

**К оценке различий плазменного и сывороточного уровня половых стероидных гормонов и кортизола в свете данных о гормондепонирующей функции эритроцитов**

*Белорусский государственный медицинский университет*

Показано, что для более точной оценки гормонального гомеостаза половых стероидных гормонов и кортизола в норме и при патологических состояниях необходимо проводить параллельное определение сывороточного и плазменного уровня указанных гормонов и их мембранных резервов. Ключевые слова: травматическая болезнь, половые стероидные гормоны, кортизол, мембранное депо гормонов.

В предыдущих исследованиях [ 1,2 ] нами было показано, что при внутривенном лазерном облучении крови в постоянном магнитном поле через один час после начала двадцатиминутного сеанса магнито-лазерной терапии больных женщин с политравмой сывороточный уровень инсулина возрастал в среднем в 4 раза выше исходного, достигая в отдельных случаях 1500-2000 пикомоль/л при среднем уровне у первичных доноров-женщин порядка  $74 \pm 17$  пикомоль/л. В то же время, у больных мужчин с политравмой сеансы магнито-лазерной терапии не изменяли сывороточного уровня инсулина. При последующих поисках данных литературы для объяснения этого факта оказалось, что ещё в 1974-1978 гг. работами Л.И.Сандуляк и соавторов [ 3, 4 ] было показано, что эритроциты крови человека и животных участвуют в транспорте инсулина наряду с плазмой и являются его громадным депо, из которого инсулин поступает в плазму крови и ткани в ответ на повышение уровня глюкозы и молочной кислоты в крови. В дальнейшем было обнаружено, что эритроциты крови депонируют стероидные, тимические и тиреоидные гормоны [ 5, 6, 7 ] и могут высвобождаться из них под влиянием физико-химических факторов. В частности, под влиянием ультрафиолетового облучения ( $\lambda = 254$ ) цельной стабилизированной крови *in vitro* в течение 20 мин при толщине слоя 1 мм концентрация трийодтиронина в плазме возрастала в 3 раза [ 8 ]. Эти данные позволяли считать, что в нашем случае возрастание сывороточного уровня инсулина у женщин с политравмой после двадцатиминутного сеанса магнито-лазерной терапии обусловлено выходом части инсулина из эритроцитарного депо в плазму крови с последующим выявлением его в сыворотке крови.

В настоящем сообщении ставилась задача выявить различия в уровнях тестостерона, прогестерона, эстрадиола и кортизола в плазме и сыворотке крови больных с политравмой с целью оценки влияния процесса свертывания крови *in vitro* на высвобождение гормонов из эритроцитарного депо.

**Материал и методы**

Были проведены обследования пациентов с сочетанными травматическими повреждениями головы, костных и мягких тканей туловища, конечностей, а также внутренних органов грудной клетки и брюшной полости. Больные находились на излечении в 6-й клинической больнице г.Минска.

Оценивался гормональный статус 25 больных с политравмой без лазеротерапии на 1, 3, 5-7, 14, 21-22 сутки травматической болезни и 19 первичных доноров.

Содержание в сыворотке и плазме крови кортизола определяли у 16 больных, из них у 8 больных с летальным исходом и у 8 с благоприятным. Содержание тестостерона, прогестерона и эстрадиола в сыворотке и плазме крови определяли у 9 больных, из них у 3 больных с летальным исходом и у 6 с благоприятным.

Особенности полового и возрастного состава пациентов: из 19 первичных доноров было 10 женщин и 9 мужчин в возрасте в среднем  $36 \pm 3,6$  г. Из 16 больных с политравмой, обследованных на содержание кортизола в сыворотке и плазме было 8 мужчин и 8 женщин в возрасте в среднем  $44 \pm 4,0$  г, а из 9 больных обследованных на содержание половых стероидных гормонов было 5 мужчин и 4 женщины в возрасте в среднем  $39 \pm 4,7$  г. Пациенты с летальным исходом находились в стационаре от 1 ч. 35 мин. до 18 суток. Время госпитализации больных с благоприятным течением болезни колебалось от 3 до 83 суток.

В результате проведенной работы был определен уровень кортизола параллельно в 34 пробах сыворотки и плазмы крови и уровень прогестерона, тестостерона и эстрадиола параллельно в 18 пробах сыворотки и плазмы. Определение гормонов проводилось радиоиммунологическим методом с использованием наборов реактивов, выпускаемых хозрасчетным опытным производством Института биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси. Уровень кортизола, прогестерона, эстрадиола и тестостерона в сыворотке крови определяли, соответственно, наборами СТЕРОН – К 125 – I М, РИА – ПРОГЕСТЕРОН – ПР, РИА – ЭСТРАДИОЛ – ПР, РИА – ТЕСТОСТЕРОН – ПР; в плазме – РИА – КОРТИЗОЛ – СТ, РИА – ПРОГЕСТЕРОН – СТ, РИА – ЭСТРАДИОЛ – СТ, РИА – ТЕСТОСТЕРОН – СТ.

Статистическая обработка результатов исследований проводилась с использованием критерия Стьюдента путем сравнения различий средних групповых значений ( $M \pm m$ ,  $f=2n-2$ ,  $t$ ,  $p$ ) и различий индивидуальных значений ( $x$  сыв-х пл,  $f= n - 1$ ,  $t d$ ,  $p$ ) содержания гормонов в сыворотке и плазме крови [ 9 ].

Результаты и обсуждение

При исследовании содержания половых гормонов тестостерона, прогестерона и эстрадиола в сыворотке и плазме крови больных с политравмой на 1 – 22 сутки травматической болезни ( табл. 1 ) было показано, что под влиянием процесса свертывания крови *in vitro* у мужчин содержание тестостерона увеличивалось в сыворотке крови по сравнению с содержанием в плазме в 2 раза (  $x$  сыв-х пл,  $f= 8$ ,  $t d = 3,40$ ,  $p < 0,01$  ). Поэтому под влиянием политравмы содержание тестостерона в сыворотке и плазме крови мужчин по сравнению с уровнем тестостерона в сыворотке крови доноров снижалось в сыворотке в 2 раза, а в плазме-в 4 раза (  $f= 16$ ,  $p < 0,05$  ).

У женщин под влиянием процесса свертывания крови *in vitro* увеличение уровня тестостерона в сыворотке по сравнению с плазмой было значительно большим, чем у мужчин – в 6 раз (  $f=16$ ,  $t = 3,15$ ,  $p < 0,01$  ). Поэтому по сравнению с донорами у женщин с политравмой содержание тестостерона уменьшалось в сыворотке в 2,5 раза, а в плазме – в 16 раз (  $f= 16$ ,  $p < 0,05$  ).

При определении уровня прогестерона в сыворотке и плазме крови общей группы мужчин и женщин с политравмой и статистической обработке полученных результатов разностным методом выявлена тенденция к увеличению уровня прогестерона в сыворотке по сравнению с плазмой (  $f= 8$ ,  $t d = 2,20-2,25$ ,

0,05 < p < 0,10 ). При этом, изменение содержания прогестерона в сыворотке и плазме крови больных мужчин с политравмой по сравнению с сывороточным уровнем доноров было недостоверным, а у женщин с политравмой было достоверное снижение содержания прогестерона в сыворотке-в 3,5 раза, в плазме – в 4 раза ( f= 16, p < 0,05).

Таблица 1

Особенности изменений содержания половых гормонов тестостерона, прогестерона и эстрадиола в сыворотке и плазме крови больных с политравмой на 1-22 сутки травматической болезни

Группы больных с политравмой на 1-22 сутки травматической болезни и первичных доноров		Группы проб параллельных определений гормонов в сыворотке и плазме крови больных с политравмой					
		А		Б		В	
		Тестостерон нмоль/л		Прогестерон нмоль/л		Эстрадиол нмоль/л	
	сыворотка	плазма	сыворотка	плазма	сыворотка	плазма	
1	Мужчины с политравмой (5 больных)	9,3 ± 3,14* n=9	4,7 ± 1,86* n=9	2,0 ± 0,45 n=9	1,2 ± 0,35 n=9	0,14 ± 0,033 n=9	0,11 ± 0,022* n=9
2	Доноры Мужчины (9)	20,0 ± 0,87 (9)	-----	1,1 ± 0,67 (3)	-----	0,23 ± 0,020 (10)	-----
3	Женщины с политравмой (4 больных)	1,5 ± 0,39* n=9	0,24 ± 0,09* n=9	1,7 ± 0,35* n=9	1,3 ± 0,35 n=9	0,34 ± 0,068 n=9	0,33 ± 0,063 n=9
4	Доноры Женщины (10)	3,8 ± 0,30 (10)	-----	5,6 ± 2,5 (16)	-----	0,43 ± 0,041 (10)	-----
Сравнение уровней гормонов в сыворотке и плазме больных и в сыворотке доноров		** Достоверное увеличение в сыворотке крови больных по сравнению с плазмой * Достоверное снижение в сыворотке и плазме больных по сравнению с донорами		Тенденция к увеличению в сыворотке крови больных по сравнению с плазмой ** Достоверное снижение в сыворотке и плазме больных по сравнению с донорами		Достоверных различий между уровнем в сыворотке и плазме больных нет ** Достоверное снижение в сыворотке и плазме больных по сравнению с донорами	

Примечание: статистическая обработка по Кокунину В. А. [ 9 ] с расчетом различий сывороточного и плазменного уровней гормонов по средним групповым значениям (f= 2n-2) и по разности индивидуальных значений уровня гормонов (f= n-1)

При параллельном исследовании уровня эстрадиола в сыворотке и плазме крови общей группы больных мужчин и женщин достоверных изменений сывороточного уровня эстрадиола по сравнению с плазменным не было обнаружено. В то же время, по сравнению с сывороточным уровнем эстрадиола у доноров содержание эстрадиола в сыворотке и плазме мужчин с политравмой снижалось в 1,5 и 2 раза, соответственно ( f= 16, p < 0,05).

Таким образом, при одновременном получении стабилизированной и нестабилизированной антикоагулянтами крови и последующем выделении их жидкой части ( плазмы и сыворотки, соответственно) были обнаружены достоверное увеличение содержания тестостерона и тенденция к увеличению содержания прогестерона в сыворотке по отношению к плазме. Это значит, что процесс свертывания крови in vitro с последующей ретракцией сгустка и

выделением сыворотки сопровождается стимуляцией выхода тестостерона из мембранного депо в сыворотку. Вероятно, первые трое суток после политравмы, в условиях диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови системы микроциркуляции (ДВС-синдром), снижение уровня тестостерона и прогестерона в циркулирующей по макрососудам крови может быть связано с эритропенией, лимфопенией, тромбоцитопенией и небольшим насыщением гормонами мембранного депо поступающих в кровь резервных форменных элементов. В то же время, в поврежденных тканях содержание этих анаболических гормонов должно быть увеличено. Возможно, что при тяжелой физической работе физиологический ДВС-синдром способствует увеличенному переходу в ткани анаболических гормонов из мембранных депо крови.

Следует отметить, что плазменный и сывороточный уровень эстрадиола при политравме по сравнению с донорским сывороточным уровнем понижался только у мужчин. Причем, не наблюдалось различий между сывороточным и плазменным уровнем эстрадиола. В то же время известно, что эстрадиол обладает антиоксидантными свойствами и может окисляться перекисью водорода [ 10 ], которая интенсивно образуется в лейкоцитах (нейтрофилах) и тромбоцитах в условиях системного воспалительного ответа на травму. Окисление эстрадиола катализируется пероксидазной активностью крови и, возможно, с этим связано отсутствие сывороточного повышения уровня эстрадиола по сравнению с плазменным при политравме.

При определении содержания кортизола (17-оксикортикостерона) в сыворотке и плазме крови больных с политравмой ( табл. 2 ) на 5-22 сутки травматической болезни и у части больных на 1-3 сутки травматической болезни между плазменным и сывороточным уровнем кортизола не было разницы при лёгком течении травматической болезни.

Только у крайне тяжелых больных (сочетанные травмы: переломы верхних и нижних конечностей, черепно-мозговые травмы, травмы органов грудной клетки и брюшной полости) на 1-3 сутки травматической болезни плазменный уровень кортизола был в 2,5 раза выше, чем в эти сроки у больных с легким течением травматической болезни. В сыворотке крови этих больных уровень кортизола снижался в 2 раза (табл. 2 А, больные с благоприятным и летальным исходом).

Следует заметить, что в группе больных с летальным исходом в более поздние сроки травматической болезни-5-22 сутки (табл. 2, 2В) уровень кортизола и в плазме, и в сыворотке был в 3 раза ниже сывороточного уровня кортизола у доноров. В то же время, при благоприятном течении травматической болезни уровень кортизола на 3-22 сутки и в плазме, и в сыворотке достоверно не отличался от сывороточного уровня кортизола у доноров (табл.2, 3 В). Эти данные свидетельствуют об истощении глюкокортикоидных резервов ( и в железах внутренней секреции, и в эритроцитарном депо) у больных с летальным исходом травматической болезни на 5-22 сутки после политравмы.

Обращают на себя внимание данные о резком снижении плазменного уровня кортизола после свертывания крови *in vitro* (табл. 2, 1А – 2А-3А). Кортизол (17-оксикортикостерон) в своей химической структуре содержит гидроксильную группу, обладает противовоспалительными свойствами и, возможно, подобно эстрадиолу [ 10 ], может проявлять антиоксидантные свойства, взаимодействуя в

пероксидазной реакции с перекисью водорода с переходом кортизола в кортизон и образованием из молекулы перекиси водорода двух молекул воды.

Табл. 2 Особенности изменений содержания кортизола (гидрокортизона-17-оксикортикостерона) в сыворотке и плазме крови больных с политравмой на 1-22 сутки травматической болезни ( $M \pm m$ ;  $n = 4-14$ )

Группы больных с политравмой на 1-22 сутки травматической болезни и первичных доноров	Группы проб параллельных определений кортизола в сыворотке и плазме крови					
	А. У 5 больных уровень кортизола в плазме больше 1000 нмоль/л и сыворотке меньше 1000 нмоль/л при обследовании в первые часы, через 1 и 3 суток болезни		Б. У 7 больных уровень кортизола в плазме и сыворотке меньше 1000 нмоль/л при обследовании в первые часы, после 1 и 3 суток болезни		В. У 9 больных уровень кортизола в плазме и сыворотке меньше 1000 нмоль/л при обследовании на 5 - 7, 14, 21 - 22 сутки болезни	
	сыворотка	плазма	сыворотка	плазма	сыворотка	плазма
1. Больные с благоприятным и летальным исходом (16 б-ных.)	641±41 n = 10	1226±142 n = 10 **	478±58 n = 10	497±73 n = 10	292±39 n = 14	279±45 n = 14
2. Больные с летальным исходом (8 б-ных.)	665±59 n = 6	1310±186 n = 6 **	510±110 n = 2	665±35 n = 2	121±22 n = 5 ***	90±14 n = 5 ***
3. Больные с благоприятным исходом (8 б-ных.)	605±57 n = 4	1100±235 n = 4	469±70 n = 8	454±85 n = 8	387±24 n = 9	384±33 n = 9
4. Первичные доноры (19 доноров, 10ж.+9м)	308±99 n = 19	----	308±99 n = 19	----	308±99 n = 19	----
Сравнение уровней гормонов в сыворотке и плазме больных и в сыворотке доноров	** Достоверное снижение в сыворотке по сравнению с плазмой		Достоверных различий между уровнем в сыворотке и плазме нет		*** Достоверное различие в сыворотке и плазме между благоприятным и летальным исходом	

Примечание: статистическая обработка по Кокунину В. А. [ 9 ] с расчетом различий сывороточного и плазменного уровней гормонов по средним групповым значениям ( $f = 2n - 2$ ) и по разности индивидуальных значений уровня гормонов ( $f = n - 1$ )

Мы склонны таким образом объяснять двукратное снижение плазменного уровня кортизола после свертывания крови *in vitro* на 1-3 сутки политравмы при тяжёлом течении травматической болезни с наличием в крови активированных лейкоцитов (нейтрофилов) и тромбоцитов, продуцирующих супероксидные радикалы и перекись водорода.

**Выводы**

1. Свертывание крови *in vitro* сопровождается двукратным повышением сывороточного уровня тестостерона по сравнению с плазменным у мужчин с политравмой и шестикратным у женщин с политравмой и, наоборот, двукратным снижением сывороточного уровня кортизола по сравнению с плазменным на 1-3 сутки политравмы при тяжёлом течении травматической болезни.

2. Повышение сывороточного уровня тестостерона по сравнению с плазменным после свертывания крови *in vitro* в соответствии с данными литературы о мембранном депонировании стероидных гормонов можно объяснить их выходом из мембранного (эритроцитарного) депо.

3. Параллельное определение сывороточного и плазменного уровня половых стероидных гормонов (тестостерона, прогестерона) и кортизола позволяет судить о влиянии процесса свертывания крови на гормональный гомеостаз больных с политравмой.

#### Литература

1. Чумаков В.Н., Картун Л.В., Ходосовская Е.В., Сердюченко Н.С., Прасмыцкий О.Т., Беспальчук П.И.-Влияние внутрисосудистой низкоинтенсивной лазеротерапии на гормональный статус больных с политравмой // Сб. «Актуальные проблемы охраны здоровья, окружающей среды и подготовки кадров для профилактического здравоохранения республики Беларусь» – Минск, 2004.-, ч.П.-С.-. 365-369.

2. Н. С. Сердюченко, О.Т. Прасмыцкий, П.И. Беспальчук, В.Н. Чумаков, В.Г. Безкровная, Л.В. Картун, Е.В. Ходосовская, Г.К. Абашева-Влияние курсовой внутрисосудистой низкоинтенсивной лазеротерапии на гормональный и оксидантный статус больных при травматической болезни / "Белорусский медицинский журнал".-2005.-№ 1. – С. 83-85

3. Л.И. Сандуляк-Эритроциты как депо и система транспорта инсулина / Доклады Академии наук С С С Р.-1974.-Том 219.-№ 4.-С. 1020 – 1021

4. Л.И. Сандуляк, В.П. Ковалёв – Иммунофлуоресцентный метод выявления инсулина в эритроцитах.-Проблемы эндокринологии.-1978.-т. 24.-№ 5.-С. 77 – 78.

5. Е.Г. Кирдей, Л.А. Дмитриева – Характер и условия сорбции эритроцитами биологически активных веществ / Сибирский медицинский журнал.-1995.-№ 2.- С. 23-25.

6. С.И. Доломатов, В.П. Пишак, Т.С.Слипенюк, И.Ф.Мицишан, Т.В.Окопная-Способность эритроцитов депонировать тиреоидные гормоны: регуляторная роль физикохимических факторов *in vitro* / Вопр. мед. химии.-1999.-т.45.-вып. 6.- С. 572-577

7. Е.И. Федорович, Ю.Е. Демидчик, О.В. Свиридов – Биомедицинские аспекты взаимодействия тиреоидных гормонов с эритроцитами при раке щитовидной железы / АОЗТ "Издательский дом "ОГОНЕК".-Москва, 2001.-96 С.

8. В.Н.Запорожан, А.И.Гоженко, С.И.Доломатов – Влияние физико-химических факторов *in vitro* на гормондепонирующую способность эритроцитов человека.-Проблемы эндокринологии.-2001.-т. 47.-№ 5.-С. 41 – 43.

9. В. А. Кокунин-Статистическая обработка данных при малом числе опытов.-Украинский биохимический журнал. – 1975.-т. 47.-№6.-С. 776-790

10. Ю. М. Петренко, А. И. Матюшин, В. Ю. Титов, Ю. А. Владимиров – Эритроцитарный путь метаболических превращений половых гормонов. – Экспериментальная и клиническая фармакология. – 1995.-т. 58.-№4.-С. 36 – 40.