

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «**Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского**»
Министерства здравоохранения и социального развития
Российской Федерации

Клинические и гормональные особенности полового развития мальчиков

Учебное пособие для врачей



Под редакцией
члена-корреспондента РАМН,
профессора, докт. мед. наук
П.В.Глыбочко

Н.Ю. Райгородская,
В.К.Поляков, Н.Б.Захарова,
Н.В.Болотова, Д.А. Морозов,
И.Л.Иваненко

При участии
ЗАО «ДРГ Техсистемс»



Государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«Саратовский государственный медицинский университет
им. В.И. Разумовского» Министерства здравоохранения
и социального развития Российской Федерации

КЛИНИЧЕСКИЕ И ГОРМОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ПОЛОВОГО РАЗВИТИЯ МАЛЬЧИКОВ

Учебное пособие для врачей

*Под редакцией члена-корреспондента РАМН,
профессора, докт. мед. наук П.В. Глыбочко*

*Н.Ю. Райгородская, В.К. Поляков, Н.Б. Захарова,
Н.В. Болотова, Д.А. Морозов, И.Л. Иваненко*

При участии ЗАО «ДРГ Техсистемс»

2012 г.

УДК 612.66 – 055.15

ББК 57.3

К 493

В пособии изложены современные представления о физиологии развития половой системы мальчиков. Представлены лабораторные методы оценки полового развития и возможности их применения. Показаны данные клинической оценки половой системы мальчиков г. Саратова и Саратовской области с учетом их возраста и показателей физического развития. Разработаны референсные значения гормонов, позволяющих оценить состояние гипоталамо-гипофизарной системы и половых желез у мальчиков раннего возраста и подростков. Пособие предназначено для врачей клинической лабораторной диагностики, педиатров, эндокринологов, андрологов.

Под редакцией член-корреспондента РАМН, профессора, докт. мед. наук П.В. Глыбочко

Авторы: Райгородская Н.Ю., Поляков В.К., Захарова Н.Б., Болотова Н.В., Морозов Д.А., Иваненко И.Л.

Рецензенты:

Профессор кафедры госпитальной педиатрии с курсом поликлинической педиатрии ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития России, докт. мед. наук Олег Артурович Малиевский.

Заведующая кафедрой педиатрии медицинского института ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный университет» им. Н.П. Огарева, профессор, докт. мед. наук Лариса Александровна Балыкова.

Ведущий научный сотрудник отдела лабораторной и функциональной диагностики ФГБУ «СарНИИТО Минздравсоцразвития России», профессор, докт. мед. наук Елена Викторовна Карякина.

СОДЕРЖАНИЕ

| | |
|---|----|
| 1. ВВЕДЕНИЕ | 5 |
| 2. ФИЗИОЛОГИЯ РАЗВИТИЯ ПОЛОВОЙ СИСТЕМЫ МАЛЬЧИКОВ | 5 |
| 2.1. Роль гормонов в процессе внутриутробного формирования половой системы у плода мужского пола | 5 |
| 2.2. Периоды физиологической активности гипоталамо-гипофизарно-гонадной системы | 7 |
| 2.3. Синтез андрогенов в надпочечниках и гонадах..... | 10 |
| 2.4. Биологическое действие андрогенов в период препубертата и пубертата | 11 |
| 3. ЛАБОРАТОРНЫЕ МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ПОЛОВОГО РАЗВИТИЯ МАЛЬЧИКОВ..... | 15 |
| 3.1. Определение гонадотропинов и половых стероидов у здоровых мальчиков при помощи тест-наборов ЗАО ДРГ «Техсистемс»..... | 19 |
| 4. ПОЛОВОЕ РАЗВИТИЕ ЗДОРОВЫХ МАЛЬЧИКОВ 8–16 ЛЕТ | 30 |
| 4.1. Взаимосвязь показателей полового и физического развития мальчиков | 33 |
| 4.2. Определение референсных величин гонадотропинов и половых стероидов у здоровых мальчиков при помощи тест-наборов ЗАО ДРГ «Техсистемс» | 38 |
| 5. СОСТОЯНИЕ ПОЛОВОЙ СИСТЕМЫ ЗДОРОВЫХ МАЛЬЧИКОВ 1–3 МЕСЯЦЕВ (МИНИ-ПУБЕРТАТ)..... | 39 |
| 6. ЗАКЛЮЧЕНИЕ:..... | 43 |
| 7. ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ: | 45 |
| 8. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:..... | 47 |

Список сокращений:

РИА – радиоиммунологический анализ

ТТГ – тиреотропный гормон

АКТГ – адренкортикотропный гормон

ДГТ – дигидротестостерон

АМГ – антимюллеров гормон

СССГ или ГСПГ – секс стероидсвязывающий глобулин или глобулин,
связывающий половые гормоны

АР – андрогеновый рецептор

ИФА – иммуноферментный анализ

ГТ-РГ – гонадотропин-рилизинг гормон

ЛГ – лютеонизирующий гормон

ФСГ – фолликулостимулирующий гормон

ДГЭА – дегидроэпиандростерон

ДГТ – дигидротестостерон

АГ – антиген

АТ – антитело

1. ВВЕДЕНИЕ

Половая система человека формируется вначале внутриутробного периода, но её развитие продолжается и после рождения. Каждый этап развития контролируется комплексом гормональных факторов. Окончательное физиологическое созревание половой системы и становление репродуктивной функции происходит в период пубертата. Анализируя гормональный профиль детей и подростков, необходимо учитывать физиологические изменения активности половых желез, определяемые онтогенезом и имеющие характерные особенности. Гормональные исследования играют ведущую роль в оценке полового развития. На сегодняшний день они являются доступным, информативным и общепринятым способом диагностики. Широкий спектр лабораторных методов позволяет определить количественное содержание гормонов в биологических жидкостях. Однако использование среднестатистических норм показателей гормонального статуса часто приводит к неверной трактовке результатов. Определение референсных величин гормонов у мальчиков, проживающих на территории Саратова и Саратовской области, поможет в оценке результатов гормональных исследований, как у здоровых детей, так и у пациентов с патологией полового развития.

Пособие предназначено для врачей клинической лабораторной диагностики, педиатров, эндокринологов, андрологов.

2. ФИЗИОЛОГИЯ РАЗВИТИЯ ПОЛОВОЙ СИСТЕМЫ МАЛЬЧИКОВ

2.1 Роль гормонов в процессе внутриутробного формирования половой системы у плода мужского пола.

Формирование половой системы начинается с 3 недели эмбрионального развития. От мезонефроса отделяются первичные бипотенциальные гонады, парамезонефральные (Мюллеровы) и мезонефральные (Вольфовы) протоки – предшественники наружных и внутренних гениталий. С 4 недели эмбриогенеза начинается миграция герминативных клеток в первичную гонаду. Под контролем специфических генов – **SRY** и **SOX 9** происходит формирование тестикула из бипотенциальной гонады, дифференцировка клеток Сертоли и Лейдига.

Следующий этап внутриутробного развития обусловлен гормональной активностью эмбрионального тестикула.

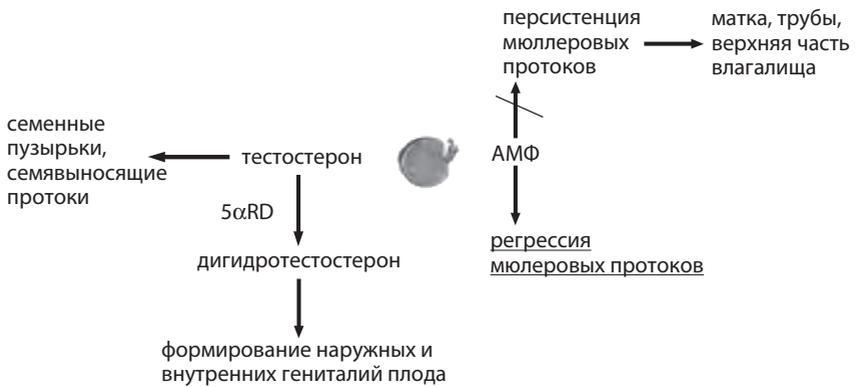


Рис. 1. Схема гормональной активности эмбрионального тестикула

Антимюллеров гормон (АМГ), секретируемый фетальными клетками Сертоли, приводит к регрессии Мюллеровых протоков. Тестостерон, секретируемый фетальными клетками Лейдига, действует через андрогеновый рецептор Вольфовых протоков, индуцируя формирование придатков, семявыносящих протоков, семенных пузырьков. Под действием эмбриональной 5-альфа-редуктазы 2 тестостерон трансформируется в дигидротестостерон (ДГТ), который активирует андрогеновый рецептор предстательной железы и наружных гениталий, запускает процесс их маскулинизации.

С 10–12 недели внутриутробного развития начинается миграция эмбрионального тестикула от места первичного расположения в мошонку. В настоящее время доказано, что основная роль в этом процессе принадлежит гормональным факторам. Инсулиноподобный фактор роста 3 (ИФР 3), продуцируемый фетальными клетками Лейдига наряду с тестостероном, и антимюллеров гормон, синтезируемый в клетках Сертоли [Ivell R, 2003], играют ведущую роль в трансабдоминальной миграции яичка. Андрогены регулируют прохождение яичка через паховый канал до дна мошонки. Секреция этих гормонов регулируется гонадотропинами, о чем свидетельствуют исследования, показывающие увеличение соотноше-

ния ЛГ/ тестостерон у мальчиков с крипторхизмом в возрасте 3-х месяцев [Suomi A et al, 2006.].

Любые нарушения секреции или действия андрогенов могут привести к крипторхизму, часто ассоциированному с гипоспадией, расщеплением мошонки, микропенисом. Кроме того, доказано значение дефицита ЛГ в генезе паховой задержки яичка. В экспериментальном изучении гипогонадотропного гипогонадизма, обусловленного нарушением синтеза и действия гонадотропин-рилизинг гормона показано нарушение пахово-мошоночной фазы опускания яичка. По данным клинического исследования, частота крипторхизма при полной форме гипогонадотропного гипогонадизма составила 40%, из которых 23% пациентов имели двусторонний крипторхизм, 17% – односторонний [Pitteloud, 2002].

2.2 Периоды физиологической активности гипоталамо-гипофизарно-гонадной системы

Итак, внутриутробное развитие плода – период высокой активности половых желез, результатом которой является дифференцировка наружных и внутренних гениталий. Гипоталамо-гипофизарно-гонадные взаимосвязи также формируются в этот период, способствуют развитию гонад, регулируют процесс опускания яичек в мошонку. Совокупность генетических и гормональных факторов обеспечивает полноценное формирование половой системы к рождению ребенка.

К моменту рождения уровень половых гормонов быстро снижается, а с 6–7 дня постнатального развития вновь происходит активация гонадотропной секреции. Транзиторная активация гипоталамо-гипофизарной системы и половых желез в постнатальном периоде получила название **мини-пубертат**. Визуальный осмотр наружных гениталий, пальпация и орхиометрия, проводимые у мальчика в этот период, не выявляют существенных изменений. Однако использование точных методов оценки позволяет определить увеличение объема гонад [Main KM et al, 2006]. Лабораторные исследования определяют повышение гонадотропинов, половых стероидов, антимюллера гормона и ингибина Б в сыворотке крови новорожденных мальчиков со второй недели жизни до третьего – шестого месяца постнатального развития [Grinspon RP, Rey RA, 2010]. Морфологические исследования тестикула обнаруживают пролиферацию

и созревание клеток Сертоли, специфические изменения клеток Лейдига [Zivkovic D, Hadziselimovic F, 2009]. Этот период имеет крайне важное значение для дальнейшего становления репродуктивной системы. Гормональное обследование мальчиков в возрасте 1–3 месяцев после рождения делает возможным прогнозирование пубертата и репродуктивной функции. Имеются данные об успешной заместительной терапии препаратами рекомбинантных гонадотропинов в этот период, позволяющей улучшить потенциал фертильности пациентов с врожденным гипогонадотропным гипогонадизмом [Bougnères P et al., 2008].

Период транзиторной постнатальной активности гипоталамо-гипофизарно-гонадной системы сменяется ювенильной паузой – периодом физиологического покоя половых желез. В это время уровень половых гормонов резко снижается и имеет допубертатные значения до наступления полового созревания. Исключение составляет антимюллеровый гормон, его уровень остаётся высоким в течение всего допубертатного периода и является маркером функционального созревания клеток Сертоли [Grinspon RP, Rey RA, 2010]. **Вместе с тем незначительное и постепенное увеличение секреции гормонов гипофиза и гонад в этот период имеет место, что косвенно подтверждает созревание диэнцефальных структур головного мозга.** Развития половых желез в этот период не происходит, оно тормозится гипофизарным гонадотропин-ингибирующим фактором, секреция которого регулируется гипоталамическими и эпифизарными нейропептидами. Гонадотропин-ингибирующий фактор очень похож на гонадотропный гормон по строению молекулы, а потому легко и прочно соединяется с рецепторами тех клеток, которые настроены на чувствительность к гонадотропинам. Никакого стимулирующего действия на половые железы он не оказывает, при этом перекрывает доступ к рецепторам гонадотропного гормона.

Следующим периодом активации гипоталамо-гипофизарно-гонадной системы является **пубертат**. Пубертат – транзиторный период между детством и половой зрелостью, контролируется комплексом нейроэндокринных факторов, обеспечивающих ряд физических и психических изменений, приводящих к физической, психической и репродуктивной зрелости организма. Начало пубертата определяется способностью центральной нервной системы индуцировать синтез и импульсную секрецию

гонадотропин-рилизинг гормона (ГТ-РГ). Результатом пульсирующей секреции ГТ-РГ является увеличение секреции гонадотропинов и стимуляция синтеза половых стероидов. Одновременно с этим повышается чувствительность гипофиза к действию гонадотропин-рилизинг гормона, происходит созревание рецепторного аппарата гонад. Лютеотропный гормон активно стимулирует синтез андрогенов в клетках Лейдига, под действием тестостерона и дигидротестостерона происходит развитие вторичных половых признаков. Фолликулостимулирующий гормон связывается с рецепторами клеток Сертоли, стимулируя продукцию ингибина Б. Уровень антимюллера гормона к началу пубертата снижается. Под действием ФСГ в период пубертата происходит увеличение массы семенных канальцев и созревание сперматозоидов в клетках Сертоли.

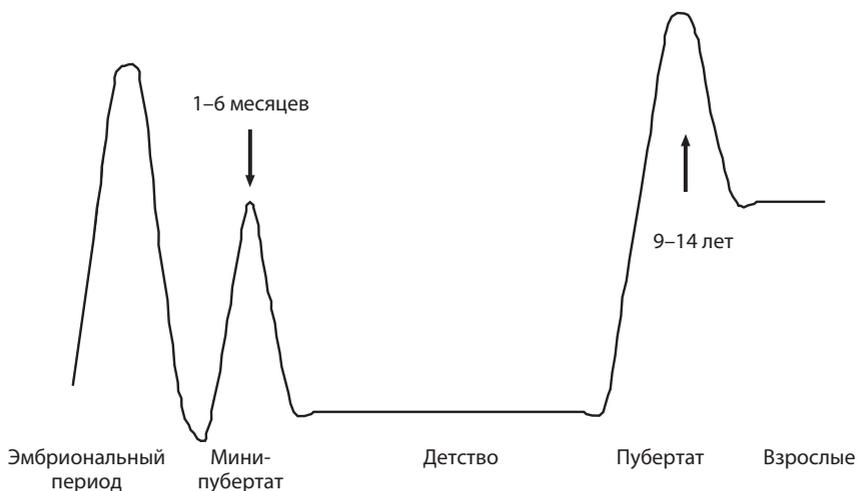


Рис. 2. Схема изменения активности гипоталамо-гипофизарно-гонадной у системы у мальчиков

Пубертатный период характеризуется становлением гипоталамо-гипофизарно-гонадных взаимосвязей, обеспечивающих работу половых желез по принципу отрицательной обратной связи. Снижение концентрации гонадотропинов на фоне пубертата является результатом обратного ингибирующего влияния половых стероидов. Учитывая особенности регуляции гонадотропной секреции, однократное исследование базаль-

ного уровня гонадотропинов, как правило, неинформативно. Динамический анализ образцов сыворотки крови имеет большее диагностическое значение в определении инициации прогрессирующего пубертата.

2.3 Синтез андрогенов в надпочечниках и гонадах

По биохимической классификации, соответствующей количеству атомов углерода в молекуле, андрогены являются С-19 стероидами [А.Д. Подтетнев, 2000]. Единым субстратом для биосинтеза всех стероидных гормонов в надпочечниках и гонадах является холестерин. Андрогены синтезируются из эфиров холестерина, образующихся в печени и поступающих в эндокринные железы в составе липопротеинов низкой плотности. Внутриклеточный транспорт холестерина к внутренней мембране митохондрий регулируется преимущественно стероидогенным регуляторным протеином StAR. Биосинтез стероидов осуществляется при участии ферментов двух групп: гидроксилазы/десмолазы и дегидрогеназы/изомеразы. Гидроксилазы входят в состав цитохром Р 450-зависимой группы оксидаз. Синтез ферментов стероидогенеза в надпочечниках регулируется АКТГ, в тестикулах – ЛГ. Схема биосинтеза андрогенов представлена на рисунке 3.



Рис. 3. Схема биосинтеза андрогенов в надпочечниках и гонадах

Первые три энзим-зависимых превращения являются общими для надпочечников и гонад и реализуются при участии ферментов 20,22 – холестерол-десмолазы, 17-α-гидроксилазы, 17,20-лиазы и 3-β-гидроксистероиддегидрогеназы. Заключительный этап биосинтеза половых стероидов происходит исключительно в клетках Лейдига при участии 17-β-гидроксистероиддегидрогеназы, катализирующей превращение андростендиола в

тестостерон, и периферических тканях при участии 5- α -редуктазы, катализирующей синтез дигидротестостерона [И.И. Дедов, Т.В. Семичева, 2002].

2.4 Биологическое действие андрогенов в период препубертата и пубертата

Андростендион и дегидроэпиандростерон (ДГЭА) синтезируются в тестикулах в незначительном количестве. Основной пул этих андрогенов является результатом надпочечникового стероидгенеза. Андростендион и ДГЭА являются промежуточными продуктами биосинтеза тестостерона, поэтому повышение их концентрации в сыворотке крови может быть результатом дефицита фермента одного их звеньев этой цепи. Уровень дегидроэпиандростерона существенно возрастает за два года до повышения тестостерона в сыворотке. Концентрация андростендиона в крови постепенно растёт, начиная примерно с 7 лет жизни, а после 30 лет плавно снижается.

Адренархе

Началу пубертата предшествует адренархе – период препубертатной активации надпочечников, характеризующийся значительным повышением продукции надпочечниковых андрогенов. Впервые повышение уровня надпочечниковых андрогенов было установлено в 1943 г. Натаном Талботом. Ученый измерил экскрецию 17-кетостероидов с мочой у здоровых детей препубертатного возраста и обнаружил их увеличение [Talbot NB, 1943]. Фаллер Олбрайт и его последователи определили, что появление аксилярного и лобкового оволосения у пациентов с дисгенезией гонад связано с секрецией надпочечниковых андрогенов [Albright F, 1942]. Ф. Олбрайт назвал этот процесс адренархе. Наступление адренархе соответствует возрасту 6–9 лет – приблизительно за 2 года до начала созревания гонад и манифестации физиологического пубертата. Маркером адренархе является увеличение продукции дегидроэпиандростерона и ДГЭА-сульфата, синтезирующихся в сетчатой зоне коры надпочечников. По результатам нескольких клинических исследований, уровень ДГЭА-сульфата более 40–50 мкг/дл соответствует наступлению адренархе [Kelnar CJH, Brook CGD 1983; Wierman ME et al., 1986]. **Регуляция адренархе** недостаточно изучена, но констатирована гиперплазия сетчатой зоны коры надпочечников и повышение активности ферментов стерои-

догенеза: цитохрома P450 c17 (CYP 17), ДГА-сульфотрансферазы (SULT2A1), 3 β -гидроксистероиддегидрогеназы 2 типа (HSD3B2). Изменение соотношения андрогенов в сыворотке крови является следствием нарушения функции соответствующих ферментов стероидогенеза [Nakatmura Y, 2009].

Биологическая роль адренархе

В двух независимых исследованиях проведена оценка роста у здоровых детей в период адренархе. Небольшой, но значимый скачок роста был обнаружен в возрасте от 6,5 до 8,5 лет [Zemel BS, Katz SH, 1986; Largo RH 1993]. Другими авторами показана положительная корреляция показателей костного возраста и ДГЭА у пациентов с преждевременным половым развитием на фоне лечения гонадотропин-рилизинг-гормоном и подавления секреции гонадотропинов [Wierman ME, 1986].

В проспективном исследовании, проводимом на большой когорте здоровых детей [Ong KK, Potau N, 2004], была обнаружена взаимосвязь между антропометрическими показателями в постнатальном периоде, избыточной прибавкой массы тела в течение препубертатного периода и высоким уровнем надпочечниковых андрогенов (дегидроэпиандростерона сульфата, андростендиона) в возрасте 8 лет для детей обоих полов. Полученные результаты показали, что исследование секреции андрогенов у детей препубертатного возраста имеет важное значение для определения риска возникновения инсулинорезистентности и центрального ожирения у взрослых.

Развитие лобкового оволосения у мальчиков, соответствующее стадиям P1 – P5 по Таннеру, прямо коррелирует с уровнем дегидроэпиандростерона, 17- β -тестостерона, 5- α -дигидротестостерона. Надпочечниковые андрогены активируют созревание гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси, инициируют центральные механизмы пубертата. Кроме того, они снижают уровень секс-стероид-связывающего глобулина (СССГ), тем самым могут влиять на темп полового созревания за счет увеличения концентрации свободного тестостерона [Lourdes IN, 2000].

Тестостерон является основным продуктом секреции яичек в результате их стимуляции ЛГ. Большая часть тестостерона (20–78%), поступающего в кровь, связывается со специфическим транспортным белком СССР или глобулином, связывающим половые гормоны (ГСПГ). Эта связь непрочная, тестостерон легко высвобождается, превращаясь в активную

форму, и оказывает биологическое воздействие на андрогенные рецепторы тканей. Физиологически высокий уровень ГСПГ сохраняется у мальчиков в течение всего допубертатного периода, а к началу полового созревания его уровень резко снижается [K Sorensen, AM Anderson, 2007].

Тестостерон, доминирующий среди циркулирующих андрогенов, является одновременно активным гормоном и прогормоном для синтеза 5 α -дигидротестостерона. Тестостерон диссоциирует от ГСПП и диффундирует в клетку. Конверсия тестостерона в дигидротестостерон происходит непосредственно в андроген-зависимых тканях и регулируется двумя изоэнзимами: 5 α -редуктазой I и II типа. Известно, что основное биологическое действие 5 α -дигидротестостерона проявляется внутриутробно в развитии наружных половых органов плода мужского пола. В период пубертата ДГТ несет основную ответственность за рост и дифференцировку предстательной железы [Wilson JD., 1996]. Методом иммуногистохимии ферментативная активность 5 α -RD2 была определена и в других уrogenитальных тканях: придатках, яичках, gubernaculum, кавернозных телах. Мутация гена 5 α RD2 приводит к редкому аутосомно-рецессивному варианту нарушения формирования пола. Подавление активности данного фермента – к регрессии предстательной железы [Zhu YS, Imperato-McGinley JL, 2009]. Экспрессия 5 α -RD 1 типа происходит в печени, коже, эпителиальных клетках придатков.

Андрогены осуществляют своё действие посредством связывания с внутриклеточным андрогеновым рецептором. Взаимодействие андрогена с рецептором индуцирует ряд конформационных изменений, таких как димеризация, внутриклеточный транспорт и связывание со специфической последовательностью ДНК, целью которой является транскрипция гена – синтез РНК [Quigley CA, De-Bellis A et al., 1995]. **Дигидротестостерон** обладает большей афинностью к АР по сравнению с тестостероном, главным образом за счет того, что тестостерон быстро освобождается из своей связи с рецептором. Другие стероиды, такие как андростендион, ДЭАС, эстрадиол, прогестерон имеют еще меньшее сродство к АР, нежели тестостерон.

Очевидными андроген-зависимыми органами являются мужские гонады и придатки, наружные гениталии, предстательная железа, семенные пузырьки, мышцы, кожа. Однако, АР найден и во многих других тканях: гипоталамусе, гипофизе, почке, селезенке, сердце, слюнных железах [Weinbauer GF, Luetjens CM, 2010]. В эмбриональный период андрогены

определяют дифференцировку наружных гениталий. В период пубертата обеспечивают формирование мужского фенотипа.

В яичках AP экспрессируется в клетках Лейдига, клетках Сертоли, перитубулярных клетках. Экспериментальные исследования показали, что связь андрогенов с AP клеток Сертоли необходима для созревания сперматоцитов [Chang C, Chen YT, 2004].

Мышцы имеют очень низкую активность 5 альфа-редуктазы, но высокую активность гидроксистероиддегидрогеназы. В скелетных мышцах может осуществляться конверсия андростеидона в тестостерон и эстрогены. Основным андрогеном мышц тестостерон оказывает прямой анаболический эффект на гладкую и поперечно-полосатую мускулатуру с увеличением мышечной массы и гипертрофией волокон. Количество волокон при этом не изменяется. Как следствие действия тестостерона увеличивается синтез РНК и гликогена поперечно-полосатых мышечных волокон. Отсутствие секреции тестостерона может привести к атрофии мышц [Weinbauer GF, Luetjens CM, 2010].

Андрогены и эстрогены стимулируют минерализацию костной ткани, увеличивают костную плотность. Метаболизм кости обусловлен взаимодействием тестостерона и эстрадиола. Тестостерон способствует образованию костной ткани. Эстрадиол тормозит как образование так и резорбцию кости [Valimaki VV, Alfthan H et al., 2004]. **Результатом дефицита половых стероидов является остеопороз.** В период пубертата увеличение линейного роста кости прямо коррелирует с увеличением концентрации тестостерона. К завершению пубертата происходит закрытие эпифизарных зон роста. При низкой концентрации гормона эти события могут задерживаться.

В период пубертата происходит тестостерон-зависимый рост гортани в длину. Одновременно с этим происходит увеличение длины и массы голосовых связок, приводящее к понижению голосового регистра [Claassen H, Monig H, 2006]. После завершения периода полового созревания AP теряется, поэтому модификация голоса не может быть достигнута у взрослых мужчин с гипогонадизмом.

В центральной нервной системе также возможна конверсия тестостерона в дигидротестостерон, однако активность ферментов и распределение рецепторов неоднородно в различных зонах мозга. Развитие мозга по мужскому типу детерминировано действием тестостерона. По-

ловая идентификация, поведение, сексуальная ориентация программируются в течение внутриутробного периода развития [Zitzmann M, 2006]. Существует тесная взаимосвязь между уровнем андрогенов и телесной и духовной деятельностью человека. Андрогены влияют на работоспособность, настроение, ощущение уверенности в себе.

Помимо очевидных точек приложения, андрогены влияют на функцию печени, стимулируя синтез белка. Наличие AR в костном мозге обуславливает стимуляцию функции эритропоэза. Влияние андрогенов на жировой обмен характеризуют исследования, подтверждающие снижение уровня ЛПВП при низком уровне тестостерона. Один из механизмов влияния андрогенов на артериальное давление обусловлен стимуляцией выработки эритропоэтина. С другой стороны прогипертензивный эффект обусловлен влиянием на ренин-ангиотензин-альдостероновую систему [Weinbauer GF et al., 2010].

Изменение уровня гонадотропинов и половых стероидов на фоне нормально протекающего полового созревания обусловлено их взаиморегулирующим влиянием друг на друга и определяет клиническую стадию полового развития. Диагностика патологии полового развития основана на комплексной оценке гонадотропинов и половых стероидов в сыворотке крови пациента, определении соотношения андрогенов, вычислении доли свободного тестостерона, обладающего биологической активностью. Патология биосинтеза и метаболизма андрогенов приводит к дефициту или отсутствию вирилизации и проявляется у новорожденных мальчиков нарушением формирования пола, а период пубертата – неправильным развитием вторичных половых признаков, у взрослых – нарушением функции сперматогенеза. Следующий раздел посвящен современным методам определения репродуктивных гормонов и оценке результатов лабораторных исследований.

3. ЛАБОРАТОРНЫЕ МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ПОЛОВОГО РАЗВИТИЯ МАЛЬЧИКОВ

Для клинического определения стероидных гормонов используются радиоиммунологический анализ, высокочувствительная тандемная хроматография, иммунохемилюминисцентный анализ, иммуноферментный

анализ. Наиболее совершенным и эффективным способом определения стероидов является жидкостная или газовая хроматография с последующей масс-спектрометрией, позволяющая выделить стероид и провести его количественное определение [Меньшиков В.В., 2005; Courant F., 2010]. Однако применение данного метода ограничено высокой стоимостью, трудоёмкостью. Отсутствие достаточного клинического опыта создаёт трудности при оценке получаемых результатов.

В основу методов радиоиммунологического, иммуноферментного, иммунофлуоресцентного, иммунолюминесцентного анализов положено специфическое связывание исследуемого антигена со специфическим белком – антителом, с обязательным участием меченых антител или меченого антигена (конъюгата). Название метода зависит от вещества, которое используется в качестве метки: радиоактивное вещество, фермент, флуоресцирующая группа, люминесцирующее вещество. Регистрация результатов радиоиммунологического анализа проводится радиометрией. Регистрация результатов иммунохимических анализов заключается в измерении оптической плотности окрашенных растворов или интенсивности флуоресценции и хемилюминесценции. Тест-системы, в которых предусмотрено использование флуоресцентных или люминесцентных продуктов ферментативной реакции обладают большей чувствительностью.

Радиоиммунологический анализ (РИА), обладающий высокой чувствительностью, специфичностью и точностью можно отнести к стандартным методам лабораторной диагностики. Недостатком РИА является необходимость специального оснащения лаборатории для работы с радиоактивными материалами [А.И. Карпищенко, 2002; В.В. Меньшиков, 2005]

В практической работе наиболее информативным, распространенным и доступным способом определения концентрации гормонов в биологических жидкостях является твердофазный иммуноферментный анализ (ИФА). Метод основан на иммуносорбции уникального участка молекулы определяемого соединения специфическими антителами. Индикация образующего комплекса антиген-антитело осуществляется введением меченых ферментами компонентов, влияющих на степень цветной реакции. Регистрация образовавшихся на твердой фазе иммунных комплексов осуществляется высокочувствительным физико-химическим

методом. Чувствительность иммуноферментного анализа позволяет определять минимальные компоненты вещества (нанogramмы).

При использовании неконкурентного ИФА в системе присутствуют фиксированные на твердой фазе антитела и соответствующие ему центры связывания (АГ) анализируемого соединения. После инкубации не прореагировавшие компоненты реакции удаляются отмыванием, после чего добавляется избыток меченых антител, специфичных этому же антигену. Продукт ферментативной реакции представляет собой тройной иммунный комплекс типа «сэндвич», иммобилизованный на твердой фазе. Количество продукта соответствует интенсивности получаемого окрашивания и прямо пропорционально количеству исследуемого соединения. «Сэндвич»-метод может быть использован для связывания только тех АГ, на поверхности которых имеется не менее 2 антигенных детерминант.

Если на первой стадии иммуноферментного исследования одновременно присутствуют анализируемое соединение и его аналог (исследуемое соединение, меченное ферментом и фиксированное на твердой фазе), конкурирующий за ограниченное количество центров специфического связывания, то метод является конкурирующим. Среди конкурирующих методов возможны две схемы: прямой и непрямой метод. В прямом конкурирующем методе используются иммобилизованные на твердой фазе специфические АТ, к которым добавляют определяемое вещество и фиксированную концентрацию меченных ферментом АГ, конкурирующие за связь с АТ. После инкубации и отмывки носителя определяют ферментативную активность образовавшихся иммунных комплексов.

В непрямом конкурирующем анализе на твердой фазе фиксированы меченные ферментом АТ (конъюгат АГ-белок), к которому добавляют исследуемое вещество и фиксированную концентрацию немеченых специфических АТ. После инкубации и отмывки определяют ферментативную активность иммунных комплексов, образовавшихся на твердой фазе. Величина регистрируемого сигнала в прямом и непрямом конкурирующем анализе находится в пропорциональной зависимости от концентрации исследуемого вещества.

Преимуществами прямого конкурирующего метода является минимальное количество этапов и возможность максимальной автоматизации

исследования. Но необходимо учитывать возможность влияния других компонентов образца на активность фермента. В непрямом конкурирующем исследовании анализируемый образец и меченный реагент вводятся в систему на разных этапах, что исключает нежелательное искажение каталитических свойств ферментативной метки.

Сложности в клинической интерпретации результатов гормональных исследований обусловлены разнообразием коммерческих тест-систем, использованием калибраторов и контрольных материалов различных производителей. При сравнении референтных интервалов, представленных в инструкциях к тест-системам производителей, обнаруживаются существенные различия. Референтные интервалы часто не учитывают физиологические периоды изменения функциональной активности эндокринных желез, следовательно, не могут быть использованы в детском и подростковом возрасте.

«Золотым» стандартом лабораторной практики является разработка собственных референтных значений. При определении референтных интервалов концентрации гормонов для детского возраста ключевым моментом является распределение на группы. Распределение обследованных согласно хронологическому возрасту не всегда обосновано, т.к. не учитывает особенности их физического и полового развития. Возможно разделение на группы соответственно стадии полового созревания [Дедов И.И., 2002; Chada M., 2003]. Такой подход позволяет получить статистически достоверный диапазон значений, сопоставить результаты гормонального обследования с клинической стадией полового созревания.

Для количественного определения половых гормонов в сыворотке крови в настоящее время используются наборы реагентов целого ряда отечественных и зарубежных фирм. Одну из наиболее полных панелей наборов реагентов для определения половых гормонов представляет ЗАО «ДРГ Техсистемс». В нее входят такие наборы реагентов, как «DRG Лютеинизирующий гормон ELISA» и «DRG Фолликулостимулирующий гормон ELISA», «DRG Тестостерон ELISA», «DRG Тестостерон слюны ELISA», «DRG Свободный тестостерон ELISA», «DRG глобулин связывающий половые гормоны ELISA», «DRG андростендион ELISA», «DRG Андростендион слюны ELISA», «DRG Дигидротестостерон ELISA», «DRG 17-альфа-

гидроксипрогестерон слюны ELISA». Наборы реагентов «DRG ELISA» укомплектованы паспортом, инструкцией, необходимыми реагентами и планшетом на 96 измерений. Тест-система рассчитана на проведение анализа в дубликатах 6 калибровочных проб, контрольной сыворотки и 41 исследуемого образца.

3.1 Определение гонадотропинов и половых стероидов у здоровых мальчиков при помощи тест-наборов ЗАО ДРГ «Техсистемс»

При помощи тест-наборов ЗАО ДРГ «Техсистемс» для ИФА проведено гормональное обследование 40 здоровых мальчиков в возрасте от 1,5 до 3 месяцев – период мини-пубертата и 100 здоровых мальчиков в возрасте от 10 до 16 лет – период пубертата.

Определение гонадотропинов

По химической структуре ЛГ и ФСГ – гликопротеиды. Углеводные компоненты молекулы ЛГ и ФСГ включают галактозу, маннозу, глюкозамин, галактозамин, фукозу и сиаловые кислоты. Различие в углеводных компонентах молекул гонадотропинов заключается в количественном их содержании, и главным образом, это касается сиаловых кислот. Белковые части молекул ЛГ и ФСГ представлены α - и β -субъединицами, соединёнными двумя дисульфидными мостиками. Субъединицы кодируются различными генами. α -Субъединица, идентичная для 4 гормонов (ФСГ, ЛГ, ХГ и ТТГ), кодируется геном, локализованным в длинном плече 6-й хромосомы (6q12.21.), и состоит из 92 аминокислотных остатков. β -Субъединица ЛГ, которая определяет биологическое действие гормона, специфически взаимодействуя с мембранным рецептором, представлена 121 аминокислотой. Ген, кодирующий структуру β -субъединицы локализован в скоплении генов LNB/CGB длинного плеча 19-й хромосомы (19q13.32.). β -Субъединица ФСГ кодируется геном, который располагается на коротком плече 11-й хромосомы. Субъединицы в отдельности лишены биологической активности. Только их комплекс приводит к формированию биологически активной макромолекулярной структуры за счет гидрофобных взаимодействий.

Наборы реагентов «DRG Лютеинизирующий гормон ELISA» и «DRG Фолликулостимулирующий гормон ELISA» предназначены для определе-

ния концентрации лютеинизирующего (ЛГ) и фолликулостимулирующего (ФСГ) гормонов в сыворотке и плазме крови методом твердофазного иммуноферментного анализа, основанном на принципе конкурентного связывания.

Принцип метода: микротитровальные лунки содержат моноклональную антисыворотку к уникальному антигенному участку β -субъединицы молекулы гонадотропина (ЛГ или ФСГ). Эндогенный гонадотропин образцов сыворотки инкубируется в лунках с ферментным конъюгатом, содержащим анти-гонадотропин-антисыворотку, меченную пероксидазой хрена. В результате инкубации образуется тройной иммунный комплекс, иммобилизованный на твердой фазе. Реакция прекращается добавлением стоп-раствора, несвязанный материал удаляется. Интенсивность полученного окрашивания соответствует количеству связавшегося конъюгата и прямо пропорциональна концентрации гонадотропина (ЛГ / ФСГ) в сыворотке.

В качестве биологического материала использовали сыворотку крови человека в количестве 100 мкл. Общее время проведения анализа 90–100 мин.

Таблица 1

Содержание гонадотропинов в сыворотке крови здоровых мальчиков в зависимости от возраста и стадии полового развития(мМЕ/мл)

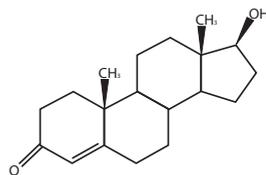
| | 1–3 месяца, (мини-пубертат) | | | 11–13 лет G ₂ | | | 13–15 лет G ₃₋₄ | | |
|--|--------------------------------|---------------|--------|-----------------------------|---------------|--------|-------------------------------|---------------|--------|
| | ЛГ | ФСГ | ЛГ/ФСГ | ЛГ | ФСГ | ЛГ/ФСГ | ЛГ | ФСГ | ЛГ/ФСГ |
| Медиана Me | 3,3 | 0,9 | 3,6 | 1,5 | 2 | 0,75 | 3,4 | 1,3 | 2,6 |
| Интеркв-ый размах [Q ₁ ; Q ₃] | [2,3; 4,5] | [0,6; 1,2] | | [1,3; 1,7] | [1,5; 2,4] | | [2,2; 4] | [0,8; 1,6] | |
| Доверительный интервал [95% ДИ] | [2,7; 4,1] | [0,7; 1,2] | | [0,8; 1,7] | [1,1; 2,6] | | [2,6; 3,9] | [0,8; 1,6] | |

Минимальная определяемая данными наборами концентрация гонадотропинов (ЛГ и ФСГ) составляет 2 мМЕ/мл.

Хук-эффект вплоть до концентрации ЛГ 4000 мМЕ/мл и ФСГ 3000 мМЕ/мл не наблюдается.

Определение тестостерона

Тестостерон (17 β -гидрокси-4-андростен-Зон) является стероидом с числом атомов углерода С 19 с ненасыщенной цепью между С-4 и С-5, кетогруппой в положении С-3 и гидроксильной группой в β -положении в С-17. Основа структуры состоит из четырех соединенных вместе колец: три циклогесановые и одно цикlopentanовое. Метаболические превращения тестостерона осуществляются двумя путями. Один путь включает в себя окисление в 17-м положении, другой – восстановление двойной связи кольца А и 3-кетогруппы. В результате первого пути, функционирующего во многих тканях, в том числе и в печени, образуются 17-кетостероиды, как правило, лишенные активности или обладающие более слабой активностью, чем исходное соединение. Второй путь, менее эффективный, протекает главным образом в тканях-мишенях и ведет к образованию активного метаболита – дигидротестостерона (ДГТ), а также эстрадиола и андростендиола.



Тест-система «DRG Testosterone ELISA» предназначена для количественного определения тестостерона в сыворотке или плазме человека методом прямого конкурентного иммуноферментного анализа.

Метод основан на иммуносорбции уникального антигенного участка молекулы тестостерона. Микротитровальные лунки содержат антисыворотку к молекуле тестостерона. Образцы пациентов в аликвотах, содержащие эндогенный тестостерон, инкубируются в лунках с конъюгатом тестостерона, меченного пероксидазой хрена. После инкубации несвязавшийся конъюгат смывается. Интенсивность полученного окрашивания соответствует количеству связавшегося конъюгата и обратно пропорциональна концентрации тестостерона в сыворотке.

В качестве биологического материала использовали сыворотку крови человека в количестве 100 мкл. Общее время проведения анализа 90–100 мин.

Концентрация тестостерона в сыворотке крови здоровых мужчин 20–50 лет имеет диапазон 2,0–6,9 нг/мл. Концентрация тестостерона, полученная нами в результате обследования здоровых мальчиков представлена в таблице:

Концентрация тестостерона в группах здоровых детей (нг/мл)

| Показатели | Здоровые мальчики | | |
|-------------------------|-------------------------------|-----------------------------|-------------------------------|
| | 1–3 месяца, G ₁ | 11–13 лет G ₂ | 13–15 лет G ₃₋₄ |
| Среднее, M±SD | 1,6±0,53 | 2,03±0,9 | 7,5±2,2 |
| Медиана | 1,6 | 1,95 | 7,8 |
| Интерквартильный размах | [1,3;1,8] | [1,35; 2,1] | [5,3; 9,3] |

Тест система позволяет определить концентрацию тестостерона в диапазоне от 0 до 16 нг/мл.

Чувствительность составляет 0,083 нг/мл.

Точность: внутритестовый анализ – вариабельность менее 5%, межтестовый анализ – вариабельность менее 10%.

Определение свободного тестостерона

Набор реагентов «DRG Free Testosterone ELISA» предназначен для количественного определения свободного тестостерона в сыворотке или плазме человека.

Большинство тестостерона в крови (60%) связано с ГСПГ (глобулин, связывающий половые гормоны) и в меньшем количестве с другим протеином. Только измерение свободного тестостерона (<1% общего тестостерона) позволяет определить биологически-активный гормон. Измерение свободного тестостерона более информативно, чем измерение общего тестостерона, особенно в случаях, когда уровень ГСПГ повышен или снижен (например, гипотиреозидизм и ожирение).

Набор реагентов «DRG Тестостерон свободный ELISA» для предназначен для определения концентрации свободного тестостерона в сыворотке и плазме крови методом иммуносорбции, основанном на связывании уникальных антигенных участков молекул тестостерона специфическими антителами, с использованием твердофазного иммуноферментного анализа.

Принцип метода: микротитровальные лунки содержат специфические антитела к молекуле свободного тестостерона. Образцы пациентов в аликвотах, содержащие эндогенный свободный тестостерон, инкубиру-

ются в лунках с конъюгатом тестостерона, меченного пероксидазой хрена. Интенсивность проявляемого окрашивания соответствует количеству связанной пероксидазы и обратно пропорциональна концентрации свободного тестостерона в образце пациента.

В качестве биологического материала использовали сыворотку крови человека в количестве 100 мкл. Общее время проведения анализа 90–100 мин.

Концентрация свободного тестостерона в сыворотке крови здоровых мужчин 20–50 лет имеет диапазон 4,5–42 пг/мл, медиана 14 пг/мл, у детей представлен в табл. Тест система позволяет определить концентрацию тестостерона в диапазоне от 0 до 16 нг/мл. Чувствительность составляет 0,083 нг/мл.

Точность: внутритестовый анализ – вариабельность менее 5%, межтестовый анализ – вариабельность менее 10%.

Набор реагентов «DRG Тестостерон слюны ELISA» предназначен для определения концентрации свободного тестостерона в слюне с использованием твердофазного иммуноферментного анализа.

Метод основан на принципе конкурентного связывания и сепарации. Незвестное количество свободного тестостерона в образцах пациента и определенное количество тестостерона, конъюгированного пероксидазой хрена, конкурируют за связывание со специфическим участком моноклональной тестостероновой антисыворотки. Интенсивность окрашивания, получаемого в результате конкурирующей реакции, обратно пропорциональна концентрации свободного тестостерона в образцах пациента.

В качестве биологического материала использовали слюну человека в количестве 100 мкл. Общее время проведения анализа 90–100 мин.

Концентрация свободного тестостерона в слюне здоровых мужчин 21–30 лет имеет диапазон 47,2–136,2 пг/мл. Референсный интервал значений для исследуемой возрастной группы ранее не определен.

Результаты:

В таблице 4 представлена концентрация свободного тестостерона слюны у практически здоровых детей, распределенных по стадиям полового развития, в сопоставлении с концентрацией свободного тестостерона сыворотки крови, исследованной при помощи набора реагентов «DRG Тестостерон свободный ELISA»

**Содержание свободного тестостерона в слюне и сыворотке
практически здоровых детей в зависимости от стадии полового развития, пг/мл**

| № п/п | Группа 1 Мальчики, имеющие стадию пубертата G 2 | | Группа 2 Мальчики, имеющие стадию пубертата G 3–4 | |
|----------|--|---------------------------|--|---------------------------|
| | Тестостерон св. слюны | Тестостерон св. сыворотки | Тестостерон св. слюны | Тестостерон св. сыворотки |
| Me | 13,3 | 7,6 | 53,2 | 30,3 |
| [Q1; Q3] | [10; 16,2] | [4,2; 11,4] | [44,6; 69,6] | [20,5; 44] |
| ДИ | [9,3 -21,5] | [3,2 – 13,2] | [44,6 – 69,6] | [25 – 44,6] |

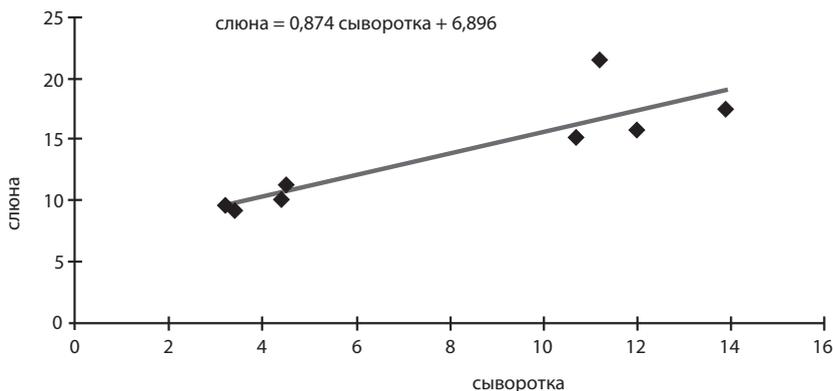


Рис. 4. Взаимосвязь показателей свободного тестостерона слюны и сыворотки крови мальчиков, имеющих II стадию пубертата

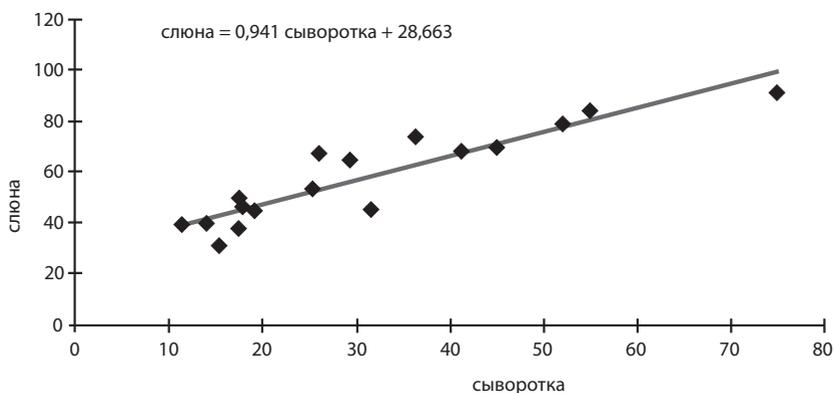


Рис. 5. Взаимосвязь показателей свободного тестостерона слюны и сыворотки крови мальчиков, имеющих III–IV стадии пубертата

Установлены статистически значимые различия содержания свободного тестостерона слюны между группами мальчиков, имеющих различные стадии пубертата по Таннеру: $Z = 3,9$, $p = 0,0005$

Установлена сильная положительная корреляция между показателями тестостерона слюны и сыворотки крови практически здоровых детей. Коэффициент корреляции между показателями свободного тестостерона слюны и сыворотки в группе 1 составил $r = 0,87$, $p = 0,002$, в группе 2: $r = 0,91$, $p = 0,0002$.

Определение глобулина, связывающего половые гормоны

ГСПГ – это гликопротеин, который специфически связывает половые гормоны (тестостерон, эстрадиол, прогестерон и др.), снижая их биологическую активность. ГСПГ состоит из двух идентичных субъединиц и содержит один участок связывания стероидных гормонов. Его выработка осуществляется преимущественно клетками печени и выделение зависит от многих факторов: соотношения андрогена и эстрогена, тиреоидных гормонов, инсулина и некоторых других. ГСПГ участвует в транспортировке половых гормонов в плазме и его концентрация, является фактором активности половых гормонов. Кроме транспортной роли ГСПГ защищает тестостерон и эстрадиол от метаболической инактивации, выполняя депонирующую функцию.

Набор реагентов «DRG ГСПГ ELISA» предназначен для определения концентрации глобулина, связывающего половые гормоны (ГСПГ) в сыворотке и гепариновой плазме методом непрямого конкурирующего иммуноферментного анализа на твердой фазе.

Микротитровальные лунки содержат моноклональное антитело специфичное к ГСПГ и другое моноклональное антитело. ГЛСП образца пациента конъюгируется пероксидазой хрена, а затем связывается с антителами на твердой фазе. После этапа промывки и инкубации с конъюгатом пероксидазы хрена, проводится повторная промывка лунок и добавляется ферментный субстрат. Ферментная реакция пропорциональна количеству ГСПГ в исследуемой пробе. Реакция останавливается введением стоп-раствора и регистрируют оптическую плотность на микропланшетном ридере.

Результаты представлены в таблице 4.

**Содержание ГСПГ в сыворотке крови
практически здоровых мальчиков в период пубертата, нмоль/л**

| | |
|--|-------------------|
| | Здоровые мальчики |
| Медиана | 39,7 |
| Интерквартильный размах [Q ₁ ; Q ₃] | [13; 52,8] |
| Доверительный интервал [95% CI] | [19 – 51,4] |

Тест система «DRG SHBG ELISA» позволяет определить минимальную концентрацию ГСПГ 0,2 нмоль/л.

Точность: внутритестовый анализ – вариабельность менее 10%, меж-тестовый анализ – вариабельность менее 12%.

Набор был протестирован на эффект «петли» с концентрацией ГСПГ до 1000 пмоль/л. Эффекта «петли» не наблюдалось.

Определение андростендиона

Среди стероидных гормонов андростендион является важнейшим андрогеном, являясь предшественником тестостерона и эстрогена.

Тест-системы «DRG Androstenedione ELISA» предназначена для определения концентрации андростендиона в сыворотке (плазме) и «DRG Salivary Androstenedione ELISA» – в слюне методом твердофазного иммуноферментного анализа, основанном на принципе конкурентного связывания.

Метод основан на принципе конкурентного связывания. Ячейки микропанели содержат антисыворотку к уникальному антигенному участку молекулы андростендиона. Эндогенный андростендион образцов пациентов конкурируют с андростендионом, антител. После инкубации ячейки планшета промываются. Количество связанного конъюгата пероксидазы обратно пропорционально концентрации андростендиона в образце. После добавления субстратного раствора и остановки реакции стоп-раствором интенсивность полученного окрашивания соответствует количеству связавшегося андростендиона в образцах.

Количество биологического материала, необходимое для проведения анализа в сыворотке (плазме), 20 мкл. Время проведения анализа 90–100 мин.

Тест-система «DRG Androstenedione ELISA» позволяет определить минимальную концентрацию 0,043 нг/мл. Тест система DRG Salivary Androstenedione ELISA» позволяет определить минимальную концентрацию андростендиона 5 пг/мл.

Точность: внутритестовый и межтестовый анализ – вариабельность менее 10%.

Результаты представлены в таблице 5.

Таблица 5

Содержание андростендиона в сыворотке крови здоровых мальчиков в зависимости от возраста, нг/мл

| | Возраст детей | |
|--|------------------------|-----------------------|
| | Группа 1 1–3 месяца | Группа 2 12–15 лет |
| Медиана | 0,15 | 1,9 |
| Интерквартильный размах [Q ₁ ; Q ₃] | [0,1; 0,2] | [1,1; 2,1] |
| Доверительный интервал [95% CI] | [0,1– 0,2] | [1,3 –2,1] |

Установлены статистически значимые различия содержания андростендиона у мальчиков в постнатальный период (мини-пубертата) и в период пубертата, $U = 6,9$, $p < 0,0001$ Определен интервал референсных значений андростендиона для указанных возрастных групп при использовании тест-системы «DRG Андростендион ELISA»

Тест-система «DRG Androstenedione ELISA» позволяет определить минимальную концентрацию 0,043 нг/мл. Тест-система «DRG Salivary Androstenedione ELISA» позволяет определить минимальную концентрацию андростендиона 5 пг/мл.

Точность: внутритестовый и межтестовый анализ – вариабельность менее 10%.

Таблица 6

Содержание андростендиона в слюне и сыворотке практически здоровых детей в период полового развития

| | Андростендион слюны, пг/мл | Андростендион сыворотки, нг/мл |
|------------------------------------|----------------------------|--------------------------------|
| Me | 47,1 | 1,9 |
| [Q ₁ ; Q ₃] | [39,3; 53,3] | [1,5; 2,1] |
| ДИ | [37,3 – 53,4] | [1,5 – 2,1] |

Установлена средней силы положительная корреляция между показателями андростендиона слюны и сыворотки крови практически здоровых детей. Коэффициент корреляции между показателями свободного тестостерона слюны и сыворотки в группе 1 составил $r = 0,5$, $p = 0,012$.

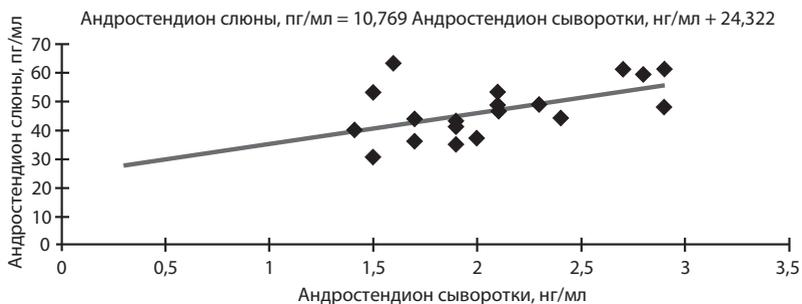


Рис.6. Взаимосвязь показателей андростендиона слюны и сыворотки крови здоровых мальчиков в период пубертата

Определение дегидроэпиандростерона

ДГЭА-сульфат – гормон, образующийся в надпочечниках и яичках и обладающий андрогенными свойствами.

Набор реагентов «DRG DHEA-S ELISA» предназначен для количественного и качественного определения концентрации в сыворотке и плазме крови методом конкурентного иммуноферментного анализа.

Микротитровальные лунки содержат моноклональные антитела к уникальному участку молекулы дегидроэпиандростендиона сульфата. Эндогенный дегидроэпиандростендиона сульфат конкурирует с дегидроэпиандростендионом, конъюгированным пероксидазой хрена, за связывание со специфическим участком моноклональной сыворотки. После инкубации несвязавшийся конъюгат удаляется промывочным раствором и вводится раствор субстрата. Интенсивность полученного окрашивания соответствует количеству связавшегося конъюгата и обратно пропорциональна концентрации дегидроэпиандростендиона сульфата в сыворотке крови пациента.

Результаты представлены в таблице 7.

Таблица 7

Содержание дегидроэпиандростерона в сыворотке крови практически здоровых детей в зависимости от возраста, мкг/мл

| | Возраст детей | |
|--|------------------------|-----------------------|
| | Группа 1 1–3 месяца | Группа 2 12–15 лет |
| Медиана | 0,2 | 1,7 |
| Интерквартильный размах [Q ₁ ; Q ₃] | [0,1; 0,3] | [1,3; 2,1] |
| Доверительный интервал [95% CI] | [0,1–0,3] | [1,4–1,9] |

Тест система «DRG DHEA-S ELISA» позволяет определить концентрацию ДГЭА-сульфата в диапазоне от 0 до 10 мкг/мл.

Аналитическая чувствительность составляет 0,044 мкг/мл.

Точность: внутритестовый и межтестовый анализ – вариабельность менее 10%.

Определение дигидротестостерона

Тестостерон и дигидротестостерон в клетке связываются с одними и теми же рецепторами, но аффинность ДГТ к рецептору существенно выше, чем у тестостерона, и только он оказывает влияние на формирование вторичных половых признаков.

Тест-система «DRG DHT ELISA» предназначена для определения концентрации дигидротестостерона в сыворотке и плазме крови методом твердофазного иммуноферментного анализа, основанном на принципе конкурентного связывания.

В микротитровальных ячейках иммобилизованы антитела к уникальному участку 5-альфа-дигидротестостерона. Неизвестный антигенный участок эндогенного дигидротестостерона конкурирует с антигеном, меченным ферментов. За ограниченное количество сайтов антител на поверхности твердой фазы. После инкубации и промывки несвязавшегося материала в систему сводится субстратный раствор, вызывающий цветную реакцию. Интенсивность окрашивания обратно пропорциональна концентрации ДГТ в образце.

Результаты представлены в таблице 8.

Таблица 8

Содержание дигидротестостерона в сыворотке крови здоровых мальчиков в зависимости от возраста, пг/мл

| | Возраст детей | |
|--|--------------------------|-------------------------|
| | Группа 1 1 – 3 месяца | Группа 2 12 – 15 лет |
| Медиана | 284 | 852 |
| Интерквартильный размах [Q ₁ ; Q ₃] | [178; 358] | [606,5; 1156] |
| Доверительный интервал [95% CI] | [210; 328] | [775,3; 984] |

Установлены статистически значимые различия содержания дигидротестостерона у мальчиков в постнатальный период (мини-пубертата) и в период пубертата, $U = 6,4$, $p < 0,0005$.

Тест-система «DRG DHT ELISA» позволяет определять концентрацию ДГТ в диапазоне 0–2500 пг/мл. Чувствительность метода составляет 6,0 пг/мл.

Определение 17-альфа-гидроксипрогестерона слюны

Набор реагентов «DRG 17-альфа-гидроксипрогестерон слюны ELISA» предназначен для определения концентрации 17-альфа-гидроксипрогестерона (17-ОНП) в слюне с использованием твердофазного иммуноферментного анализа.

Метод основан на принципе конкурентного связывания. Микропанели содержат специфическую поликлональную антисыворотку к уникальному антигенному участку молекулы 17-гидроксипрогестерона. Неизвестное количество 17-гидроксипрогестерона в образцах слюны пациента и определенное количество 17-гидроксипрогестерона, конъюгированного пероксидазой хрена, конкурируют за связывание со специфическим участком поликлональной антисыворотки. Интенсивность окрашивания, получаемого в результате конкурирующей реакции, обратно пропорциональна концентрации свободного тестостерона в образцах пациента.

В качестве биологического материала использовали слюну человека в количестве 100 мкл. Общее время проведения анализа 90–100 мин.

Таблица 9

Содержание 17-альфа-гидроксипрогестерона в слюне практически здоровых детей 12–15 лет, пг/мл

| | 17-онп, пг/мл |
|--|---------------|
| Медиана | 20,4 |
| Интерквартильный размах [Q ₁ ; Q ₃] | [8,6; 34,1] |
| Доверительный интервал [95% CI] | [9,7 – 32,7] |

Аналитическая чувствительность составляет 2,5 пг/мл, функциональная чувствительность – 3,6 пг/мл. Диапазон допустимых значений для детей 6–12 лет: 3,0–32,9 пг/мл.

Референсный интервал значений для исследуемой возрастной группы ранее не определен.

4. ПОЛОВОЕ РАЗВИТИЕ ЗДОРОВЫХ МАЛЬЧИКОВ 8–16 ЛЕТ

Группа обследованных детей:

Оценка состояния половой системы и полового развития проведе-

на у 75 практически здоровых мальчиков первых месяцев жизни (период мини-пубертата) и 873 практически здоровых мальчиков 8–16 лет г. Саратова. Согласно критериям Tupper, мы оценили степень развития наружных половых органов (G1 – G5), оволосение лобка (P1 – P5), определили объем гонад при помощи орхидометра Прадера, зафиксировали пубертатный скачок роста относительно возраста и стадии полового развития. Оценка полового развития проводилась в сопоставлении с показателями физического развития мальчиков: ростом, ростом сидя, массой, индексом массы тела, площадью поверхности тела, окружностью грудной клетки, окружностью талии.

Для определения референсных значений концентраций гонадотропинов и андрогенов в биологических жидкостях у здоровых детей мы провели гормональное обследование 140 практически здоровым мальчикам. Первую группу составили 40 практически здоровых мальчиков в возрасте от 1,5 до 3 месяцев (период мини-пубертата). Все мальчики родились доношенными, имели средние показатели физического развития и нормальное строение наружных половых органов. Из исследования исключались дети, матери которых имели эндокринную патологию. Вторую группу составили здоровые мальчики 11–16 лет (период пубертата). При проведении статистического анализа результатов лабораторных исследований дети были разделены на 4 подгруппы соответственно стадиям полового развития. Стадию G1 по Таннеру имели 15 мальчиков, остальные 3 подгруппы, соответствующие стадиям G₂, G₃ G₄₋₅ по Таннеру составили 60 мальчиков, по 20 в каждой подгруппе.

Таблица 10

Распределение мальчиков по возрасту и стадиям пубертата

| Период | Мини-пубертат | Пубертат | | | |
|--------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|------------------|
| | | G ₁ | G ₂ | G ₃ | G ₄₋₅ |
| Стадия полового развития | G ₁ | G ₁ | G ₂ | G ₃ | G ₄₋₅ |
| Возраст детей | 1–3 мес. | 10–11 лет | 11–13 лет | 13–15 лет | 15–16 лет |
| Число детей | 40 | 20 | 20 | 30 | 30 |

Началом полового развития мальчиков по критериям ВОЗ считается увеличение объема яичек до 4 мл. К 8 годам объём яичек более 4 мл, свидетельствующий о начавшемся пубертате, выявлялся у 25% мальчиков. К 9 годам таких детей было 44%, а к 11 годам – 87%. В 12–14 летнем воз-

расте объём яичек более 4 мл определялся у 92–97% детей, а в 15–16 лет – у всех обследованных. В возрасте от 8 до 11 лет ежегодно пубертатное увеличение яичек происходило у 20–25 % мальчиков и к 12 годам только у 3% мальчиков выявлялся допубертатный объём яичек, а к 15 годам таких детей не было. Таким образом, инициация пубертата у 97% мальчиков происходила в возрасте от 8 до 12 лет.

Появление лобкового оволосения в возрасте 8 лет выявлялось у 2,9% мальчиков, в возрасте 9 лет – у 10,1%. К 10 годам лобковое оволосение встречалось у 36,4% мальчиков, в 11–12 лет – у 47,4% и 53,1%, соответственно. В 13 лет различная выраженность пубархе обнаруживалась у 65,1% мальчиков, в 14 лет – у 95,2% и к 15 годам – у 97,9%. Таким образом, в большинстве случаев появление лобкового оволосения зафиксировано в возрасте от 9 до 14 лет.

Пубертатное увеличение наружных гениталий выявлялось в возрасте 9–14 лет. У 95% обследованных мальчиков данный признак был зафиксирован в возрасте от 9 до 13 лет.

Инициация признаков полового развития в зависимости от возраста представлена в таблице 11

Таблица 11

Половое развитие мальчиков 8 – 16 лет г. Саратова(n=873)

| Признак | 8 лет (n=67) | 9 лет (n=69) | 10 лет (n=88) | 11 лет (n=76) | 12 лет (n=96) | 13 лет (n=86) | 14 лет (n=168) | 15 лет (n=146) | 16 лет (n=77) |
|---------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-------------------|-------------------|------------------|
| P 1 | 97,1% | 89,9% | 63,6% | 52,6% | 46,9% | 34,9% | 4,8% | 2,1% | - |
| P 2 | 2,9% | 10,1% | 20,5% | 31,6% | 28,1% | 23,3% | 10,7% | 4,7% | 1,3% |
| P 3 | - | - | 15,9% | 15,8% | 21,9% | 23,3% | 17,3% | 5,5% | 5,2% |
| P 4 | - | - | - | - | 3,1% | 16,2% | 50,6% | 47,3% | 39,0% |
| P 5 | - | - | - | - | - | 2,3% | 16,7% | 40,4% | 54,5% |
| | | | | | | | | | |
| Признак | 8 лет (n=67) | 9 лет (n=69) | 10 лет (n=88) | 11 лет (n=76) | 12 лет (n=96) | 13 лет (n=86) | 14 лет (n=168) | 15 лет (n=146) | 16 лет (n=77) |
| G1 | 98,5% | 92,8% | 69,3% | 57,9% | 34,4% | 32,6% | 6,6% | 1,4% | - |
| G2 | 1,5% | 7,2% | 26,1% | 31,6% | 40,6% | 27,9% | 18,5% | 11,6% | 3,9% |
| G3 | - | - | 5,6% | 10,5% | 25,0% | 23,2% | 29,8% | 36,3% | 25,9% |
| G4 | | | - | - | - | 16,3% | 36,2% | 23,9% | 27,3% |
| G5 | | | | | | - | 8,9% | 26,7% | 42,3% |

| Признак | 8 лет (n=67) | 9 лет (n=69) | 10 лет (n=88) | 11 лет (n=76) | 12 лет (n=96) | 13 лет (n=86) | 14 лет (n=168) | 15 лет (n=146) | 16 лет (n=77) |
|------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-------------------|-------------------|------------------|
| Vt4 мл и < | 74,6% | 56,5% | 30,7% | 13,1% | 3,1% | 4,6% | 1,8% | - | - |
| Vt6 мл | 20,9% | 21,8% | 26,1% | 36,8% | 9,4% | 23,3% | 3,0% | 3,4% | - |
| Vt 8 мл | 4,5% | 17,4% | 27,3% | 22,4% | 37,5% | 32,6% | 10,1% | 4,1% | 1,3% |
| Vt 10 мл | - | 4,3% | 9,1% | 15,8% | 15,6% | 18,6% | 8,3% | 5,5% | 1,3% |
| Vt 12 мл | - | - | 6,8% | 11,9% | 15,6% | 14,0% | 12,5% | 13,0% | 7,8% |
| Vt 14 мл | - | - | - | - | 9,4% | 6,9% | 14,9% | 13,0% | 10,4% |
| Vt16 мл | - | - | - | - | 9,4% | - | 12,1% | 11,64% | 10,4% |
| Vt 18 мл. | - | - | - | - | - | - | 19,6% | 12,3% | 13,0% |
| Vt20 мл | - | - | - | - | - | - | 9,5% | 19,9% | 19,5% |
| Vt25 мл | - | - | - | - | - | - | 8,3% | 17,1% | 36,4% |

Наиболее объективным показателем инициации и прогрессирования пубертата является объем гонад. Мы рассчитали средние с учетом SD показатели объема гонад у мальчиков в зависимости от возраста и стадии полового развития.

Таблица 12

Средние показатели объема гонад у мальчиков в зависимости от стадии полового развития

| Стадия полового развития | Возраст, лет Me [Q1; Q3] | | Медиана объёма гонад (Me), мл | SD | M – 2 SD |
|--------------------------|-----------------------------|--------------|-------------------------------|------|----------|
| G1 | 10,8 | [10,2; 12] | 3,5 | 0,35 | 2,8 |
| G2 | 12 | [11; 12,6] | 5,6 | 0,4 | 4,8 |
| G3 | 14,2 | [14; 14,6] | 14,5 | 3 | 8,5 |
| G4 | 14,7 | [14,3; 15,3] | 20 | 4,5 | 11,0 |
| G5 | 15,3 | [14,9; 15,7] | 20 | 3,1 | 13,8 |

4.1 Взаимосвязь показателей полового и физического развития мальчиков

Становление пубертата является интегральным показателем развития ребенка и тесно связано с показателями физического развития. Доказано влияние половых гормонов на рост, массу тела, изменение пропорций тела, перераспределение подкожно-жировой клетчатки, развитие костной и мышечной систем. Проведен корреляционный анализ основных показателей физического и полового развития у мальчиков, таблица 13.

**Корреляционный анализ стадий пубертатного развития
и антропометрических показателей у мальчиков г. Саратова**

| Показатели | Стадии пубертата | | | Скачок роста |
|----------------------------------|------------------|------------------------|-------------------------|--------------|
| | Объём яичек (Vt) | Наружные гениталии (G) | Лобковое оволосение (P) | |
| Возраст | 0,680 | 0,725 | 0,755 | 0,707 |
| Площадь поверхности тела | 0,817 | 0,837 | 0,888 | 0,799 |
| Рост | 0,770 | 0,746 | 0,802 | 0,796 |
| Рост сидя (верхний сегмент тела) | 0,830 | 0,832 | 0,857 | 0,795 |
| Масса тела | 0,692 | 0,677 | 0,724 | 0,677 |
| ИМТ (BMI) | 0,394 | 0,398 | 0,410 | 0,366 |
| Окружность грудной клетки | 0,705 | 0,720 | 0,769 | 0,651 |
| Окружность талии | 0,631 | 0,613 | 0,703 | 0,563 |

Сильные положительные корреляции обнаружены между показателями полового развития и линейным ростом, ростом сидя, площадью поверхности тела мальчиков. Значимые корреляционные взаимосвязи обнаружены между показателями пубертата и окружностью грудной клетки. Корреляции показателей полового развития с возрастом мальчиков имели меньшую значимость. Данную закономерность можно объяснить воздействием половых гормонов на линейный рост мальчиков. Рост и половое развитие отражают биологическую зрелость организма, не всегда полностью соответствующую паспортному возрасту.

Масса тела и другие параметры, отражающие степень упитанности (индекс массы тела, окружность талии) имели меньшую взаимосвязь с половым развитием мальчиков по сравнению с ростовыми характеристиками.

Нами проведена оценка физического развития в зависимости от объёма яичек и стадии полового развития мальчиков. В таблице 14 показаны средние значения возраста и антропометрических показателей мальчиков 8–16 лет с различным объёмом яичек. Из таблицы видно, что возраст мальчиков достоверно возрастает от 10,3 до 14,4 лет при увеличении объёма яичек от 4 до 11–14 мл. Средний возраст мальчиков при увеличении объёма яичек от 14 до 20 мл. достоверно не различался. Основные антропометрические показатели: рост, масса тела, размеры верхнего сегмента, площадь поверхности тела достоверно возрастали параллельно

с увеличением объёма тестикул. Окружности грудной клетки, плеча, талии и бедра достоверно увеличивались при нарастании объёма яичек до 7–10 мл.

Таблица 14

Сравнительные значения возраста и антропометрических показателей у мальчиков с различным объёмом яичек

| | Vt < 4 мл. | Vt 4 – 6 мл. | Vt 7 – 10 мл. | Vt11 – 14 мл. | Vt15 – 17 мл. | Vt > 18 мл. |
|--------------------|--------------|--------------|---------------|---------------|---------------|--------------|
| Возраст | 10,3 ± 1,45 | 11,6 ± 1,55 | 13,6 ± 1,37 | 14,4 ± 1,31 | 14,5 ± 1,31 | 14,8 ± 1,05 |
| | P < 0,001 | | P < 0,001 | P < 0,008 | | |
| Рост | 139,0 ± 8,56 | 145,8 ± 7,69 | 156,4 ± 8,26 | 166,8 ± 9,34 | 167,0 ± 7,88 | 173,1 ± 6,67 |
| | P < 0,0001 | | P < 0,0001 | P < 0,002 | | P < 0,01 |
| Масса | 32,4 ± 6,55 | 36,6 ± 6,15 | 45,7 ± 7,87 | 52,3 ± 8,54 | 52,8 ± 6,28 | 58,6 ± 8,98 |
| | P < 0,0006 | | P < 0,0001 | P < 0,008 | | P < 0,005 |
| Площадь пов-ти | 1,12 ± 0,14 | 1,23 ± 0,13 | 1,42 ± 0,15 | 1,58 ± 0,17 | 1,59 ± 0,17 | 1,69 ± 0,15 |
| | P < 0,0001 | | P < 0,001 | P < 0,001 | | P < 0,008 |
| ИМТ | 16,6 ± 2,17 | 17,1 ± 1,91 | 18,6 ± 2,42 | 18,7 ± 2,10 | 18,9 ± 1,75 | 19,6 ± 2,22 |
| | P < 0,006 | | | | | |
| Рост сидя | 73,2 ± 3,85 | 75,8 ± 3,36 | 79,5 ± 4,12 | 85,4 ± 4,42 | 86,1 ± 3,07 | 88,6 ± 3,71 |
| | P < 0,0002 | | P < 0,0001 | P < 0,0001 | | P < 0,03 |
| Окружность груди | 64,9 ± 5,83 | 68,5 ± 6,23 | 75,6 ± 5,54 | 77,6 ± 6,46 | 79,6 ± 4,63 | 81,7 ± 5,23 |
| | P < 0,003 | | P < 0,0001 | | | |
| Окружность талии | 58,5 ± 5,33 | 62,1 ± 4,54 | 66,9 ± 5,68 | 67,6 ± 5,97 | 69,1 ± 4,27 | 71,1 ± 4,43 |
| | P < 0,003 | | P < 0,0001 | | | |
| Жир. складка живот | 9,3 ± 4,62 | 10,3 ± 4,57 | 11,8 ± 5,82 | 10,1 ± 4,03 | 11,5 ± 5,18 | 11 ± 3,4 |
| | P > 0,05 | | | | | |

Достоверное увеличение индекса массы тела выявлено только при нарастании объёма яичек от 4–6 до 7–10 мл. Показатель индекса массы тела практически не зависел от объёма яичек. Данные закономерности свидетельствуют об отсутствии значимой взаимосвязи между степенью питания и становлением пубертата. Нарастание массы тела, увеличение окружностей грудной клетки и талии по мере прогрессирования пубертата связаны с соматическим созреванием, а не увеличением количества жировой ткани.

Взаимосвязь антропометрических показателей со стадией полового развития мальчиков показана в таблице 15. Как следует из таблицы, наступление стадии G-2 выявлялось у мальчиков в возрасте $12,4 \pm 1,64$ лет, при достижении ими роста $149,9 \pm 8,66$ см. и массы тела $39,1 \pm 6,92$ кг. Средний объём яичек при достижении стадии развития наружных гениталий G-2 составлял $5,3 \pm 1,65$ мл. При этом также достоверно увеличивались площадь поверхности тела, размер верхнего сегмента тела, окружности грудной клетки и окружность талии. Индекс массы тела и толщина подкожно-жирового слоя у мальчиков, достигших данной стадии пубертата, достоверно не отличались от соответствующих показателей детей с допубертатным развитием наружных гениталий.

Дальнейшее развитие, от стадии G-2 к G-4, сопровождалось достоверным увеличением роста, массы тела, площади поверхности тела, размера верхнего сегмента тела и окружности грудной клетки. Достоверное увеличение индекса массы тела зафиксировано при переходе от стадии G-2 к G-3. Толщина жировых складок у мальчиков с различными стадиями развития наружных гениталий достоверно не различалась.

Выше перечисленные закономерности отражают особенности роста мальчиков на фоне пубертата, проявляющиеся в интенсивном увеличении роста, размеров верхнего сегмента тела, массы тела и окружности грудной клетки в течение всего пубертатного периода и отсутствии влияния полового развития на количество жировой ткани.

Таблица 15

Сравнительные значения возраста и антропометрических показателей у мальчиков с различными стадиями развития наружных гениталий

| | G-1 | G-2 | G-3 | G-4 |
|--|------------------|------------------|------------------|------------------|
| Возраст(лет) | $10,6 \pm 1,52$ | $12,4 \pm 1,64$ | $14,1 \pm 0,98$ | $14,9 \pm 1,19$ |
| Достоверность различий | P < 0,001 | P < 0,001 | P < 0,01 | |
| Рост (см) | $140,6 \pm 8,76$ | $149,9 \pm 8,66$ | $159,7 \pm 6,89$ | $172,3 \pm 6,63$ |
| Достоверность различий | P < 0,0001 | P < 0,0001 | P < 0,0001 | |
| Масса (кг) | $33,7 \pm 7,01$ | $39,1 \pm 6,92$ | $49,1 \pm 6,05$ | $56,9 \pm 7,85$ |
| Достоверность различий | P < 0,0001 | P < 0,001 | P < 0,0001 | |
| Площадь по-верхности (м ²) | $1,15 \pm 0,14$ | $1,29 \pm 0,14$ | $1,49 \pm 0,11$ | $1,68 \pm 0,13$ |
| Достоверность различий | P < 0,0001 | P < 0,0001 | P < 0,0001 | |
| ИМТ | $16,9 \pm 2,32$ | $17,3 \pm 1,84$ | $19,2 \pm 1,92$ | $19,1 \pm 2,07$ |

| | | | | |
|---------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Достоверность различий | | | $P < 0,0001$ | |
| Рост сидя | $73,9 \pm 3,94$ | $76,7 \pm 3,63$ | $82,9 \pm 3,03$ | $88,1 \pm 3,62$ |
| Достоверность различий | $P < 0,0004$ | $P < 0,0001$ | $P < 0,0001$ | |
| Окружность груди (см) | $66,0 \pm 6,74$ | $70,6 \pm 4,63$ | $77,6 \pm 6,33$ | $80,8 \pm 4,61$ |
| Достоверность различий | $P < 0,0003$ | $P < 0,0001$ | $P < 0,02$ | |
| Окружность талии (см) | $59,9 \pm 5,89$ | $63,1 \pm 4,92$ | $67,8 \pm 5,80$ | $69,9 \pm 4,12$ |
| Достоверность различий | $P < 0,004$ | $P < 0,001$ | | |
| Жиров. складка живот (мм) | $9,7 \pm 4,84$ | $10,6 \pm 4,95$ | $11,6 \pm 5,20$ | $10,7 \pm 3,74$ |
| Достоверность различий | $P > 0,05$ | $P > 0,05$ | $P > 0,05$ | |
| Объём яичек (мл) | $3,5 \pm 0,67$ | $5,3 \pm 1,65$ | $12,7 \pm 3,83$ | $16,9 \pm 3,43$ |
| Достоверность различий | $P < 0,0001$ | $P < 0,0001$ | $P < 0,0001$ | |

Учитывая тесную взаимосвязь физического и полового развития проведена оценка физического развития у мальчиков с отставанием и опережением возрастных сроков становления пубертата. В 14 лет отсутствие лобкового оволосения выявлено у 42, допубертатные размеры наружных гениталий – у 58 мальчиков, а допубертатный объём яичек – у 16 детей. Критерием диагностики задержки полового созревания у мальчиков является допубертатный объём тестикул, менее 4 мл, в возрасте 14 лет. Отсутствие других признаков пубертата не является достоверным маркером задержки пубертата. Таким образом, на основании данных обследования 168 мальчиков 14 летнего возраста задержка полового развития выявлена у 16 (9,5%). Проведен анализ физического развития этих детей, который показал, что у 14 из них имелась задержка физического развития, рост по средним значениям соответствовал 11–12 годам и соответствовал 3–10 перцентилем. Масса тела у 10 из них соответствовала росту, у 3 мальчиков имелся дефицит массы и у 1 ребенка – ожирение 1 степени. Рост 2 детей с задержкой полового развития соответствовал средним значениям для мальчиков 14 лет, укладывался в коридор 25–75 перцентилей. Масса тела у одного из них соответствовала росту и у одного мальчика выявлено ожирение 3 степени. Анализ физического развития у мальчиков с отсутствием признаков пубертата в 14 лет показал, что отставание роста выявлялось достоверно чаще, чем его нормальные значения, у 87,5% и у 12,5% детей соответственно ($p < 0,002$). Таким образом, задержка полового развития у мальчиков была связана с отставанием в физическом развитии, т.е. поздними сроками созревания.

Появление вторичных половых признаков у мальчиков до 8 лет рассматривается как преждевременное половое развитие. При анализе полового развития 67 мальчиков в возрасте 8 лет объём яичек от 4 до 8 мл выявлен у 17 (25,4%) детей, у 2 (2,9%) имелись начальные признаки лобкового оволосения и у 1 (1,5%) – пубертатное увеличение наружных гениталий. Учитывая ранние сроки инициации пубертата, у 17 детей с объёмом яичек более 4 мл проведена оценка физического развития. Анализ роста у этих детей свидетельствует о том, что у всех 17 (100%) мальчиков рост соответствовал значениям 90–97 перцентильного ряда и опережал паспортный возраст на 1,5–3 года. У 12 (70,6%) детей диагностировались избыток массы или ожирение 1–2 степени и у 5 (29,4%) детей масса тела соответствовала росту, т.е. имелось гармоничное физическое развитие. Количество детей с избытком массы было достоверно больше, чем детей с гармоничным телосложением ($p < 0,04$). Следовательно, раннее начало полового развития у мальчиков выявлялось у детей, опережающих сверстников по физическому развитию и имеющих избыточную массу тела.

Итак, изучение особенностей становления пубертата у мальчиков показало, что поздняя манифестация полового развития ассоциирована с гармоничным отставанием в росте и массе тела, что характерно для конституциональной задержки роста и пубертата. А опережение сроков манифестации пубертатных признаков выявлялось у мальчиков с опережением роста и избыточной массой тела.

4.2 Определение референсных величин гонадотропинов и половых стероидов у здоровых мальчиков при помощи тест-наборов ЗАО ДРГ «Техсистемс»

Гормональные исследования, включающие определение концентрации гонадотропинов и андрогенов в сыворотке крови, было проведено 100 мальчикам 11–16 лет. В процессе клинического обследования мальчики были разделены на 4 подгруппы соответственно стадии полового развития по Таннеру. Статистический анализ результатов гормональных исследований проведен в каждой подгруппе, в результате чего установлены референсные показатели концентрации гормонов сыворотки крови для каждой стадии полового развития. За референсный диапазон принят доверительный интервал значений с уровнем надежности 95%

Референсные значения гормонов сыворотки крови у здоровых мальчиков 11–16 лет в зависимости от стадии полового развития, ДИ 95%

| Показатель | Стадии полового развития по Таннеру | | | |
|------------------------------|-------------------------------------|----------------|----------------|------------------|
| | G ₁ | G ₂ | G ₃ | G ₄₋₅ |
| ЛГ, мМЕ/мл | [0,5 – 1,6] | [1,4 – 3,2] | [2,7 – 5,1] | [1,1 – 3,5] |
| ФСГ, мМЕ/мл | [0,2 – 1,5] | [2,3 – 4,3] | [0,7 – 2,1] | [0,8 – 2,0] |
| Тестостерон общий, нг/мл | [0,5 -0,8] | [1,6 – 3,4] | [4,6 – 8,8] | [6,3 – 11,8] |
| Тестостерон свободный, пг/мл | [0,5 – 1,4] | [3,2 – 12,5] | [15,8 – 24] | [17,3 – 54,8] |
| ГСПП, нмоль/л | | [19 – 51,4] | | |
| ДГА-5, мкг/мл | | [0,65 – 1,8] | [1,4 – 2] | |
| Андростендион, нг/мл | | [0,7 – 1,7] | [1,5 – 2,1] | |
| Дигидротестостерон, пг/мл | | [335 – 873] | [604 – 984] | |

5. СОСТОЯНИЕ ПОЛОВОЙ СИСТЕМЫ ЗДОРОВЫХ МАЛЬЧИКОВ 1 – 3 МЕСЯЦЕВ (МИНИ-ПУБЕРТАТ)

При клиническом осмотре все дети имели соответствующие данному возрасту показатели роста, нормотрофию, правильное строение наружных половых органов. При пальпации гонады определены на дне мошонки у всех мальчиков. Средний объём гонад при проведении орхиометрии составил $2,3 \pm 0,5$ мл, средняя длина полового члена – $3,3 \pm 0,4$ см

Гормональное обследование мальчиков в период мини-пубертата необходимо для выявления и верификации патологии полового развития, определения прогноза спонтанного пубертата и потенциала фертильности, проведения контролируемой заместительной терапии при нарушении функции гипоталамо-гипофизарной системы и половых желез. У мальчиков 1–3 месяцев мы определили концентрацию гонадотропинов (ЛГ, ФСГ), андрогенов (дегидроэпиандростерона сульфата, андростендиона, дигидротестостерона, общего тестостерона) и антимюллерова гормона в сыворотке крови методом ИФА. Полученные результаты сравнили с аналогичными гормональными показателями сыворотки крови здоровых мальчиков 11–15 лет, имеющими II–IV стадию полового развития по Таннеру.

На диаграмме показаны концентрации лютеонизирующего (рис. 3 а) и

фолликулостимулирующего (рис. 3 б) гормонов у мальчиков первых месяцев жизни и мальчиков 13–15 лет, имеющих III–IV стадии полового развития.

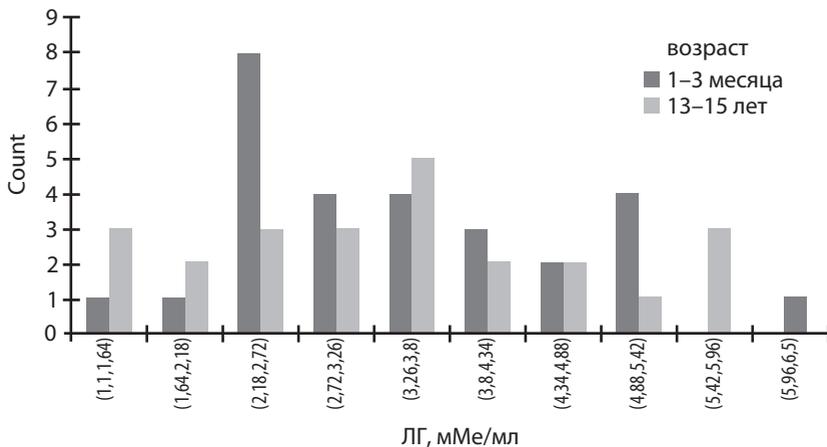


Рис. 7. а) Распределение концентрации лютеонизирующего гормона у мальчиков в период мини-пубертата и пубертата

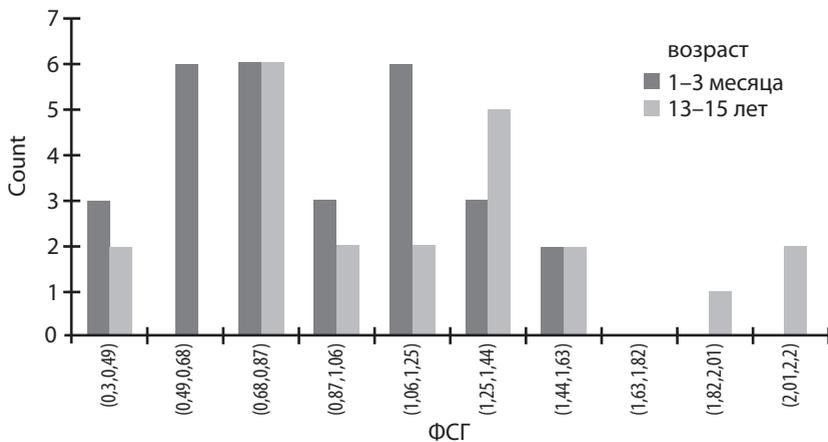


Рис. 7. б) Распределение концентрации фолликулостимулирующего гормона у мальчиков в период мини-пубертата и пубертата

Медиана уровня ЛГ у мальчиков 1–3-го месяцев жизни составила 3,3 [2,7–4,1] мМЕ/мл (0,95 ДИ), ФСГ – 0,9 [0,7–1,2] мМЕ/мл, соотношение ЛГ/ФСГ – 3,5:1. В группе сравнения при стадии полового развития G₂, медиана ЛГ составила 1,5 [0,8–1,7] мМЕ/мл, ФСГ – 2 [1,1–2,6] мМЕ/мл, соотношение

ЛГ/ФСГ – 1:1,5. При стадии полового развития G₃₋₄ медиана ЛГ – 3,4 [2,6–3,9] м МЕ/мл, ФСГ – 1,3 [0,8–1,6] мМЕ/мл, ЛГ/ФСГ – 2,5:1. Таким образом, уровень гонадотропинов у мальчиков в период мини-пубертата практически соответствовал III – IV стадии полового развития.

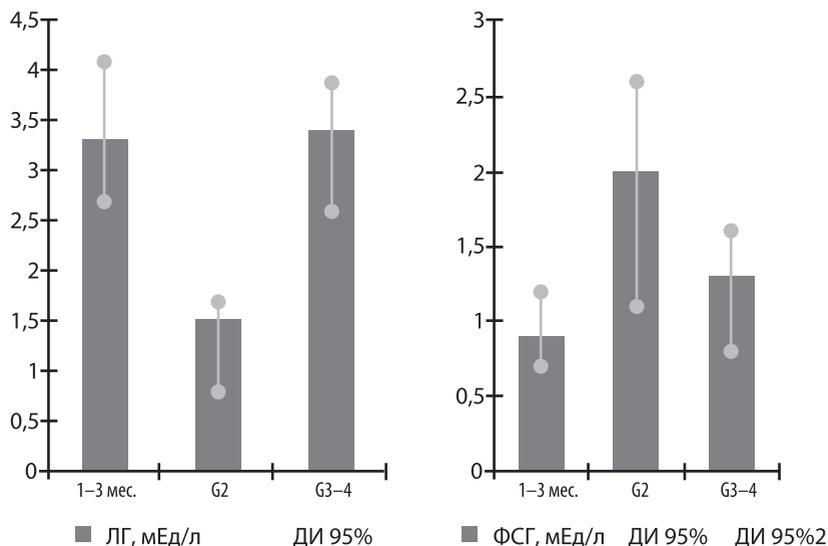


Рис. 8. Референсные показатели гонадотропинов у мальчиков в период мини-пубертата и пубертата
 G₂ – II стадия полового развития по Таннеру
 G₃₋₄ – III стадия полового развития по Таннеру

Содержание тестостерона у мальчиков первых месяцев жизни соответствовало 1,6 нг/мл при 95% ДИ [1,3–1,8]. В группе сравнения у мальчиков со стадией полового развития G₂ по Таннеру определяли тестостерон в диапазоне 1,95 [1,4–2,1] нмоль/л, со стадией полового развития G₃ по Таннеру – 7,8 [5,3–9,3] нмоль/л. Полученные результаты показали, что уровень тестостерона у здоровых мальчиков в постнатальный период имеет значения близкие к показателям начала пубертата.

При исследовании антимюллерова гормона его уровень у детей первых месяцев жизни составил 129 [93,2–152,4] пг/мл. Все мальчики пубертатного возраста имели физиологически низкий для данного возрастного периода показатель АМФ: 1,9 [0,3–2,5] пг/мл.

Статистический анализ результатов гормональных исследований по-

зволил определить интервалы референсных значений гонадотропинов, андрогенов и антимюллера гормона для мальчиков 1–3 месяцев.

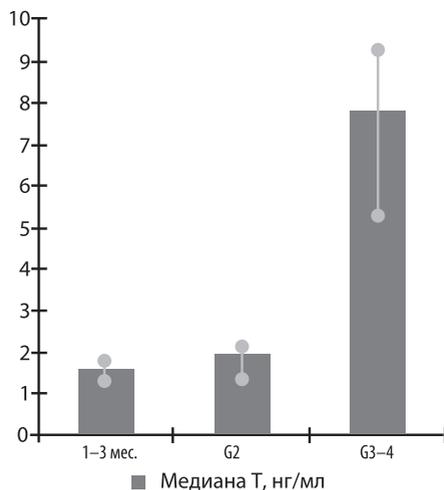


Рис. 9. Референсные показатели тестостерона у мальчиков в период мини-пубертата и пубертата

G₂ – II стадия полового развития по Таннеру

G_{3–4} – III стадия полового развития по Таннеру

Таблица 17

Референсные значения гормонов сыворотки крови у здоровых детей 1–3 месяцев (мини-пубертат)

| Показатель | Медиана | ДИ 95% |
|---------------------------|---------|-----------------|
| ЛГ, мМЕ/мл | 3,3 | [2,7 – 4,1] |
| ФСГ, мМЕ/мл | 0,9 | [0,7 – 1,2] |
| Тестостерон общий, нг/мл | 1,6 | [1,3 – 1,8] |
| нмоль/л | 5,6 | [4,55 – 6,3] |
| ДГА-S, мкг/мл | 0,2 | [0,1 – 0,3] |
| Андростендион, нг/мл | 0,15 | [0,1 – 0,2] |
| Дигидротестостерон, пг/мл | 284 | [210 – 328] |
| АМФ, пг/мл | 129 | [104,2 – 153,4] |

Собственные данные мы сопоставили с имеющимися в литературе нормативными показателями гонадотропинов, тестостерона и антимюллера гормона некоторых Европейских стран (таблица 18).

**Сравнительная таблица референсных значений гонадотропинов,
тестостерона и антимюллера гормона у мальчиков 1–3 месяцев
(по данным различных авторов)**

| Показатель | | Финляндия | Дания | Франция |
|-------------------------|-----------------------------------|---|---|------------------------------------|
| n | 40 | 300 | 399 | 215 |
| Тестостерон, нмоль/л | 5,6 (4,5 – 6,3) | 3.26 (0.64–7.90) | 3.30 (0.58–7.69) | 0.52–4.79 |
| ЛГ, ед/л | 3,3 (2,2 – 4,1) | 1.75 (0.58–4.04) | 1.77 (0.55–4.11) | 0.5–7.1 |
| ФСГ, ед/л | 0,9 (0,7 – 2,1) | 1.30 (0.49–2.92) | 1.18 (0.41–3.04) | 0.2–4 |
| ЛГ/ФСГ | 3,1 – 2,0 | 1,2 -1,4 | 1,4 – 1,6 | 2,5 – 1,75 |
| ЛГ/ тестостерон | 0.58 (0,6 – 1,5) | 0.54 (0.18–2.16) | 0.54 (0.16–2.52) | |
| АМГ, пмоль/л нг/мл | 744 – 1095 129 (104,2 – 153,4) | | | 260–1157 36.4 – 162 |
| Литература | | Suomi AM, Katharina MM et al., 2006 | Suomi AM, Katharina MM et al., 2006 | Lahlou N, Fennoy I et al., 2004 |

Медианы тестостерона, лютеонизирующего и фолликулостимулирующего гормонов, полученные в результате нашего исследования, несколько отличались от показателей мальчиков Финляндии и Дании, но соотношения этих гормонов практически соответствовали представленной в литературе выборке. Интервалы референсных значений отличались меньшим диапазоном, но укладывались в пределы от 2,5 до 97,5 центиля для соответствующих показателей Европейских стран. Это подтверждает достоверность полученных нами данных и возможность рекомендовать их для практической работы при оценке функционального состояния гипоталамо-гипофизарно-гонадной системы у детей первых месяцев жизни.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ:

Созревание гипоталамо-гипофизарно-гонадной системы происходит в несколько этапов, каждый из которых играет определенную роль в развитии гонад и становлении репродуктивной функции. Гормональные исследования информативны только в периоды физиологической активности гипоталамо-гипофизарной системы и половых желез – минипубертата и пубертата. Референсные значения, применяемые для оценки результатов исследования, должны соответствовать физиологическому

ритму функционирования эндокринных желез, учитывать возрастные, половые различия, стадию полового созревания, индивидуальные особенности физического развития. Кроме того, уровень половых гормонов имеет этнические и региональные особенности, поэтому разработка собственных референсных значений необходима для эффективной оценки результатов гормональных исследований.

Нами определены референсные диапазоны значений для гонадотропинов, андрогенов и антимюллера гормона у здоровых мальчиков 1–3 месяцев жизни (период мини-пубертата) и 10–15 лет (период пубертата) в зависимости от клинической стадии полового развития. Полученные данные сопоставимы с имеющимися в литературе результатами Европейских исследований и могут быть рекомендованы для верификации врожденной патологии половой системы у детей: нарушения формирования пола, врожденных форм гипогонадизма, патологии биосинтеза и действия андрогенов. Согласно Консенсусу 2006 г. для первичного обследования ребенка с патологией половой системы рекомендован основной набор гормональных исследований, включающий определение гонадотропинов, тестостерона, 17-гидроксипрогестарона. После первичной оценки новорожденного определяется объем дальнейшего обследования. Информативным является комплекс гормональных исследований, направленный на выявление конкретной патологии, и изучение гормональных взаимоотношений.

Референсные значения, полученные при обследовании мальчиков подросткового возраста, могут быть использованы в диагностике патологии полового развития: гипогонадотропного и гипергонадотропного гипогонадизма, преждевременного полового развития, а также для контроля эффективности заместительной гормональной терапии. Верификация патологии полового развития основана на сопоставлении клинических признаков пубертата и совокупности гормональных изменений.

Наиболее доступной технологией определения гормональных показателей является иммуноферментный анализ. Оборудование для проведения ИФА было поставлено в рамках Национального проекта здравоохранения России для лечебно-профилактических учреждений. Наборы реактивов для количественного определения гормонов выпускаются целым рядом фирм, к одной из которых относится ЗАО ДРГ «Техсистемс». В настоящее время фирма поставляет основную группу наборов реактивов для оценки нарушений полового развития у детей.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ:

Выберите один или несколько правильных ответов

- ДИФФЕРЕНЦИРОВКА НАРУЖНЫХ ПОЛОВЫХ ОРГАНОВ ПЛОДА ПРОИСХОДИТ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ:
 - гонадотропинов
 - тестостерона
 - дигидротестостерона
 - эстрогенов
 - антимюллера гормона
- ВНУТРИУТРОБНАЯ МИГРАЦИЯ ТЕСТИКУЛА В МОШОНКУ ЗАВИСИТ ОТ СЛЕДУЮЩИХ ФАКТОРОВ:
 - гормональной активности эмбрионального тестикула
 - секреции антимюллера гормона
 - наличия фермента 17β -гидроксистероиддегидрогеназы
 - наличия фермента 21-гидроксилазы
 - созревания гипоталамо-гипофизарной системы плода
- ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГОНАДОТРОПИНОВ И ТЕСТОСТЕРОНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ МАЛЬЧИКОВ ЯВЛЯЕТСЯ ДИАГНОСТИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫМ В ВОЗРАСТЕ:
 - 3 месяцев
 - 6 месяцев
 - 1 года
 - 10 лет
 - 14 лет
- ПУБЕРТАТНЫЙ ПЕРИОД ХАРАКТЕРИЗУЕТСЯ:
 - повышением секреции гонадотропинов
 - стабильной секрецией гонадолиберина
 - повышением секреции антимюллера гормона
 - снижением уровня глобулина, связывающего половые гормоны
- АКТИВНЫМИ АНДРОГЕНАМИ НАДПОЧЕЧНИКОВ ЯВЛЯЮТСЯ:
 - андростендион
 - дигидротестостерон
 - дегидроэпиандростерон
 - 17-гидроксипрогестерон
 - тестостерон

6. НАИБОЛЕЕ РАСПРОСТРАНЕННЫМ И ДОСТУПНЫМ МЕТОДОМ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СТЕРОИДОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЯВЛЯЕТСЯ:
 1. радиоиммунологический метод
 2. жидкостная хроматография
 3. газовая хроматография
 4. иммуноферментный анализ

7. ДЛЯ ПРЯМОГО КОНКУРИРУЮЩЕГО ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА НЕОБХОДИМЫ:
 1. меченные ферментом антитела
 2. иммуноферментный конъюгат
 3. специфические антитела, фиксированной концентрации
 4. меченные ферментом антигены

8. ПРИЗНАКОМ НАЧАЛА ПУБЕРТАТА У МАЛЬЧИКОВ ЯВЛЯЕТСЯ:
 1. объем яичек более 4 мл
 2. увеличение наружных гениталий
 3. появление лобкового оволосения
 4. ускорение роста

9. ИЗМЕРЕНИЯ АНТРОПОМЕТРИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ НА ФОНЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО ПУБЕРТАТА СЛЕДУЮЩИЕ:
 1. увеличение роста
 2. увеличение верхнего сегмента тела
 3. уменьшение индекса массы тела
 4. увеличение окружности грудной клетки
 5. увеличение окружности талии

10. ПЕРИОД МИНИ-ПУБЕРТАТА У МАЛЬЧИКОВ ХАРАКТЕРИЗУЕТСЯ:
 1. уменьшением секреции гонадотропинов
 2. повышением концентрации тестостерона в сыворотке крови
 3. повышением концентрации антимюллера гормона
 4. увеличением продукции андрогенов надпочечниками

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Черных В.Б., Курило Л.Ф. Генетический контроль дифференцировки пола у человека // *Генетика*. – 2001; 37. – № 10. – С. 1317 – 1329
2. MacLaughlin DT, Donahoe PK Sex determination and differentiation // *N Engl J Med*. – 2004. – 350: 367 – 378
3. Семичева Т. В., Баканова Т. Д. Дифференциальная диагностика конституциональной задержки пубертата и гипогонадотропного гипогонадизма у мальчиков // *Проблемы эндокринологии*. – №3. – 2004. – с. 21 – 23
4. Ivell R., Hartung S. The molecular basis of cryptorchidism // *J. Molecular Human Reproduction*. – 2003. – Vol. 9, N. 4. – P.175-181
5. Hughes IA, Acerini CL. Factors controlling testis descent. *Eur J Endocrinol*. 2008 Dec;159 Suppl 1:S75–82. Epub 2008 Jul 22.
6. Thomas GB, McNeilly AS, Gibson F, Brooks AN Effects of pituitary-gonadal suppression with a gonadotrophin-releasing hormone agonist on fetal gonadotrophin secretion, fetal gonadal development and maternal steroid secretion in the sheep // *J Endocrinol*. – 1994. – 141(2):317–24
7. Brook CG, Brown RS *Handbook of Clinical pediatric Endocrinology*. – Blackwell Publ., 2008. – 265 p.
8. Raine JE, Donaldson MD, Gregori JW et al. *Practical Endocrinology and Diabetes in children*. – Blackwell Publ., 2006. – 237 p.
9. Suomi AM, Katharina MM, Kaleva M, Ida Maria Schmidt IM et al. Hormonal Changes in 3-Month-Old Cryptorchid Boys // *J of Clinical Endocrinology et Metabolism*. – 2006. – V. 91. – N 3. – P. 953-958
10. Pitteloud N., Hayes F., Boepple P., De Cruz S. **The Role of Prior Pubertal Development, Biochemical Markers of Testicular Maturation, and Genetics in Elucidating the Phenotypic Heterogeneity of Idiopathic Hypogonadotropic Hypogonadism** // *J. Clinical Endocrinology & Metabolism*. – 2002. – Vol. 87, N 1. – P. 152-160
11. Zivkovic D, Hadziselimovic F Development of Sertoli Cells during Mini-Puberty in Normal and Cryptorchid Testes // *J Urol*. – 2009. – V.82. – № 1. – P.89 – 91
12. Main KM, Toppari J, Skakkebek NE Gonadal development and reproductive hormones in infant boys // *Eur. J. of Endocrinology*. – 2006. – V. 155. – P. 51 – 57
13. Grinspon RP, Rey RA Anti-Mullerian Hormone and Sertoli Cell Function in Paediatric Male Hypogonadism // *Horm. Research in Pediatrics*. – 2010. – V. 73 (2). – N 10. – P. 81 – 92
14. Bougnères P, François M, Pantalone L et al. Effects of an Early Postnatal Treatment of Hypogonadotropic Hypogonadism with a Continuous Subcutaneous Infusion of Recombinant Follicle-Stimulating Hormone and Luteinizing Hormone // *Journal of Clinical Endocrinology et Metabolism*. – 2004 – V. 93. – N 6. – P. 2202-2205
15. Kelly JA, Vankrieken L *Binding Globulin and the Assessment of Androgen Status* / *Eur. Eng. Diagnostic Products Corporation*, 1999
16. Дедов И.И., Калинин С.Ю. Возрастной андрогенный дефицит у мужчин. – М: «Практическая медицина», 2006. – 239 с.
17. Дедов И.И., Семичева Т.В., Петеркова В.А. Половое развитие детей: норма и патология. – М.: Медицина. – 2002. – 180 с.
18. Подтетнев А.Д., Братчикова Т.В., Орлов Е.Н. Стероидные гормоны и их роль в течение беременности и родов. – М.: 2000. – 222 с.
19. Labrie F. Adrenal androgens and intracrinology // *Semin Reprod med*. – 2004. – Vol. 22. – № 4. – P. – 299 – 309
20. Courant F Assessment of Circulating Sex Steroid Levels in Prepubertal and Pubertal Boys and Girls by a Novel Ultrasensitive Gas Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Method // *Courant, L Akglaede, J Antignac J Clin Endocrinol Metab*. – 2010. – 95(1). – P. 82–92
21. Talbot NB, Butler AM, Berman RA, Rodriguez PM, MacLachan EA 1943 Excretion of 17-ketosteroids by normal and by abnormal children. *Am J Dis Child*. – 1943. – V. 65. – P. 364–375
22. Albright F, Smith PH, Fraser RA syndrome characterized by primary ovarian insufficiency and decreased stature. Report of 11 cases with digression on hormonal control of axillary and pubic hair // *Am J Med Sci*. – 1942. – V.204. – P. 625–648

23. Kelnar CJH, Brook CGD A mixed longitudinal study of adrenal steroid excretion in childhood and a mechanism of adrenarche // *Clin Endocrinol (Oxf)*. – 1983. – V.19. – P.117–129
24. Wierman ME, Beardsworth DE, Crawford JD, Crigler JF et al. Adrenarche and skeletal maturation during luteinizing hormone releasing hormone analogue suppression of gonadarche // *J Clin Invest*. – 1986. – V.77. – P. 121–126
25. Nakamura Y, Gang HX, Suzuki T, Sasano H Adrenal changes associated with adrenarche // *Rev Endocr Metab Disord*. – 2009. – V.10. – P.19–26
26. Zemel BS, Katz SH The contribution of adrenal and gonadal androgens to the growth in height of adolescent males // *Am J Phys Anthropol*. 1986. – V.71. – P. 459–466
27. Largo RH 1993 Catch-up growth during adolescence // *Horm Res*. – 1993. – 39. – P. 41 – 48
28. Ong KK, Potau N, Petry CJ, Jones R et al. Opposing influences of prenatal and postnatal weight gain on adrenarche in normal boys and girls // *Journal of Clinical Endocrinology et Biochemistry*. – 2004. – 89. – P. 2647 – 2651
29. Lourdes IN, Joan DN, Potau N, Saenger P Premature Adrenarche—Normal Variant or Forerunner of Adult Disease? // *Endocrine Reviews*. – 2000. – 21(6). – P. 671–696
30. Sorensen K, Andersson AM, Skakkebek NE, Juul A Serum Sex Hormone-Binding Globulin Levels in Healthy Children and Girls with Precocious Puberty before and during Gonadotropin-Releasing Hormone Agonist Treatment // *Journal of Clinical Endocrinology et Metabolism* – 2007. – V.92. -No. 8. – P. 3189-3196
31. Wilson JD. Role of dihydrotestosterone in androgen action // *Prostate Suppl*. 1996; 6 : 88–92.
32. Zhu YS, Imperato-McGinley JL, Ann NY 5 alpha-reductase isozymes and androgen actions in the prostate // *Acad Sci*. – 2009. – 1155. – P. 43-56.
33. Quigley CA, De-Bellis A et al. Androgen receptor defects: historical, clinical and molecular perspectives // *Endocr.Rev.* – 1995. – №16. – P. 271 – 321
34. Weinbauer GF, Luetjens CM, Simoni M, and Nieschlag E Physiology of Testicular Function / Nieschlag E, Behre HM, Nieschlag S. *Andrology: Male reproductive health and dysfunction*. – 2010. – P.49 – 61
35. Chang C, Chen YT, Yeh SD et al. Infertility with defective spermatogenesis and hypotestosteronemia in male mice lacking the androgen receptor in Sertoli cells. // *Proc Natl Acad Sci USA*. – 2004. -101. – P. 6876–81
36. Valimaki VV, Alfthan H, Ivaska KK et al. Serum estradiol, testosterone, and sex hormone-binding globulin as regulators of peak bone mass and bone turnover rate in young Finnish men.// *J Clin Endocrinol Metab*. – 2004. -89. – P.3785–3789
37. Claassen H, Monig H, Sel S, Werner JA, Paulsen F Androgen receptors and gender-specific distribution of alkaline phosphatase in human thyroid cartilage // *Histochem Cell. Biol*. – 2006. – 126. – P.381–388
38. Zitzmann M Testosterone and the brain. *Aging Male*. – 2006. – 9. – P.195–199
39. Меньшиков В.В. Стандартизация в клинической лабораторной медицине. Организационные и метрологические аспекты / Под ред. В.В. меньшикова. – М., 2005. – 251 с.
40. Courant F, Akglaede L, Antignac JP, Monteau F, Sorensen K et al. Assessment of Circulating Sex Steroid Levels in Prepubertal and Pubertal Boys and Girls by a Novel Ultrasensitive Gas Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Method // *J Clin Endocrinol Metab*. – 2010. – 95(1). – P. 82–92
41. Карпищенко А.И. Медицинские лабораторные технологии / А.И. Карпищенко. – СПб.:Интермедика. – Т.». – 2002. – 470 с.
42. Урсова М.Е. Сравнительный анализ определения концентрации ряда аналитов в сыворотке крови с использованием коммерчески доступных наборов реагентов четырех фирм-производителей (Алкор-Био, Roche, **Diagnostic Products Corporation, Bayer Corporation**) // *Клиническая лабораторная диагностика*. – 2002. – № 4. – С. 16 – 35.
43. Chada M. Inhibin B, Follicle Stimulating Hormone, Luteinizing Hormone and Testosterone during Childhood and Puberty in Males: Changes in Serum Concentrations in Relation to Age and Stage of Puberty / M. Chada, R. Prusa, J. Bronsky // *Physiol. Res*. – 2003. -52. – P. 45-51.
44. Lahlou N, Fennoy I, Carel JC et al Inhibin B and Anti-Mu^h llerian Hormone, But Not Testosterone Levels, Are Normal in Infants with Nonmosaic Klinefelter Syndrome // *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. – 2004. -89(4). – P. 1864–1868