

УДК 591.36.577.17

ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ АКТИВНЫХ ПОЛОВЫХ СТЕРОИДОВ, ИХ ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ, МЕТАБОЛИТОВ И РЕГУЛЯТОРОВ В КРОВИ МУЖЧИН

© 2009 г. Р. В. Петров, И. Н. Кузина*, В. В. Киликовский**, О. В. Смирнова*

ГНЦ Институт иммунологии ФМБА РФ

115478 Москва, Каширское шоссе, д. 24, корп. 2

* Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

119991 Москва, Ленинские горы, д. 1/12

** Российский государственный медицинский университет

117997 Москва, ул. Островитянова, д. 1

E-mail: smirnova_ov@mail.ru

Поступила в редакцию 27.03.09 г.

Окончательный вариант получен 01.06.09 г.

Исследованы концентрации в крови предшественников, гормонально активных форм и неактивных метаболитов половых стероидов с учетом изменений белково-пептидных гормональных регуляторов репродуктивной оси (всего 14 показателей) у мужчин в возрастном интервале 18–72 гг. Установлено, что после 35 лет наблюдается достоверное снижение концентрации в крови неиспользованных предшественников активных половых стероидов (прегненолона, прогестерона, дегидроэпиандростерона и его сульфата, андростендиона), свободной формы тестостерона, его неактивного метаболита андростендиона и одного из активных метаболитов – 5 α -дигидротестостерона. При этом поддерживается постоянный уровень общего тестостерона и другого его активного метаболита – эстрадиола и усиливается нагрузка на системы регуляции продукции активных половых стероидов. Последнее заключается в росте и положительной корреляции с возрастом лютеинизирующего и фолликулостимулирующего гормонов гипофиза, активина стероидогенных желез, а также их отрицательной корреляции с рядом половых стероидов, осуществляющих отрицательную обратную связь. Обнаруженное возрастное снижение уровня адренокортикотропного гормона гипофиза предполагает, что роль надпочечников в уменьшении концентрации в крови предшественников активных половых стероидов является более существенной, чем таковая семенников. Заключается, что у мужчин 60–70 лет концентрация тестостерона и эстрадиола поддерживается, несмотря на снижение активности стероидогенных желез, за счет согласованного роста стимуляторов биосинтеза половых стероидов – лютеинизирующего и фолликулостимулирующего гормонов гипофиза и активина стероидогенных желез. При этом эффективность действия андрогенов снижается в результате падения уровня свободного тестостерона и 5 α -дигидротестостерона.

Ключевые слова: возрастные изменения, половые стероиды, предшественники, метаболиты, гонадотропины, АКТГ, активин, ингибин, мужчины.

Несмотря на наличие большого количества данных о снижении уровня активных половых стероидов и их предшественников в крови мужчин при старении (Гончаров и др., 2004; Miwa et al., 2006; Chahal, Drake, 2007; Yavus et al., 2008), понимание взаимосвязей между возрастными изменениями концентраций разных гормонов до сих пор затруднено и требует одновременного исследования широкого спектра показателей. Это связано в первую очередь с тем, что концентрация каждого полового стероида в крови представляет собой суммарную составляющую нескольких, а иногда и многих, процессов: биосинтеза в гонадах; коре надпочечников и периферических органах; активирующего и инактивирующего мета-

болизма, происходящего в разных тканях; уровня связывающих стероиды белков плазмы крови и т.д. В зависимости от места синтеза и метаболизма все эти процессы происходят с участием разных изоформ ферментов и регулируются разными группами гормонов (Akhtar et al., 2005; Hamden et al., 2008; Wu et al., 2008).

Биологический смысл наличия в крови определенного уровня гормонально активных половых стероидов (тестостерона, 5 α -дигидротестостерона (5 α -ДГТ), эстрадиола) заключается в регуляции ими физиологических функций, осуществлении отрицательной обратной связи на уровне гипоталамо-гипофизарной системы и регуляции концентрации гор-

монов других эндокринных осей. Кроме того, не связанный с белками крови тестостерон может использоваться так же, как субстрат для биосинтеза его активных метаболитов: 5 α -ДГТ и эстрадиола – в органах-мишенях и гормонально неактивного андростендиона – в ряде органов (Vermeulen et al., 2002; Luo et al., 2005; Wu et al., 2008). В отличие от этого наличие в крови определенного уровня предшественников активных половых стероидов (прегненолона, дегидроэпиандростерона и его сульфата, прогестерона, андостендиона), главным образом, отражает их пул, не использованный для биосинтеза активных гормонов в стероидогенных тканях (прегненолон, прогестерон, андостендион) и периферических органах (дегидроэпиандростерон и его сульфат, андостендион). Поскольку у мужских особей млекопитающих, включая человека, нет специальных стероидогенных клеток, продуцирующих прогестерон как конечный продукт биосинтеза (т.е. нет гомологов клеток желтого тела яичника), уровень прогестерона в их крови правомерно рассматривать как результат утечек избытка этого гормона, образующегося как промежуточный продукт биосинтеза активных стероидов в семенниках и в коре надпочечников. Особая роль прогестерона у мужских особей заключается в использовании его в механизме отрицательной обратной связи на уровне гипоталамо-гипофизарной системы.

Цель настоящей работы – оценка возрастных изменений уровней циркулирующих в крови мужчин предшественников, активных форм и неактивных метаболитов половых стероидов с учетом изменений белково-пептидных гормональных регуляторов репродуктивной оси, таких как лютеинизирующий (ЛГ), фолликулостимулирующий (ФСГ) и аденокортикотропный (АКТГ) гормоны гипофиза, а также активин и ингибин стероидогенных желез.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Отбор здоровых мужчин-доноров 18–20, 20–25, 30–35, 40–45, 50–55 и 60–72 лет (25–35 человек/группа), забор крови и получение образцов сыворотки и плазмы проводили на базе отделения переливания крови Гематологического научного центра РАМН, Москва с использованием Инструкции по освидетельствованию доноров, заготовлению и консервированию донорской крови.

Концентрацию гормонов определяли в “слепых” пробах без открытия возраста донора на базе лаборатории эндокринологии биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова и лаборатории гормонального анализа ФГУ “Эндокринологического научного центра” с помощью иммуноферментного метода с применением наборов для определения свободного тестостерона, эстрадиола, 5 α -дигидротестостерона, андростендиона, прегненолона, ингибина, АКТГ (“DRG”, США), активина (“Oxford Bio-Inn”, Великобритания), а также с помощью радио-

иммунологических методов, рекомендованных ВОЗ (для ЛГ, ФСГ, тестостерона, прогестерона, дегидроэпиандростерона (ДГА), ДГА-сульфата (ДГА-С)).

Анализ данных проводили с помощью целевых программ с использованием приложений Microsoft Excel. Для уменьшения зависимости результатов анализа от влияния резко отклоняющихся измерений создавали программы предварительной автоматической фильтрации измерений, которые значительно выходили за границы 95%-ного доверительного интервала, с заданной доверительной вероятностью и для каждой возрастной группы. Использовали два способа оценки границ доверительного интервала: 1) не зависящий от предположений о виде распределения значений исследуемого признака (95%-ный доверительный интервал определяли как интервал между минимальным и максимальным значениями после исключения по 2.5% значений “сверху” и “снизу”); 2) основанный на предположении о нормальности показателя $m \pm t_{кр.}^* \sigma$, где m – среднее значение, σ – среднее квадратичное отклонение, $t_{кр.}$ – критическое значение двустороннего критерия Стьюдента для 5%-ного уровня значимости. Границы доверительных интервалов, полученные обоими способами, существенно не различались.

Коэффициент корреляции Пирсона и статистическую значимость корреляций рассчитывали для всей исследованной популяции и после разделения массива данных на возрастные диапазоны 18–34 и 35–72 гг.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Поскольку тестостерон занимает ключевое положение в биосинтезе половых стероидов как первый гормонально активный продукт, образующийся из неактивных предшественников, и субстрат для последующего синтеза его активных (5 α -ДГТ и эстрадиол) и неактивных (андростендион) метаболитов, сравнение с этим стероидом взято за основу изложения результатов.

Взаимосвязи возрастных изменений: тестостерон и его предшественники. Установлено, что в крови уровень основных предшественников гормонально активных половых стероидов при синтезе по $\Delta 4$ - и $\Delta 5$ -пути достоверно снижается с возрастом, в то время как уровень тестостерона, поступающего в кровь из семенников, а также в определенной степени из периферических органов (в результате тканевых метаболических превращений циркулирующих в кровотоке андростендиона, ДГА и ДГА-С), в исследуемом временном интервале не зависит от возраста (рис. 1). Разделение полученных данных на два возрастных диапазона – 18–34 и 35–72 гг. – показало, что значимое снижение предшественников начинается с 35 лет, с этого же времени исчезает и положительная корреляция между тестостероном и возрастом (табл. 1).

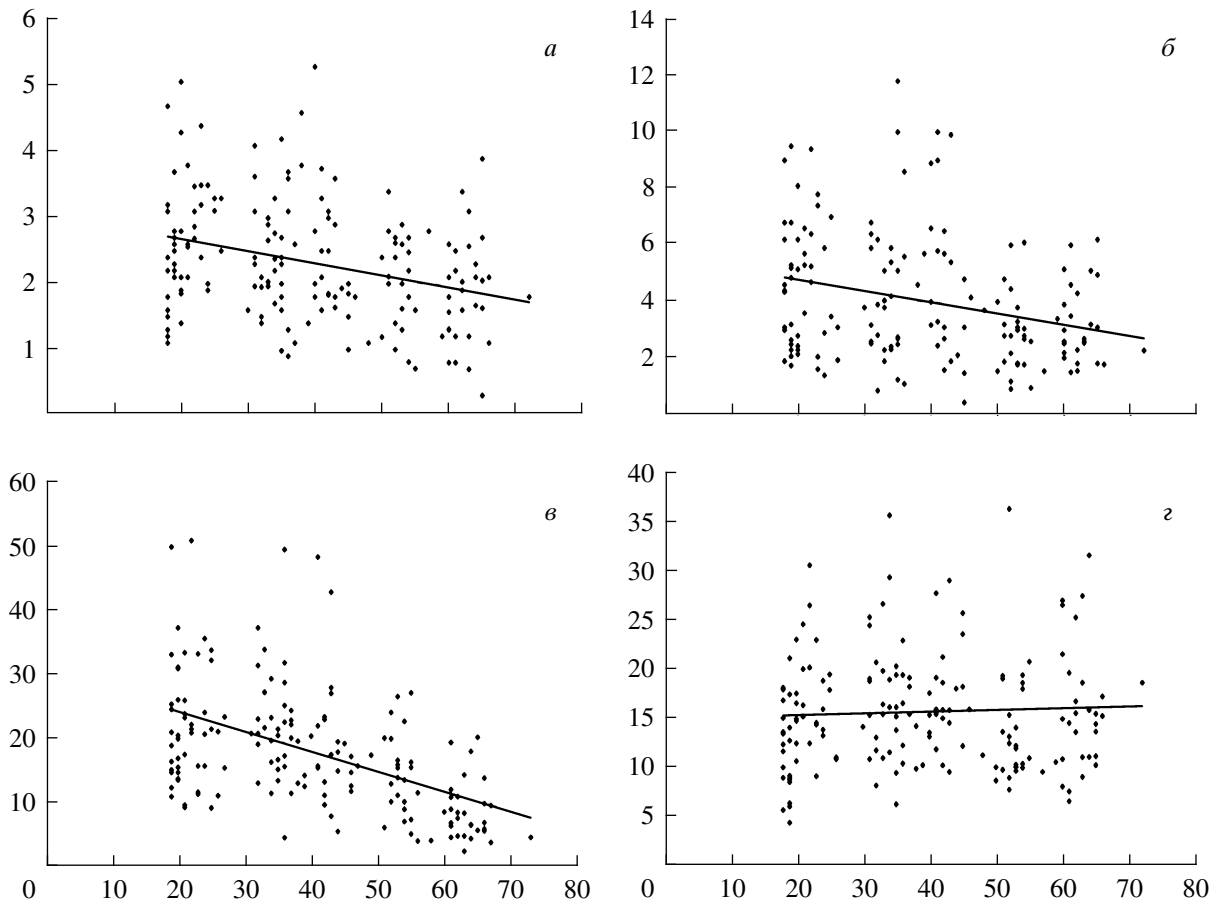


Рис. 1. Линейный регрессионный анализ зависимости концентрации прогестерона (а), андростендиона (б), дегидроэпиандростерона (в) и тестостерона (г) в крови (по оси ординат, нмоль/л (а, в, г) и нг/мл (б)) от возраста мужчин (по оси абсцисс, гг.).

Прегненолон, первичный продукт модификации холестерина, является общим субстратом для образования всех активных стероидов, включая тестостерон. Пути дальнейших превращений прегненолона, ведущими к образованию половых стероидов, являются, во-первых, образование прогестерона и

его производных (см. ниже), включая тестостерон, и, во-вторых, гидроксирование прегненолона в 17-м положении с последующим образованием неактивного андрогена – ДГА, активируемого на периферии с образованием тестостерона. Не использованный для биосинтеза этих стероидов прегненолон

Таблица 1. Коэффициенты корреляции Пирсона между возрастом и концентрацией тестостерона и его предшественников в крови мужчин

Стероид	18–72 гг.		18–34 гг.		35–72 гг.	
	<i>r</i> (<i>n</i>)	<i>p</i>	<i>r</i> (<i>n</i>)	<i>p</i>	<i>r</i> (<i>n</i>)	<i>p</i>
Тестостерон	0.05 (171)	0.50	0.33 (70)	0.005	–0.0005 (101)	1.0
Прегненолон	–0.39 (43)	0.01	0.12 (20)	0.6	–0.38 (22)	0.08
ДГА*	–0.51 (169)	2.0×10^{-12}	0.02 (78)	0.8	–0.54 (91)	3.9×10^{-8}
ДГА-С*	–0.47 (170)	6.7×10^{-11}	–0.04 (78)	0.7	–0.51 (92)	2.3×10^{-7}
Прогестерон	–0.32 (170)	2.8×10^{-5}	–0.12 (78)	0.4	–0.29 (92)	0.005
Андростендион	–0.28 (157)	0.0005	–0.11(75)	0.5	–0.34 (82)	0.002

Здесь и далее: *r* – коэффициент корреляции Пирсона; *n* – количество доноров; *p* – значимость корреляции исследуемых параметров; * обозначения см. в тексте.

Таблица 2. Коэффициенты корреляции Пирсона между концентрациями прегненолона и его производных в крови мужчин 18–72 гг.

Производные прегненолона	Прегненолон	
	<i>r</i> (<i>n</i>)	<i>p</i>
Прогестерон	0.36 (43)	0.02
ДГА*	0.56 (42)	0.0001
ДГА-С*	0.41 (43)	0.006
Андростендион	0.0006 (38)	1.0
Тестостерон	0.13 (43)	0.4

Таблица 3. Коэффициенты корреляции Пирсона между концентрациями прогестерона и продуктов стероидогенеза в крови мужчин 18–72 гг.

Стероид	Прогестерон	
	<i>r</i> (<i>n</i>)	<i>p</i>
ДГА*	0.48 (169)	3.3×10^{-11}
ДГА-С*	0.33 (170)	1.4×10^{-5}
Андростендион	0.39 (157)	3.8×10^{-7}
Тестостерон	0.07 (170)	0.4

поступает в кровь. Данные табл. 2 демонстрируют наличие достоверной корреляционной зависимости уровня в крови ближайших производных прегненолона от его концентрации и отсутствие такой связи для андростендиона и тестостерона в возрастном диапазоне 18–72 гг.

Прогестерон, образующийся из прегненолона, в свою очередь является промежуточным продуктом биосинтеза тестостерона и андростендиона в семенниках и частично андростендиона – в коре надпочечников. Прогестерон, не израсходованный на биосинтез перечисленных стероидов, поступает в кровь. Снижающийся с возрастом уровень прогестерона в крови находится в корреляционной зависимости от также зависимых от возраста прегненолона (табл. 2) и его ближайших производных – ДГА и ДГА-С (табл. 3). Кроме того, выявлено наличие корреляционных связей прогестерона с андростендионом (табл. 3). Однако образующийся из прогестерона те-

стостерон не имеет тесных корреляционных связей с прогестероном в возрастном диапазоне 18–72 гг.

Синтез и секреция тестостерона периферическими тканями связана с поступлением в них циркулирующих в кровотоке ДГА и ДГА-С. Выявлено наличие достоверных корреляционных связей между ДГА и его сульфатом и между ними и их ближайшим производным – андростендионом, однако отмечено отсутствие таких связей с тестостероном (табл. 4).

Концентрация андростендиона в крови является суммарной составляющей его продукции сетчатой зоной коры надпочечников из ДГА, семенниками преимущественно из прогестерона, а также периферическими органами из ДГА и ДГА-С. Выявлены достоверные корреляции андростендиона с прогестероном (табл. 3) и с ДГА и ДГА-С (табл. 4), но не с тестостероном (табл. 5). Очевидно, возрастные изменения уровня андростендиона в крови связаны с сочетанным снижением уровней его предшественников.

Корреляционные связи между концентрацией в крови тестостерона и концентрациями его предшественников в возрастном интервале 18–72 гг. не выявлены (табл. 5). Разделение данных на два возрастных диапазона (18–34 и 35–72 гг.) показало, что положительные корреляции между концентрациями в крови тестостерона и его ключевых предшественников – прегненолона и прогестерона – существуют в молодом возрасте и исчезают при старении (табл. 5). При этом различие корреляционных связей между возрастными группами также является достоверным ($p < 0.05$).

Взаимосвязи возрастных изменений: тестостерон и его метаболиты. Анализ возрастных изменений концентраций метаболитов тестостерона в крови и корреляций тестостерона с его производными требует учета уровня свободного, не связанного с белками плазмы крови тестостерона, доступного для метаболических превращений в периферических органах как в активные половые стероиды (5 α -ДГТ и эстрадиол), так и в андростендион. Концентрация в крови мужчин свободной формы тестостерона (рис. 2) и таких его метаболитов, как андростендион и 5 α -ДГТ, достоверно отрицательно коррелирует с возрастом. В то же время концентрация не только тестостерона, но и образующегося из него

Таблица 4. Коэффициенты корреляции Пирсона между концентрациями дегидроэпиандростерона (ДГА), а также его сульфата (ДГА-С) и их производных в крови мужчин 18–72 гг.

Гормон	ДГА		ДГА-С	
	<i>r</i> (<i>n</i>)	<i>p</i>	<i>r</i> (<i>n</i>)	<i>p</i>
ДГА-С	0.71 (169)	3.6×10^{-27}	–	–
Андростендион	0.34 (157)	1.0×10^{-5}	0.46 (157)	1.2×10^{-9}
Тестостерон	–0.07 (169)	0.4	–0.03 (170)	0.6

Таблица 5. Коэффициенты корреляции Пирсона между концентрациями тестостерона и его предшественников в крови мужчин разного возраста

Стероид	Тестостерон					
	18–72 гг.		18–34 гг.		35–72 гг.	
	<i>r</i> (<i>n</i>)	<i>p</i>	<i>r</i> (<i>n</i>)	<i>p</i>	<i>r</i> (<i>n</i>)	<i>p</i>
Прегненолон	0.13 (43)	0.4	0.63 (16)	0.01	–0.04 (26)	0.8
ДГА*	–0.07 (169)	0.4	0.11 (70)	0.4	–0.20 (99)	0.05
ДГА-С*	0.03 (170)	0.6	0.07 (70)	0.6	–0.14 (100)	0.2
Прогестерон	0.07 (170)	0.4	0.26 (70)	0.03	–0.06 (100)	0.6
Андростендион	0.10 (157)	0.2	0.18 (68)	0.1	0.04 (89)	0.7

эстрадиола не зависит от возраста в исследуемом возрастном диапазоне (табл. 6).

Свободный тестостерон – один из главных субстратов для синтеза андростендиона, 5 α -ДГТ и эстрадиола в периферических тканях – достоверно положительно коррелирует со всеми этими стероидами (табл. 7).

Цепь реакций, приводящих к образованию тестостерона и его метаболитов, может также осуществляться в периферических органах с использованием таких циркулирующих в крови предшественников тестостерона, как ДГА, ДГА-С и андростендион. Возможность такого развития событий подтверждается наличием достоверных корреляционных связей ДГА и ДГА-С с 5 α -ДГТ и с эстрадиолом (табл. 8, 9).

Циркулирующий в крови андростендион в периферических тканях может превращаться в тестостерон, затем в 5 α -дигидротестостерон или в эстрадиол или, минуя тестостерон, в эстрон, а затем в эстрадиол. Как следует из данных табл. 9, достоверность корреляционных связей андростендиона высока для

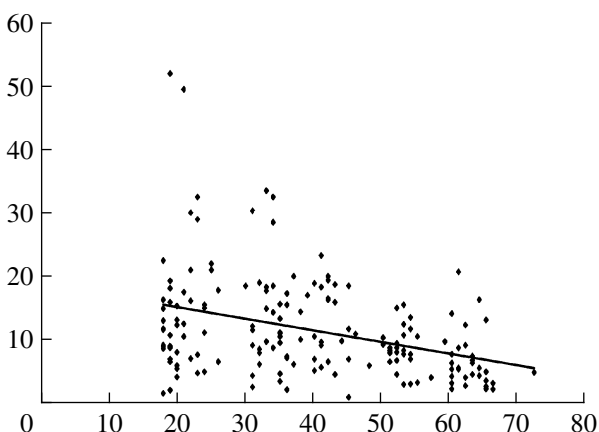


Рис. 2. Линейный регрессионный анализ зависимости концентрации свободного тестостерона в крови (по оси ординат, пг/мл) от возраста мужчин (по оси абсцисс, гг.).

эстрадиола и в меньшей степени выражена для 5 α -ДГТ.

Взаимосвязи возрастных изменений: активные половые стероиды и их гормональные регуляторы. Исследование зависимости от возраста концентрации в крови гипофизарных ЛГ и ФСГ, стимулирующих синтез активных половых стероидов гонадами и регулируемых ими по механизму отрицательной обратной связи, а также концентрации в крови активина и ингибина, участвующих в регуляции синтеза половых стероидов на уровне гонад и в регуляции продукции ФСГ на уровне гипоталамо-гипофизарной системы, показало, что все они, кроме ингибина, достоверно и позитивно коррелируют с возрастом. В то же время АКТГ, стимулирующий продукцию неактивных андрогенов корой надпочечников, отрицательно коррелирует с возрастом (табл. 10).

Установлено, что достоверные корреляционные связи между ЛГ и активными половыми стероидами выявляются только для 5 α -ДГТ и только в молодом возрасте. В случае ФСГ наличие достоверных отрицательных корреляционных связей обнаружено для прогестерона и свободного тестостерона в возрастном диапазоне 18–72 гг.

Активин, позитивный регулятор ФСГ гипофиза, отрицательно коррелирует со свободным тестостероном и эстрадиолом, причем достоверные корреляционные связи выявляются и в младшем (18–34 гг.), и в старшем (35–72 гг.) возрастном диапазоне (табл. 11). Исследование корреляции между концентрациями ингибина (негативного регулятора ФСГ) и активных половых стероидов выявило наличие достоверной положительной корреляции только с 5 α -ДГТ и только в возрасте 18–34 гг. (в таблице не представлено).

Выявлена положительная корреляция АКТГ с ДГА и ДГА-С, отчетливо выраженная в старшем возрастном диапазоне, а также с прогестероном в молодом и более старшем возрасте (табл. 12). Отрицательная корреляция АКТГ в молодом возрасте выявлена с андростендионом, тестостероном, свободным тестостероном и эстрадиолом. В отношении тестостерона и эстрадиола такая корреляция с

Таблица 6. Коэффициенты корреляции Пирсона между возрастом и концентрацией тестостерона и его производных в крови мужчин

Стероид	18–72 гг.	
	<i>r</i> (<i>n</i>)	<i>p</i>
Тестостерон	0.13 (43)	0.4
Свободный тестостерон	–0.36 (168)	1.5×10^{-6}
Андростендион	–0.28 (157)	0.0005
5 α -Дигидротестостерон	–0.37 (167)	6.6×10^{-7}
Эстрадиол	–0.12 (164)	0.1

Таблица 7. Коэффициенты корреляции Пирсона между концентрациями свободного тестостерона и его производных в крови мужчин 18–72 гг.

Производные свободного тестостерона	Свободный тестостерон	
	<i>r</i> (<i>n</i>)	<i>p</i>
Андростендион	0.41 (157)	1.6×10^{-7}
5 α -Дигидротестостерон	0.44 (165)	2.8×10^{-9}
Эстрадиол	0.53 (158)	2.7×10^{-11}

АКТГ выявляется и в старшем возрасте, и в общей популяции. Интересно, что в возрасте 35–72 гг. выявляется положительная корреляция между АКТГ и 5 α -ДГТ.

Во всех возрастных диапазонах выявлены тесные корреляционные связи между ЛГ и ФСГ. В случае ингибина в молодом возрасте обнаружена отрицательная корреляция с ФСГ, но не с другими регуляторами. Не обнаружено достоверных корреляционных связей между АКТГ и ЛГ, так же как между АКТГ и ФСГ (в таблице не представлено). Обнаружена положительная корреляция активина с ФСГ, а также с ЛГ гипофиза в возрасте 18–72 гг. Особенно тесная положительная корреляция выявлена между активином и АКТГ как в младшей, так и в старшей возрастной группах, а также в суммарной популяции (табл. 11).

Таблица 8. Коэффициенты корреляции Пирсона между концентрациями дегидроэпиандростерона (ДГА), а также его сульфата (ДГА-С) и их производных в крови мужчин 18–72 гг.

Гормон	ДГА		ДГА-С	
	<i>r</i> (<i>n</i>)	<i>p</i>	<i>r</i> (<i>n</i>)	<i>p</i>
Андростендион	0.34 (157)	1.0×10^{-5}	0.46 (157)	1.2×10^{-9}
5 α -Дигидротестостерон	0.44 (166)	3.5×10^{-9}	0.47 (167)	1.2×10^{-10}
Эстрадиол	0.16 (158)	0.04	0.22 (158)	0.01

ОБСУЖДЕНИЕ

Хотя достоверные корреляции между показателями не свидетельствуют о наличии между ними причинно-следственной связи, знание метаболических и регуляторных взаимоотношений между исследуемыми параметрами позволяют с той или иной степенью вероятности высказать предположения о механизмах происходящих изменений в исследуемом периоде онтогенеза.

Изучение взаимосвязей содержания в крови основного активного полового стероида мужчин – тестостерона и его предшественников (табл. 5) – показало, что в молодом возрасте существуют положительные корреляции между уровнями в крови тестостерона и его предшественников, прегненолона и прогестерона, но в возрастном диапазоне 35–72 гг. при прогрессирующем снижении утечек в кровь предшественников, уровень тестостерона каким-то образом поддерживается. Возможными причинами возникновения такой ситуации могут быть: 1) возрастное повышение экспрессии и/или активности ферментов различных этапов биосинтеза тестостерона стероидогенными железами для поддержания его синтеза из меньшего количества предшественников; 2) усиление его продукции периферическими тканями; 3) снижение активности ферментов метаболизма тестостерона; 4) рост его связанной формы, вызывающей снижение метаболического клиренса тестостерона. Все эти процессы могут быть связаны с изменением концентрации в крови гормональных регуляторов тестостерона, его предшественников, метаболитов и связывающих белков. Наконец, основной вклад в снижение уровня предшественников тестостерона в крови с возрастом могут вносить надпочечники, а не семенники.

Показано, что при старении животных активность ферментов и белков начальных стадий стероидогенеза (STAR, P450_{scc}, P450_{c17}) в семенниках и надпочечниках снижается (Auchus, Rainey, 2004; Akhtar et al., 2005; Luo et al., 2005), поэтому первое предположение кажется маловероятным. Тем не менее, мы продемонстрировали рост концентраций в крови ЛГ и ФСГ гипофиза, их положительную корреляцию с возрастом (табл. 10) и отрицательную с рядом половых стероидов, осуществляющих отрицательную обратную связь. Рост концентрации гонадотропинов с возрастом может положительно

Таблица 9. Коэффициенты корреляции Пирсона между концентрациями андростендиона и его производных в крови мужчин 18–72 гг.

Производные андростендиона	Андростендион	
	<i>r</i> (<i>n</i>)	<i>p</i>
5 α -Дигидротестостерон	0.18 (154)	0.02
Эстрадиол	0.32 (157)	$4,1 \times 10^{-5}$

Таблица 10. Коэффициенты корреляции Пирсона между возрастом и концентрацией гормональных регуляторов уровня активных стероидов в крови мужчин

Гормон	18–72 гг.	
	<i>r</i> (<i>n</i>)	<i>p</i>
ЛГ*	0.29 (164)	0.0001
ФСГ*	0.44 (166)	$2,7 \times 10^{-9}$
АКТГ*	-0.17 (167)	0.03
Активин	0.33 (119)	0.001
Ингибин	-0.16 (119)	0.09

влиять на ферменты более поздних стадий стероидогенеза, усиливая продукцию тестостерона семенниками. Кроме того, учитывая, что начальные стадии стероидогенеза стимулируются в семенниках ЛГ, а в коре надпочечников – АКТГ (Раупе, Hales, 2004), а также то, что с возрастом концентрация ЛГ в крови растет, а АКТГ – снижается, можно предположить, что роль надпочечников в снижении в крови уровней предшественников тестостерона с возрастом является более существенной, чем роль семенников.

Возможность усиления с возрастом продукции тестостерона периферическими тканями является

достаточно вероятной, так как показано, что в некоторых периферических тканях, таких как мононуклеарные клетки крови, превращение ДГА в андростендион и затем в тестостерон увеличивается с возрастом за счет роста экспрессии мРНК 3- β -гидроксистероиддегидрогеназы 5-го типа (Hammer et al., 2005).

Уровень доступной для метаболизма формы тестостерона, т.е. свободного тестостерона, достоверно снижается с возрастом и это коррелирует с возрастным снижением образующихся из него 5 α -дигидротестостерона и андростендиона (табл. 6, 7). Снижение содержания свободного тестостерона с возрастом, наблюдаемое нами и другими авторами, связано с известным ростом продукции сексостероидсвязывающего глобулина при старении человека (Lunenfeld, 2006; Wu et al., 2008), что, очевидно, вносит вклад в поддержание постоянного уровня общего тестостерона, увеличивая период его полужизни в крови и снижая метаболический клиренс. Показанное нами достоверное снижение с возрастом уровня активного метаболита тестостерона 5 α -дигидротестостерона (табл. 6) и данные о снижении активности 5 α -редуктазы у пожилых мужчин (Gooren et al., 2008) свидетельствуют о том, что определенную роль в поддержании постоянного уровня тестостерона в исследуемом возрастном диапазоне может играть снижение его превращения в 5 α -дигидротестостерон.

Особого обсуждения требует анализ взаимосвязей гормонов, участвующих в поддержании постоянства концентрации эстрадиола в крови мужчин разного возраста, учитывая, что содержание субстратов биосинтеза эстрадиола, таких как доступная для превращения в эстрадиол свободная форма тестостерона, ДГА и его сульфат, а также андростендион, снижается с возрастом и имеет достоверные корреляционные связи с эстрадиолом (табл. 1, 6–9). В це-

Таблица 11. Коэффициенты корреляции Пирсона между концентрациями активина и активных половых стероидов, а также других регуляторов уровня половых стероидов в крови мужчин разного возраста

Гормон	Активин					
	18–72 гг.		18–34 гг.		35–72 гг.	
	<i>r</i> (<i>n</i>)	<i>p</i>	<i>r</i> (<i>n</i>)	<i>p</i>	<i>r</i> (<i>n</i>)	<i>p</i>
Прогестерон	-0.06 (119)	0.6	0.01 (52)	0.9	-0.04 (67)	0.7
Тестостерон	-0.04 (119)	0.7	-0.08 (52)	0.57	-0.02 (67)	0.9
Свободный тестостерон	-0.38 (118)	2.3×10^{-5}	-0.45 (51)	0.01	-0.41 (67)	0.0005
5 α -ДГТ*	-0.16 (118)	0.09	-0.009 (52)	0.5	-0.05 (66)	0.7
Эстрадиол	-0.53 (118)	1.0×10^{-9}	-0.55 (51)	2.7×10^{-5}	-0.53 (67)	3.6×10^{-6}
Ингибин	-0.02 (118)	0.8	-0.14 (51)	0.3	0.06 (67)	0.6
ЛГ*	0.22 (117)	0.03	-0.53 (51)	0.7	0.26 (66)	0.03
ФСГ*	0.23 (119)	0.01	-0.06 (52)	0.7	0.22 (67)	0.07
АКТГ*	0.44 (118)	6.7×10^{-7}	0.49 (51)	0.0003	0.44 (67)	0.0002

Таблица 12. Коэффициенты корреляции Пирсона между концентрациями аденокортикотропного гормона (АКТГ) и половых стероидов в крови мужчин разного возраста

Половые стероиды	АКТГ					
	18–72 гг.		18–34 гг.		35–72 гг.	
	<i>r</i> (<i>n</i>)	<i>p</i>	<i>r</i> (<i>n</i>)	<i>p</i>	<i>r</i> (<i>n</i>)	<i>p</i>
ДГА*	0.29 (166)	0.0001	0.13 (69)	0.3	0.38 (97)	0.0001
ДГА-С*	0.14 (167)	0.07	–0.10 (69)	0.4	0.29 (98)	0.004
Андростендион	–0.11 (157)	0.2	–0.35 (68)	0.04	0.03 (89)	0.8
Прогестерон	0.24 (167)	0.03	0.13 (69)	0.3	0.29 (98)	0.003
Тестостерон	–0.27 (167)	0.0003	–0.32 (69)	0.007	–0.25 (98)	0.01
Свободный тестостерон	–0.07 (167)	0.4	–0.32 (69)	0.02	0.12 (98)	0.2
5 α -ДГТ*	0.09 (164)	0.3	–0.08 (67)	0.5	0.24 (97)	0.02
Эстрадиол	–0.43 (158)	2.4×10^{-8}	–0.48 (68)	3.9×10^{-5}	–0.41 (90)	0.00006

лом поддержание уровня эстрадиола в исследуемом возрастном диапазоне может быть связано с теми же причинами, что и в случае тестостерона (см. выше). Одной из таких причин может быть увеличение экспрессии и/или активности ароматазы в стероидогенных органах и периферических тканях, способных синтезировать эстрадиол из андрогенных предшественников. Для гена ароматазы характерно наличие нескольких тканеспецифических промоторов и первых нетранслируемых экзонов, каждый из которых регулируется своим спектром сигнальных соединений, включая белково-пептидные регуляторы гормонов репродуктивной оси и кортизол (Simpson et al., 2001; Gennari et al., 2004). Такими регуляторами на уровне семенников являются активин и ФСГ. Мы выявили достоверный рост уровня активина и ФСГ с возрастом и наличие корреляционных связей между ними как в общей популяции, так и у мужчин старшего возраста (табл. 10, 11). Активин известен как прямой стимулятор активности ароматазы и синтеза эстрогенов в гонадах. Кроме того, активин усиливает позитивное влияние ФСГ на синтез эстрогенов, повышая продукцию ФСГ гипофизом и экспрессию рецепторов ФСГ в гонадах (Mukasa et al., 2003; Bernard, 2004; Carreau et al., 2004). Таким образом, на уровне семенников синтез эстрогенов может поддерживаться за счет роста активина и ФСГ с возрастом. В то же время существуют данные о снижении экспрессии ароматазы в семенниках при старении (Hamden et al., 2008).

Полученные нами результаты позволяют предположить, что в регуляции уровня эстрадиола при старении мужчин принимает участие АКТГ, уровень которого коррелирует с активинном, но не зависит от ФСГ (табл. 11). С одной стороны, как в молодом, так и в старшем возрасте мы обнаружили сильные отрицательные связи как между эстрадиолом и активинном, так и между эстрадиолом и АКТГ. С другой стороны, во всем возрастном диапазоне также выявлены сильные положительные корреляции

между активинном и АКТГ при отсутствии корреляций между АКТГ и ФСГ (табл. 11, 12). В настоящее время установлено, что активин продуцируется не только семенниками, но и надпочечниками животных и человека и участвует в регуляции экспрессии и активности ферментов стероидогенеза, а также усиливает действие АКТГ (Vantinen et al., 2003; Suzuki et al., 2004; Farnworth et al., 2006). В то же время показано, что в надпочечниках человека экспрессируется ген ароматазы и продуцируются эстрогены, поддерживающие стероидогенез в сетчатой зоне надпочечников и усиливающее действие на нее АКТГ (Baquedano et al., 2007; Belgorosky et al., 2008). Возможно, пара активин–АКТГ в надпочечниках выполняет функцию, аналогичную паре активин–ФСГ в семенниках.

Наконец, известно, что экспрессия ароматазы в жировой ткани растет с возрастом, и вклад эстрадиола, продуцирующегося адипоцитами, в его суммарную концентрацию в крови существенно увеличивается. В жировой ткани используется отличный от гонад дистальный промотор гена ароматазы, активность которого регулируется глюкокортикоидами (Vermeulen et al., 2002; Gennari et al., 2004). В адипоцитах выявлен один из типов рецептора активина и показано, что активин ингибирует дифференцировку преадипоцитов (Hirai et al., 2005; Kogame et al., 2006). В то же время индукция дифференцировки адипоцитов приводит, как показано, к существенному росту экспрессии ароматазы (Blouin et al., 2009). Возможно, регуляторные взаимоотношения между активинном и эстрогенами в жировой ткани альтернативны наблюдаемым в гонадах. Очевидно, выявленные нами корреляции между уровнями эстрадиола, активина и АКТГ отражают суммарный вектор описанных взаимоотношений между ними в семенниках, надпочечниках и жировой ткани.

Рост с возрастом уровня сексостероидсвязывающего глобулина, связывающего не только тестосте-

рон и 5 α -дигидротестостерон, но и с меньшим сродством эстрадиол, также может вносить некоторый вклад в поддержание уровня эстрадиола при старении, снижая его метаболический клиренс, при этом концентрация свободной формы эстрадиола снижается (Dolomie-Faquor et al., 2008; Hayashi, Yamada, 2008).

Биологический смысл поддержания постоянной концентрации эстрадиола у мужчин разного возраста связан, очевидно, с важной ролью этого гормона в регуляции у них репродуктивной функции, липидного и углеводного обмена, поддержании костной массы и обновления кости, стимуляции синтеза надпочечниковых андрогенов и в других процессах (Simpson, Davis, 2001; Gennari et al., 2004; Belgorosky et al., 2008). Все это позволяет некоторым авторам (Simpson, Davis, 2001) усомниться в отнесении эстрогенов к женским половым гормонам и у мужских особей функционально относить их к "андрогенам".

Таким образом, наблюдаемое в исследуемом возрастном диапазоне снижение уровня в крови предшественников активных половых стероидов в сочетании с ростом гонадотропинов и снижением АКТГ свидетельствует, очевидно, об ослаблении стероидогенной активности коры надпочечников в большей степени, чем семенников. При снижении в крови концентрации предшественников активных половых стероидов, их свободных форм и метаболитов усиливается нагрузка на системы регуляции продукции активных половых стероидов, что приводит к перестройке их работы и поддержанию постоянного суммарного уровня тестостерона и эстрадиола. Эти регуляторные системы включают гонадотропины и АКТГ гипофиза, активин семенников и надпочечников, а также сексостероидсвязывающий глобулин печени. Изменения концентраций этих регуляторов при старении, видимо, направлены на поддержание постоянного уровня тестостерона и эстрадиола. Последние, находясь в основном в связанной форме, служат в качестве депо гормона, высвобождая его при колебаниях гормонального баланса. Следовательно, у мужчин 60–70 лет еще существуют системы компенсации возмущающего воздействия, вызванного снижением активности стероидогенных желез, за счет согласованной ответной реакции других компонентов гормональной сети, сохраняющей гомеостаз.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Гончаров Н.П., Кацян Г.В., Нижник Ф.Н. Формула жизни. Дегидроэпиандростерон: свойства, метаболизм, биологическое значение. М.: Адамант, 2004. 159 с.

Akhtar M., Kelly S., Kaderbhai M. Cytochrome b₅ modulation of 17 α hydroxylase and 17–20 lyase (CYP17) activities in steroidogenesis // J. Endocrinol. 2005. V. 187. P. 267–274.

Auchus J., Rainey W. Adrenarche – physiology, biochemistry and human disease // Clin. Endocrinol. 2004. V. 60. P. 288–296.

Baquedano M., Saraco N., Berensztein E. et al. Identification and developmental changes of aromatase and estrogen receptor expression in prepubertal and pubertal human adrenal tissues // J. Clin. Endocrinol. Metab. 2007. V. 92. P. 2215–2222.

Belgorosky A., Baquedano M., Guercio G. et al. Adrenarche: postnatal adrenal zonation and hormonal and metabolic regulation // Horm. Res. 2008. V. 70. P. 257–267.

Bernard D. Both SMAD2 and SMAD3 mediate activin-stimulated expression of the follicle-stimulating hormone beta subunit in mouse gonadotrope cells // Mol. Endocrinol. 2004. V. 18. № 3. P. 606–623.

Blouin K., Nadeau M., Mailloux J. et al. Pathways of adipose tissue androgen metabolism in women: depot differences and modulation by adipogenesis // Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 2009. V. 296. P. E244–E255.

Carreau S., Bourquiba S., Lambard S. et al. The promoter(s) of aromatase gene in male testicular cells // Reprod. Biol. 2004. V. 4. № 1. P. 23–34.

Chahal H., Drake W. The endocrine system and aging // J. Pathol. 2007. V. 211. № 3. P. 173–180.

Dolomie-Faquor L., Gatta B., Nguyen T. et al. Bioavailable estradiol in men: relationship with age and testosterone // Clin. Chim. Acta. 2008. V. 398. № 7. P. 145–147.

Farnworth P., Stanton P., Wang Y. et al. Inhibins differentially antagonize activin and bone morphogenetic protein action in mouse adrenocortical cell line // Endocrinology. 2006. V. 147. P. 3462–3471.

Gennari L., Nuti R., Bilezikian J. Aromatase activity and bone homeostasis in men // J. Clin. Endocrinol. Metab. 2004. V. 89. P. 5898–6907.

Gooren L., Saad F., Haide A., Yassin A. Decline of plasma 5 α -dihydrotestosterone (DHT) levels upon testosterone administration to elderly men with subnormal plasma testosterone and high DHT levels // Andrologia. 2008. V. 40. № 5. P. 298–302.

Hamden K., Silandre D., Delalande C. et al. Age-related decrease in aromatase and estrogen receptor (ER α and ER β) expression in rat testis: prospective effect of low caloric diets // Asian J. Androl. 2008. V. 10. № 2. P. 177–187.

Hammer F., Drescher D., Schneider S. et al. Sex steroid metabolism in human peripheral blood mononuclear cells changes with aging // J. Clin. Endocrinol. Metab. 2005. V. 90. P. 6283–6289.

Hayashi T., Yamada T. Association of bioavailable estradiol levels and testosterone levels with serum albumin levels in elderly men // Aging Male. 2008. V. 11. № 2. P. 63–70.

Hirai S., Yamanaka M., Kawachi H. et al. Activin A inhibits differentiation of 3T3-L1 preadipocyte // Mol. Cell Endocrinol. 2005. V. 232. P. 21–26.

Kogame M., Matsuo S., Nakatani M. et al. ALK7 is a novel marker for adipocyte differentiation // J. Med. Invest. 2006. V. 53. P. 238–245.

Lunenfeld B. Endocrinology of aging male // Minerva Ginecol. 2006. V. 58. № 2. P. 153–170.

Luo L., Chen H., Zirkin B. Temporal relationships among testosterone production, steroidogenic acute regulatory protein (StAR), and P450 side-chain cleavage enzyme (P450_{scc}) during Leydig cell aging // J. Androl. 2005, V. 26. № 1. P. 25–31.

- Miwa Y., Kaneda T., Yokoyama O. Correlation between the aging males symptoms scale and sex steroids, gonadotropins, dehydroepiandrosterone sulfate and growth hormone levels in ambulatory men // *J. Sex Med.* 2006. V. 3. № 4. P. 723–726.
- Mukasa C., Nomura M., Tanaka T. et al. Activin signalling through type IB activin receptor stimulates aromatase activity in the ovarian granulosa cell-like human granulosa (KGN) cells // *Endocrinology.* 2003. V. 144. P. 1603–1611.
- Payne A., Hales D. Overview of steroidogenic enzymes in the pathway from cholesterol to active steroid hormones // *Endocrin. Rev.* 2004. V. 25. P. 947–970.
- Simpson E., Davis S. Aromatase and the regulation of estrogen biosynthesis – some new perspectives // *Endocrinology.* 2001. V. 142. P. 4589–4594.
- Suzuki J., Otsuka F., Inagi K. et al. Novel action of activin and bone morphogenetic protein in regulating aldosterone production by human adrenocortical cells // *Ibid.* 2004. V. 145. P. 639–649.
- Vanttinen T., Liu J., Kuulasmaa T. et al. Expression of activin/inhibin signaling components in the human adrenal gland and the effects of activins and inhibins on adrenocortical steroidogenesis and apoptosis // *J. Endocrinol.* 2003. V. 178. № 3. P. 479–489.
- Vermeulen A., Kaufman J., Goemaere S. et al. Estradiol in elderly men // *Aging Male.* 2002. V. 5. № 2. P. 98–102.
- Wu F., Tajar A., Pye S. et al. Hypothalamic-pituitary-testicular axis disruptions in older men are differentially linked to age and modifiable risk factors: the European male aging study // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2008. V. 93. P. 2737–2745.
- Yavus B., Ozakayar N., Halil M. et al. Free testosterone levels and implications on clinical outcomes in elderly men // *Aging Clin. Exp. Res.* 2008. V. 20. № 3. P. 201–206.

Age-Dependent Changes in the Concentration of Active Sex Steroids, Their Precursors, Metabolites, and Regulating Agents in Male Blood

R. V. Petrov, I. N. Kuzina^a, V. V. Kilikovskiy^b, and O. V. Smirnova^a

State Scientific Center, Institute of Immunology, MBA, Kashiroskoye sh. 24, k. 2, Moscow, 115478 Russia

^a Moscow State University, Moscow, 119991 Russia

^b Russian State Medical University, ul. Ostrovityaninova 1, Moscow, 117997 Russia

e-mail: smirnova_ov@mail.ru

Abstract—Blood concentrations of hormone-inactive and active sex-steroid metabolites and their precursors were measured, taking into account changes in protein-peptide hormones that control the reproductive axis (in a total of 14 parameters) in men in the 18- to 72-year-old age interval. A significant decrease in the blood concentration of unutilized precursors of active sex steroids (pregnenolone, progesterone, dehydroepiandrosterone, and its sulfate), unbound testosterone, androstenedione (an inactive metabolite of testosterone), and an active metabolite, 5 α -dihydrotestosterone was determined after the age of 35. However, the level of total testosterone and of estradiol (another active metabolite of testosterone) remained constant. The systems regulating the production of active sex steroids resisted a higher load, causing the luteinizing and follicle-stimulating hypophyseal hormones and activin of steroidogenic glands to increase and correlate positively with age; these hormones correlated negatively with certain sex steroids that realize negative feedback. A decrease in the level of adrenocorticotrophic hypophyseal hormone with age suggests a more substantial role for adrenal glands as compared to that of testicles in reducing the blood concentration of active sex steroids. In general, despite the reduced activity of steroidogenic glands in 60- to 70-year-old men, their testosterone and estradiol concentrations remain unchanged, due to coordinated growth in the concentration of luteinizing and follicle-stimulating hypophyseal hormones, and to the activin of steroidogenic glands, which stimulated sex steroid biosynthesis. At the same time, the androgen effect was inhibited as a result of reduced levels of unbound testosterone and 5 α -dihydrotestosterone.

Key words: age-dependent changes, sex steroids, precursors, metabolites, gonadotropins, ACTH, activin, inhibin, men.