

## Vpliv inzulina, ravnega faktorja 1, ravnega hormona in spolnih hormonov na kostno gostoto

### The influence of insulin, growth factor 1, growth hormone and sex steroids on bone mineral density

Mateja Legan\*

Deskriptorji  
kostna gostota  
inzulin  
rastni hormon  
rastni faktorji  
spolni hormoni

Descriptors  
bone density  
insulin  
somatotropin  
growth factors  
sex hormones

**Izveček.** Hormonski dejavniki občutljivo regulirajo kostno presnovo ter v sklopu dednostnega dejavnika skupaj s prehrano in telesno dejavnostjo izgrajujejo, vzdržujejo in modulirajo kostno gostoto posameznika. Poleg klasičnih hormonov kostnega metabolizma (paratiroidnega hormona, kalcitonina, 1, 25-dihidroksi-vitamina D3) novejšje raziskave odkrivajo pomen inzulina, inzulinu podobnega ravnega faktorja in spolnih hormonov za kost. Avtor prikazuje poti in mehanizme učinkovanja inzulina, ravnega faktorja 1, ravnega hormona, estrogenov in androgenov na kostno gostoto. Obravnavani hormoni učinkujejo na kost v smislu večanja kostne gostote.

**Abstract.** Hormonal factors are subtle regulators of bone metabolism. Together with the genetic factor, diet and exercise they are involved in the formation, maintenance and remodelling of the bone. In addition to classical calciotropic hormones (parathyroid hormone, calcitonin, 1, 25-dihydroxy-vitamin D3), insulin, insulin-like intrinsic growth factors and sex steroids have been discovered to have a role in bone metabolism. The author presents the mode and mechanisms of action of insulin, insulin-like growth factor 1, growth hormone, estrogens and androgens, which have been identified as hormones increasing bone density.

## Uvod

Maksimalna kostna masa, ki jo telo izgradi v obdobju rasti in razvoja ter vzdržuje v odrasli dobi, je genetsko določena. Kateri izmed stotin možnih genov najbolj določa kostno maso, je trajen izziv znanstvenikom (1). Najnovejšje je dognanje Morrisona s sodelavci, da naj bi bil za opredelitev kostne mase pomemben gen za receptor 1, 25-dihidroksi-vitamina D3 (2). Številni zunanji in notranji dejavniki modulirajo vpliv dednosti. Ti so prehrana, telesna dejavnost in hormonsko stanje (3).

Klasični hormoni kostnega metabolizma so paratiroidni hormon (PTH), kalcitonin in 1, 25-dihidroksi vitamin D3. Na kostno presnovo pa poleg naštetih hormonov pomembno vplivajo še ščitnični hormoni in glukokortikoidi. Ob izolirani obravnavi posameznega hormona na kost se moramo zavedati medsebojnega in skupnega vpliva hormonov. Pomankanje enega, za kost anabolnega hormona, se ne izrazi kot osteopenija, če kost varuje presežek drugega anabolnega hormona.

\* Mag. sc. Mateja Legan, dr. med., Klinika za endokrinologijo in bolezni presnove, Klinični center Ljubljana, Zaloška 7, 61105 Ljubljana.

Prikazovanje vpliva vseh odločilnih hormonov za opredelitev kostne gostote presega namen tega članka. Pozornost namenja predvsem inzulinu, ravnim faktorjem in spolnim hormonom, katerih anabolna vloga na kost se odkriva in vedno znova potrjuje v najnovejših raziskavah.

## **O vlogi inzulina, ravnih faktorjev, spolnih steroidov (androgenov, estrogenov) na kost**

### **Inzulin**

Inzulin vpliva na presnovo kosti po dveh poteh: neposredno (povečuje število in delovanje osteoblastov) ter posredno – povečuje namreč aktivnost encima 1-alfa-hidroksilaze v ledvicah in tako večja količina aktivne oblike vitamina D3. Vpliva tudi na izločanje kalcija skozi ledvice. V živalskih modelih je bil opažen njegov vpliv na vsrkavanje kalcija v dvanajstniku, delno tudi preko spremembe koncentracije prenašalnega proteina kalbindina D-9K (4, 5).

Delovanje inzulina je dobro raziskano in vitro in in vivo. Že leta 1983 je Canalis (6) v svojem poskusu na kulturah celic kalvarij podgan pokazal, da inzulin spodbuja delovanje osteoblastov.

Poskus je čez dve leti na enaki tkivni kulturi opravila Kreamova s sodelavci (7). Ugotovili so, da inzulin v fizioloških koncentracijah spodbuja delovanje osteoblastov, pri visokih koncentracijah pa povečuje tudi njihovo število.

Z metodo antireceptorskih protiteles so leta 1986 dokazali inzulinske receptorje na osteoblastom podobnih sarkomskih celicah (8). Struktura receptorjev je bila takšna kot na celicah drugih tarčnih tkiv. Hickman in McEduff (9) sta dokazala, da inzulin tudi v fizioloških koncentracijah pospešuje celično rast in razmnoževanje osteoblastom podobnih sarkomskih celic.

Inzulin torej dokazano spodbuja delovanje osteoblastov in pospešuje tvorbo novih.

Verhaeghe s sodelavci (10) je preučeval dolgoročne učinke sladkorne bolezni na kost pri podganah. Našli so zvišano izločanje kalcija v seču, značilno znižane koncentracije 1, 25-dihidroksi-vitamina D3 in njegove vezalne beljakovine, znižan kalbindin D-9K in povsem moteno aktivno vsrkavanje kalcija v dvanajstniku. Merjenje trabekularne kostne gostote je pokazalo 44 % nižje vrednosti od zdrave kontrolne skupine. Histomorfometrično so merili tudi osteoblastno in osteoklastno površino v kosti. Osteoblastna površina je bila pri diabetičnih podganah glede na zdravo kontrolno skupino za 10 % znižana, medtem ko je bila osteoklastna površina nespremenjena.

### **Rastni faktorji (predvsem IGF-1)**

Inzulinu podobni rastni faktorji (IGF) so polipeptidni rastni spodbujevalci. Poleg tega, da so prisotni v obtoku, jih številna tkiva (vključno kost) sintetizirajo tudi lokalno. Canalis (11) je leta 1980 preučeval učinke IGF-1 na DNA in beljakovinsko sintezo v kulturi fetalnih podganjih kalvarij. Opisal je spodbujevalni učinek tako na beljakovinsko kot DNA

sintezo že pri fizioloških koncentracijah IGF-1. Bennettova s sodelavci (12) je leta 1984 na fetalnih podganjih osteoblastih razpoznavala specifične membranske receptorje za IGF-1. Receptorje za IGF-1 in IGF-2 je v naslednjih letih potrdil Centrella s sodelavci (13). Njegovi rezultati kažejo tudi, da IGF-1 in IGF-2 spodbujata razmnoževanje osteoblastov in sintezo kolagena predvsem preko IGF-1 receptorjev.

Danes je obstoj receptorjev za IGF-1 (IGF-receptorja tip 1) in IGF-2 (IGF-receptorja tipa 2) jasno opredeljen, kakor tudi sposobnost rastnih faktorjev, da spodbujajo razmnoževanje prekurzorjev osteoblastov in njihovo diferenciacijo v osteoblaste (14, 15). Znano je tudi, da se IGF-1 in IGF-2 navzkrižno vežeta z IGF-receptorji tipa 1 in 2 ter da se z nizko afiniteto na IGF-receptorje tipa 1 veže celo inzulin (16). Opisana je tudi odvisnost IGF-1 od vezalnih beljakovin za rastne faktorje (IGFBP) (17, 18). Veзалne beljakovine oblikujejo količino prostega rastnega faktorja, obenem pa s tem daljšajo njegov razpolovni čas v plazmi. Morda ga celo predstavljajo receptorjem, oz. pospešujejo prenos IGF-1 in IGF-2 k perifernim tarčnim tkivom (17, 19). Med šestimi oblikami vezalnih beljakovin je prevladujoča oblika v serumu v odrasli dobi IGFBP-3 (20).

Najnovejše je odkritje Yatemana in sodelavcev (21) iz leta 1993, da citokini (transformirajoči rastni faktor beta 1 – TGF  $\beta$ 1 in tumorski nekrozni rastni faktor  $\alpha$  – TNF- $\alpha$ ) spreminjajo endogeno tvorbo IGFBP in tako oblikujejo količino biološko razpoložljivega IGF-1.

Poleg in vitro raziskav anabolnega učinka IGF-1 na osteoblaste (13, 22, 23) obstoje tudi klinične študije učinkov IGF-1 na kost; ena novejših je švedska raziskava o pozitivnem učinku podkožnih injekcij rekombinantnega IGF-1 na tvorbo kosti pri idiopatski osteoporozi pri moških, ki so imeli nizek IGF-1 (24).

### **Rastni hormon**

Rastni hormon (somatotropni hormon-STH) vpliva na kostno gostoto najverjetneje preko spodbujanja sinteze IGF-1 (25–27). Možno je tudi, da STH regulira lokalno produkcijo nekaterih vezalnih beljakovin rastnih faktorjev (14), ki modulirajo parakrino delovanje IGF-1 in IGF-2 (28).

Najnovejša raziskava Kassemata in sodelavcev (29) na kulturah normalnih humanih osteoblastnih celic je pokazala, da po obravnavanju celic s humanim STH v kulturi ni bilo zaslediti IGF-1, opazen pa je bil porast IGF-2 in IGFBP-3, kakor tudi biološki učinek v smislu rasti in mitoze nezlivajočih se kultiviranih celic oz. diferenciacije zrelih osteoblastov. Čeprav je možno, da je prišlo do hitrega privzema IGF-1 s strani receptorjev, rezultati nakazujejo, da ima STH lahko tudi neposreden anabolen učinek na kost, še posebej ker so bili leta 1991 razpoznani receptorji za rastni hormon na kloniranih osteoblastom podobnih podganjih celicah linije UMR-106 (30).

### **Spolni steroidi (estrogeni, androgeni)**

V klinični praksi je že dolgo znano, da estrogeni večajo oz. ohranjajo kostno maso (31, 32), čeprav so bili estrogenski receptorji odkriti šele mnogo kasneje (33).

Eriksen s sodelavci (33) je leta 1988 odkril estrogenske receptorje na človeških osteoblastnih celicah. Iz istega časa je Kommova študija (34), ki odkriva vezalna mesta za estrogene na podganjih in človeških kloniranih osteoblastom podobnih osteosarkomskih celicah.

Najnovejše raziskave kažejo, da estrogeni preko svojih osteoblastnih receptorjev ne pospešujejo tvorbe kosti. Estrogeni zavrejo resorbcijo kosti tako, da zavrejo izločanje citokinov (predvsem interleukina 6) iz osteoblastov. Interleukin 6 je namreč močan pospeševalec resorbcije kosti (35). V skladu s to najnovejšo razlago je tudi zgodnejše odkritje Tobiasa in Chambersa (36), ki sta ugotovila, da estradiol zniža kostno resorbcijo v kulturi osteoklastov le v prisotnosti osteoblastov. Dihidrotestosteron (DHT) in progesteron v istem poskusu nista imela značilnega učinka na kostno resorbcijo. Mehanizem delovanja DHT in najverjetneje tudi progesterona (37) na kost je drugačen od delovanja estradiola. Vplivata predvsem na tvorbo kosti.

Kasperk s sodelavci je leta 1989 (38) prvi opazoval neposreden mitogeni učinek androgenov na izolirane humane in mišje osteoblastne celice. Antiandrogen, ki tekmuje za vezavo z androgenskim receptorjem, je zavrl mitogeni učinek DHT na kost. Leto kasneje so bili prepoznani androgeni receptorji v primarni kulturi humanih osteoblastnih celic (39).

Androgene receptorje na humanih in podganjih osteoblastih sta prepoznala in preučevala tudi Orwol in Stibrska (40). Z imunološko metodo sta našla tudi progesteronske receptorje na humani celični liniji.

Zanimiva je novejša ideja Kasperka in sodelavcev (41), da tudi androgeni učinkujejo preko citokinov in rastnih faktorjev. Raziskava je pokazala, da androgeni na kostnih celicah vzpodbudijo TGF- $\beta$  (ki velja za močnega stimulatorja diferenciacije kostnih celic) ter vzpodbudijo celice za zvišan odgovor na fibroblastni rastni faktor in IGF-2; mehanizem vzpodbuditve celic na zvišan odgovor je najverjetneje zvečanje števila receptorjev mitogenih rastnih faktorjev. Po Kasperku je ta model mehanizem učinkovanja androgenov na osteoblaste.

Pomen androgenov na kostno maso je dokazan tudi klinično: hipogonadizem pri moških je povezan z osteopenijo, nadomeščanje hormona pa stanje izboljša (42).

Podobno pri ženskah po menopauzi zdravljenje s sintetskimi anabolnimi steroidi zmanjša hitrost izgubljanja kostnine in poveča kostno gostoto (43, 44).

## **Klinični primeri pomena inzulina, IGF-1 in spolnih hormonov za kost**

### **Sladkorna bolezen**

Znižanje mineralne gostote kosti pri bolnikih s sladkorno boleznijo je zabeležil že Rosenbloom s sodelavci (45). Do enakega zaključka je prišel Santiago s sodelavci (46) pri otrocih s to boleznijo.

Pri sladkorni bolezni tipa 1, ki teče z dokončnim primankljajem inzulina, se osteopenija razvije že v prvih letih razvoja bolezni. Posebej dobro je to opazno pri otrocih, saj se primanjkljaj kalciotropnega dejavnika najusodnejše pozna, če se nanaša na obdobje pred

ali v času oblikovanja maksimalne kostne gostote (za trabekularno kostno maso je to pozno adolescentno obdobje) (47). V povprečju imajo bolniki s sladkorno boleznijo tipa 1 za okoli 10 % nižjo kostno gostoto kot zdrava primerljiva kontrolna skupina (4), kar prinaša samostojno ali pa v povezavi s še kakšnim dejavnikom tveganja močno izpostavljenost osteoporozni.

Pri sladkorni bolezni tipa 2 je bila zabeležena znižana (48) in zvišana (49, 50) mineralna gostota kosti. Vzrok tako različnim najdbam je najbrž značilna inzulinska dinamika pri tej bolezni (serumski inzulin je vsaj v začetku bolezni navadno zvišan zaradi periferne inzulinske odpornosti). Tudi debelost sama zase, ki je običajna pri sladkorni bolezni tipa 2, je povezana z višjo kostno gostoto. Pri raziskavah kostne mase debelih sladkornih bolnikov je manjkala po teži primerljiva zdrava kontrolna skupina.

### **Hipopituitarizem, prirojene bolezni pomanjkanja ravnega hormona**

Pomanjkanje acidofilnih celic sprednje hipofize za izločanje ravnega hormona povzroča pritlikavost in osteopenijo, če se zgodi v otroštvu, v odrasli dobi pa so v ospredju zvečana maščobna in znižana mišična masa ter znižana kostna gostota (25). Sočasna zmanjšana zmogljivost gonadne in ščitnične osi stanje močno poslabša. Zdravljenje s fiziološkimi dozami rekombinantnega STH zahteva vsaj 6 mesecev, da se pokaže izboljšanje kostne gostote (51). Poleg anabolnega učinka na kost, rSTH zveča mišično moč in delovno sposobnost. Izzvenijo tudi hipoglikemične epizode, ki lahko spremljajo stanje pomanjkanja ravnega hormona.

### **Pomenopavzno obdobje**

Hitrost kostne resorpcije se ob znižanju estrogenov pospeši. Sekundarne spremembe v dinamiki PTH in vitamina D ustvarijo začarani krog (52). Hitrost izgubljanja kostnine je največja v prvih petih letih pomenopavznega obdobja (2–3 % letno), kasneje se upočasnijo in nastane novo ravnovesno stanje (1 % znižanje kostne mase letno). Razsežnost problema pove dejstvo, da je osteoporoza eden osnovnih vzrokov obolevnosti in posredno tudi umrljivosti žensk po meni v razvitem svetu (53). 40 % pomenopavzalnih žensk utrpel vsaj en zlom zaradi osteoporotičnih sprememb kosti.

Nadomeščanje hormonov proces redčenja kosti zavre in kost kakovostno izboljša. Posledično zniža število zlomov kolka, hrbtenice in podlaktnice. Izračunano je bilo, da 5-letno hormonsko nadomestno zdravljenje z začetkom takoj po menopavzi, zniža pojavnost zloma vratu stagnenice za 50 % (54).

### **Hipogonadizem**

Pri moških in pri ženskah je povezan z znižano kostno gostoto in pričakovano osteoporozo. Nadomeščanje spolnih hormonov proces prepreči ali zavre.

### **Sindrom funkcionalne androgenizacije**

Dixon (55) je ugotovil, da imajo ženske s funkcionalno androgenizacijo normalno kostno gostoto celo pri zelo nizkem, praktično nemerljivem estradiolu. Preželj in Kocijanči-

čeva (56) sta ugotovila, da so, za razliko od ostalih oblik amenoreje, ženske s hiperandrogeno amenorejo zaščitene pred osteopenijo.

V raziskavi Buchanana in sodelavcev (57) je bil serumski androstendion v najboljši povezavi s trabekularno kostno gostoto. Anabolno močnejše kot androgeni pa na kostno gostoto androgeniziranih žensk vplivajo zvišane serumske koncentracije inzulina zaradi inzulinske odpornosti, ki sodi v sklop sindroma funkcionalne androgenizacije (58).

Ženske s funkcionalno androgenizacijo imajo torej dva dejavnika, ki jim varujeta kostno gostoto: inzulin in androgene. Zdravljenje bolezni (spironolakton) je značilno znižalo kostno gostoto androgeniziranih žensk (59).

## Zaključek

Pomembno je, da pri kliničnih stanjih, ki so povezana s primanjkljajem inzulina, IGF-1, rastnega hormona in spolnih hormonov, pomislimo na znižano kostno gostoto in večjo izpostavljenost osteoporozi ter po potrebi kost zavarujemo.

## Zahvala

Hvala prof. dr. Andreji Kocijančič, dr. med., za kritičen pregled članka in dragocene pripombe.

---

## Literatura

1. Mundy GR. Boning up on genes. *Nature* 1994; 367: 216–7.
2. Morrison NA, Cheng Qi J, Tokita A et al. Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. *Nature* 1994; 367: 284–7.
3. Riggs BL, Melton LJ, eds. *Osteoporosis: Etiology, Diagnosis, and Management*. New York: Raven Press, 1988.
4. Bouillon R. Diabetic bone disease. *Calcif Tissue Int* 1991; 45: 155–60.
5. Kanc K. Bone disease in diabetes. *Diabetologia Croatica* 1993; 22–3: 49–53.
6. Canalis E. Effect of hormones and growth factors on alkaline phosphatase activity and collagen synthesis in cultured rat calvariae. *Metabolism* 1983; 32: 14–20.
7. Kream BE, Smith MD, Canalis E, Raisz LG. Characterization of the effect of insulin on collagen synthesis in fetal rat bone. *Endocrinology* 1985; 116: 296–301.
8. Levy JR, Murray E, Manolagas S, Olefsky J. Demonstration of insulin receptors and modulation of alkaline phosphatase activity by insulin in rat osteoblastic cells. *Endocrinology* 1986; 119: 1786–92.
9. Hichman J, McElduff A. Insulin promotes growth of the cultured rat osteosarcoma cell line UMR-106-01: an osteoblast like cell. *Endocrinology* 1989; 124: 101–6.
10. Verhaeghe J, Herck E, Visser WJ et al. Bone and mineral metabolism in BB rats with long-term diabetes. Decreased bone turnover and osteoporosis. *Diabetes* 1990; 39: 477–81.
11. Canalis E. Effect of insulin-like growth factor 1 on DNA and protein synthesis in cultured rat calvaria. *J Clin Invest* 1980; 66: 709–19.
12. Bennett A, Chen T, Feldman D, Hintz RL, Rosenfeld RG. Characterization of insulin-like growth factor 1 receptors on cultured rat bone cells: regulation of receptor concentration by glucocorticoids. *Endocrinology* 1984; 115: 1577–83.
13. Centrella M, McCarthy TL, Canalis E. Receptors for insulin like growth factors –1 and –2 in osteoblast-enriched cultures from fetal rat bone. *Endocrinology* 1990; 126: 39–43.
14. Raisz LG. Local and systemic factors in the pathogenesis of osteoporosis. *N Engl J Med* 1988; 318: 818–28

15. Andrew JG, Hoyland J, Freemont AJ, Marsh D. Insulin-like growth factor gene expression in human fracture callus. *Calcif Tissue Int* 1993; 53: 97–102
16. Rechler MM, Nissley SP. IGF/somatomedin receptor subtypes: structure, function and relationships to insulin receptors and IGF carrier proteins. *Horm Res* 1986; 24: 152–9
17. Baxter RC, Hizuka N, Takano K, Holman S, Asakawa K. Responses of IGFBP-1 and IGFBP-3 complex to administration of IGF 1. *Acta Endocrinol* 1993; 128: 101–8.
18. Nyman T, Pekonen F. The expression of IGFs and their binding proteins in normal human lymphocytes. *Acta Endocrinol* 1993; 128: 168–72.
19. Canalis E. Growth factors and their potential clinical value. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 75: 1–3.
20. Clemmons DR. *Insulin like growth factor binding proteins*. Elsevier Science Publishing, 1990: 412–7.
21. Yateman ME, Claffey DC, Cwyfan Hughes SC, Frost VJ, Wass JAH, Holly JMP. Cytokines modulate the sensitivity of human fibroblasts to stimulation with insulin-like growth factor 1 by altering endogenous IGF-binding protein production. *J Endocrinol* 1993; 137: 151–9.
22. Hock JM, Centrella M, Canalis F. IGF-1 has independent effects on bone matrix formation and cell replication. *Endocrinology* 1988; 112: 254–60.
23. Schmid C, Guler HJOP, Rowe D, Froesch ER. IGF-1 regulates type 1 procollagen messenger ribonucleic acid steady state levels in bone of rats. *Endocrinology* 1989; 125: 1575–80.
24. Johansson AG, Lindh E, Ljunghall S. IGF-1 stimulates bone turnover in osteoporosis. *Lancet* 1992; 339: 1619.
25. Degerblad M, Elgindy N, Hall K, Sjorberg HE, Thoren M. Potent effect of recombinant growth hormone on bone mineral density and body composition in adults with panhypopituitarism. *Acta Endocrinol* 1992; 126: 387–93.
26. Ernst M, Froesch ER. Growth hormone dependent stimulation of osteoblast-like cells in serum free-cultures via local synthesis of IGF-1. *Biochem Biophys Res Commun* 1988; 151: 142–7.
27. Bucuvalas JC, Horm JA, Carlsson L, Balistreri WF, Chernausek SD. Growth hormone insensitivity associated with elevated circulating growth hormone-binding protein in children with Alagille syndrome and short stature. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 76: 1477–82.
28. Mohan S, Linkhart TA, Jennings JC, Baylink DJ. Identification and quantification of four different growth factors stored in human bone matrix. *J Bone Miner Res* 1987; 1: 44.
29. Kassem M, Blum W, Ristelli J, Mosekilde L, Eriksen EF. Growth hormone stimulates proliferation and differentiation of normal human osteoblast-like cells in vitro. *Calcif Tissue Int* 1993; 52: 222–6.
30. Barnard R, Ng NW, Martin TJ, Waters MJ. Growth hormone (GH) receptors in clonal osteoblast-like cells mediate a mitogenic response to GH. *Endocrinology* 1991; 128: 1459–64.
31. Ettinger B, Genant HK, Cann CE. Long – term estrogen replacement prevents bone loss and fractures. *Ann Intern Med* 1985; 102: 319–24.
32. Stock JL, Coderre JA, Mallette LE. Effects of a short course of estrogen on mineral metabolism in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 1985; 61: 595–600.
33. Eriksen EF, Colvard DS, Berg NJ, Graham ML, Mann KG et al. Evidence of estrogen receptor in normal human osteoblast-like cells. *Science* 1988; 214: 84–6.
34. Komm BS, Terpening CM, Beny DJ, Graeme KA, Gallegos A, Korc M et al. Estrogen binding, receptor m-RNA and biologic response in osteoblast-like osteosarcoma cells. *Science* 1988; 241: 81–4.
35. Horowitz MC. Cytokines and estrogen in bone: anti-osteoporotic effects. *Science* 1993; 260: 626–7.
36. Tobias JH, Chambers TJ. The effect of sex hormones on bone resorption by rat osteoclasts. *Acta Endocrinol* 1991; 124: 121–7
37. Prior JC. Progesterone as a bone – trophic hormone. *Endocr Rev* 1990; 11: 386–98.
38. Kasperk CH, Wergedal JE, Farley JR, Linkhart TA, Turner RT, Baylink DJ. Androgens directly stimulate proliferation of bone cells in vitro. *Endocrinology* 1989; 124: 1576–8.
39. Colvard DS, Eriksen EF, Keeting PE et al. Identification of androgen receptors in normal human osteoblast – like cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 854–7.
40. Orwoll ES, Stribrska L, Ramsey EE, Keenan EJ. Androgen receptors in osteoblast- like cell lines. *Calcif Tissue Int* 1991; 49: 183–7.

41. Kasperk C, Fitysimmons R, Strong D, MOhan S, Jennings J et al. Studies of the mechanism by which androgens enhance mitogenesis and differentiation in bone cells. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 71: 1322–9.
42. Finkelstein JS, Klubanski A, Neer RM et al. Increases in bone density during treatment of man with idiopathic hypogonadotropic hypogonadism. *J Clin Endocrinol Metab* 1989; 69: 776–83.
43. Johansen K, Christoansen C et al. Treatment of postmenopausal osteoporosis: Is the anabolic steroid nandrolone dekanooat a candidate? *Bone Minerl* 1989; 6: 77–86.
44. Need AG, Horowitz M, Walker Cj, Chatterton BE, Chapman JC, Nordin BEC. Cross-over study of fat – corrected forearm mineral content during nandrolone dekanooat therapy for osteoporosis. *Bone* 1989; 10: 3–6.
45. Rosenbloom AL, Lezotte DC, Weber FT, Gudat J, Heller DR, Weber ML et al. Diminution of bone mass in childhood diabetes. *Diabetes* 1977; 26: 1052–5.
46. Santiago JV, McAlister WH, Ratzan SK et al. Decreased cortical thickness and osteopenia in children with diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 1977; 45: 845–8.
47. Ott SM. Bone density in adolescents. *N Engl J Med* 1991; 325: 1646–7.
48. Levin ME, Boisseau VC, Avioli LV. Effects of diabetes mellitus on bone mass in juvenile and adult-onset diabetes. *N Engl J Med* 1976; 294: 241–5.
49. Meema HE, Meema S. The relationship of diabetes mellitus and body weight to osteoporosis in elderly females. *Can Med Assoc J* 1967; 96: 132–9.
50. De Leeuw I, Abs R. Bone mass and bone density in maturity type diabetics measured by the 125 I photon absorption technique. *Diabetes* 1977; 26: 1130–5.
51. v der Veen, Netelenbos JC. Growth hormone (replacement) therapy in adults: bone and calcium metabolism. *Horm Res* 1990; 33: 65–8.
52. Kocijančič A. *Osteoporozo*. Ljubljana: Posebne izdaje Feniks, 1989.
53. Petterson F, Fries H, Nillius SJ. Epidemiology of secondary amenorrhea. Incidence and prevalence rates. *Am J Obstet Gynecol* 1973; 117: 80–6.
54. Melton LJ. Postmenopausal bone loss and osteoporosis: epidemiological aspects. In: Zichella L, Whitehead MI, van Keep PA, eds. *The Climacteric and Beyond* 1987; Parthenon, CarnforthUK, 127–9.
55. Dixon JE, Rodin A, Murby B, Chapan MG, Fogelman I. Bone mass in hirsute women with androgen excess. *Clin Endocrinol* 1989; 30: 271–7.
56. Preželj J, Kocijančič A. Bone mineral density in hyperandrogenic amenorrhoea. *Calcif Tissue Int* 1993; 52: 422–4.
57. Buchanan JR, Hospodar P, Myers C, Leuenberger P, Demers LM. Effect of excess endogenous androgens on bone density in young women. *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 67: 937–43.
58. Legan M. *Korelacije med kostno maso in hormonskimi dejavniki pri androgeniziranih ženskah*. Magistrsko delo. Ljubljana: Medicinska fakulteta Univerze v Ljubljani, 1994.
59. Preželj J, Kocijančič A. Antiandrogen treatment with spironolactone and linestrenol decreased bone mineral density in eumenorrhoeic women with androgen excess. *Horm Metab Res* 1994; 26: 46–8.

Prispelo 28.11.1994.