира сигнификантна разлика между двете групи. (221)

6.1.3 Пациентки с опсоменорея

При тези пациентки се наблюдава нормогонадотропен нормогонадизъм, но въпреки това имат нарушения в менструалния цикъл, характеризиращи се с удължени интерменструални интервали. Диагнозата PCOS е поставена посредством спазване изискванията на ESHRE/ASRM – пациентките да отговарят на поне два от трите критерия на Ротердам. (119, 146)

Средните стойности на гонадотропните хормони при тези пациентки са по-високи в сравнение с контролната група, но са в нормални референтни граници (LH – 8.96 ± 2.7 UI/L и FSH – 6.71 ± 2.39 UI/L). Наблюдават се нормални, но статистически значими по-ниски нива на Estradiol – 356.94 ± 157.91 pmol/L ($p = 0.043$) и статистически значимо най-високи стойности на АМН – 10.11 ± 2.67 ng/mL ($p < 0.001$). От направения анализ на съотношението между LH и FSH, прави впечатление, че това съотношение е по-високо от единица единствено в тази група пациентки LH/FSH – 1.39 ± 0.32 .

Franks и Bednarska съобщават в своите проучвания, че пациентките с PCOS се характеризират с повишени серумни нива на андрогени, LH и AMH, но с нормални или ниски серумни нива на FSH. (119, 120)

Съществуват и съобщения, че серумните нива на LH могат да бъдат нормални в до 40 % от случаите. (121) Tokmak et al. публикуват в своето проучване обхващащо 90 момичета, от които 43 с PCOS, а останалите здрави контроли, по-високи нива на AMH (10.1 ± 6.9 ng/mL vs. 9.4 ± 5.5 ng/mL, $p = 0.198$) при пациентките с PCOS, но без статистически значима разлика между двете групи. Те описват и наличие на значима обратнопропорционална връзка между FSH и AMH, каквато връзка беше намерена и от нас. Тяхното заключение е, че AMH е с по-високи нива при пациентки в пубертетния период с PCOS в сравнение с контролната група, но не е добър маркер за диагностициране на това състояние в пубертетно – юношеския период. (222)

В проспективно проучване направено от Park et al. се съобщава за значимо по-високи нива на AMH при пациентки с PCOS в пубертетно – юношеския период в сравнение със здравите контроли. Проучването обхваща 220 пациентки с олигоменорея/опсоменорея, с PCOS и здрави контроли, като пациентките с олигоменорея са били без клинични и параклинични данни за андрогенен излишък. Те намират в своето проучване повишени нива на AMH при пациентките с олигоменорея и при тези с PCOS, при които има андрогенен излишък (5.33 ± 0.47 ng/ml и 5.28 ± 0.26 ng/ml) – без значима разлика помежду им, но с налична такава между двете групи и контролната група (3.05 ± 0.31 ng/ml).

Серумните нива на гонадотропните хормони и Estradiol са съпоставими с намерените от нас резултати, както следва LH – 9.3 ± 0.7 UI/L, FSH – 4.8 ± 0.2 UI/L, Estradiol – 208.88 ± 11.01 pmol/L при пациентки с PCOS и LH – 6.4 ± 1.0 UI/L, FSH – 5.4 ± 0.4 UI/L, Estradiol – 171.07 ± 20.92 pmol/L при пациентките с олигоменорея без андрогенен излишък. Според това проучване серумните нива на AMH могат да се включат в диагностичните критерии за PCOS, особено когато липсва възможност за ехографска оценка на яйчниците. (223)

6.2 Диагностична стойност на АМН

Високата надеждност на АМН като сурогатен маркер допълващ критериите на Ротердам в диагностичния процес на пациентки с PCOS е доказана в множество проучвания.

Висока специфичност и чувствителност (98 % и 93 %) докладват Saikumar et al. в своето проучване при прагова стойност (cut - off) на АМН 3.34 ng/ml. (258) Woo et al. съобщават за чувствителност (75.9 %) и специфичност (86.8 %) при по-висока прагова стойност на АМН 7.82 ng/ml (259), а Lin et al. за 92 % - специфичност и 67 % - чувствителност при прагова стойност 7.3 ng/ml. (260)

Dewailly et al. докладват по-висока специфичност и чувствителност (92 % и 97 %) при прагова стойност 4.9 ng/ml. (261) Homburg et al. съобщават висока специфичност (98.2 %), но по ниска чувствителност (60 %) на АМН при прагова стойност 6.7 ng/ml. (262)

В направеното от нас проучване открихме висока чувствителност – 94 % и специфичност 69 % при прагова стойност на АМН от 5.95 ng/ml, както положителна предиктивна стойност от 72 % и отрицателна предиктивна стойност – 94 %. Тези разлики в праговата стойност са може би резултат от използването на различни китове за АМН. Sengiz et al. правят заключение, че когато се използва АМН самостоятелно, а не в съвкупност с критериите на Ротердам, то той не е надежден показател за поставяне или отхвърляне на диагноза PCOS. (263)

Hagen et al. правят заключение, че АМН е надежден маркер за оценка на овариалната функция при здрави момичета и такива с гонадна дисгенезия. В своето проучване изследват 172 пациентки на възраст от 0 до 25 години, като 38 от тях са с TS в детско – юношеска възраст. Те отчитат чувствителност на АМН - 96 % и специфичност - 86 %, позитивна предиктивна стойност – 96 % при прагова стойност на хормона от 1.12 ng/ml. (217) Visser and Lunding съобщават за обещаващи резултати по отношение на АМН, а именно за ниски до неоткриваеми стойности при повечето пациентки с липсващо развитие на спонтанен пубертет и нормални стойности при повечето момичета със спонтанно настъпил пубертет.

Lunding посочва чувствителност 95 % при прагова стойност на хормона под 3 ng/ml, но открива АМН при 30 % от пациентките с гонадна дисгенезия и без признаци на спонтанен пубертет. В своето проучване посочва, че при серумни нива на АМН < 0.56

ng/ml на момичета в предпубертета не се наблюдава спонтанно отключване на пубертет. При подрастващи с нива на АМН < 0.7 ng/ml се очаква настъпване на ПОН и съобщава за висока чувствителност (95 %) и специфичност (95 %) при стойности на АМН < 0.42 ng/ml, като маркер за ПОН при пациентки в юношеска възраст с TS. (210, 264)

В нашето проучване ние открихме чрез ROC анализ висока чувствителност (100 %) и специфичност (90 %), положителна предиктивна стойност – 71 % и отрицателна предиктивна стойност – 100 %, при прагова стойност на хормона 1.32 ng/ml, което би спомогнало не само за допълване на диагностичния процес, но и за разграничаване на тези пациенти (гонадна дисгенезия), както от пациентите с конституционално обусловен късен пубертет, така и от здравите момичета.

6.3 Костно здраве

6.3.1 Пациентките с първична аменорея – При пациентките с гонадна дисгенезия ние открихме статистически значимо по-ниски серумни нива на маркера за костно формиране **Osteocalcin** ($p = 0.002$) и по-високи серумни нива на β – **CrossLaps**, но без наличие на сигнификантна разлика ($p = 0.88$) в сравнение с контролната група, което показва потиснат костен метаболизъм. При тази група пациентки с хипергонадотропен хипогонадизъм имаше значимо най-ниски стойности на Estradiol и категорични параклинични данни за хипоестрогенизъм. При тях направеното остеодензитометрично изследване показва патологични стойности – Z – score – 2.33 ± 0.2 . Поради малкия брой направени остеодензитометрични изследвания, не може да се направи категоричен анализ по повод диагностичната стойност на този вид инструментално изследване в тази подгрупа.

В редица проучвания, правени сред пациентки с TS в пубертетно – юношеската възраст, се съобщава за повишени маркери за костна резорбция и нормални или понижени за костно формиране, което показва нарушен баланс в костното ремоделиране. (174, 224, 226)

Lisa et al. описват намалена костна плътност при 25 % от пациентките с TS, ниски нива на Osteocalcin, които показват потисната остеобластна активност. (225) Breuil съобщава в своето проучване за повишаване на костната маса и нормализиране на маркерите за костен метаболизъм при пациентки с гонадна дисгенезия след приложение на терапия с естрогени, което предполага, че естрогенният дефицит е водещ фактор за

загуба на костна плътност при тези пациентки. (226) Подобни резултати са публикувани и в други статии, като се изтъква важноста на предпубертетната експозиция на естрогени и връзката между ниските нива на полови хормони, и ниска костна плътност с патологични остеодезитиметрични изследвания по-късно по време на пубертета. (80, 81)

В направеното от нас проучване тази група пациентки са с най-ниски средни серумни нива на Estradiol и патологични показатели – маркери за костен метаболизъм и остеодезитометрия.

Park et al. съобщават, че пациентките с гонадна дисгенезия имат сигнификантно по-ниска костна минерална плътност (кортикална и трабекуларна) в сравнение със здравите контроли. Те правят заключение, че при тези пациентки недостигането на пикова костна маса е резултат от липсваща гонадна активност през пубертета. (228)

Проучванията по отношение на маркерите за костен метаболизъм (костно формиране и разграждане) при пациентки с конституционално обусловен късен пубертет са малко на брой. В по-голяма част от тези проучвания обхващат мъжкия пол, поради по-голямата честота на засягането му.

Пубертетният период се свързва с ускорен костен метаболизъм. (229 - 231) Проучване превено сред кавказки момичета на възраст 9 – 15 години показва понижаване на серумни нива на маркерите за костно формиране (Osteocalcin и PINP) и костна резорбция (серумни и уринни стойности на СТХ) с напредване на пубертета. (232) Van Coeverden et al. правят проучване сред деца в Холандия на възраст 8 – 15 години, като стигат до извода, че най-високи концентрации на маркерите за костен метаболизъм има преди и в началото на пубертета, като спадат в края на този период, каквито тенденции са докладвани и в други публикации. (207, 233)

При проучвания правени сред пациентки с конституционално обусловен късен пубертет се съобщава, че костната плътност нараства паралелно със стadiите на пубертетно развитие и най-значимо натрупване се наблюдава между III и IV стadiй, като не се открива значима разлика при съпоставянето им със здрави контроли. Не са открити и сигнификантни разлики в серумните нива на маркерите за костен метаболизъм между тези две групи. Съобщава се също и за липса на повишен риск от остеопорозни фрактури при тези пациенти в сравнение със здрави контроли. (234, 235, 238)

Нашите данни показват повишен костен метаболизъм в тази подгрупа, като средните серумни нива на Osteocalcin са 46.13 ± 10.16 ng/mL, които нива са по-високи в

сравнение с тези при контролната група 39.36 ± 20.68 ng/mL, но без значима разлика ($p = 0.069$). Такива са и резултатите по отношение на β – CrossLaps – 1.15 ± 0.36 ng/mL при пациентките с късен пубертет и 1.03 ± 0.4 ng/mL в контролната група ($p = 0.224$). Сигнификантна разлика се установява при остеодензитометричното изследване, което показва Z – score - 0.48 ± 1.09 при пациентките с късен пубертет и Z – score 0.5 ± 0.75 при здравите контроли ($p = 0.006$). Тези разлики може би са резултат от факта, че при тази група пациентки превалират такива с пубертетно развитие III стадий по Tanner, а IV стадий е със сигнификантно по-висок процент при контролите. Именно във II - III стадий стойностите на маркерите за костен метаболизъм са най-високи и постепенно спадат в края на пубертета IV – V стадий. (229, 233)

6.3.2 Пациентки с вторична аменорея – Функционална хипоталамична аменорея (ФНА) В подгрупата свързана с хранителни разстройства – водеща причина алиментарен дефицит, ние установихме значимо по-ниски средни стойности на Osteocalcin ($p = 0.035$) и по-ниски, но без наличие на сигнификантна разлика стойности на β – CrossLaps ($p = 0.16$), което е признак на подтисната остеобластна активност. В тази подгрупа се отчетоха и значимо по-ниски стойности на Z – score – 0.64 ± 1.28 в сравнение със здравите контроли (Z – score 0.5 ± 0.75) ($p < 0.001$).

При пациентки в пубертетно – юношеската възраст страдащи от анорексия нервоза се съобщава за нарушен костен метаболизъм, с ниски серумни нива на маркери за костно формиране и разграждане, както и ниска костна минерална плътност, като в 50 % от случаите се установява Z – score $< - 1$.

При тези пациентки се наблюдава значително намаляване на темпа на костно натрупване в сравнение със здравите момичета от контролните групи. Съществуват доказателства за повишен фрактурен риск в сравнение с контролите дори и при относително нормални стойности на Z – score $< - 1$ (не само при Z – score $< - 2$). Тези данни контрастират със състоянието на повишен костен метаболизъм при здрави момичета в пубертетно – юношеска възраст. При подрастващи с АН, които не са лекувани, намаляването на костната плътност прогресира, докато при момичета с АН, при които има покачване на телесното тегло и нормализиране на менструалните цикли се наблюдава и повишение на стойностите на маркерите за костен метаболизъм и Z – score. (35, 41 ,173 , 236)

В други проучвания се докладват повишени нива на маркерите за костна резорбция и ниски нива на костно формиране. (170 - 172)

При пациентките подложени на екстремни физически натоварвания/спорт, включени в нашето проучване не се откри статистически значима разлика между маркерите за костен метаболизъм и остеодензитометричното изследване на костна плътност в сравнение с контролната група.

В литературата се съобщава за ниски серумни нива на двата вида костни маркери при пациенти занимаващи се активно със спорт или подложени на екстремно физическо натоварване и аменорея в сравнение с еуменорични спортисти и здрави контроли. (177)

По-тежките физически натоварвания заедно с олиго -/аменореята водят до състояния свързани с хипоестрогенизъм, характеризиращи се с подтисната остеобластна активност и може да доведат до нарушения в костното ремоделиране и повишена костна резорбция. (178)

Askerman et al. посочват, че КМП в лумбалната област (КМП Z - score) при атлети с липсваща менструация (аменорея) е по-ниска в сравнение с атлети с нормални менструални цикли. Въпреки че честотата на изява на трите нарушения характеризиращи триадата на атлетите (хранителни разстройства, аменорея и ниска костна минерална плътност) едновременно е ниска – от 0 до 1.2 %, то поотделно изявяваща се с две или едно от трите нарушения тя нараства 2.7 – 27 % и от 16 – 60 %. (56, 57, 59)

Трябва да се вземе в предвид и това, че повечето проучвания в световната литература описват състоянието на костния метаболизъм и костната плътност при пациентки занимаващи се активно и професионално със спорт, докато изследваната от нас група има водеща причина за аменореята – екстремно физическо натоварване/спорт, но това не са активни и професионални спортистки. При тях липсват анамнестични данни за алиментарен дефицит и средната стойност на BMI е 19.8 kg/m², като само в 18.18 % BMI е с поднормни стойности.

Warren et al. подчертават важността на телесното тегло като определящ фактор за костната плътност, както и композицията на тялото и хранителните навици в патогенезата на костната загуба при атлетите. (239) Въпреки по-ниските нива на естрадиола (по-ниски, но все пак в границите на нормата), преобладаващия нормален ИТМ и стимулиращия ефект на физическите натоварвания при тази група нямаме отрицателен ефект върху костната плътност.

В други проучвания се съобщава съществуване на известен протективен ефект на физическите упражнения върху костите при момичета с аменорея, посредством остеогенния ефект на механичното натоварване. (237) В проучване обхващащо 45 гимнастички в предпубертетна възраст се докладва повишена костна минерална плътност в сравнение с еднаква по възраст контролна група, както и положителна връзка между продължителността на спортуване и натрупаната костна плътност. Въпреки това, свръхнормното физическо натоварване в пубертетната възраст може да доведе до закъсняване на пубертета, аменорея и ниска костна минерална плътност. Следователно времето, интензитета, продължителността на физическата активност са определящи дали тя ще има положителен или отрицателен ефект върху костната плътност. (169)

В третата подгрупа на пациентките с ФНА – стрес индуцираната аменорея и двата изследвани от нас маркера за костен метаболизъм бяха по-ниски в сравнение с контролната група, но статистически значима разлика не се откри.

Съществуват литературни данни, че хипоестрогенемията играе ключова роля в костната загуба при пациентки с ФНА в това число и при стрес – индуцираната аменорея. При тези пациентки се откриват статистически значимо по-високи нива на кортизол в сравнение със здрави контроли, като се описва съществуваща обратнопропорционална връзка между нивата на Кортизол и тези на Osteocalcin, което също води от своя страна до подтисната остеобластна активност. При тази група пациентки се описва намаляване на серумните нива на маркерите за костно формиране с до 50 % и на костна резорбция с до 40 %. (240)

В направеното от нас проучване при пациентки с вторична аменорея и в частност тези с ФНА ние установихме наличие на обратнопропорционална връзка между продължителността на аменореята и серумните нива на Osteocalcin, за каквато връзка докладват и Audi et al. (241)

6.3.3 В групата пациентки с PCOS отчетохме статистически значимо по-ниски стойности на Osteocalcin ($p < 0.001$), но без сигнификантна разлика в серумните нива на β -CrossLaps и Z-score в сравнение със здравата контролна група. В тази група се отчете най-висок процент на наднормни стойности на BMI – 38.9 % и със затлъстяване – 8.3 %.

Katulski et al. намират сигнификантно по-ниска КМП ($1.057 \pm 0.1260 \text{ g/cm}^2$, vs. $1.21 \pm 0.1805 \text{ g/cm}^2$, $p < 0.0002$) и стойности на Z-score при пациентки с нормален BMI

в сравнение със здрави контроли (-0.85 ± 1.15 vs. -0.13 ± 0.83), но в групата на наднормени/обезни пациентки с PCOS не намират сигнификантна разлика в изследваните показатели в сравнение с контролите. (121)

В своето проучване обхващащо 298 пациентки с PCOS и 194 здрави контроли Lingaiah et al. съобщават за статистически значимо по-ниски нива на Osteocalcin при тези пациентки, но не откриват сигнификантна разлика между нивата на β – CrossLaps и витамин Д в двете групи. В друго свое проучване докладват за подтиснат костен метаболизъм и ниски нива на двата вида серумни маркери. (242, 243)

От друга страна, в проучванията правени сред пациентки в юношеска възраст с данни за PCOS се съобщава за вероятен протективен ефект на хиперинсулинемията и повишеното андрогенно ниво върху костите, както и за липса на сигнификантна разлика между пациентки с PCOS и здрави контроли по отношение на маркерите за костен метаболизъм и КМП. (124, 125, 244, 245)

6.4 BMI и връзката му с основните изследвани показатели

При млади момичета с ниско тегло, аменорея, ановулация, неадекватна лутеинова фаза на менструалния цикъл се наблюдава намалена КМП. (32) Съществува хипотеза за критично ниво на мастната тъкан, която е необходима за настъпване на menarche и регулиране на менструалните цикли, както следва – 17 % за menarche и 22 % за регулярни менструални цикли. Според тази хипотеза ексцесивно натоварване или малнутриция може да доведат до редуциране на мастната тъкан под критичния минимум и да дадат като резултат първична или вторична аменорея. (87)

Повишаването на BMI се свързва с повишение на КМП. Съобщава се за по-нисък риск от остеопорозни фрактури при жени с наднормено тегло в сравнение с тези с нормален и особено поднормни стойности на BMI. (246, 247)

Ravn et al. сравняват жени с обеситас с еднакви по възраст жени с нормално тегло и стигат до заключение, че при първата група има значително по-нисък риск от развитие на остеопороза. (248) От друга страна обеситетът може да доведе до костна загуба, чрез стимулиране образуването и отделянето на проинфламаторни цитокини – IL - 6 and tumour necrosis factor- α , които стимулират остеокластната активност. (126, 127)

При направените от нас анализи става ясно, че най-висок процент на наднормни стойности на BMI има в групата с опсоменорея – 47.2 %, а останалите две групи се наблюдават главно поднормни стойности на BMI, както следва – при пациентките с първична аменорея 32 % и вторична аменорея – 31 % от всички. Сигнификантно по – високи стойности на Z – score се установиха в групата на пациентките с опсоменорея и при контролната група (които не се различават статистически помежду си) спрямо другите две групи с хипоменструални нарушения, където се отчете и по–висок процент поднормни стойности на BMI. Направения корелационен анализ показва, че BMI корелира в изследваните от нас групи правопрпорционално и умерено по сила единствено със Z - score.

От направените остеодензитометрични изследвания в нашето проучване при 8 пациентки бяха открити патологични стойности на Z – score $\leq - 2$ SD (при пациентките с първична и вторична аменорея). При направеното сравнение с контролната група стана ясно, че при тези пациентки има статистически значимо по–ниски нива на гонадотропните хормони ($p = 0.005$), както и по-ниски нива на Estradiol ($p = 0.011$), Osteocalcin ($p = 0.011$), BMI ($p < 0.011$), което потвърждава факта, че загубата на костна тъкан при пациентките с хипоменструални нарушения е мултифакторно обусловено и не може да се разчита само на стойности на единични показатели. Тези пациентки трябва да бъдат обект на мултидисциплинарно диагностициране и терапия с цел предотвратяване не само на бъдещите им репродуктивни неудачи, а и множеството усложнения явяващи се във функцията на други органи и системи произтичащи от нарушения хормонален баланс.

6.5 Vitamin D и Ca – P обмяна

В проведено в България проучване обхващащо 2032 лица става ясно, че средното популационно ниво на vitamin D (25(OH)D) е 38.75 nmol/l. Не са открити статистически значими разлики в серумните нива на 25(OH)D в зависимост от възрастта, но женският пол е с по-ниски средни стойности в сравнение с мъжкия. Честотата на дефицит на vitamin D е 21.3 %, а на недостатъчност – 54.5 %. В световен мащаб дефицитът и недостатъчността на vitamin D е широко застъпен – от 53.4 % в Южна Америка до 81.8 % в Средния Изток. В Южна Европа дефицитът на vitamin D е по – висок отколкото в Северна Европа. Gordon et al. докладват висока честота на недостатъчност на vitamin D сред деца и юноши в Америка, като не намират връзка с пол, етническа принадлежност или годишен сезон. Absoud et al. съобщават за подобни резултати във Великобритания. (250, 251)

Съществуват редица проучвания, в които не се съобщава за сигнификантна разлика между серумните нива на vitamin D при пациентки с PCOS и контроли (252 - 254), но в други проучвания се докладват статистически значимо по-високи нива при PCOS в сравнение с контролната група. (255, 256)

Lagowska изследва серумните нива на vitamin D на 77 пациентки с опсо - (PCOS) и аменорея (първична и вторична) и контролна група от жени с нормален менструален цикъл, при което открива сигнификантно по-ниски стойности при пациентките с хипоменструални нарушения в сравнение с контролите. Наблюдавания дефицит на vitamin D при пациентки с PCOS свързва с повишени нива на PTH, ановулация, хиперандрогенемия и инфертилитет. (257)

В проведеното от нас проучване върху цялата изследвана популация се установи недостатъчност на vitamin D (серумни стойности на vitamin D по-ниски от 30 ng/ml) в 61.5 % от момичетата, като най-висок процент имаха пациентките с вторична аменорея (69 %), следвани от тези с първична аменорея (68 %), контролната група – 59.5 % и най-нисък процент беше открит при пациентките с опсоменорея – 44.4 %. Статистически значима разлика не беше установена между изследваните групи и здравите контроли по отношение на недостатъчност на vitamin D.

Най-нисък процент на дефицит на vitamin D (стойности на vitamin D под 20 ng/ml) имаше в контролната група (5.5 %), следван от пациентките с първична аменорея (6.9

%), вторична аменорея (7.2 %) и опсоменорея (5.8 %). Не се откри статистически значима разлика между изследваните групи. Нашите резултати потвърждават наличието и тежестта на наблюдаваният не само в България дефицит и недостатъчност на vitamin D, но и световен мащаб. Липсата обаче на статистически значима разлика в изследваните от нас групи по отношение на нивата на vitamin D, ни дава възможност да оценим в частност влиянието на хормоналните промени при различните хипоменструални нарушения върху костния метаболизъм.

Статистически значима разлика в серумните нива на **Са** и **Р** в изследваните от нас групи не се откри.

6.6 Стадии на пубертетно развитие и костен метаболизъм

Костните маркери (маркерите за костно формиране и костно разграждане) са най- високи при раждането и остават такива през детството, отразявайки най-бързия костен растеж и интензивно извършващите се процеси на моделиране и ремоделиране на костта. Следва постепенно спадане нивата на маркерите и едва по време на пубертетния растежен скок (12 – 15 годишна възраст) настъпва нов подем, като пикът при момичета е между 10 и 13 годишна възраст. (207, 233)

Във възрастовата група до 15 години, ние установихме статистически значимо по-високи нива на маркерите за костно формиране и Estradiol при контролната група в сравнение с групите на пациентките с вторична и опсоменорея ($p < 0.05$). Във възрастовата група след 15 години статистически значимо най-високи стойности на двата маркера (за костно формиране и костно разграждане) се откриха в групата с първична аменорея, което може да се обясни с факта, че в нея са включени пациентки с конституционално обусловен късен пубертет с превалиране на III степен пубертетно развитие по Tanner, а както вече беше описано във II – III степен стойностите на маркерите за костен метаболизъм са най-високи и постепенно спадат в края на пубертета IV – V степен. (229, 233)

0 - II степен на пубертетно развитие имаха само пациентките с гонадна дисгенезия, при които данните сочеха за подтиснат костен метаболизъм несъответстващ на пубертетното развитие. При тази степен на пубертетно развитие нормално се

наблюдава повишен костен метаболизъм с високи серумни нива на маркерите за костно формиране и разграждане при здрави момичета.

Момичета с III степен на пубертетно развитие имаше във всички изследвани групи, като сигнификантно най-високи стойности на маркерите за костно формиране (Osteocalcin) имаше в контролната група. III – IV степен най-високи стойности на Osteocalcin имаха пациентките с първична аменорея и в частност тези с късен пубертет, следвани от здравите контроли. При другите две групи се отчетоха отново по-ниски стойности на двата маркера (Osteocalcin и β - CrossLaps) в сравнение с контролната група. При момичетата с IV степен на пубертетно развитие отново маркерите за костно формиране бяха най-високи в контролната група, следвани от пациентките с вторична аменорея и опсоменорея, но статистически значима разлика не беше установена.

Прави впечатление, че в контролната група възрастта на menarche е статистически значимо по-ниска в сравнение с останалите групи – 12.19 ± 0.51 години ($p < 0.05$), докато между другите две групи – вторична и опсоменорея не се откри сигнификантна разлика (12.42 ± 0.5 и 12.52 ± 0.51).

Рано настъпилото menarche се свързва с по-ранното установяване на овулаторни цикли. Когато първата менструация настъпи по-рано от 12 години, 50 % от менструалните цикли са овулаторни през първата година след menarche. При късно настъпило menarche може да отнеме осем до дванайсет години, докато всички менструални цикли станат овулаторни. Късно настъпила първа менструация и менструални нарушения са важен рисков фактор за развитието на остеопороза по-късно в живота. (29, 30)

7. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представеният дисертационен труд имаше за цел да характеризира най-често срещаните хипоменструални нарушения и влиянието, което те имат върху костната плътност в пубертетно – юношеската възраст. За да се осъществи представения дисертационен труд бяха изследвани 174 момичета, от които 25 пациентки с първична аменорея, 71 пациентки с вторична аменорея, 36 с PCOS и 42 здрави момичета за периода от 2013 г. до 2019 г.

Акцентът на настоящото проучване е насочен върху откриване на клинични белези и хормонални констелации характеризиращи най-често срещаните хипоменструални нарушения и влиянието им върху костния метаболизъм и в частност серумни маркери за костно формиране и костно разграждане, както и на остеодензитометричните показатели.

Обсъждането на изработените резултати даде възможност да се достигне до извод, че загубата на костна тъкан при пациентките с хипоменструални нарушения е мултифакторно обусловено и не може да се разчита само на стойности на единични показатели. Тези пациентки трябва да бъдат обект на мултидисциплинарно диагностициране и терапия с цел предотвратяване не само на бъдещите им репродуктивни неудачи, а и множеството усложнения явяващи се във функцията на други органи и системи произтичащи от нарушения хормонален баланс.

Подобен тип проучване се извършва за първи път в катедрата по Акушерство и гинекология на Медицински университет – София. В резултат на настоящия научен труд се появиха нови насоки за бъдещи задълбочени лонгитудинални проучвания, в които да бъдат отразени не само хипоменструалните нарушения водещи до неадекватно натрупване на костна маса, а и да се проследи как се променят показателите след адекватна за всяко състояние терапия.

8. ИЗВОДИ

1. При пациентките с гонадна дисгенезия и хормонална характеристика на хипергонадотропен хипогонадизъм съществува риск от непълноценно натрупване на костна маса.
2. При пациентките с конституционално обусловен късен пубертет и хормоналната характеристика на еугонадотропен еугонадизъм костната плътност нараства паралелно със стadiите на пубертетното развитие.
3. Риск от недостигане на оптимална ПКМ съществува при пациентките с аменорея вследствие на алиментарен дефицит с хормонална характеристика на хипогонадотропен хипогонадизъм.
4. При пациентките с аменорея свързана с екстремно физическо натоварване/спорт и при тези със стрес-индуцирана аменорея не бяха установени нарушения в костния метаболизъм.
5. При пациентки с функционална хипоталамична аменорея могат да се наблюдават нормални или ниски нива на гонадотропните хормони и Estradiol, и трябва да бъдат оценявани спрямо контекста на водещата до аменорея причина.
6. При пациентките с опсоменорея/PCOS, въпреки хормонална характеристика на еугонадотропен еугонадизъм, беше установен риск от недостигане на оптимална ПКМ.
7. При пациентките с хипоменструални нарушения с под- и наднормено телесно тегло бяха установиха значимо по-ниски серумни нива на Estradiol и Osteocalcin спрямо контролната група с нормален ИТМ, което ги поставя в риск от недостатъчно натрупване на костна маса.
8. АМН може да бъде използван като сурогатен маркер в диагностичния процес не само при пациентки с PCOS, но и при пациентки с гонадна дисгенезия, където маркерът показва висока специфичност – 90 % и чувствителност – 100 %.

9. Установеният висок процент на витамин D недостатъчност, показва съществуването на този проблем и при деца и подрастващи, където пероралния прием на витамин D е уместно да се въведе като профилактика.

10. ПРИНОСИ

1. За пръв път в България е проведено проспективно проучване от подобен тип обхващащо 174 момичета на възраст от 12 до 18 години - 132 с различни по етиология хипоменструални нарушения и 42 здрави контроли.
2. За пръв път в България е направен подробен сравнителен анализ на причинно - следствената връзка между хормоналните нарушения наблюдавани при пациентки в пубертетно-юношеска възраст с различни по етиология хипоменструални нарушения и установените изменения в костния метаболизъм.
3. Установена е обратнопропорционална връзка между продължителността на 5аменореята и серумните нива на Osteocalcin при пациентки с вторична аменорея.
4. Направена е оценка на възможността АМН да бъде използван като сурогатен маркер в диагностичния процес на пациентки с гонадна дисгенезия и PCOS.
5. Нашите изследвания по отношение на пациентките с хипергонадотропен хипогонадизъм, потвърждават резултатите на чужди автори, относно сигнификантно по-ниската костна минерална плътност и серумните нива на Osteocalcin в сравнение със здравите контроли.

ЛИТЕРАТУРА

1. Боянов М. Остеопорозата – една тиха епидемия. *TopMedica*. 2010; 3: 15-18.
2. Българско дружество по Ендокринология. Препоръки за добра практика по остеопороза. София 2005:7-9.
3. Борисова А. Нарушения в минералната обмяна и костни метаболитни заболявания. 2011:324-363.
4. Борисова А. Нарушения в минералната обмяна и костни метаболитни заболявания. 2011: 281-310.
5. Guntur A, Rosen CJ. Bone as an Endocrine Organ. *Endocr Pract*. 2012; 18(5): 758–762.
6. Brook Ch, Clayton P, Brown R. BROOK'S CLINICAL PEDIATRIC ENDOCRINOLOGY. 5TH EDITION. 2005: 280 – 291.
7. Brook Ch, Clayton P, Brown R. BROOK'S CLINICAL PEDIATRIC ENDOCRINOLOGY. 6TH EDITION. 2009: 382-385.
8. Maggiano IS, Maggiano CM, Clement JG, Thomas CD, Carter Y, Cooper DM. Three-dimensional reconstruction of Haversian systems in human cortical bone using synchrotron radiation-based micro-CT: morphology and quantification of branching and transverse connections across age. *J Anat*. 2016; 228(5): 719-732.
9. Blumsohn A, Hannon RA, Wrate R, Barton J, al-Dehaimi AW, Colwell A, Eastell R. Biochemical markers of bone turnover in girls during puberty. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1994; 40(5): 663-670.
10. Bonjour JP, Chevalley T, Ferrari S, Rizzoli R. The importance and relevance of peak bone mass in the prevalence of osteoporosis. *Salud Publica Mex*. 2009; 51(1): S5-S17.
11. Chew CK, Clarke BL. Causes of low peak bone mass in women. *Maturitas*. 2018; 111: 61-68.
12. Schulze UM, Schuler S, Schlamp D, Schneider P, Mehler-Wex C. Bone mineral density in partially recovered early onset anorexic patients- a follow-up investigation. *Child and Adolesc Psychiatry Ment Health*. 2010; 4:20.

13. Boot AM, de Ridder MA, Pols HA, Krenning EP, de Muinck Keizer-Schrama SM. Bone mineral density in children and adolescents: relation to puberty, calcium intake, and physical activity. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997; 82(1): 57-62.
14. Gordon CM, Nelson LM. Amenorrhea and bone health in adolescents and young women. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2003; 15 (5): 377-383.
15. Seifert-Klauss V, Prior CJ. Progesterone and Bone: Actions Promoting Bone Health in Women. *J Osteoporos.* 2010; 845180.
16. Locatelli V, Bianchi VE. Effect of GH/IGF-1 on Bone Metabolism and Osteoporosis. *Int J Endocrinol.* 2014: 235060.
17. World Health Organization. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. Report of a WHO study group. WHO Tech Rep Ser: 843; 1994.
18. Marshall D, Johnell O, Wedel H. Meta – analysis of how well measures of bone mineral density predict occurrence of osteoporotic fractures. *Br Med J.* 1996; 18: 312(7041): 1254 – 1259.
19. Clarke B. Normal Bone Anatomy and Physiology. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2008; 3(Suppl 3): S131–S139.
20. Weitzmann MN, Ofotokun I. Physiological and pathophysiological bone turnover — role of the immune system. *Nat Rev Endocrinol.* 2016; 12(9): 518–532.
21. Sigl V, Jones LP, Penninger JM. RANKL/RANK: from bone loss to the prevention of breast cancer. *Open Biol.* 2016; 6: 160230.
22. Seifert-Klauss V, Prior CJ. Progesterone and Bone: Actions Promoting Bone Health in Women. *J Osteoporos.* 2010; 845180.
23. Обрецова М. Постменопаузална остеопороза. *MEDINFO* 2010; 2.
24. Glorieux F, Pettifor J, Juppner H. Pediatric bone. 2012; 2: 189-190.
25. Prior JC, Seifert-Klauss VR, Giustini D, Adachi JD, Kalyan S, Goshtasebi A. Estrogen-progestin therapy causes a greater increase in spinal bone mineral density than estrogen therapy - a systematic review and meta-analysis of controlled trials with direct randomization. *JMNI.* 2017; 17(3): 146–154.
26. Gordon CM, Zemel BS, Wren TAL, Leonard MB, Bachrach LK, Rauch F, Gilsanz V, Rosen CJ, Winer KK. The Determinants of Peak Bone Mass. *jpeds.* 2017; 180: 261 – 269.

27. Guaraldi F, Beccuti G, Gorri D, Ghizzoni L. Management of endocrine disease: Long-term outcomes of the treatment of central precocious puberty. *EJE*. 2016; (174): R79 - R89.
28. Montoya JS, Cabezza A, Rojas O, Navarrete R, Keever M. Menstrual disorders in adolescents *Bol Med Hosp Infant Mex*. 2012; 69(1): 60 -72.
29. Popat VB, Prodanov T, Calis KA, Nelson LM. The menstrual cycle: a biological marker of general health in adolescents. *Ann N Y Acad Sci*. 2008; 1135: 43-51.
30. Kuh D, Muthuri S, Moore A, Cole T, Adams J, Cooper C, Hardy R, Ward K. Pubertal timing and bone phenotype in early old age: findings from a British birth cohort study. *International Journal of Epidemiolog*. 2016; 45(4): 1113–1124.
31. Jackowski S, Baxter-Jones A, Pierson R, Rodgers C. The associations of exposure to combined hormonal contraceptive use on bone mineral content and areal bone mineral density accrual from adolescence to young adulthood: A longitudinal study. *Bone Reports*. 2016;.5: 333-341
32. Hergenroeder AC. Bone mineralization, hypothalamic amenorrhea, and sex steroid therapy in female adolescents and young adults. *J Pediatr*. 1995; 126: 683-689.
33. Ferrari S, Bianchi ML, Eisman JA, et al. Osteoporosis young adults: pathophysiology, diagnosis, and management. *Osteoporos Int*. 2012; 23 (12): 2735-2748.
34. Bachrach LK, Guido D, Katzman D, Litt IF, Marcus R. Decreased bone density in adolescent girls with anorexia nervosa. *Pediatrics*. 1990; 86(3): 440-7.
35. Soyka LA, Misra M, Frenchman A, Miller KK, Grinspoon S, Schoenfeld DA, Klibanski A. Abnormal bone mineral accrual in adolescent girls with anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002; 87(9): 4177-85.
36. Robinson L, Micali N, Misra M. Eating Disorders and Bone Metabolism in Women. *Curr Opin Pediatr*. 2017; 29(4): 488–496.
37. Achamrah N, Coëffier M, Jésus P, Charles J, Rimbert A, Déchelotte P, Grigioni S. Bone Mineral Density after Weight Gain in 160 Patients with Anorexia Nervosa. *Front. Nutr*. 2017
38. Frolich J, Hansen S, Winkler L, Andresen A, Hermann A, Stoving R. The Role of Body Weight on Bone in Anorexia Nervosa: A HRpQCT Study. *Calcif Tissue Int*. 2017;101:24–33.

39. Winther A, Jorgensen L, Ahmed L, Christoffersen T, Furberg AS, Grimnes G, Jorde R, Nilsen OA, Dennison E, Emaus N. Bone mineral density at the hip and its relation to fat mass and lean mass in adolescents: the Tromso Study, Fit Futures. *BMC Musculoskeletal Disorders*. 2018; 19(1): 21.
40. Gielen E, Bergmann P, Bruyère O, Cavalier E, Delanaye P, Goemaere S, Kaufman JM, Locquet M, Reginster JY, Rozenberg S, Vandenbroucke AM, Body JJ. Osteoporosis in Frail Patients: A Consensus Paper of the Belgian Bone Club. *Calcif Tissue Int*. 2017;101:111–131.
41. Misra M, Klibanski A. Bone health in anorexia nervosa. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2011;18(6): 376–382.
42. Donaldson AA, Gordon CM. Skeletal complications of eating disorders. *Metabolism* 2015; 64(9): 943–951.
43. Crabtree NJ, Arabi A, Bachrach LK, Fewtrell M, El-Hagg Fuleihan G, Kecskemethy HH, Jaworski M, Gordon CM. Dual energy X-ray absorptiometry interpretation and reporting in children and adolescents: the revised 2013 ISCD Pediatric Official Positions. *J Clin Densitom*. 2014; 17:225–42.
44. Naessen S, Carlstrom K, Glant R, Jacobsson H, Hirschberg AL. Bone mineral density in bulimic women : influence of endocrine factors and previous anorexia. *Eur J Endocrinol* . 2006;155(2): 245-51.
45. Naessén S. Endocrine and metabolic disorders in bulimic women and effects of antiandrogenic treatment. Department of Women's and Children's Health. 2006
46. Gendall KA, Bulik CM, Joyce PR, McIntosh VV, Carter FA. Menstrual cycle irregularity in bulimia nervosa. Associated factors and changes with treatment. *Journal of Psychosomatic Research*. 2000; 49(6) :409-415.
47. Mehler PS, Krantz MJ, Sachs KV. Treatments of medical complications of anorexia nervosa and bulimia nervosa. *Journal of Eating Disorders*. 2015; 3:15.
48. Sasaki KJ. *Menstruation Disorders in Adolescents*. New York: Medscape; 2016.
49. Van der Walt LA, Wilmsen EN, Jenkins T. Unusual sex hormone patterns among desert-dwelling hunter-gatherers. *J Clin Endocrinol Metab*. 1978; 46:658.
50. Rebar RW, Cumming DC. Reproductive function in women athletes. *JAMA*. 1981; 246:1590.

51. American College of Sports Medicine. The female athlete triad: disordered eating, amenorrhea, and osteoporosis. Call to action. *Sports Med Bulletin*. 1992;27:4.
52. Drinkwater BL, Nilson K, Chestnut CH III, et al. Bone mineral content of amenorrheic and eumenorrheic athletes. *N Engl J Med*. 1984; 311:277.
53. Snead DB, Weltman A, Weltman JY, et al. Reproductive hormones and bone mineral density in women runners. *J Appl Physiol*. 1992; 72:2149.
54. Marcus R, Cann C, Madvig P, et al. Menstrual function and bone mass in elite women distance runners. *Ann Intern Med*. 1985; 102:158.
55. Myerson M, Gutin B, Warren MP, et al. Total body bone density in amenorrheic runners. *Obstet Gynecol*. 1992; 79:973.
56. Nissenbaum JT, Hammer E. Treatment strategies for the female athlete triad in the adolescent athlete: current perspectives. *Open Access J Sports Med*. 2017; 8: 85–95.
57. Ackerman KE, Nazem T, Chapko D, et al. Bone microarchitecture is impaired in adolescent amenorrheic athletes compared with eumenorrheic athletes and nonathletic controls. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011; 96(10): 3123–3133.
58. Laine CM, Laine T. Diagnosis of Osteoporosis in Children and Adolescents. *Eur Endocrinol*. 2013;9(2):141–144.
59. Brown KA, Dewoolkar AV, Baker N, Dodich C. The female athlete triad: special considerations for adolescent female athletes. *Transl Pediatr*. 2017; 6(3): 144–149.
60. De Souza MJ, et al. High prevalence of subtle and severe menstrual disturbances in exercising women: confirmation using daily hormone measures. *Hum Reprod*. 2009; 25:491–503.
61. Meczekalski B, Katulski K, Czyzyk A, Podfigurna-Stopa A, Maciejewska-Jeske M. Functional hypothalamic amenorrhea and its influence on women's health. *J Endocrinol Invest*. 2014; 37:1049–1056.
62. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Current evaluation of amenorrhea. *Fertil Steril*. 2006; 86:S148.
63. Crandall CJ, Tseng CH, Karlamangla AS, Finkelstein JS, Randolph JF Jr, Thurston RC, Huang MH, Zheng H, Greendale GA. Serum sex steroid levels and longitudinal changes in bone density in relation to the final menstrual period. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013; 98:E654–E663.

64. Berga SL. Stress-Induced Anovulation. Academic Press. 2019;3: 213-226.
65. Gifford RM, Reynolds RM, Greeves J, et al. Reproductive dysfunction and associated pathology in women undergoing military training. *Journal of the Royal Army Medical Corps*. 2017;163: 301-310.
66. Valsamakis G, Chrousos G, Mastorakos G. Stress, female reproduction and pregnancy. *Psychoneuroendocrinology*. 2018. doi.org/10.1016/j.psyneuen.2018.09.031
67. Balasubramanian R, Crowley WF Jr. Isolated Gonadotropin-Releasing Hormone (GnRH) Deficiency. *GeneReviews*. 2007
68. Skalba P, Guz M. Hypogonadotropic hypogonadism in women. *Endokrynologia Polska*. 2011; 62(6): 560-567.
69. Topaloğlu AK. Update on the Genetics of Idiopathic Hypogonadotropic Hypogonadism. *J Clin Res Pediatr Endocrinol*. 2017; 9(Suppl 2): 113–122. doi:10.4274/jcrpe.2017.S010.
70. Dwyer AA, Raivio T, Pitteloud N. Management of endocrine disease: reversible hypogonadotropic hypogonadism. *European Journal of Endocrinology*. 2016; 174(6): R267-R274.
71. Bonomi M, Vezzoli V, Krausz C, et al. Characteristics of a nationwide cohort of patients presenting with isolated hypogonadotropic hypogonadism (IHH). *European journal of Endocrinology*. 2018; 178(1): 23-32. <https://doi.org/10.1530/EJE-17-0065>.
72. Dzemaili S, Tiemensma J, Quinton R, Pitteloud N, Morin D, Dwyer AA. Beyond hormone replacement: quality of life in women with congenital hypogonadotropic hypogonadism. *Endocrine Connections*. 2017; 6(6): 404–412. <https://doi.org/10.1530/EC-17-0095>
73. Boehm U, Bouloux PM, Dattani MT, de Roux N, Dode C, Dunkel L, Dwyer AA, Giacobini P, Hardelin JP, Juul A, et al. Expert consensus document: European Consensus Statement on congenital hypogonadotropic hypogonadism--pathogenesis, diagnosis and treatment. *Nat Rev Endocrinol*. 2015; 11(9): 547-64. doi: 10.1038/nrendo.2015.112. Epub 2015 Jul 21.
74. Kulshreshtha B, Pahuja I, Kothari D, Chawla I, Sharma N, Gupta S, Mittal A. Menstrual Cycle Abnormalities in Patients with Prolactinoma and Drug-induced Hyperprolactinemia. *Indian J Endocrinol Metab*. 2017; 21(4): 545–550. doi: 10.4103/ijem.IJEM_515_16.

75. Molitch M. Diagnosis and Treatment of Pituitary Adenomas: A Review. *JAMA*. 2017; 317:516-524.
76. Kelberman D, Dattani MT. Hypothalamic and pituitary development: novel insights into the aetiology. *European Journal of Endocrinology*. 2007; 157 (Suppl 1): S3–14. doi:10.1530/EJE-07-0156).
77. Birzniece V, Ho KKY. Sex steroids and the GH axis: Implications for the management of hypopituitarism. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2017; 31(1): 59-69. doi: 10.1016/j.beem.2017.03.003. Epub 2017 Mar 14.
78. Soucek O, Schönau E, Lebl J, Willnecker J, Hlavka Z, Sumnik Z. A 6-Year Follow Up of Fracture Incidence and Volumetric Bone Mineral Density Development in Girls With Turner Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2018; 103(3): 1188-1197. doi: 10.1210/jc.2017-02381.
79. Gravholt CH, Andersen NH, Conway GS, Dekkers OM, Geffner ME, Klein KO, Lin AE, Mauras N, Quigley CA, Rubin K, Sandberg DE, Sas TCJ, Silberbach M, Söderström-Anttila V, Stochholm K, van Alfen-van der Velden JA, Woelfle J, Backeljauw PF. International Turner Syndrome Consensus Group. Clinical practice guidelines for the care of girls and women with Turnersyndrome: proceedings from the 2016 Cincinnati International Turner Syndrome Meeting. *Eur J Endocrinol*. 2017; 177(3): G1-G70. doi: 10.1530/EJE-17-0430.
80. Högl 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(1): 193-9.
81. Rubin K. Turner syndrome and osteoporosis: mechanisms and prognosis. *Pediatrics*. 1998; 102: 481-485.
82. Sun L, Peng Y, Sharrow AC, Iqbal J, Zhang Z, Papachristou DJ, Zaidi S, Zhu L, Yaroslavskiy BB., Zhou H., Zallone A., Sairam MR., Kumar TR., Bo W., Braun J., Cardoso-Landa L, Schaffler MB, Moonga BS, Blair HC, Zaidi M. FSH directly regulates bone mass. *Cell*. 2006; 125: 247-260.

83. Özbek MN, Demirbilek H, Baran RT, Baran A. Bone Mineral Density in Adolescent Girls with Hypogonadotropic and Hypergonadotropic Hypogonadism. *J Clin Res Pediatr Endocrinol*. 2016; 8(2): 163-9. doi: 10.4274/jcrpe.2228. Epub 2016 Apr 18.
84. Priya PK, Mishra VV, Choudhary S, Rizvi JS. A Case of Primary Amenorrhea with Swyer Syndrome. *J Hum Reprod Sci*. 2017; 10(4): 310-312. doi: 10.4103/jhrs.JHRS_128_17.
85. Michala L, Goswami D, Creighton SM, Conway GS. Swyer syndrome: presentation and outcomes. *BJOG*. 2008; 115(6): 737-41. doi: 10.1111/j.1471-0528.2008.01703.x.
86. King TF, Conway GS. Swyer syndrome. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2014;21(6): 504-10. doi: 10.1097/MED.000000000000113.
87. Fritz MA, Speroff L. Amenorrhea. *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*. 2011; 8(11): 435 – 493.
88. Cox L, Liu JH. Primary ovarian insufficiency: an update. *Int J Womens Health*. 2014; 20(6): 235-43. doi: 10.2147/IJWH.S37636. eCollection 2014.
89. Simpson J. XX Gonadal Dysgenesis and Premature Ovarian Failure in 46,XX Individuals. *Glob. libr. women's med*. 2008: 1756-2228. DOI 10.3843/GLOWM.10355.
90. Rossetti R, Ferrari I, Bonomi M, Persani L. Genetics of primary ovarian insufficiency. *Clin Genet*. 2017; 91(2): 183-198. doi: 10.1111/cge.12921. Epub 2016 Dec 12.
91. Bachelot A, Nicolas C, Bidet M, Dulon J, Leban M, Golmard JL, Polak M, Touraine P. Long-term outcome of ovarian function in women with intermittent premature ovarian insufficiency. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2017; 86(2): 223-228. doi: 10.1111/cen.13105
92. Maclaran K, Panay N. Premature ovarian failure. *J Fam Plann Reprod Health Care*. 2011; 37: 35-42.
93. Simpson JL, Rajkovic A. Ovarian differentiation and gonadal failure. *Am J Med Genet*. 1999; 89(4) :186-200.
94. Rebar RW, Connolly HV. Clinical features of young women with hypergonadotropic amenorrhea. *Fertil Steril*. 1990; 53: 804-810.
95. Jankowska K. Premature ovarian failure. *Prz Menopauzalny*. 2017; 16(2): 51–56. doi: 10.5114/pm.2017.68592

96. Berglund A, Johannsen TH, Stochholm K, Viuff MH, Fedder J, Main KM, Gravholt CH. Incidence, prevalence, diagnostic delay, and clinical presentation of female 46,XY disorders of sex development. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016; 101(12): 4532-4540.
97. Batista RL, Costa EMF, Rodrigues AS, Gomes NL, Faria JA Jr, Nishi MY, Arnhold IJP, Domenice S, Mendonca BB. Androgen insensitivity syndrome: a review. *Arch Endocrinol Metab.* 2018; 62(2): 227-235. doi: 10.20945/2359-3997000000031.
98. Lanciotti L, Cofini M, Leonardi A, Bertozzi M, Penta L, Esposito S. Different Clinical Presentations and Management in Complete Androgen Insensitivity Syndrome (CAIS). *Int J Environ Res Public Health.* 2019; 16 (7). pii: E1268. doi: 10.3390/ijerph16071268.
99. Bertelloni S, Dati E, Baroncelli GI, Hiort O. Hormonal management of complete androgen insensitivity syndrome from adolescence onward. *Horm. Res. Paediatr.* 2011; 76: 428–433.
100. Bertelloni S, Meriggiola MC, Dati E, Balsamo A, Baroncelli GI. Bone Mineral Density in Women Living with Complete Androgen Insensitivity Syndrome and Intact Testes or Removed Gonads. *Sex Dev.* 2017; 11(4):182-189. doi: 10.1159/000477599. Epub 2017 Jul 18.
101. King TFJ, Wat WZM, Creighton SM, Conway GS. Bone mineral density in complete androgen insensitivity syndrome and the timing of gonadectomy. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2017; 87(2): 136-140. doi: 10.1111/cen.13368. Epub 2017 Jun 8.
102. Han TS, Goswami D, Trikudanathan S, Creighton SM, Conway GS. Comparison of bone mineral density and body proportions between women with complete androgen insensitivity syndrome and women with gonadal dysgenesis. *Eur J Endocrinol.* 2008;159(2): 179-85. doi: 10.1530/EJE-08-0166.
103. El-Maouche D, Arlt W, Merke DP. Congenital adrenal hyperplasia. *Lancet.* 2017; 390(10108): 2194-2210. doi: 10.1016/S0140-6736(17)31431-9.
104. Nerموen I, Husebye ES, Myhre AG, Lovas K. Classic congenital adrenal hyperplasia. *Tidsskr Nor Laegeforen.* 2017; 137(7): 540-543. doi: 10.4045/tidsskr.16.0376.

105. Arlt W, Willis DS, Wild SH, Krone N, Doherty EJ, Hahner S, Han TS, Carroll PV, Conway GS, Rees DA, Stimson RH, Walker BR, Connell JM, Ross RJ. Health status of adults with congenital adrenal hyperplasia: a cohort study of 203 patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010; 95(11): 5110-21. doi: 10.1210/jc.2010-0917.
106. Choi JH, Yoo HW. Management issues of congenital adrenal hyperplasia during the transition from pediatric to adult care. *Korean J Pediatr.* 2017; 60(2): 31-37. doi: 10.3345/kjp.2017.60.2.31.
107. Wilson JD, Griffin JE, Russell DW. Steroid 5 α reductase 2 deficiency. *Endocrine Reviews.* 1993; 14(5): 577–593.
108. Katz MD I, Kligman I, Cai LQ, et al. Paternity by intrauterine insemination with sperm from a man with 5 α reductase-2 deficiency. *The New England Journal of Medicine.* 1997; 336(14): 994–997.
109. Sobel V, Schwartz B, Zhu YS, Cordero JJ, ImperatoMcGinley J. Bone mineral density in the complete androgen insensitivity and α -reductase-2 deficiency syndromes. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* 2006; 91(8): 3017–3023.
110. Costa EMF, Arnhold IJP, Inacio M, Mendonca BB. Normal bone density in male pseudohermaphroditism due to 5 α -reductase 2 deficiency. *Revista do Hospital das Clinicas de Faculdade de Medicina da Universidade de Sao Paulo.* 2001; 56(5): 139–142.
111. Imperato-McGinley J, Guerrero L, Gautier T, Peterson RE. Steroid 5alpha-reductase deficiency in man: an inherited form of male pseudohermaphroditism. *Science* 1974; 186: 1213.
112. Imperato-McGinley J, Peterson RE, Gautier T, et al. Hormonal evaluation of a large kindred with complete androgen insensitivity: evidence for secondary 5 alpha-reductase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 1982; 54: 931.
113. Peterson RE, Imperato-McGinley J, Gautier T, Sturla E. Male pseudohermaphroditism due to steroid 5-alpha-reductase deficiency. *Am J Med.* 1977 ;62: 170.
114. Praveen EP, et al. Gender identity of children and young adults with 5alpha-reductase deficiency. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2008; 21(2): 173-179.

115. Imperato-Mcginley J, et al. Androgens and the Evolution of Male-Gender Identity among Male Pseudohermaphrodites with 5 α -Reductase Deficiency. *New England Journal of Medicine*. 1979; 300(22): 1233-1237.
116. Zhu YS, Imperato-McGinley JL. 5alpha-reductase isozymes and androgen actions in the prostate. *Ann N Y Acad Sci*. 2009; 1155: 43-56.
117. Andonova S., Robeva R., Vazharova R., Ledig S., Grozdanova L., Stefanova E., Bradinova I, Todorov T, Hadzhidekov G, Sirakov M, Wiacker P, Kumanov P, Savov A. New territory for an old disease: 5-alpha reductase type 2 deficiency in Bulgaria. *Sex Dev*. 2017; 11: 21-28.
118. Norman RJ, Dewailly D, Legro RS, Hickey TE. Polycystic ovary syndrome. *Lancet*. 2007; 370(9588): 685-97.
119. Franks S. Polycystic ovary syndrome in adolescents. *International Journal of Obesity*. 2008; 32: 1035–1041.
120. Bednarska S, Siejka A. The pathogenesis and treatment of polycystic ovary syndrome: What's new?. *Adv Clin Exp Med*. 2017; 26 (2): 359-367. doi: 10.17219/acem/59380.
121. Katulski K., Slawek S., Czyzyk A., Podfigurna-Stopa A., Paczkowska K., Ignaszak N, Podkowa N, Meczekalski B. Bone mineral density in women with polycystic ovary syndrome. *J Endocrinol Invest*. 2014; 37(12): 1219-24. doi: 10.1007/s40618-014-0175-5.
122. Nestler J, Powers I, Matt D. A direct effect of hyperinsulinemia on serum sex hormone binding globulin levels in obese women with the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 1991; 72: 83–89.
123. Dunaif A. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome: mechanisms and implications for pathogenesis. *Endocrinol Rev*. 1997; 18: 774–800.
124. McCarthy TL, Centrella M. Androgen receptor activation integrates complex transcriptional effects in osteoblasts, involving the growth factors TGF-beta and IGF-I, and transcription factor C/EBPdelta. *Gene*. 2015; 573: 129-140.
125. Zborowski JV, Cauley JA, Talbott EO, Guzick DS, Winters SJ. Clinical Review 116: Bone mineral density, androgens, and the polycystic ovary: The complex and

- controversial issue of androgenic influence in female bone. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000; 85: 3496-3506.
126. Kumar A, Sharma AK, Mittal S, Kumar G. The relationship between body mass index and bone mineral density in premenopausal and postmenopausal north indian women. *J Obstet Gynaecol India.* 2016; 66: 52-56.
127. Berberoglu Z. INSIGHT INTO BONE METABOLISM AND SKELETAL MASS IN POLYCYSTIC OVARY SYNDROME. *EMJ Repro Health.* 2015; 1(1): 46-53.
128. Ajiboye AD, Omokanye LO, Olatinwo AO, Biliaminu SA. Mullerian Agenesis with Primary Amenorrhea: A Case Report of a Normal Phenotypic Female. *Saudi J Med Med Sci.* 2017; 5(2): 160–162. doi:10.4103/1658-631X.204859
129. Ledig S, Wieacker P. Clinical and genetic aspects of Mayer–Rokitansky–Küster–Hauser syndrome. *Medizinische Genetik.* 2018; 30(1): 3–11.
130. Morcel K, Camborieux L. Programme de Recherches sur les Aplasies Müllériennes, Guerrier D. Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser (MRKH) syndrome. *Orphanet J Rare Dis.* 2007; 2: 13. doi:10.1186/1750-1172-2-13
131. Kebaili S, Chaabane K, Mnif MF, et al. Gonadal dysgenesis and the Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser Syndrome in a girl with a 46, XX karyotype: A case report and review of literature. *Indian J Endocrinol Metab.* 2013; 17(3): 505–508. doi:10.4103/2230-8210.111663
132. Boruah DK, Sanyal S, Gogoi BB, et al. Spectrum of MRI Appearance of Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser (MRKH) Syndrome in Primary Amenorrhea Patients. *J Clin Diagn Res.* 2017; 11(7) : TC30–TC35. doi:10.7860/JCDR/2017/29016.10317
133. Schenker JG, Margalioth EJ. Intrauterine adhesions: an updated appraisal. *Fertil Steril.* 1982; 37(5): 595–610.
134. Yu D, Wong YM, Cheong Y, Xia E, Li TC. Asherman syndrome-one century later. *Fertil Steril.* 2008; 89: 759-779.
135. Shahzad S. Investigation of the prevalence of female genital tract tuberculosis and its relation to female infertility: An observational analytical study. *Iran J Reprod Med.* 2012; 10(6): 581–588.

136. Sharma JB, Sharma E, Sharma S, Dharmendra S. Female genital tuberculosis: Revisited. *Indian J Med Res.* 2018; 148(Suppl): S71–S83. doi:10.4103/ijmr.IJMR_648_18
137. Ahmed S, Shaha DR, Begum P, Akter T. Female Genital Tuberculosis. *Faridpur Med. Coll. J.* 2018; 13 (1): 53-55.
138. Yu X, Yuhan L, Dongmei S, Enlan X, Tinchu L. The incidence of post-operative adhesion following transection of uterine septum: a cohort study comparing three different adjuvant therapies. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2016; 201: 61-4. doi: 10.1016/j.ejogrb.2016.01.039.
139. Klein DA, Poth MA. Amenorrhea: an approach to diagnosis and management. *Am Fam Physician.* 2013; 87(11): 781-788.
140. Diaz A, Laufer MR, Breech LL. American Academy of Pediatrics Committee on Adolescence; American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Adolescent Health Care. Menstruation in girls and adolescents: using the menstrual cycle as a vital sign. *Pediatrics.* 2006; 118(5): 2245–2250.
141. Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine. Current evaluation of amenorrhea. *Fertil Steril.* 2008; 90(5): S219–S225.
142. Keen MA, Shah IH, Sheikh G. Cutaneous Manifestations of Polycystic Ovary Syndrome: A Cross-Sectional Clinical Study. *Indian Dermatol Online J.* 2017; 8(2): 104–110. doi:10.4103/2229-5178.202275
143. Witchel SF. Congenital Adrenal Hyperplasia. *J Pediatr Adolesc Gynecol.* 2017; 30(5):520–534. doi:10.1016/j.jpag.2017.04.001
144. Shankar RK, Backeljauw PF. Current best practice in the management of Turner syndrome. *Ther Adv Endocrinol Metab.* 2018; 9(1): 33–40. doi:10.1177/2042018817746291
145. Lanciotti L, Cofini M, Leonardi A, Bertozzi M, Penta L, Esposito S. Different Clinical Presentations and Management in Complete Androgen Insensitivity Syndrome (CAIS). *Int J Environ Res Public Health.* 2019; 16(7): 1268. doi:10.3390/ijerph16071268

146. Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long term health risks related to polycysticovary syndrome. *Fertil and Steril*. 2003; 81(1): 19-25.
147. Pertusa S, Palacios A. 46 XX pure gonadal dysgenesis: an infrequent cause of primary amenorrhoea. *BMJ Case Rep*. 2009. doi:10.1136/bcr.07.2008.0485
148. Eren E, Törel Ergür A, İşgüven ŞP, et al. Clinical and Laboratory Characteristics of Hyperprolactinemia in Children and Adolescents: National Survey. *J Clin Res Pediatr Endocrinol*. 2019; 11(2): 149–156. doi:10.4274/jcrpe.galenos.2018.2018.0206
149. Sheehan MT. Polycystic ovarian syndrome: diagnosis and management. *Clin Med Res*. 2004; 2(1): 13–27.
150. Doehnert U, Bertelloni S, Werner R, Dati E, Hiort O. Characteristic features of reproductive hormone profiles in lateadolescent and adult females with complete androgen insensitivity syndrome. *Sex Dev*. 2015; 9(2): 69-74. doi: 10.1159/000371464.
151. Oh SR, Choe SY, Cho YJ. Clinical application of serum anti-Müllerian hormone in women. *Clin Exp Reprod Med*. 2019; 46(2): 50–59. doi:10.5653/cerm.2019.46.2.50
152. Jopling H, Yates A, Burgoyne N, Hayden K, Chaloner C, Tetlow L. Paediatric Anti-Müllerian Hormone measurement: Male and female reference intervals established using the automated Beckman Coulter Access AMH assay. *Endocrinol Diabetes Metab*. 2018;1(4):e00021. doi:10.1002/edm2.21
153. Rudnicka E, Kruszezwska J, Klicka K, et al. Premature ovarian insufficiency - aetiopathology, epidemiology, and diagnostic evaluation. *Prz Menopauzalny*. 2018; 17(3):105–108. doi:10.5114/pm.2018.78550
154. Mikhael S, Punjala-Patel A, Gavrilova-Jordan L. Hypothalamic-Pituitary-Ovarian Axis Disorders Impacting Female Fertility. *Biomedicines*. 2019; 7(1): 5. doi:10.3390/biomedicines7010005
155. Lord M, Sahni M. Amenorrhea, Secondary. *StatPearls* [Internet]. 2019
156. Golden NH, Carlson JL. The pathophysiology of amenorrhea in the adolescent. *Ann N Y Acad Sci*. 2008; 1135: 163-78. doi: 10.1196/annals.1429.014.

157. Rosenfield RL. Clinical review: Adolescent anovulation: maturational mechanisms and implications. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013; 98(9): 3572-83. doi: 10.1210/jc.2013-1770.
158. Deligeoroglou E, Athanasopoulos N, Tsimaris P, Dimopoulos KD, Vrachnis N, Creatsas G. Evaluation and management of adolescent amenorrhea. *Ann N Y Acad Sci.* 2010; 1205: 23-32. doi: 10.1111/j.1749-6632.2010.05669.x.
159. Zimmer CA, Ehrmann DA, Rosenfield RL. Potential diagnostic utility of intermittent administration of short-acting gonadotropin-releasing hormone agonist in gonadotropin deficiency. *Fertil Steril.* 2010; 94(7): 2697–2702. doi:10.1016/j.fertnstert.2010.04.019
160. Bozzola M, Bozzola E, Montalbano C, Stamatia FA, Ferrara P, Villani A. Delayed puberty versus hypogonadism: a challenge for the pediatrician. *Ann Pediatr Endocrinol Metab.* 2018; 23(2): 57–61. doi:10.6065/apem.2018.23.2.57
161. Rasouli M, McDaniel K, Awadalla M, Chung K. Mosaic Turner Syndrome Presenting with a 46,XY Karyotype. *Case Rep Obstet Gynecol.* 2019. doi:10.1155/2019/3719178
162. Agarwal A, Agarwal S. Swyer Syndrome With Gonadoblastoma: A Clinicoradiological Approach. *J Hum Reprod Sci.* 2017; 10(1): 65–68. doi:10.4103/jhrs.JHRS_132_16
163. Matsumoto F, Shimada K, Ida S. Tumors of bilateral streak gonads in patients with disorders of sex development containing y chromosome material. *Clin Pediatr Endocrinol.* 2014;23(3):93–97. doi:10.1297/cpe.23.93
164. Pan L, Su Z, Song J, et al. Growth data and tumour risk of 32 Chinese children and adolescents with 45,X/46,XY mosaicism. *BMC Pediatr.* 2019; 19(1): 143. doi:10.1186/s12887-019-1520-9
165. Weaver CM, Gordon CM, Janz KF, et al. The National Osteoporosis Foundation's position statement on peak bone mass development and lifestyle factors: a systematic review and implementation recommendations. *Osteoporos Int.* 2016; 27(4):1281–1386. doi:10.1007/s00198-015-3440-3
166. Борисова А-М. Мониторирание на остеопорозата чрез костните маркери. *Ендокринология.* 2004; 9(1): 16-21.

167. Симеонов С, Кумчев Е, Енчев Е, Цветкова С. Биохимични маркери за костния метаболизъм. *Ендокринология*. 1998; 3(4): 16-24.
168. Обрецова М. Костна минерална плътност при синдром на поликистозните яичници. 2017; 22(3): 38-49.
169. Soyka LA, Fairfield W, Klibanski A. Hormonal Determinants and Disorders of Peak Bone Mass in Children. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2000;85(11):3951–3963. doi.org/10.1210/jcem.85.11.6994
170. Oswiecimska J, Ziora K, Pluskiewicz W, Geisler G, Broll-Waska K, Karasek D, et al. Skeletal status and laboratory investigations in adolescent girls with anorexia nervosa. *Bone*. 2007; 41: 103–110.
171. Gordon CM, Goodman E, Emans SJ, Grace E, Becker KA, Rosen CJ, et al. Physiologic regulators of bone turnover in young women with anorexia nervosa. *J Pediatr*. 2002; 141: 64–70.
172. Mirza F, Canalis E. Management of endocrine disease: Secondary osteoporosis: pathophysiology and management. *Eur J Endocrinol*. 2015; 173(3): R131–R151. doi:10.1530/EJE-15-0118
173. Misra M, Klibanski A. Anorexia nervosa and bone. *J Endocrinol*. 2014; 221(3): R163–R176. doi:10.1530/JOE-14-0039
174. 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.
175. Faienza MF, Brunetti G, Ventura A, Piacente L, Messina MF, De Luca F, et al. Mechanisms of enhanced osteoclastogenesis in girls and young women with Turner's syndrome. *Bone*. 2015; 81: 228–236.
176. Cleemann L, Holm K, Kobbernagel H, Skouby SO, Kristensen B, Smedegaard H, et al. Normal tempo of bone formation in Turner syndrome despite signs of accelerated bone resorption. *Horm Res Paediatr*. 2011; 76: 193–201.
177. Christo K, Prabhakaran R, Lamparello B, et al. Bone metabolism in adolescent athletes with amenorrhea, athletes with eumenorrhea, and control subjects. *Pediatrics*. 2008; 121(6): 1127–1136. doi:10.1542/peds.2007-2392

178. Nazem TG, Ackerman KE. The female athlete triad. *Sports Health*. 2012; 4(4): 302–311. doi:10.1177/1941738112439685
179. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med*. 2007; 357(3): 266–281.
180. Morris HA. Vitamin D activities for health outcomes. *Ann Lab Med*. 2014; 34(3): 181–186.
181. Turner AG, Anderson PH, Morris HA. Vitamin D and bone health. *Scand J Clin Lab Invest Suppl*. 2012; 243: 65–72.
182. El-Hajj Fuleihan H. Vitamin D deficiency in the Middle East and its health consequences for children and adults. *Clin Rev Bone Miner Metab*. 2009; 7: 77–93.
183. Lips P, Gielen E, van Schoor NM. Vitamin D supplements with or without calcium to prevent fractures. *Bonekey Rep*. 2014; 3: 512.
184. Ebeling PR. Vitamin D and bone health: epidemiologic studies. *Bonekey Rep*. 2014; 3: 511.
185. Capatina C. et al. Vitamin d deficiency in postmenopausal women—biological correlates. *Maedica (Buchar)* 2014;9(4):316–322.
186. Gill TK, Hill LC, et al. Vitamin D levels in an Australian population. *BMC Public Health*. 2014; 14: 1001.
187. Bassil D, Rahme M, Hoteit M, Fuleihan Gel-H. Hypovitaminosis D in the Middle East and North Africa: Prevalence, risk factors and impact on outcomes. *Dermatoendocrinol*. 2013; 5(2):274-298. doi:10.4161/derm.25111
188. Wacker M, Holick MF. Vitamin D - effects on skeletal and extraskeletal health and the need for supplementation. *Nutrients*. 2013; 5(1): 111–148. doi:10.3390/nu5010111
189. Holick MF. Resurrection of vitamin D deficiency and rickets. *J. Clin. Invest*. 2006; 116: 2062–2072. doi: 10.1172/JCI29449.
190. Adams JS, Hewison M. Update in vitamin D. *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 2010; 95: 471–478. doi: 10.1210/jc.2009-1773.
191. Dawson-Hughes B, Heaney RP, Holick MF, Lips P, Meunier PJ, Vieth R. Estimates of optimal vitamin D status. *Osteoporos. Int*. 2005; 16: 713–716. doi: 10.1007/s00198-005-1867-7.

192. Holick MF. Optimal vitamin D status for the prevention and treatment of osteoporosis. *Drugs Aging*. 2007; 24: 1017–1029. doi: 10.2165/00002512-200724120-00005.
193. DeLuca HF. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *Am J Clin Nutr*. 2004; 80 (6 Suppl): 1689S-1696S.
194. Kumar R. Vitamin D and calcium transport. *Kidney Int* 1991; 40: 1177.
195. Lambers TT, Bindels RJ, Hoenderop JG. Coordinated control of renal Ca²⁺ handling. *Kidney Int*. 2006; 69:650.
196. Moe SM. Disorders involving calcium, phosphorus, and magnesium. *Prim Care*. 2008; 35(2): 215–vi. doi:10.1016/j.pop.2008.01.007
197. Paltiel HJ, Phelps A. US of the pediatric female pelvis. *Radiology*. 2014; 270: 644–657.
198. Ziereisen F, Guissard G, Damry N, et al. Sonographic imaging of the paediatric female pelvis. *Eur Radiol*. 2005;15:1296-309.
199. Holm K, Laursen EM, Brocks V, et al. Pubertal maturation of the internal genitalia: an ultrasound evaluation of 166 healthy girls. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 1995; 6: 175-81.
200. Cohen HL, Eisenberg P, Mandel F, et al. Ovarian cysts are common in premenarchal girls: a sonographic study of 101 children 2-12 years old. *AJR Am J Roentgenol*. 1992; 159: 89-91.
201. Garel L, Dubois J, Grignon A, Filiatrault D, Van Vliet G. US of the pediatric female pelvis: a clinical perspective. *Radiographics*. 2001; 21(6): 1393-1407.
202. Herter LD, Golendziner E, Flores JA, et al. Ovarian and uterine sonography in healthy girls between 1 and 13 yearsold: correlation of findings with age and pubertal status. *AJR Am J Roentgenol*. 2002; 178(6): 1531-6.
203. Kelsey TW, Ginbey E, Chowdhury MM, Bath LE, Anderson RA, Hamish W, Wallace B. A validated normative model for human uterine volume from birth to age 40 years. *PLoS One*. 2016; 11(6): e0157375.doi.org/10.1371/journal.pone.0157375
204. Haber HP, Ranke MB. Pelvic ultrasonography in turner syndrome: standards for uterine and ovarian volume. *J Ultrasound Med*. 1999;18: 271–6.

205. Giuseppe L, Attilio G, Edoardo DN, et al: Ovarian function after cancer treatment in young women affected by Hodgkin disease (HD). *Hematology* 2007; 12: 141– 147.
206. Jonard S, Robert Y, Cortet- Rudelli C. Ultrasound examination of polycystic ovaries: is it worth counting the follicles? *Hum Reprod.* 2003; 18: 598– 603.
207. Gajewska J, Ambroszkiewicz J, Laskowska-Klita T. Some bone turnover markers in serum of healthy children and adolescents in relation to age and gender. *Wiad Lek.* 2005;58 (9-10): 476-480.
208. Loud KJ, Gordon CM. Adolescent Bone Health. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2006; 160(10): 1026–1032. doi:10.1001/archpedi.160.10.1026
209. Carpini S, Carvalho AB, de Lemos-Marini SHV, Guerra-Junior G, Maciel-Guerra AT. FSH may be a useful tool to allow early diagnosis of Turner syndrome. *BMC Endocr Disord.* 2018; 18 (1): 8. doi:10.1186/s12902-018-0236-4
210. Visser JA, Hokken-Koelega AC, Zandwijken GR, Limacher A, et al. Anti-Mullerian hormone levels in girls and adolescents with Turner syndrome are related to karyotype, pubertal development and growth hormone treatment. *Human Reproduction.* 2013; 28 (7): 1899-1907. doi.org/10.1093/humrep/det089
211. Hagen CP, Main KM, Kjaergaard S, Juul A. FSH, LH, inhibin B and estradiol levels in Turner syndrome depend on age and karyotype: longitudinal study of 70 Turner girls with or without spontaneous puberty. *Hum Reprod.* 2010; 25: 3134 – 3141.
212. Winter S, Ousidhoum A, McElreavey K, Brauner R. Constitutional delay of puberty: presentation and inheritance pattern in 48 familial cases. *BMC Pediatr.* 2016; 16: 37. doi:10.1186/s12887-016-0580-3
213. Dwyer AA, Phan-Hug F, Hauschild M, Elowe-Gruau E, Pitteloud N. Transition in endocrinology. Hypogonadism in adolescence. *European Journal of Endocrinology.* 2016; 173(1): R15-R24. doi:10.1530/EJE-14-0947
214. Bozzola M, Bozzola E, Montalbano C, Stamati FA, Ferrara P, Villani A. Delayed puberty versus hypogonadism: a challenge for the pediatrician. *Ann Pediatr Endocrinol Metab.* 2018; 23(2): 57–61. doi:10.6065/apem.2018.23.2.57

215. Howard SR, Dunkel L. Delayed Puberty-Phenotypic Diversity, Molecular Genetic Mechanisms, and Recent Discoveries. *Endocr Rev.* 2019; 40(5): 1285–1317. doi:10.1210/er.2018-00248
216. Hagen CP, Aksglaede L, Sorensen K, et al. Individual serum levels of anti-Müllerian hormone in healthy girls persist through childhood and adolescence: a longitudinal cohort study. *Human Reproduction.* 2012; 27(3): 861–866.
217. Hagen CP, Aksglaede L, Sorensen K, Main KM, Boas M, Cleemann L, Holm K, Gravholt CH, Andersson AM, Pedersen AT, et al. Serum levels of anti-Müllerian hormone as a marker of ovarian function in 926 healthy females from birth to adulthood and in 172 Turner syndrome patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010; 95: 5003 – 5010.
218. Sophie Gibson ME, Fleming N, Zuijdwijk C, Dumont T. Where Have the Periods Gone? The Evaluation and Management of Functional Hypothalamic Amenorrhea. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 2020; 12(Suppl 1): 18–27. doi:10.4274/jcrpe.galenos.2019.2019.S0178
219. Jonard S, Pigny P, Jacquesson L, Demerle-Roux C, Robert Y, Dewailly D. The ovarian markers of the FSH insufficiency in functional hypothalamic amenorrhoea. *Human Reproduction.* 2005; 20(Issue 1): 101–107. doi.org/10.1093/humrep/deh560
220. Gordon CM, Ackerman KE, Berga S, Kaplan J, Mastorakos G, Misra M, Murad M, Santoro N, Warren M. Functional Hypothalamic Amenorrhea: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* 2017;102(Issue5):1413–1439. doi.org/10.1210/jc.2017-00131
221. La Marca A, Pati M, Orvieto R, Stabile G, Carducci Artenisio A, et al. Serum anti-Müllerian hormone levels in women with secondary amenorrhea. *Fertil Steril.* 2006; 85: 1547–9.
222. Tokmak A, Timur H, Aksoy RT, Çınar M, Yılmaz N. Is anti-Müllerian hormone a good diagnostic marker for adolescent and young adult patients with Polycystic ovary syndrome?. *Turk J Obstet Gynecol.* 2015; 12(4): 199–204. doi:10.4274/tjod.21549
223. Park AS, Lawson MA, Chuan SS, et al. Serum anti-müllerian hormone concentrations are elevated in oligomenorrheic girls without evidence of

- hyperandrogenism. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2010; 95(4): 1786-1792. DOI: 10.1210/jc.2009-2106.
224. Faienza MF, Ventura A, Colucci S, Cavallo L, Grano M, Brunetti G. Bone Fragility in Turner Syndrome: Mechanisms and Prevention Strategies. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2016;7:34. doi:10.3389/fendo.2016.00034
225. Lisa L, Neradilova M, Tomasova H, Kouba M, Preucil P. Changes in bone metabolism in girls with Turner's syndrome. *Cas Lek Cesk*. 1996; 135: 178–180.
226. 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. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2002; 87(6):2798–2808. doi.org/10.1210/jcem.87.6.8598
227. Breuil V, Euller-Ziegler L. Gonadal dysgenesis and bone metabolism. *Joint Bone Spine*. 2001; 68(1): 26-33. doi.org/10.1016/S1297-319X(00)00235-9
228. Park KH, Lee SJ, Kim JY, Bai SW, Kim JW. A concomitant decrease in cortical and trabecular bone mass in isolated hypogonadotropic hypogonadism and gonadal dysgenesis. *Yonsei Med J*. 1999; 40(5): 444-449. doi.org/10.3349/ymj.1999.40.5.444
229. Blumsohn A, Hannon RA, Wrate R, Barton J, al-Dehaimi AW, Colwell A, Eastell R. Biochemical markers of bone turnover in girls during puberty. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1994; 40: 663–670.
230. Mora S, Prinster C, Proverbio MC, Bellini A, de Poli SC, Weber G, Abbiati G, Chiumello G. Urinary markers of bone turnover in healthy children and adolescents: age-related changes and effect of puberty. *Calcif Tissue Int*. 1998; 63: 369–374.
231. Mora S, Pitukcheewanont P, Kaufman FR, Nelson JC, Gilsanz V. Biochemical markers of bone turnover and the volume and the density of bone in children at different stages of sexual development. *J Bone Miner Res*. 1999; 14: 1664–1671.
232. Lehtonen-Veromaa M, Mottonen T, Irjala K, Nuotio I, Leino A, Viikari J. A 1-year prospective study on the relationship between physical activity, markers of bone metabolism, and bone acquisition in peripubertal girls. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000; 85: 3726–3732.

233. van Coeverden SC, Netelenbos JC, de Ridder CM, Roos JC, Popp-Snijders C, Delemarre van de Waal HA. Bone metabolism markers and bone mass in healthy pubertal boys and girls. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2002; 57: 107– 116.
234. Krupa B, Miazgowski T. Bone Mineral Density and Markers of Bone Turnover in Boys with Constitutional Delay of Growth and Puberty. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2005; 90(5): 2828–2830. doi.org/10.1210/jc.2005-0086
235. Gayretli Aydin Z, Bideci A, Emeksiz HC, Çelik N, Döğ er E, Bukan N, Yildiz U, Camurdan O M, Cinaz P. Assessment of bone turnover markers and bone mineral density in normal short boys. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*. 2015; 28(11-12): 1321-1326.
236. Misra M, Katzman D, Miller KK, et al. Physiologic estrogen replacement increases bone density in adolescent girls with anorexia nervosa. *J Bone Miner Res*. 2011;26(10):2430–2438. doi:10.1002/jbmr.447
237. Kandemir N, Slattery M, Ackerman KE, Tulsiani S, Bose A, Singhal V, Baskaran C, Ebrahimi S, Goldstein M, Eddy K, Klibanski A, Misra M. Bone Parameters in Anorexia Nervosa and Athletic Amenorrhea: Comparison of Two Hypothalamic Amenorrhea States. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*.2018; 103(6): 2392–2402. doi.org/10.1210/jc.2018-00338.
238. Bertelloni S, Baroncelli GI, Ferdeghini M, Perri G, Saggese G. Normal volumetric bone mineral density and bone turnover in young men with histories of constitutional delay of puberty. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998; 83(12): 4280–4283. doi:10.1210/jcem.83.12.5348
239. Warren MP, Brooks-Gunn J, Fox RP, Lancelot C, Newman D, Hamilton WG. Lack of bone accretion and amenorrhea: evidence for a relative osteopenia in weight-bearing bones. *J Clin Endocrinol Metab*. 1991; 72(4): 847–853. doi:10.1210/jcem-72-4-847
240. Shufelt CL, Torbati T, Dutra E. Hypothalamic Amenorrhea and the Long-Term Health Consequences. *Semin Reprod Med*. 2017; 35(3): 256–262. doi:10.1055/s-0037-1603581

241. Audí L, Vargas D, Gussinyé M, et al. Clinical and Biochemical Determinants of Bone Metabolism and Bone Mass in Adolescent Female Patients with Anorexia Nervosa. *Pediatr Res.* 2002; 51: 497–504.
242. Lingaiah S, Morin-Papunen L, Piltonen T, et al. Bone markers in polycystic ovary syndrome: A multicentre study. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2017; 87(6): 673–679. doi:10.1111/cen.13456
243. Lingaiah S, Morin-Papunen L, Risteli J, Tapanainen JS. Metformin decreases bone turnover markers in polycystic ovary syndrome: a post hoc study. *Fertil Steril.* 2019;112(2):362–370. doi:10.1016/j.fertnstert.2019.04.013
244. Adami S, Zamberlan N, Castello R, et al. Effect of hyperandrogenism and menstrual cycle abnormalities on bone mass and bone turnover in young women. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1998; 48(2): 169-73.
245. Berberoglu Z, Aktas A, Fidan Y, et al. Association of plasma GDF-9 or GDF-15 levels with bone parameters in polycystic ovary syndrome. *J Bone Miner Metab.* 2015; 33(1): 101-8.
246. Edelstein S, Barrett-Connor E. Relation between body size and bone mineral density in elderly men and women. *Am J Epidemiol.* 1993; 138: 160-169.
247. Cifuentes M, Johnson M, Lewis RD, et al. Bone turnover and body weight relationships differ in normal-weight compared with heavier postmenopausal women. *Osteoporos Int.* 2003; 14: 116-122.
248. Ravn P, Cizza G, Bjarnason NH, et al. Low body mass index is an important risk factor for low bone mass and increased bone loss in early postmenopausal women. Early Postmenopausal Intervention Cohort (EPIC) study group. *J Bone Miner Res.* 1999; 14: 1622-1627.
249. Борисова А-М, Шинков А, Влахов Й, Даковска Л, Тодоров Т, Свиначков Д, Касабова Л. Честота на дефицит, недостатъчност и достатъчност на витамин D в българска популация (20-80 години). 2012; 3 : 122 - 134.
250. Gordon CM, DePeter KC, Feldman HA, Grace E, Emans SJ. Prevalence of vitamin D deficiency among healthy adolescents. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2004; 158: 531–537.

251. Absoud M, Cummins C, Lim MJ, Wassmer E, Shaw N. Prevalence and predictors of vitamin D insufficiency in children: a Great Britain population based study. *PLoS ONE*. 2011; 6:e22179.
252. Kim J, Choi Y, Chae S, et al. Vitamin D deficiency in women with polycystic ovary syndrome. *Clin. Exp. Reprod. Med.* 2014; 41: 80-85.
253. Ghadimi R, Esmaeilzadeh S, Firoozpour M, et al. Does vitamin D status correlate with clinical and biochemical features of polycystic ovarysyndrome in high school girls? *Caspian. J. Intern. Med. Autumn.* 2014; 5: 202–208.
254. Panidis D, Balaris C, Farmakiotis D, et al. Serum parathyroid hormone concentrations are increased in women with polycystic ovary syndrome. *Clin. Chem.* 2005; 51: 1691-1698.
255. Ngo D, Chan W, Rajendran S, et al. Determinants of insulin responsiveness in young women: Impact of polycystic ovarian syndrome, nitric oxide and vitamin D. *Nitric Oxide*. 2011; 25: 326–330.
256. Mahmoudi T, Gourabi H, Ashrafi M, et al. Calcitropic hormones, insulin resistance and the polycystic ovary syndrome. *Fertility and Sterility*. 2010; 93: 1208–1214.
257. Lagowska K. The Relationship between Vitamin D Status and the Menstrual Cycle in Young Women: A Preliminary Study. *Nutrients*. 2018; 10(11): 1729. doi:10.3390/nu10111729
258. Saikumar P., KalaiSelvi V., Prabhu K. et al. Anti Mullerian hormone: a potential marker for recruited non growing follicle of ovarian pool in women with polycystic ovarian syndrome. *J Clin Diagn Res.* 2013; 7(9): 1866–1869.
259. Woo H, Kim K, Rhee E, et al. Differences of the association of anti-Mullerian hormone with clinical or biochemical characteristics between women with and without polycystic ovary syndrome. *Endocr J.* 2012; 59(9): 781–790. doi: 10.1507/endocrj.EJ12-0055.
260. Lin Y, Chiu W, Wu C, et al. Antimüllerian hormone and polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 2011; 96: 230–235. doi: 10.1016/j.fertnstert.2011.04.003.

261. Dewailly D, Gronier H, Poncelet E, et al. Diagnosis of polycystic ovary syndrome (PCOS): revisiting the threshold values of follicle count on ultrasound and of the serum AMH level for the definition of polycystic ovaries. *Hum Reprod.* 2011; 26(11): 3123–3129. doi: 10.1093/humrep/der297.
262. Homburg R, Ray A, Bhide P, et al. The relationship of serum anti-Müllerian hormone with polycystic ovarian morphology and polycystic ovary syndrome: a prospective cohort study. *Hum Reprod.* 2013; 28(4): 1077–1083. doi: 10.1093/humrep/det015.
263. Cengiz H, Ekin M, Dagdeviren H, et al. Comparison of serum anti-Müllerian hormone levels in normal weight and overweight–obese adolescent patients with polycystic ovary syndrome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2014; 180: 46–50. doi: 10.1016/j.ejogrb.2014.06.018.
264. Lunding SA, Aksglaede L, Anderson RA, Main KM, Juul A, Hagen CP, et al. AMH as predictor of premature ovarian insufficiency: A longitudinal study of 120 Turner Syndrome patients. *Journal of Endocrinology and Metabolism.* 2015;100 (7): E1030-E1038.