

лении об.Т и св.Т в сыворотке с предварительной УФ — в 20 и 38% случаев (референсные интервалы 11—34 и 110—368 пмоль/л соответственно). Согласно этим данным, уровень св.Т в сыворотке, определяемый с предварительной УФ, является более чувствительным и точным маркером различных форм андрогенных нарушений у мужчин. Однако для подтверждения результатов всегда необходим учет клинических показателей.

Технология УФ для разделения свободного и связанного с белком тестостерона была выбрана нами как наиболее быстрая, доступная и простая. При отработке методики мы придерживались опубликованных ранее рекомендаций по оптимальному проведению УФ. Группа авторов провела большое исследование по различным типам мембран, их адсорбционным свойствам, влиянию температуры, pH и разведения исходной сыворотки [14]. Относительно адсорбционных исследований лучшие результаты показали устройства, изготовленные из восстановленной целлюлозы с низко связывающей мембраной (адсорбция  $2,0 \pm 1,5\%$ ). Для поддержания термодинамического равновесия между свободной и связанной фракцией исследуемого гормона выбрана температура  $37^\circ\text{C}$  и физиологическое значение pH 7,4. Влияние на равновесие оказывает продолжительность проведения ультрафильтрации, которая в свою очередь зависит от исходного объема пробы и ее вязкости. Эксперименты с разведением показали в 4 раза большую адсорбцию гормона в нативной сыворотке по сравнению с разведенной, а также установили, что небольшие разведения (1:1,4) снижают концентрацию об.Т и оказывают лишь незначительный эффект на концентрацию св.Т ( $0,3 \pm 1,6\%$ ). Разница становится значимой при разведении 1:10 ( $13,7 \pm 4,1\%$ ). Подобные эффекты согласуются с законом действия масс. На основании детального анализа вышеизложенных данных, процесс УФ был проведен нами в оптимальных условиях (см. раздел Материалы и методы), что дает возможность говорить о надежности полученных результатов. Высокая аналитическая ( $6,2$  пмоль/л) и функцио-

нальная ( $17,3$  пмоль/л) чувствительность LIA-метода позволяет количественно определять очень низкие ( $2—3$  пг в пробе) концентрации тестостерона в ультрафильтрате и в слюне, что особенно важно для диагностики андрогенного дефицита у мужчин, а также оценки андрогенного статуса у женщин и детей.

## Вывод

Уровень св.Т, определяемый в слюне и в сыворотке с предварительной УФ и использованием ультрачувствительного метода усиленной люминесценции, может служить надежным маркером различных форм нарушений андрогенного статуса.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Albrecht S., Zimmermann T., Brandl H. et al. // J. Lab. Med. — 1997. — Vol. 21. — P. 191—204.
2. Carruthers M., Trinick T. R., Wheeler M. J. // Aging Male. — 2007. — Vol. 10, N 3. — P. 165—172.
3. DPC Technical Services Department. — Immulite/Immulite, 1000 Total Testosterone — Manufactures Instruction. PILK-TW-7. — Los Angeles, 2005.
4. Ekins R. // Clin. Chem. — 1992. — Vol. 37, N 7. — P. 1289—1293.
5. Goncharov N., Katsya G., Dobracheva A. et al. // Aging Male. — 2005. — Vol. 8, N 3/4. — P. 194—202.
6. Goncharov N. et al. // Aging Male. — 2006. — Vol. 9, N 2. — P. 111—122.
7. Hammond G. L., Nikser J. A., Jones L. A., Sitteri R. K. // J. Bol. Chem. — 1980. — Vol. 255. — P. 5023—5026.
8. Kley H. K., Bartmann E. et al. // Acta Endocrinol. (Kbh.). — 1977. — Vol. 85. — P. 212—219.
9. Lazarou S., Reyes-Vallejo L., Morgentaler A. // J. Sex. Med. — 2006. — Vol. 3. — P. 1085—1089.
10. Rosner W., Auchus R., Azziz R. et al. // J. Clin. Endocrinol. — 2007. — Vol. 92, N 2. — P. 405—413.
11. Stockl D., Franzini C., Kratochvila J. et al. // Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. — 1996. — Vol. 34. — P. 319—337.
12. Taieb J., Mathian B., Millot F. et al. // Clin. Chem. — 2003. — Vol. 49. — P. 1371—1385.
13. Vermeulen A., Verdonc K. L., Kaufman J. M. et al. // J. Clin. Endocrinol. — 1999. — Vol. 84. — P. 3666—3672.
14. Van Uytanghe K., Stockl D., Kaufman J. M. et al. // Clin. Chem. — 2004. — Vol. 50. — P. 2101—2110.
15. Vining R. F., McGinley R. A. // Crit. Rev. Clin. Lab. Sci. — 1986. — Vol. 23, N 2. — P. 95—146.

Поступила 19.12.08

© А. Я. КРАВЧЕНКО, В. М. ПРОВОТОРОВ, 2009

УДК 616.127-005.4+616.12-008.331.1]-07:616.154::577.175.624]-055.1

А. Я. Кравченко, В. М. Провоторов

## УРОВЕНЬ ТЕСТОСТЕРОНА У МУЖЧИН С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА И ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ

Кафедра факультетской терапии (зав. — проф. В. М. Провоторов) Воронежской государственной медицинской академии им. Н. Н. Бурденко

Проведено исследование с целью установить распространенность возрастного андрогендефицита у больных ишемической болезнью сердца (ИБС) и гипертонической болезнью в возрасте до 60 лет и его связь с некоторыми факторами риска. В исследование включено 107 пациентов (средний возраст  $50,2 \pm 7,2$  года). У 35 из них была гипертоническая болезнь, у 72 — ИБС, стенокардия напряжения. Оценивали концентрацию в крови тестостерона, холестерина; наличие и тип ожирения, определяли уровень депрессии. Установлено, что средний уровень тестостерона у больных ИБС и артериальной гипертензией ( $9,2 \pm 0,96$  нмоль/л) соответствовал андрогендефицитному состоянию. Выявлена прямая корреляция концентрации тестостерона с окружностью талии и обратная — с уровнями атерогенных липопротеидов и депрессии.

Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца, гипертоническая болезнь, мужской пол, андрогендефицит, ожирение.

A. Ya. Kravchenko, V. M. Provorotov

## TESTOSTERONE LEVEL IN MALE PATIENTS WITH CORONARY HEART DISEASE AND ESSENTIAL HYPERTENSION

Department of Faculty Therapy, N. N. Burdenko Voronezh State Medical Academy

The study was undertaken to ascertain the prevalence of age-related androgen deficiency in patients with coronary heart disease (CHD) and essential hypertension under the age of 60 years and its association with some risk factors. The study covered 107 patients (mean age  $50.2 \pm 7.2$  years). Of them 35 patients had essential hypertension and 72 had CHD, angina on exertion. The blood concentrations of testosterone and cholesterol were measured; the presence and type of adiposity and the level of depression were determined. The mean level of testosterone in patients with CHD and essential hypertension ( $9.2 \pm 0.96$  n/mol/l) corresponded to an androgen-deficient state. There was a direct correlation of testosterone concentrations with waist circumference and an inverse correlation with the levels of atherogenic lipoproteins and depression.

Key words: coronary heart disease, essential hypertension, male sex, androgen deficiency, adiposity.

В настоящее время достаточно хорошо изучена роль таких факторов риска, как дислипидемия, артериальная гипертензия, курение, ожирение и др. в развитии сердечно-сосудистых заболеваний. В то же время с учетом традиционных факторов риска удается объяснить развитие не более 50% случаев ишемической болезни сердца (ИБС) [8]. В связи с этим внимание исследователей привлекают другие факторы, способные потенцировать раннее развитие ИБС. Так, в последние годы происходит интенсивное накопление знаний о возрастном андрогенодефиците у мужчин и его влиянии на возникновение сердечно-сосудистой патологии. Известно, что у мужчин, начиная с 50—55 лет, отмечается постепенное снижение выработки общего тестостерона со скоростью 1,2% в год, а свободного — уже с 30—35 лет на 0,4—1% в год [6]. Однако, по данным И. И. Дедова и С. Ю. Калинин [3], при наличии таких хронических заболеваний, как ИБС, гипертоническая болезнь, сахарный диабет уровень андрогенов начинает снижаться в среднем на 5—7 лет раньше. Возрастной дефицит тестостерона ассоциируется у мужчин не только с эректильной дисфункцией, но и с атерогенной дислипидемией, артериальной гипертензией, ускоренным развитием атеросклероза, ожирением, депрессией [1].

Целью исследования было установить распространенность возрастного андрогенодефицита у больных ИБС и гипертонической болезнью в возрасте до 60 лет и его взаимосвязь с некоторыми факторами риска.

### Материалы и методы

В данное одномоментное исследование было включено 107 пациентов кардиологического стационара (средний возраст  $50,2 \pm 7,2$  года). У 35 из них была гипертоническая болезнь, у 72 — ИБС (у 31 — стабильная стенокардия напряжения II—IV функционального класса по классификации Канадской кардиоваскулярной ассоциации, у 41 — прогрессирующая стенокардия напряжения). Диагноз ИБС устанавливали на основании типичной

клинической картины и положительных результатов нагрузочных тестов. В исследование не включали больных с застойной сердечной недостаточностью, перенесших мозговую инсульт, с почечной и печеночной недостаточностью, гипотиреозом. Концентрацию тестостерона в крови определяли иммунохемилюминесцентным методом на анализаторе Immulite 2000 компании "DPC". Холестерин (ХС) общий и липопротеидов низкой плотности (ХС ЛПНП) определяли фотометрически на приборе КФК-3 (Россия) с использованием набора реактивов Lachema (Чехия). Наличие и степень ожирения оценивали с помощью индекса массы тела (ИМТ). Абдоминальный тип ожирения, согласно рекомендациям Всероссийского научного общества кардиологов (ВНОК) "Диагностика и коррекция нарушений липидного обмена с целью профилактики и лечения атеросклероза" [4], устанавливали при окружности талии более 102 см. Содержание жировой ткани в организме (в процентах от массы тела) определяли с помощью прибора Body Fat Monitor BF 306 ("OMRON", Япония). Уровень депрессии оценивали в баллах с помощью Госпитальной шкалы HADS [15]. Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета прикладных программ Statistica version 6.0 ("StatSoft Inc.", 1984—2001). Количественные данные представлены в виде  $M \pm SD$  ( $M$  — выборочное среднее,  $SD$  — стандартное отклонение). Достоверность межгрупповых различий устанавливали с помощью  $t$ -критерия Стьюдента для независимых выборок. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05.

### Результаты и их обсуждение

Основные клинические характеристики больных и лабораторные данные приведены в табл. 1.

Концентрация общего тестостерона в обследованной группе мужчин ( $9,2 \pm 0,96$  нмоль/л) оказалась ниже того уровня (12 нмоль/л), с которого начинают проявляться клинические симптомы андрогенной недостаточности [10]. Обращает на себя внимание то, что в международных рекомендациях [10] само понятие "возрастной", или "поздно начавшийся", гипогонадизм (late-onset hypogonadism) применяется к мужчинам старше 60 лет, т. е. данное состояние рассматривается как следствие постепенного угасания функции половых желез. У больных ИБС и гипертонической болезнью снижение уровня тестостерона отмечается заметно рань-

### Информация для контактов:

Провоторов Вячеслав Михайлович, доктор мед. наук, профессор, зав. кафедрой факультетской терапии Воронежской медицинской академии им. Н. Н. Бурденко  
Адрес: 394030, Воронеж, ул. Студенческая, 10  
Телефон: (4732) 63-81-30  
V. M. Provorotov@mail.ru

Таблица 1  
Клинико-лабораторные характеристики пациентов ( $n = 107$ )

Показатель	Значение, $M \pm SD$
Возраст, годы	$50,2 \pm 7,2$
Длительность ИБС, годы	$4,7 \pm 1,3$
Длительность гипертонической болезни, годы	$7,1 \pm 1,6$
Тестостерон, нмоль/л	$9,2 \pm 0,96$
Окружность талии, см	$107,4 \pm 14,9$
ОТ/ОБ	$0,98 \pm 0,11$
Доля жировой ткани, %	$28 \pm 4,7$
ИМТ, $кг/м^2$	$29,4 \pm 3,9$
Депрессия, баллы	$8,8 \pm 3,1$
Общий ХС, нмоль/л	$6,0 \pm 1,05$
ХС ЛПНП, нмоль/л	$3,7 \pm 0,9$
Протромбиновый индекс	$91,6 \pm 6,3$

Примечание. ОТ/ОБ — отношение окружности талии к окружности бедер.

ше, уже после 30 лет [3], что подтверждают и наши наблюдения.

Различий между больными гипертонической болезнью и пациентами с ИБС по уровню тестостерона не установлено ( $9,3 \pm 0,93$  и  $9,1 \pm 0,94$  нмоль/л соответственно;  $p > 0,05$ ). Что касается уровня тестостерона в различных возрастных группах, то здесь были обнаружены следующие особенности (табл. 2). Выраженное снижение концентрации тестостерона в крови отмечалось у мужчин 40 лет и старше. При этом данные показатели в группах 40—49 лет и 50—59 лет не имели статистически значимых различий, что можно интерпретировать как результат раннего развития дефицита андрогенов у больных сердечно-сосудистыми заболеваниями.

При оценке состояния андрогенодефицита по биохимическим критериям необходимо учитывать возможные погрешности и ограничения, свойственные лабораторным методикам определения уровня тестостерона. Наиболее точные результаты получают при использовании газожидкостной хроматографии — масс-спектрометрии [11]. Способы определения тестостерона, основанные на прямых (безэкстракционных) методиках, включая иммунохемилюминесцентный анализ, способны давать завышенные результаты [2, 14]. В связи с данными ограничениями методы иммуноанализа не рекомендуются для оценки уровня тестостерона у женщин и детей [11]. Вместе с тем методика иммунохемилюминесценции, используемая в анализаторе Immulite 2000, может быть применима в качестве скринирующего теста для выявления раннего андрогенодефицита у мужчин.

Таблица 2

Уровень тестостерона в 3 возрастных группах

Возрастная группа	Тестостерон, нмоль/л
30—39 лет ( $n = 18$ )	$11,9 \pm 1,11$
40—49 лет ( $n = 40$ )	$8,2 \pm 0,92^*$
50—59 лет ( $n = 49$ )	$7,33 \pm 0,84^*$

Примечание. \* —  $p < 0,001$  по сравнению с группой 30—39-летних мужчин.

Для обследованного контингента больных была характерна избыточная масса тела (средний ИМТ превышал  $25,0 \text{ кг/м}^2$ ), причем именно за счет увеличения количества жировой ткани (в среднем 28% от массы тела). Показатель окружности талии ( $107,4 \pm 14,9$  см) свидетельствовали о преобладании абдоминального типа ожирения.

Исследования последних лет показали, что окружность талии является более надежным предиктором риска развития сердечно-сосудистой патологии, чем ИМТ [5, 9].

Основываясь на сообщениях отдельных авторов о связи между уровнем половых гормонов и абдоминальным ожирением мужчин [13], мы провели анализ зависимости уровня тестостерона от показателя окружности талии.

По нашим данным, если окружность талии составляла менее 102 см, то средний уровень тестостерона у таких больных был  $12,2$  нмоль/л, а если она превышала 102 см —  $7,2$  нмоль/л ( $p = 0,004$ ). При этом коэффициент корреляции уровня тестостерона с окружностью талии составил  $-0,47$  ( $p < 0,001$ ), а с ИМТ  $-0,4$  ( $p = 0,001$ ). Полученные результаты свидетельствуют о том, что абдоминальный тип ожирения у мужчин с сердечно-сосудистыми заболеваниями ассоциируется с андрогенным дефицитом.

Показатели липидного профиля (общий ХС  $6,0 \pm 1,05$  нмоль/л, ХС ЛПНП  $3,7 \pm 0,9$  нмоль/л) в обследованной группе превышали оптимальные уровни, приведенные в Российских рекомендациях "Диагностика и коррекция нарушений липидного обмена с целью профилактики и лечения атеросклероза" [4]. Выявлена обратная корреляционная связь уровня тестостерона с концентрацией ХС ЛПНП ( $r = -0,29$ ,  $p = 0,02$ ). В этом отношении наши данные согласуются с результатами Роттердамского исследования [7], свидетельствующими о том, что низкий уровень тестостерона сопровождается появлением атерогенных сдвигов в липидном спектре крови и ускоренным развитием атеросклероза.

При оценке психологического статуса по шкале HADS уровень депрессии соответствовал субклинической ее выраженности. При этом отмечалась обратная зависимость между уровнями тестостерона и депрессии ( $r = -0,27$ ,  $p = 0,04$ ). По данным S. Seidman и B. Walsh [12], у пожилых мужчин имеется очевидная связь депрессивных расстройств с выраженностью андрогенного дефицита. Как показали наши наблюдения, у мужчин более молодого возраста (до 60 лет), страдающих сердечно-сосудистыми заболеваниями, имеется склонность к развитию депрессивных расстройств.

## Выводы

1. У мужчин в возрасте до 60 лет, страдающих ИБС и гипертонической болезнью, уровень тестостерона в крови соответствует андрогенодефицитному состоянию.

2. Уровень тестостерона у больных ИБС и гипертонической болезнью коррелируется с окружностью талии.

3. Снижение уровня тестостерона у мужчин с сердечно-сосудистой патологией ассоциируется с повышенными уровнями атерогенных липопротеидов, а также с развитием депрессии.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Андрология. Мужское здоровье и дисфункция репродуктивной системы / Под ред. Э. Нишлага, Г. М. Бере; Пер. с англ. — М., 2005.
2. Гончаров Н. П., Кацяя Г. В., Колесникова Г. С. и др. // Андрол. и генитальная хир. — 2005. — № 2. — С. 43—50.
3. Дедов И. И., Калинин С. Ю. Возрастной андрогенный дефицит у мужчин. — М., 2006.
4. Диагностика и коррекция нарушений липидного обмена с целью профилактики и лечения атеросклероза: ВНОК. — М., 2005.
5. Després J. P. // Crit. Pathw. Cardiol. — 2007. — Vol. 6, N 2. — P. 51—59.

6. Feldman H. A., Longcope C., Derby C. A. et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 2002. — Vol. 87. — P. 589—598.
7. Hak E., Witteman J. C., de Jong F. H. et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 2002. — Vol. 87, N 8. — P. 3632—3639.
8. Kondos G. T., Hoff J. A., Sevrukov A. et al. // Circulation. — 2003. — Vol. 107, N 20. — P. 2571—2576.
9. Kragelund C., Omland T. // Lancet. — 2005. — Vol. 366. — P. 1589—1591.
10. Nieschlag E., Swerdloff R., Bherre H. M. et al. // J. Androl. — 2006. — Vol. 27, N 2. — P. 135—137.
11. Rosner W., Auchus R. J., Azziz R. et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 2007. — Vol. 92, N 2. — P. 405—413.
12. Seidman S. N., Walsh B. T. // Am. J. Geriatr. Psychiatry. — 1999. — Vol. 7. — P. 18—33.
13. Svartberg J., von Muhlen D., Sundsfjord J. et al. // Eur. J. Epidemiol. — 2004. — Vol. 19, N 7. — P. 657—663.
14. Taieb J., Mathian B., Millo F. et al. // Clin. Chem. — 2003. — Vol. 49. — P. 1381—1395.
15. Zigmond A. S., Snaith R. P. // Acta Psychiatr. Scand. — 1983. — Vol. 67. — P. 361—370.

Поступила 16.01.08

## ◆ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЭНДОКРИНОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2009

УДК 616.441-006.6-07:577.21

Т. М. Мишунина, Е. В. Калинин, Н. Д. Тронько

ИНТЕНСИВНОСТЬ ФРАГМЕНТАЦИИ ДНК В ТКАНИ И КАРЦИНОМАХ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЧЕЛОВЕКА И ЕЕ ИЗМЕНЕНИЕ ПОД ВЛИЯНИЕМ  $\alpha$ -ТОКОФЕРОЛА И ИОНОВ ЙОДА IN VITRO

Институт эндокринологии и обмена веществ им. В. П. Комиссаренко АМН Украины, Киев

Исследовали интенсивность фрагментации ДНК в неизменной ткани щитовидной железы и ткани карцином щитовидной железы. Определение концентрации низкомолекулярной ДНК, а также электрофоретический анализ ДНК, выделенной из ткани щитовидной железы и опухолей, с последующим количественным расчетом содержания фракций олигонуклеосом показали резкое снижение интенсивности фрагментации ДНК в папиллярных карциномах и отсутствие существенных ее сдвигов в фолликулярных карциномах. В неизменной ткани щитовидной железы  $\alpha$ -токоферол и йодид калия in vitro в концентрации  $10^{-5}$  М тормозили интенсивность стимулированной фрагментации ДНК. В ткани папиллярных карцином влияние препаратов отсутствовало, а в фолликулярных их эффект был подобен таковому в неизменной ткани щитовидной железы, но менее выражен.

Ключевые слова: карциномы щитовидной железы, фрагментация ДНК,  $\alpha$ -токоферол, ионы йода, апоптоз

Т. М. Mishunina, Ye. V. Kalinichenko, N. D. Tronko

DNA FRAGMENTATION RATE IN HUMAN THYROID TISSUE AND CARCINOMAS AND ITS CHANGE UNDER THE INFLUENCE OF  $\alpha$ -TOCOPHEROL AND IODINE IONS IN VITRO

V. P. Komissarenko Institute of Endocrinology and Metabolism, Academy of Medical Sciences of the Ukraine, Kiev

The rate of DNA fragmentation was studied in intact thyroid tissue and thyroid carcinoma tissue. The determination of low molecular-weight DNA concentrations and the electrophoretic analysis of DNA isolated from the thyroid tissues and tumors, followed by the calculation of the content of oligonucleosome fractions, indicated a drastic reduction in the DNA fragmentation rate in papillary carcinomas and no its significant changes in follicular carcinomas. In the intact thyroid tissue,  $\alpha$ -tocopherol and potassium iodide at a concentration of  $10^{-5}$  M inhibited the rate of stimulated DNA fragmentation in vitro. The agents showed no effect in the papillary carcinoma tissue and their effect was similar in the follicular carcinoma tissue, but it was less pronounced in intact thyroid tissue.

Key words: thyroid carcinoma, DNA fragmentation,  $\alpha$ -tocopherol, iodine ions, apoptosis.

Межнуклеосомное расщепление (фрагментация) ДНК — одно из биохимических проявлений апоптоза

Информация для контактов:

Мишунина Тамара Марьяновна:

Институт эндокринологии и обмена веществ им. В. П. Комиссаренко АМН Украины  
Адрес: 04114, Киев, ул. Вышгородская, 69  
e-mail: simona@asvitonline.com

[6], который ответственен за элиминацию трансформированных клеток и играет важную роль в контроле величины клеточной популяции. В то же время широко распространенное мнение о снижении апоптотической активности в злокачественных опухолях справедливо только для определенных их типов [16].

Для щитовидной железы (ЩЖ) наибольшая интенсивность апоптоза установлена в медулярных, анапластических и оксифильноклеточных адено-