

- Valderas-Martínez P., Arranz S. et al. Virgin olive oil and nuts as key foods of the Mediterranean diet effects on inflammatory biomarkers related to atherosclerosis. *Pharmacol. Res.* 2012; 65(6): 577—83.
33. Beppu F., Nagai T., Yoshinaga K., Mizobe H., Kojima K., Gotoh N. Quantification of triacylglycerol molecular species in cocoa butter using high-performance liquid chromatography equipped with nano quantity analyte detector. *J. Oleo. Sci.* 2013; 62(10): 789—94.
34. Berry S. Triacylglycerol structure and interesterification of palmitic and stearic acid-rich fats: an overview and implications for cardiovascular disease. *Nutr. Res. Rev.* 2009; 22: 3—17.
35. Reaven G.M. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes.* 1988; 37(12): 1595—607.
36. Titov V.N. *Phylogenetic Theory of General Pathology. The Pathogenesis of the Diseases of Civilization. Atherosclerosis [Филогенетическая теория обшей патологии. Патогенез болезней цивилизации. Атеросклероз]*. Moscow: INFRA-M; 2014. (in Russian)
37. Sun L., Zhang Y., Wang Q., Zhang H., Xu W., Zhang J. et al. Serum palmitic acid-oleic acid ratio and the risk of coronary artery disease: a case-control study. *J. Nutr. Biochem.* 2011; 22(4): 311—7.
38. Lopez S., Bermudez B., Pacheco Y.M., López-Lluch G., Moreda W., Villar J. et al. Dietary oleic and palmitic acids modulate the ratio of triacylglycerols to cholesterol in postprandial triacylglycerol-rich lipoproteins in men and cell viability and cycling in human monocytes. *J. Nutr.* 2007; 137(9): 1999—2005.
39. Pacheco Y.M., Bermúdez B., López S., Abia R., Villar J., Muriana F.J. Ratio of oleic to palmitic acid is a dietary determinant of thrombogenic and fibrinolytic factors during the postprandial state in men. *Am. J. Clin. Nutr.* 2006; 84: 342—9.
40. Titov V.N. *Primary and Secondary Atherosclerosis, Atheromatosis and Atherothrombosis [Первичный и вторичный атеросклероз, атероматоз и атеротромбоз]*. Moscow—Tver': OOO «Izdatel'stvo Triada»; 2008. (in Russian)
41. Titov V.N. *Laboratory Diagnosis and Diet Therapy Hyperlipoproteinemia (biological bases) [Лабораторная диагностика и диетотерапия гиперлипотеинемии (биологические основы)]*. Moscow: Medpraktika; 2006. (in Russian)

Поступила 01.06.16

Принята к печати 15.06.16

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 616.154:577.175.624]-074:543.544

Малышева Н.М., Колесникова Г.С., Иоутси В.А., Ильин А.В., Головкина Н.А., Тюльпаков А.Н.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТЕСТОСТЕРОНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ НА АНАЛИЗАТОРАХ ARCHITECT И VITROS И МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ — ТАНДЕМНОЙ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава РФ, 117036, Москва, Россия

Тестостерон является ключевым элементом гипоталамо-гипофизарно-гонадной системы. Его физиологическая роль у мужчин хорошо известна и заключается прежде всего в формировании мужского фенотипа и обеспечении сперматогенеза. Оценка андрогенного статуса необходима при широком спектре клинических симптомов и патологических состояний, таких как гипогонадизм, отсроченное или преждевременное половое созревание, синдром поликистозных яичников, некоторые виды рака и др. Точные измерения концентрации тестостерона имеют решающее значение при получении биохимических данных для поддержки клинических решений при диагностике, лечении и профилактике андрогенных заболеваний. Цель работы — проведение сравнительного анализа результатов определения содержания тестостерона в сыворотке крови на анализаторах Architect 2000 и Vitros 3600 и полученных методом высокоэффективной жидкостной хроматографии — тандемной масс-спектрометрии (ВЭЖХ-МС/МС). Для исследования использованы образцы сыворотки крови 230 пациентов, направленных для обследования в ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава РФ. Сравнительное изучение результатов определения концентраций тестостерона показало закономерную разницу в абсолютных значениях, однако выявлена статистически значимая ($p < 0,05$) корреляционная связь между значениями тестостерона, полученными разными методами. Коэффициент корреляции в различных группах пациентов при сравнении результатов Architect и Vitros с ВЭЖХ-МС/МС составлял 0,894—0,920 и 0,955—0,965 соответственно. Рассчитанное процентное распределение результатов определения содержания тестостерона по диапазонам ожидаемых значений показало допустимую, с точки зрения практической диагностики, сопоставимость полученных результатов. Выбор метода определения биохимических параметров при первичной диагностике является очень важным, однако ещё более важным является использование одного и того же метода при лечении и долгосрочном наблюдении пациента.

Ключевые слова: тестостерон; высокоэффективная жидкостная хроматография — тандемная масс-спектрометрия (ВЭЖХ-МС/МС); автоматизированные системы.

Для цитирования: Малышева Н.М., Колесникова Г.С., Иоутси В.А., Ильин А.В., Головкина Н.А., Тюльпаков А.Н. Сравнительный анализ результатов определения тестостерона в сыворотке крови на анализаторах Architect и Vitros и методом высокоэффективной жидкостной хроматографии — тандемной масс-спектрометрии. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2017; 62(10): 592-599. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-10-592-599>

Malysheva N.M., Kolesnikova G.S., Ioutsy V.A., Il'in A.V., Golovkina N.A., Tyul'pakov A.N.

THE COMPARATIVE ANALYSIS OF THE RESULTS OF DETECTION OF TESTOSTERONE IN BLOOD SERUM APPLYING ANALYZERS ARCHITECT AND VITROS AND TANDEM MASS-SPECTROMETRY, A HIGHLY EFFICIENT FLUID CHROMATOGRAPHY TECHNIQUE

The endocrinological research center of Minzdrav of Russia, 117036 Moscow, Russia

Для корреспонденции: Малышева Наталья Михайловна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. клинко-диагностической лаборатории; e-mail: natalya.m@list.ru

The testosterone is a key element of hypothalamus hypophysis gonad system. Its physiological role in males is well known and consists primarily in formation of male phenotype and support of spermatogenesis. The evaluation of androgenic status is necessary in case of such wide specter of clinical symptoms and pathological states as hypogonadism, delayed of premature puberty, polycystic ovary syndrome, particular types of cancer, etc. The precise measurements of testosterone concentrations have a decisive value in case of receiving biochemical data for supporting clinical decisions at diagnostic, treatment and prevention of androgenic diseases. The purpose of the study is to carry out a comparative analysis of the results of detection of testosterone in blood serum using analyzers Architect 2000 and Vitros 3600 and applying technique of highly-effective fluid chromatography - a tandem mass-spectrometry. The analysis was applied to samples of blood serum from 230 patients send to the endocrinological research center of Minzdrav of Russia. The comparative analysis of the results of detection of concentrations of testosterone demonstrated consistent difference in absolute values. However, a statistically significant correlation ($p < 0,05$) between values of testosterone obtained by different techniques was established. The correlation coefficient in different groups of patients made up to 0,894-0,920 and 0,955-0,965 correspondingly to comparing the results of Architect and Vitros and highly-effective fluid chromatography - a tandem mass-spectrometry. The calculated percentage of distribution of the results of detection of content of testosterone by the ranges of expected values demonstrated an admissible comparativeness of obtained results from point of view of practical diagnostic. The choice of technique of detection of biochemical parameters in case of primary diagnostic is very important. However, even more important is the application of the very same technique in treatment and long-term observation of patient.

Key words: testosterone; highly-effective fluid chromatography - a tandem mass-spectrometry; automated systems

For citation: Malysheva N.M., Kolesnikova G.S., Ioutsi V.A., Il'in A.V., Golovkina N.A., Tyul'pakov A.N. The comparative analysis of the results of detection of testosterone in blood serum applying analyzers Architect and Vitros and tandem mass-spectrometry, a highly efficient fluid chromatography technique. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics) 2017; 62 (10): 592-599. (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-10-592-599>*

For correspondence: Malysheva N.M., candidate of biological sciences, senior researcher of the clinical diagnostic laboratory. e-mail: natalya.m@list.ru

Conflict of interests. The authors declare absence of conflict of interests.

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

Received 20.05.2017
Accepted 24.05.2017

Тестостерон (Т) занимает ключевое положение в системе гипоталамус — гипофиз — половые железы. У мужчин он синтезируется преимущественно в семенниках клетками Лейдига, у женщин — корой надпочечников, а также клетками яичников. Кроме того, Т образуется в периферических тканях из надпочечниковых андрогенов. Физиологическая роль его у мужчин хорошо известна и заключается прежде всего в формировании мужского фенотипа и обеспечении сперматогенеза. Кроме специфических задач, тестостерон обеспечивает рост тела, метаболизм костной ткани, её ремоделирование и поддержание анаболических процессов, особенно в мышечной ткани. Он принимает активное участие в обеспечении процесса эритропоэза и регуляции ряда других функций. Вместе со своим активным метаболитом эстрадиолом и 5 α -дигидротестостероном он выполняет в организме более 15 функций и имеет свои рецепторы в 40 различных органах и тканях [1]. Оценка андрогенного статуса у мужчин необходима при широком спектре клинических симптомов и патологических состояний, например таких, как тестикулярная недостаточность, бесплодие, сексуальная дисфункция, гипогонадизм различного генеза и др. Мониторинг уровня Т необходим при проведении антиандрогенной терапии определённых форм дисгормонального рака, а также при проведении заместительной терапии гормональными препаратами. Точное количественное определение концентрации Т необходимо для диагностики широко распространённого возрастного андрогенного дефицита. У женщин определение уровня тестостерона необходимо для оценки функции гонад при гирсутизме, алопеции, акне, бесплодии, при подозрении на андрогенсекретирующие опухоли яичников и надпочечников, синдроме поликистозных яичников, андрогенной недостаточности и др. У детей содержание Т определяют при замедленном или ускоренном половом созревании, на-

рушении деятельности надпочечников, тестикулярных и овариальных нарушениях.

В распоряжении российских клинико-диагностических лабораторий (КДЛ) имеются различные диагностические системы для определения всевозможных биохимических показателей и маркеров, в частности тестостерона. Точность и правильность определения зависит от наличия адекватного и доступного метода. Любой из существующих методов иммуноанализа требует при его конструкции технологических разработок для каждого индивидуального гормона, включая выработку моноклональных антител с высокой специфичностью для повышения его чувствительности. Особую сложность при создании диагностических тест-систем представляет класс стероидных гормонов и их активных метаболитов, близких по химической структуре. Каждая компания-производитель конструирует свой вариант тест-системы, что затрудняет их стандартизацию. Это одна из причин расхождения в результатах определения гормонов. Появление и развитие современной технологии высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемным масс-спектрометрическим детектированием, обеспечивающей высокую производительность, практически 100% селективность, необходимую чувствительность и воспроизводимость, позволяет использовать ВЭЖХ-МС/МС в качестве метода сравнения при тестировании коммерческих анализаторов и тест-систем. В настоящей работе проведён сравнительный анализ результатов определения содержания тестостерона в сыворотке крови на иммунохимических анализаторах Architect 2000 и Vitros 3600 и полученных методом высокоэффективной жидкостной хроматографии — тандемной масс-спектрометрии.

Материал и методы. Пациенты. Для исследования использовали образцы сыворотки крови 230 пациентов (в случайной выборке), направленных для обследования

Таблица 1

Параметры масс-спектрометрических измерений

Параметр	Масса Q1	Масса Q3	СЕ, В	DP, В	СХР, В
ММР-1 (тестостерон)	289,2	97,1	30	106	16
ММР-2 (тестостерон)	289,2	109,1	34	106	18
ММР-вн. ст. (тестостерон-d5)	294,2	113,1	39	106	16

в ФГБУ «Эндокринологический научный центр» МЗ РФ. В число обследованных вошли мужчины в возрасте 18—75 лет, которые обращались в клинику для подтверждения или исключения диагноза различных форм гипогонадизма, возрастного андрогенного дефицита, сексуальной дисфункции и других нарушений гормональной функции яичек, женщины в возрасте 18—65 лет и дети в возрасте 1—17 лет, которые обращались в клинику для подтверждения или исключения диагноза различных нарушений функции эндокринных желез.

Процедура сбора крови. Образцы крови брали из локтевой вены между 8.00 и 10.00 утра. Отделение сыворотки от форменных элементов проводили центрифугированием при температуре 4°C и 3000 об/мин. Образцы сыворотки хранили при -40°C в аликвотах до измерения в них содержания общего тестостерона.

Высокоэффективная жидкостная хроматография — тандемная масс-спектрометрия (ВЭЖХ-МС/МС).

Пробоподготовка. Подготовку образцов сыворотки крови для анализа способом ВЭЖХ-МС/МС проводили с использованием жидкостно-жидкостной экстракции. В 500 мкл сыворотки добавляли 100 мкл раствора внутреннего стандарта (тестостерон-d₅, СІL) и перемешивали на вортексе (Combi-Spin FVL-2400N). Далее к смеси добавляли 600 мкл этилацетата (Aldrich, for LC-MS) и проводили экстракцию при перемешивании на вортексе в течение 1 мин. После этого смесь центрифугировали при 13 200 об/мин и 4°C в течение 10 мин. Далее органическую фазу отделяли и высушивали досуха в вакуумной центрифуге (Christ RVC 2-25 CDplus) при 40°C. Твёрдый остаток перерастворяли в 150 мкл смеси метанола с деионизованной водой (1:1), центрифугировали (13 200 об/мин, 4°C, 10 мин), и полученный раствор затем помещали в автодозатор системы ВЭЖХ-МС/МС.

Инструменты и проведение измерения. Для проведения анализов методом ВЭЖХ-МС/МС использовали хроматографическую систему Agilent 1200 (США), оснащённую дегазатором G1322A, четырёхканальным насосом со смесителем низкого давления G1311A, автодозатором G1367B и термостатом для колонок G1316A. Детектирование осуществляли при помощи тандемного трёхквадрупольного масс-спектрометра АВ SCIEX QTRAP 5500 (Канада), оснащённого источником TurboV с установленным зондом для химической ионизации при атмосферном давлении (ХИАД) в режиме мониторинга множественных реакций (ММР). Условия ионизации оптимизировали с учётом хроматографического потока 1 мл/мин: ток на игле коронного разряда 5 мкА, давление газа-распылителя на источнике 50 psi (фунт/дюйм²), давление газа-завесы 28 psi, температура испарителя 500°C. ММР-переходы и параметры ионной оптики — энергия соударений (СЕ), потенциал декластеризации (DP), входной потенциал в Q₁ (EP) и выходной потенциал камеры соударений (СХР) подбирали для внешнего и внутреннего стандартов индивидуально, значения параметров приведены в табл. 1.

Хроматографическое разделение тестостерона с другими стероидами сыворотки крови для предотвращения наложений перекрывающихся ММР-переходов проводили в смешанном режиме на колонке Zorbax Eclipse XDB-C18, 4,6•150 мм, диаметр частиц сорбента 5 мкм, поток элюента 1 мл/мин, температура термостата колонок 50°C. Элюирование проводили смесью метанола (LiChrosolv, для LC-MS) с деионизованной водой (MilliQ) в соотношении 70:30 0—4 мин с последующим

плавным повышением содержания метанола от 70 до 90% в элюенте с 4-й по 5-ю минуту с возвратом к первоначальному составу элюента на 7,5 мин. Время удерживания тестостерона в приведённых условиях составило 3,9 мин.

Автоматизированные системы. Для проведения измерений использовали автоматический хемилюминесцентный анализатор Architect 2000 («Abbott», Великобритания) и автоматический хемилюминесцентный анализатор Vitros 3600 (Ortho Clinical Diagnostics, Великобритания). Измерение проводилось по стандартным методикам разработчиков тест-систем, для анализатора Architect использовали тест для количественного определения тестостерона в сыворотке и плазме крови человека 2nd Generation Testosterone REF 2P13, для анализатора Vitros использовали тест для количественного определения тестостерона в сыворотке и плазме крови человека VITROS Immunodiagnostic Products Testosterone REF 1074053 [2, 3].

Статистическую обработку полученных результатов осуществляли с помощью компьютерной программы STATISTICA 7.0 («StatSoft Inc.», США). Данные представлены в виде медианы интерперцентильного размаха между 5 и 95% процентилями. Для оценки сопоставимости выборок использовали коэффициент корреляции Спирмена. Статистически значимыми принимали различия при $p < 0,05$.

Результаты. Ниже приведены результаты сравнительного исследования уровней тестостерона в группах (табл. 2). Исследование корреляционных связей представлено в табл. 3 и на рис. 1—3.

В зависимости от диапазонов ожидаемых значений уровня тестостерона у здоровых людей, предложенных

Таблица 2

Сравнение результатов определения тестостерона в сыворотке крови (нмоль/л), полученных разными методами (данные представлены в виде: медиана (5—95% интервалы))

Группа	Метод		
	ВЭЖХ-МС/МС	Architect	Vitros
Мужчины, 18—75 лет (n = 124)	17,4 (9,4—44,9)	10,8 (4,7—30,3)	14,0 (6,2—38,4)
Женщины, 18—65 лет (n = 49)	1,5 (0,82—5,8)	0,99 (0,50—3,5)	1,9 (0,7—5,4)
Мальчики, 1—15 лет (n = 28)	5,8 (0,25—18,0)	3,3 (0,15—16,9)	3,8 (0,20—16,3)
Девочки, 2—17 лет (n = 29)	1,3(0,1—6,0)	0,93 (0,1—5,0)	1,9 (0,2—7,7)

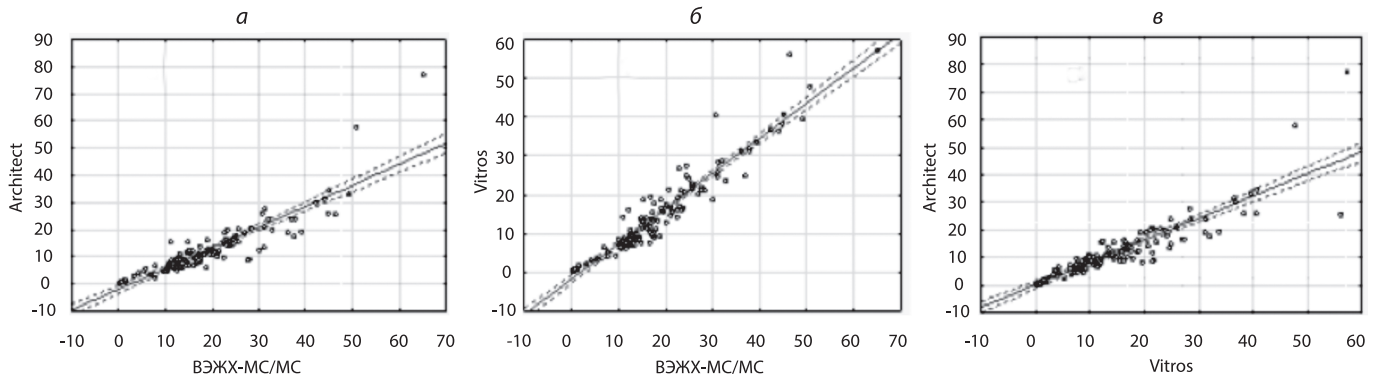


Рис. 1. Сравнение результатов определения содержания тестостерона в сыворотке крови в группе мужчин (18—75 лет), полученных различными методами (сплошная линия — линия регрессии, пунктирная линия — доверительный интервал 5—95%).
а — ВЭЖХ-МС/МС и Architect; б — ВЭЖХ-МС/МС и Vitros; в — Vitros и Architect.

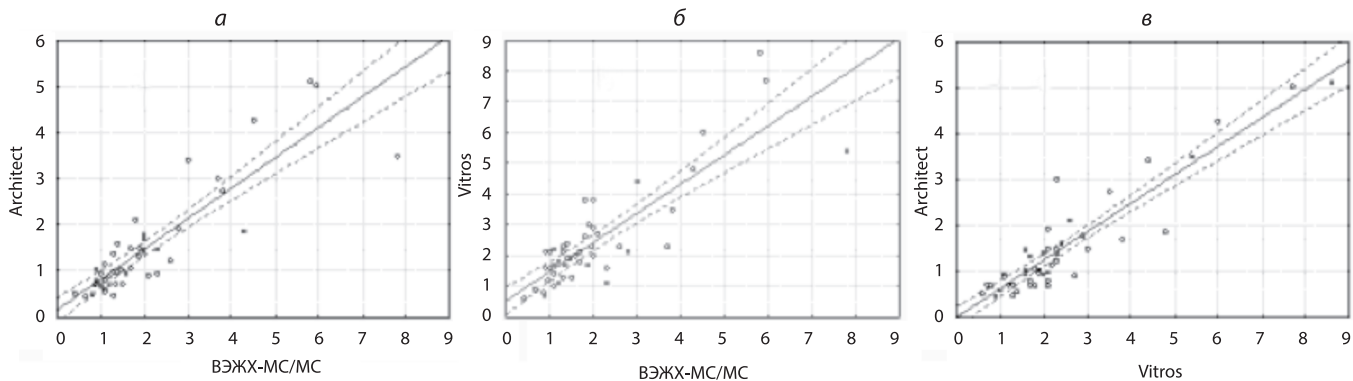


Рис. 2. Сравнение результатов определения содержания тестостерона в сыворотке крови в группе женщин (18—65 лет), полученных различными методами (сплошная линия — линия регрессии, пунктирная линия — доверительный интервал 5—95%).
а — ВЭЖХ-МС/МС и Architect; б — ВЭЖХ-МС/МС и Vitros; в — Vitros и Architect.

разработчиками каждого метода (табл. 4), рассчитано процентное распределение результатов определения тестостерона для мужчин 18—49 лет, мужчин старше 50 лет с возрастным андрогенным дефицитом и женщин 18—65 лет (рис. 4, 5).

У мужчин в возрасте 18—49 лет (см. рис. 4, а) нормальный уровень тестостерона определяется в 61% случаев методом ВЭЖХ-МС/МС, в 63,4% случаев на анализаторе Architect и в 56,5% случаев на анализаторе Vitros, уровень ниже референсных значений — в 26,8; 31,7 и 36,1% случаев, выше референсных значений — в 12,7; 4,9 и 7,4% случаев соответственно. В нормальном диапазоне значений разница в процентах распределения

между методами составила 2,4; 4,5 и 6,9%; в диапазоне ниже референсных значений разница составила 4,9; 4,4 и 9,3%; в диапазоне высоких концентраций распределения отличались на 7,8; 5,3 и 2,5%.

В группе мужчин старше 50 лет (см. рис. 4, б) андрогенный дефицит фиксировался в 50% случаев методом ВЭЖХ-МС/МС, в 44,8% случаев на анализаторе Architect и в 56,7% случаев на анализаторе Vitros. Разница в процентах распределения составила 5,2; 11,9 и 6,7%. Нормальный уровень тестостерона в данной группе фиксировался в 46,4% случаев методом ВЭЖХ-МС/МС, в 48,3% случаев на анализаторе Architect и в 40% случаев на анализаторе Vitros, разница в процентах распределения составила 1,9; 6,4 и 8,3%. Уровень выше

Таблица 3

Корреляционные связи результатов определения тестостерона, полученных различными методами ($p < 0,05$)

Методы	Мужчины, 18—75 лет	Женщины, 18—65 лет	Дети, 1—17 лет	Вся выборка
ВЭЖХ-МС/МС и Architect	0,894	0,879	0,947	0,920
ВЭЖХ-МС/МС и Vitros	0,955	0,847	0,960	0,965
Architect и Vitros	0,889	0,920	0,944	0,919

Таблица 4

Диапазон ожидаемых значений уровня тестостерона у здоровых людей для используемых методов (нмоль/л)

Группа	Метод		
	ВЭЖХ-МС/МС	Architect	Vitros
Мужчины, 18—49 лет	13,0—33,0	8,3—30,2	11,0—33,5
Мужчины, ≥ 50 лет	13,0—33,0	7,7—24,8	11,0—33,5
Женщины, 18—65 лет	0,8—2,7	0,48—1,85	0,1—2,7

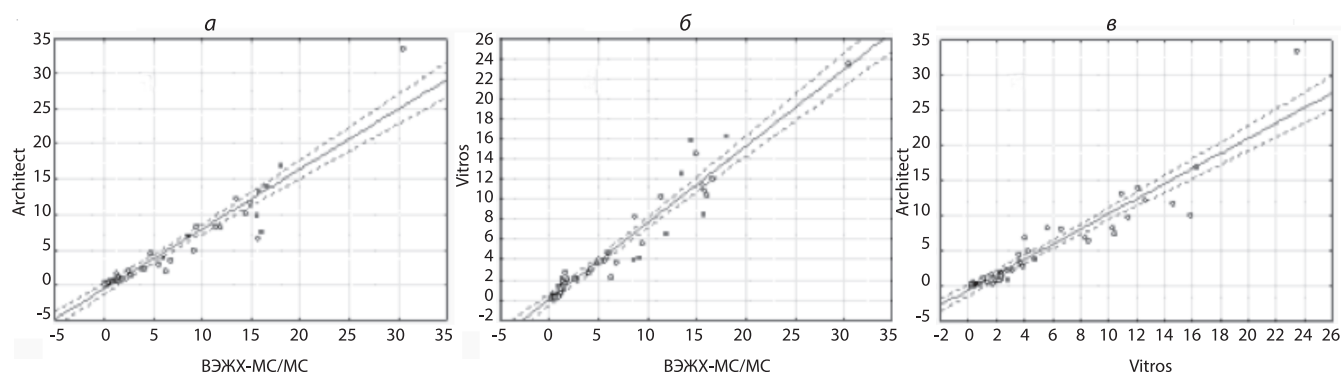


Рис. 3. Сравнение результатов определения тестостерона в сыворотке крови в группе детей (1—17 лет), полученных различными методами (сплошная линия — линия регрессии, пунктирная линия — доверительный интервал 5—95%).
а — ВЭЖХ-МС/МС и Architect; б — ВЭЖХ-МС/МС и Vitros; в — Vitros и Architect.

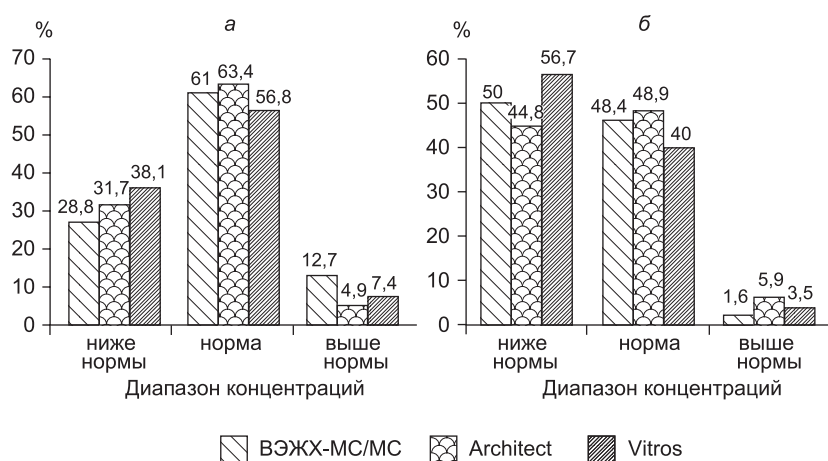


Рис. 4. Процентное распределение уровней тестостерона в сыворотке крови у мужчин.

а — мужчины 18—49 лет; б — мужчины старше 50 лет (андроге́нный дефицит).

референсных значений в 3,6% случаев фиксировался методом ВЭЖХ-МС/МС, в 6,9% случаев на анализаторе Architect и в 3,3% случаев на анализаторе Vitros, разница в процентах распределения составила 3,3; 0,3 и 3,6%.

У женщин в возрасте 18—65 лет (см. рис. 5) нормальный уровень тестостерона определялся в 79,6% случаев методом ВЭЖХ-МС/МС, в 81,4% случаев на анализаторе Architect и в 81,6% случаев на анализаторе Vitros, уровень ниже референсных значений — в 4,5; 2,3 и 0% случаев, выше референсных значений — в 15,9; 16,3 и 18,4% случаев соответственно. В нормальном диапазоне значений разница в процентах распределения между методами составила 1,8; 2,0 и 0,2%; в диапазоне ниже референсных значений разница составила 2,2; 4,5 и 2,3%; в диапазоне высоких концентраций распределения отличались на 0,2; 1,6 и 1,8%.

Мы провели анализ распределения количества случаев в выборке по концентрациям тестостерона по каждому исследуемому методу и обнаружили заметные расхождения в диаграммах распределения методов иммуноанализа и метода ВЭЖХ-МС/МС в диапазоне 6—12 нмоль/л (рис. 6).

Сравнительное изучение результатов определения тестостерона в контрольных образцах Bio-Rad,

полученных на автоматизированных системах Architect и Vitros ЕС1 и методом ВЭЖХ-МС/МС, показало хорошую сопоставимость значений между собой (табл. 5).

Обсуждение. Сравнительное изучение результатов определения содержания тестостерона в сыворотке крови, полученных на анализаторах Architect и Vitros и методом ВЭЖХ-МС/МС, показало закономерную разницу значений между собой (см. табл. 2). Существует несколько возможных причин для объяснения несовпадения между результатами, полученными прямыми методами иммуноанализа и методом с предварительной экстракцией. На первом месте так называемый эффект матрикса. Целый ряд соединений, присутствующих в сыворотке крови, могут вмешиваться в реакцию антигена и определяемого лиганда. При экстракции многие из этих соединений элиминируются на преаналитическом этапе. Процедура экстракции сводит эффект фонового матрикса к минимуму. Важными источниками несовпадений являются также приготовление калибровочной кривой и степень чистоты используемого кристаллического стандарта тестостерона. Ещё одна важная причина вариальности полученных результатов связана со специфичностью используемых для конструирования тест-систем антител, имеющих разную степень аффин-

Таблица 5

Сравнение контролей Bio-Rad (нмоль/л), полученных разными методами (данные представлены в виде: Mediana (5—95% интервалы))

Уровень	Метод	Bio-Rad	КДЛ ЭНЦ
Уровень 1 40 311	Vitros	4,3 (2,7—5,9)	4,6 (4,3—5,1)
	Architect	7,5 (5,4—9,6)	6,4 (6,0—6,7)
	ВЭЖХ-МС/МС	—	6,2 (5,6—6,5)
Уровень 2 40 312	Vitros	24,0 (17,2—30,8)	24,0 (23,6—26,2)
	Architect	23,8 (19,1—28,6)	21,0 (20,1—22,4)
	ВЭЖХ-МС/МС	—	22,1 (19,7—23,6)
Уровень 3 40 313	Vitros	39,9 (28,5—51,3)	40,2 (39,1—43,4)
	Architect	33,6 (27,4—39,9)	30,5 (28,6—32,2)
	ВЭЖХ-МС/МС	—	31,2 (27,6—32,80)

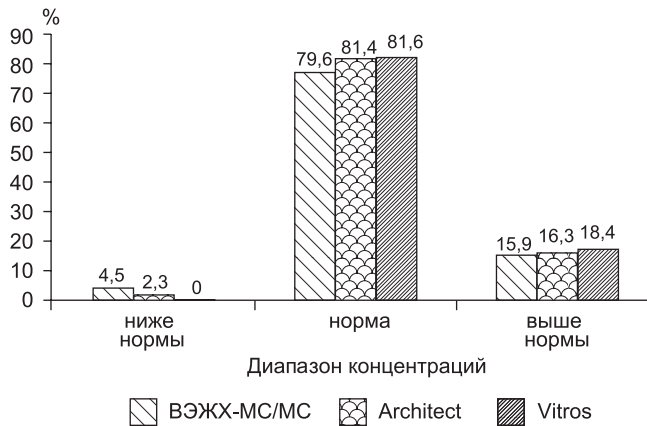


Рис. 5. Процентное распределение уровней тестостерона в сыворотке крови у женщин 18—65 лет.

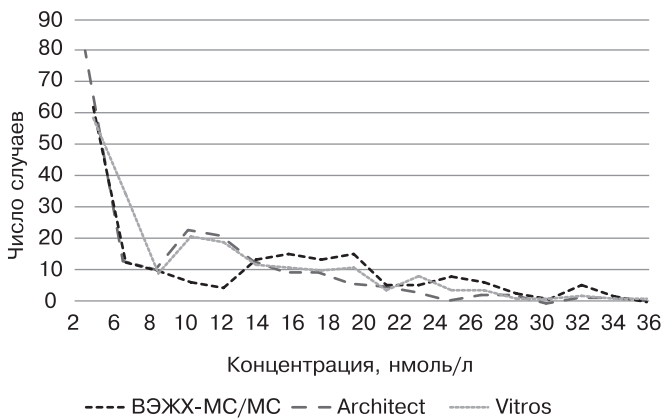


Рис. 6. Диаграмма распределения количества случаев по концентрациям.

ности к тестостерону и другим сопутствующим стероидам. Все эти факторы могут существенно влиять на показатели определяемой концентрации тестостерона [1]. Несмотря на разницу в абсолютных значениях показателей уровня тестостерона, в нашем исследовании выявлена статистически значимая ($p < 0,05$) корреляционная связь между значениями тестостерона, полученными сравнимыми методами, $r = 0,85—0,97$ (см. табл. 3, рис. 1—3).

Расчитанное процентное распределение результатов определения содержания тестостерона для мужчин 18—49 лет, мужчин старше 50 лет с возрастным андрогенным дефицитом и женщин 18—65 лет по диапазонам ожидаемых значений показало допустимую, с точки зрения практической диагностики, сопоставимость полученных результатов. Разница в процентах распределения определяется установленными диапазонами нормальных концентраций. Разработчики методов рекомендуют каждой лаборатории устанавливать свой референсный диапазон, соответствующий популяции пациентов лаборатории (т. е. диапазон нормальных значений, отражающий в зависимости от обстоятельств типы образцов и демографические переменные, такие как пол и возраст). Руководство эндокринологического сообщества по андрогенной недостаточности у мужчин (2010 г.) предлагает считать 10,4 нмоль/л нижним пределом диапазона нормальных значений [4].

Анализ распределения количества случаев в выборке по концентрациям тестостерона по каждому исследуемому методу (см. рис. 6) показал заметные расхождения в диаграммах распределения иммуноферментных методов и метода ВЭЖХ-МС/МС в диапазоне 6—12 нмоль/л. Данный интервал является важным при диагностике андрогенного дефицита у мужчин и, возможно, требует дополнительных тестов для подтверждения диагноза. В качестве альтернативной технологии может быть использовано определение свободного тестостерона в слюне и сыворотке крови [5, 6].

Для определения уровня тестостерона в сыворотке крови все чаще используются анализы на основе хромато-масс-спектрометрии [7], о чём свидетельствует почти пятикратное увеличение количества этих методов исследования в программах тестирования (PT) Коллегии американских патологов (CAP) в 2012—2015 гг. [8]. Однако и вариабельность измерений этими методами по сравнению с эталонным методом также существует [9, 10]. Изменчивость и неточность всех анализов тестостерона, так же как их клиническое значение, были подчеркнуты в редакционных статьях, комментариях, заявлениях эндокринологического сообщества и других материалах, опубликованных профессиональными организациями и экспертами [4, 11—18]. Международным центром по контролю и профилактике заболеваний (CDC) установлена программа стандартизации гормонов (HoSt) для повышения точности и достоверности анализа тестостерона [19]. Доступность эталонных измерительных процедур (RMP) [20—23], эталонных материалов и программы стандартизации CDC позволила изготовителям и лабораториям иммуноанализа повысить точность и надёжность результатов определения тестостерона, а также получить более точные и сопоставимые результаты.

Внешняя оценка качества исследований, выполняемых в КДЛ, является одним из важнейших элементов системы обеспечения качества клинической лабораторной диагностики. Она направлена прежде всего на обеспечение правильности результатов исследований биологических материалов в КДЛ и соответственно сопоставимости результатов, получаемых в разных лабораториях. Кроме того, внешняя оценка служит объективным инструментом оценки соответствия лабораторных результатов установленным нормативам качества. С

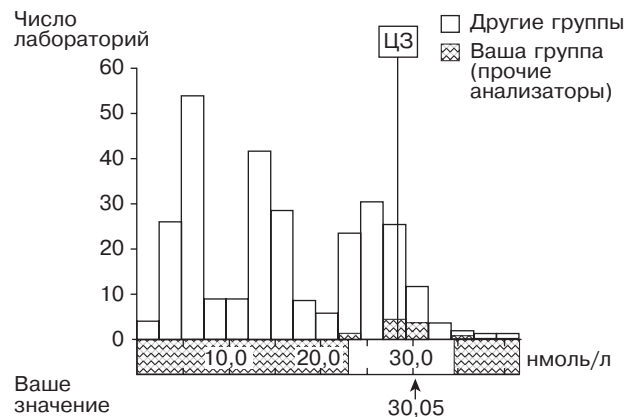


Рис. 7. Распределение средних значений определения тестостерона, полученных лабораториями, участвующими в системе ФСВОК.

1995 г. в нашей стране эта работа выполняется в рамках Федеральной системы внешней оценки качества клинических лабораторных исследований (ФСВОК). По данным ФСВОК-2016 (рис. 7), результаты определения общего тестостерона в КДЛ ЭНЦ отвечают необходимым требованиям. Среднее значение контрольного образца составляет 30,05 нмоль/л при целевом значении (ЦЗ) показателя 28,21 нмоль/л. Смещение составляет +6,5%, диапазон допустимых значений 23,10—34,46 нмоль/л.

Исходя из полученных данных, необходимо подчеркнуть важность правильного выбора метода и грамотной интерпретации результатов определения концентрации тестостерона при первичной диагностике, однако ещё более важным является использование одного и того же метода при лечении и долгосрочном наблюдении пациента. Окончательный диагноз определяется совокупностью клинических симптомов болезни и биохимических параметров пациента, опытом и знаниями лечащего врача.

Заключение. Опыт работы КДЛ ЭНЦ позволяет рекомендовать к использованию в клинических лабораториях диагностические тест-системы для исследования уровня общего тестостерона в сыворотке крови на анализаторах Architect 2000 и Vitros 3600 при условии персонализированного подхода к интерпретации результатов анализа каждого пациента. Высокоэффективная жидкостная хроматография — тандемная масс-спектрометрия используется для тестирования диагностических тест-систем в качестве метода сравнения. В настоящее время метод ВЭЖХ-МС/МС не может быть рекомендован для применения в рутинной диагностике, учитывая высокую стоимость оборудования и обслуживания.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гончаров Н.П., Кацья Г.В., Колесникова Г.С. *Ключевые гормоны в эндокринологии и методы их определения*. М: АдамантЪ; 2014.
2. Инструкция к набору реагентов для количественного определения тестостерона в сыворотке и плазме крови человека Architect 2nd Generation Testosterone REF 2P13.
3. Инструкция к набору реагентов для количественного определения тестостерона в сыворотке и плазме крови человека VITROS Immunodiagnostic Products Testosterone REF 143 5205.
4. Rosner W., Vesper H.W. Endocrine Society and endorsing organizations, Toward excellence in testosterone testing: a consensus statement. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2010; 95: 4542—8.
5. Малышева Н.М., Кацья Г.В., Гончаров Н.П. Диагностические возможности определения биологически активного свободного тестостерона в крови с использованием современной технологии ультрафильтрации. *Проблемы эндокринологии*. 2009; 55(3): 34—7.
6. Goncharov N., Katsya G., Dobracheva A., et al. Diagnostic significance of free salivary testosterone measurement using a direct luminescence immunoassay in healthy men and in patients with disorders of androgenic status. *Aging Male*. 2006; Jun; 9(2): 111—22.
7. Jannetto P.J., Fitzgerald R.L. Effective use of mass spectrometry in the clinical laboratory. *Clin. Chem.* 2016; 62: 92—8.
8. College of American Pathologists. Ligand (Special) Participant Summary, Y-B. Surveys; 2015.
9. Thienpont L.M., Van Uytvanhe K., Blincko S., Ramsay C.S., Xie H., Doss R.C. et al. State-of-the-art of serum testosterone measurements by isotope dilution-liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Clin. Chem.* 2008; 54: 1290—7.
10. Vesper H.W., Bhasin S., Wang C., Tai S.S., Dodge L.A., Singh R.J. et al. Interlaboratory comparison study of serum total testosterone

measurements performed by mass spectrometry methods. *Steroids*. 2009; 74: 498—503.

11. Herold D.A., Fitzgerald R.L. Immunoassays for testosterone in women: better than a guess? *Clin. Chem.* 2003; 49: 1250—1.
12. Rosner W., Auchus R.J., Azziz R., Sluss P.M., Raff H. Position statement: utility, limitations, and pitfalls in measuring testosterone: an Endocrine Society position statement. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2007; 92: 405—13.
13. Matsumoto A.M., Bremner W.J. Editorial: Serum testosterone assays — accuracy matters. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2004; 89: 520—4.
14. Sacks S.S. Are routine testosterone assays good enough? *Clin. Biochem.* 2005; Rev 26: 43—5.
15. Stanczyk F.Z., Lee J.S., Santen R.J. Standardization of steroid hormone assays: why, how, and when? *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2007; 16: 1713—9.
16. Wierman M.E., Basson R., Davis S.R., Khosla S., Miller K.K., Rosner W. et al. Androgen therapy in women: an Endocrine Society Clinical Practice guideline. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2006; 91: 3697—710.
17. Legro R.S., Arslanian S.A., Ehrmann D.A., Hoeger K.M., Murad M.H., Pasquali R. et al. Diagnosis and treatment of polycystic ovary syndrome: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2013; 98: 4565—92.
18. Rosner W., Vesper H.W. CDC workshop report improving steroid hormone measurements in patient care and research translation. *Steroids*. 2008; 73: 1285.
19. CDC, CDC Hormone Standardization Project. Standardization of serum total testosterone measurements (2016). Available at: http://www.cdc.gov/labstandards/pdf/hs/HoSt_Protocol.pdf (accessed 01.10.16).
20. Siekmann L. Determination of steroid hormones by the use of isotope dilution-mass spectrometry: a definitive method in clinical chemistry. *J. Steroid Biochem.* 1979; 11: 117—23.
21. Thienpont L.M., Van Nieuwenhove B., Stöckl D., Reinauer H., De Leenheer A.P. Determination of reference method values by isotope dilution-gas chromatography/mass spectrometry: five years experience of two European reference laboratories. *Eur J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 1996; 34: 853—60.
22. Tai S.S., Xu B., Welch M.J., Phinney K.W. Development and evaluation of a candidate reference measurement procedure for the determination of testosterone in human serum using isotope dilution liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* 2007; 388: 1087—94.
23. Botelho J.C., Shacklady C., Cooper H.C., Tai S.S., Uytvanhe K.V., Thienpont L.M. et al. Isotope-Dilution Liquid Chromatography—Tandem Mass Spectrometry Candidate Reference Method for Total Testosterone in Human Serum. *Clin. Chem.* 2013; 59: 372—80.

REFERENCES

1. Goncharov N.P., Katsiya G.V., Kolesnikova G.S. *Key hormones in endocrinology and methods of their determination [Kluchevye hormony v endocrinologii i metody ikh opredeleniya]*. Moscow: «Adamant»; 2014. (in Russian)
2. Kit for the quantitative measurement of testosterone in human serum and plasma Architect 2nd Generation Testosterone (instruction) REF 2P13.
3. Kit for the quantitative measurement of testosterone in human serum and plasma VITROS Immunodiagnostic Products Testosterone (instruction) REF 143 5205.
4. Rosner W., Vesper H.W. Endocrine Society and endorsing organizations, Toward excellence in testosterone testing: a consensus statement. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2010; 95: 4542—8.
5. Malysheva N.M., Katsiya G.V., Goncharov N.P. Diagnostic possibilities of determination of biologically active free testosterone in blood using modern ultrafiltration technology. *Problemy endocrinologii*. 2009; 55(3): 34—7. (in Russian)
6. Goncharov N., Katsya G., Dobracheva A. et al. Diagnostic significance of free salivary testosterone measurement using a direct luminescence immunoassay in healthy men and in patients with disorders of androgenic status. *Aging Male*. 2006 Jun; 9(2): 111—22.

7. Jannetto P.J., Fitzgerald R.L. Effective use of mass spectrometry in the clinical laboratory. *Clin. Chem.* 2016; 62: 92—8.
8. College of American Pathologists. Ligand (Special) Participant Summary, Y-B. Surveys; 2015.
9. Theinpont L.M., Van Uytvanhe K., Blincko S., Ramsay C.S., Xie H., Doss R.C. et al. State-of-the-art of serum testosterone measurements by isotope dilution-liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Clin. Chem.* 2008; 54: 1290—7.
10. Vesper H.W., Bhasin S., Wang C., Tai S.S., Dodge L.A., Singh R.J. et al. Interlaboratory comparison study of serum total testosterone measurements performed by mass spectrometry methods. *Steroids.* 2009; 74: 498—503.
11. Herold D.A., Fitzgerald R.L. Immunoassays for testosterone in women: better than a guess? *Clin. Chem.* 2003; 49: 1250—1.
12. Rosner W., Auchus R.J., Azziz R., Sluss P.M., Raff H. Position statement: utility, limitations, and pitfalls in measuring testosterone: an Endocrine Society position statement. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2007; 92: 405—13.
13. Matsumoto A.M., Bremner W.J. Editorial: Serum testosterone assays — accuracy matters. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2004; 89: 520—4.
14. Sacks S.S. Are routine testosterone assays good enough? *Clin. Biochem.* 2005; Rev 26: 43—5.
15. Stanczyk F.Z., Lee J.S., Santen R.J. Standardization of steroid hormone assays: why, how, and when? *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2007; 16: 1713—9.
16. Wierman M.E., Basson R., Davis S.R., Khosla S., Miller K.K., Rosner W. et al. Androgen therapy in women: an Endocrine Society Clinical Practice guideline. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2006; 91: 3697—710.
17. Legro R.S., Arslanian S.A., Ehrmann D.A., Hoeger K.M., Murad M.H., Pasquali R. et al. Diagnosis and treatment of polycystic ovary syndrome: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2013; 98: 4565—92.
18. Rosner W., Vesper H.W. CDC workshop report improving steroid hormone measurements in patient care and research translation. *Steroids.* 2008; 73: 1285.
19. CDC, CDC Hormone Standardization Project. Standardization of serum total testosterone measurements (2016). Available at: http://www.cdc.gov/labstandards/pdf/hs/HoSt_Protocol.pdf (accessed 01.10.16).
20. Siekmann L. Determination of steroid hormones by the use of isotope dilution-mass spectrometry: a definitive method in clinical chemistry. *J. Steroid Biochem.* 1979; 11: 117—23.
21. Thienpont L.M., Van Nieuwenhove B., Stöckl D., Reinauer H., De Leenheer A.P. Determination of reference method values by isotope dilution-gas chromatography/mass spectrometry: five years experience of two European reference laboratories. *Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 1996; 34: 853—60.
22. Tai S.S., Xu B., Welch M.J., Phinney K.W. Development and evaluation of a candidate reference measurement procedure for the determination of testosterone in human serum using isotope dilution liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* 2007; 388: 1087—94.
23. Botelho J.C., Shacklady C., Cooper H.C., Tai S.S., Uytvanhe K.V., Thienpont L.M. et al. Isotope-Dilution Liquid Chromatography—Tandem Mass Spectrometry Candidate Reference Method for Total Testosterone in Human Serum. *Clin. Chem.* 2013; 59: 372—80.

Поступила 20.05.17

Принята к печати 24.05.17

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 616.1-092:612.017.1

Дылева Ю.А.¹, Груздева О.В.^{1,2}, Акбашева О.Е.³, Учасова Е.Г.¹, Барбараш О.Л.^{1,2}

ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ И ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ СТИМУЛИРУЮЩЕГО ФАКТОРА РОСТА ST2

¹ФГБНУ «НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», 650002, Кемерово;

²ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 650029, Кемерово;

³ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 634050, Томск

ST2 является членом семейства рецепторов интерлейкина 1 (IL-1) и состоит из двух изоформ: трансмембранной, или клеточной (ST2L), и растворимой, или циркулирующей (sST2). ST2 является рецептором IL-33, который представляет собой IL-1-подобный цитокин. IL-33 проявляет свои клеточные функции, связывая рецепторный комплекс, состоящий из вспомогательного белка ST2L и IL-1R. Система IL-33/ST2 активируется в кардиомиоцитах и фибробластах в ответ на механическое раздражение или повреждение. Было показано, что взаимодействие между IL-33 и ST2L является кардиопротективным. На экспериментальных моделях продемонстрировано уменьшение фиброза миокарда, предотвращение развития гипертрофии кардиомиоцитов, снижение апоптоза и улучшение функциональной способности миокарда при взаимодействии IL-33 и ST2L. Положительные эффекты IL-33, в частности, связаны с рецептором ST2L. В свою очередь sST2, связываясь с IL-33, приводит к блокированию взаимодействия между IL-33/ST2L, устраняя тем самым кардиопротективные эффекты. В последние годы знания о роли ST2 в патофизиологии сердечно-сосудистых заболеваний расширились, и роль ST2 связывают с дисфункцией миокарда, фиброзом и ремоделированием. Помимо своей миокардиальной роли, система IL-33/ST2 может играть дополнительную роль в развитии и прогрессировании атеросклероза. Система IL-33/ST2L может обладать терапевтическим потенциалом при миокардиальной перегрузке или травме. sST2, напротив, действует как ложный рецептор IL-33, блокируя кардиопротективные эффекты взаимодействия IL-33/ST2L.

Ключевые слова: трансформирующий фактор роста ST2; интерлейкин 33; сердечно-сосудистые заболевания; фактор риска.

Для цитирования: Дылева Ю.А., Груздева О.В., Акбашева О.Е., Учасова Е.Г., Барбараш О.Л. Физиологическая и патофизиологическая роль стимулирующего фактора роста ST2. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2017; 62(10): 599-605. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-10-599-605>

Для корреспонденции: Дылева Юлия Александровна, канд. мед. наук, науч. сотр. лаборатории исследований гомеостаза отдела диагностики сердечно-сосудистых заболеваний НИИ КПССЗ; e-mail: dyleva87@yandex.ru