

МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – ПЛОВДИВ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ
КАТЕДРА ПО ФАРМАКОЛОГИЯ И КЛИНИЧНА
ФАРМАКОЛОГИЯ

Д-Р ДЕЛЯН ПЕНЕВ ДЕЛЕВ

ПОВЛИЯВАНЕ НА АНДРОПАУЗА
В ЕКСПЕРИМЕНТ

ДИСЕРТАЦИОНЕН ТРУД
ЗА ПРИСЪЖДАНЕ НА ОБРАЗОВАТЕЛНА И
НАУЧНА СТЕПЕН „ДОКТОР”

Научен ръководител: Проф. Д-р Иванка Костадинова,
дм.

Научен консултант: Проф. Д-р Тодорка Цветкова, дмн.

Шифър на специалността „Фармакология”
03.01.24

Пловдив, 2012

*Посвещавам настоящия дисертационен
труд на моите родители*

СЪДЪРЖАНИЕ

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ В ДИСЕРТАЦИЯТА	5
ВЪВЕДЕНИЕ	7
ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР	11
1. Физиологична основа на андропаузата.....	11
1.1. Промени в нивото на хипоталамо -хипофизарни хормони.....	13
1.2. Възрастово-зависими увреждания от андрогенното действие и активния метаболизъм на тестостерона.	14
2. Фактори, водещи до намаление на серумното ниво на тестостерон.	18
3. Свързани с възрастта физиологични промени при андрогенен дефицит.....	19
4. Връзка между нивото на тестостерона и някои показатели:	20
4.1. Обща телесна и мускулна маса и сила.	21
4.2. Повишен риск от развитие на диабет тип II.	21
4.3. Метаболитни промени (HDL холестерол, инсулиновите и глюкозни нива, протромбиновите фактори, образуване на атеросклеротични плаки).	21
4.4. Костообразуване, КМП плътност.	22
4.5. Мозъчни функции-настроение, памет, сън.....	23
5. Мултифакторна етиология на свързаните с възрастта физиологични промени.	24
6. Потенциални последствия и значение на възрастово обусловените физиологични промени.	25
7. Заместителна терапия с тестостерон при възрастни мъже:	25
7.1. Влияние върху телосложение, мускулна сила, КМП	25
7.2. Влияние върху либидо, сексуална активност, качество на живот	26
7.3. Влияние върху процесите на обучение и памет	27
7.4. Влияние върху функциите на сърдечно-съдова система	27
7.5. Промени на хематологични показатели и биомаркери	28
7.6. Влияние при обструктивна сънна апнея	28
7.7. Риск от клинично проявено заболяване на простатата.....	29
7.8. Потенциални ползи от заместителна терапия с тестостерон.....	30
7.9. Рискове от заместителната терапия.....	30
8. Диагностични подходи при андрогенен дефицит на възрастни мъже.	32
9. Лекарствени препарати за заместителна терапия с тестостерон.	35

10. Диагностични тестове за проследяване на ефектите от заместителната терапия с тестостерон.	38
11. Експериментални модели на андропауза.	39
Обобщение:	40
ЦЕЛ И ЗАДАЧИ.....	43
МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ.....	44
РЕЗУЛТАТИ.....	55
Резултати от хематологичните изследвания:	55
Резултати от клинично – химичните тестове: Чернодробни показатели:	66
Клинично- химични тестове: Метаболитни показатели	74
Хормонален статус:	80
Серумни протеини:	82
Серумен калций	86
Серумен мелатонин:	88
ОБСЪЖДАНЕ:	91
Ефект на ТЗТ върху хематологичните показатели	91
Ефекти върху метаболитните показатели	99
Ефект на ТЗТ върху активността на хепаталните ензими	109
Ефекти върху простатно специфичен антиген.....	110
Ефекти на заместителна терапия с тестостерон върху концентрацията на мелатонин в серума	112
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	114
ИЗВОДИ.....	115
ПРИНОСИ	117
ПУБЛИКАЦИИ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД	119
ПРИЛОЖЕНИЕ	121
БИБЛИОГРАФИЯ.....	138

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

Съкращения на български език:

АлАТ – Аланинаминотрансфераза

АсАТ – Аспартатаминотрансфераза

АФ – Алкална фосфатаза

ГТРХ – Гонадотропин рилизинг хормон

ДХЕА – Дехидроандростендиол

ДХП – Доброкачествена хиперплазия на простатата

ДХТ – Дехидротестостерон

Е2 – Естрадиол

ИБС – Ишемична болест на сърцето

ИТМ – Индекс на телесната маса

КМП – Костна минерална плътност

ЛДХ – Лактатдехидрогеназа

НЛР – Нежелани лекарствени реакции

ОМИ – Остър миокарден инфаркт

ОСА – Обструктивна сънна апнея

ПСА – Простатно специфичен антиген (PSA)

СПХГ – Свързващ половите хормони глобулин

ССС – Сърдечно-съдова система

Т2ЗД – Захарен диабет тип 2

ТГ – Триглицериди

ТЗТ – Тестостеронзаместителна терапия

ТТС – Трансдермална терапевтична система

ХЗТ – Хормонзаместителна терапия

ЧХГ – Човешки хориогонадотропин

ХМГ-КоА – 3-хидрокси-3-метилглутарил-коензим А

Съкращения на английски език:

HDL – High-density lipoprotein (липопротеин с висока плътност)

IGF, IGF-1 – Insulin-like Growth factor (инсулиноподобен растежен фактор)

LDL – Low-density lipoprotein (липопротеин с ниска плътност)

PSA – Prostate specific Antigen (Простатно-специфичен антиген)

SEM – Standart Error of the Mean (Стандартна грешка на средната)

TG – Triglycerides (триглицериди)

HGB – Haemoglobin (хемоглобин)

RBC – Red Blood Cells (червени кръвни клетки)

WBC – White Blood Cells (бели кръвни клетки- левкоцити)

PLT – Platelets (тромбоцити)

MCV – Mean corpuscular volume (среден обем на еритроцитите)

ВЪВЕДЕНИЕ

Проблемът, касаещ мъжката “менопауза” за първи път е представен през 16 век в китайски текстове по вътрешни болести. Още от древни времена се е считало, че тестисите поддържат мъжа бодър и пълен със сили. Преди повече от 100 години, когато учените все още не са били открили андрогените, както и ролята им във функционирането на организма са правени смели и предизвикателни опити за подмладяване: През 1889 година известен френски физиолог и невролог на име Brown-Sequard съобщава за краткотраен и оптимистичен резултат, след като си е инжектирал воден екстракт от кучешки семенници. Това събитие поставя начало на нова наука – ендокринологията. Години по-късно Eugen Steinach забелязва, че лигирането на тестикуларните съдове предизвиква атрофия на герминативния епител, но същевременно води до хипертрофия на лайдиговите клетки и допуска, че подобна намеса може да има благоприятно влияние. Ърнест Хемингуей е приемал тестостерон за да повиши либидото и устойчивостта си през последните десет години от живота си. В процеса на стареенето, чиито причини и механизъм все още не са изяснени, на всички нива на организация на организма настъпват инволютивни процеси, включително и в половата система. При жените в менопауза се наблюдава бързо отпадане на овариалните функции, за разлика от мъжкия пол, при който се развива постепенно намаление на гонадните функции, с наличие на големи индивидуални колебания.

Мнозина автори доказват намаление на нивото на тестостерона в процеса на стареенето на мъжа: Christ-Crain съобщава за наличие на релативен хипогонадизм при всеки пети мъж на възраст над 60 години. Според други автори при здрави мъже над 55 години освен намалено ниво на тестостерон се наблюдават и редуция на андрогените. Всичко това води до промени в телесната структура, намалена енергия, мускулна сила и физически функции, редуция на сексуалните

функции, депресивно настроение, неразположение и намалени когнитивни функции. Подобни промени се срещат и при млади мъже с андрогенен дефицит. След заместителна терапия с тестостерон при тях се наблюдава значително подобрене на споменатите симптоми. Все още е неясна физиологичната и клинична значимост на асоциираното с възрастта намаление на серумните тестостеронови нива при мъжа. Отчасти това се дължи на факта, че нивото на тестостерона при възрастни мъже е в рамките на нормалното за млади мъже. От практическа гледна точка най-подходящо е да определим понятието “андропауза” като възрастовозависимо намаление на серумните нива на тестостерона при стареещия мъж, сравнено с нивото на свободния тестостерон при млад мъж и асоциирано с клиничен синдром /симптоми и синдроми свързани с дефицит на андрогени/. Намаленото ниво на тестостерон може да е следствие от множество заболявания, както и от тяхното лечение. Важността на изясняването на този проблем е свързана с подобряване качеството на живот на мъжете с дефицит на мъжки полови хормони.

При серумно ниво на тестостерона под долната граница, т.е. под 11, съответно 8 nmol/l, андрогенният недостиг е налице и не подлежи на съмнение, независимо от възрастта на изследвания.

През 1939 година за първи път Werner употребява израза «мъжки климактериум» (climacterium virile) за обозначаване на физиологичните промени, настъпващи у мъжа след 50 годишна възраст. Този термин подчертава многомерната природа на възрастовозависимите промени, включително намалението на растежен хормон, инсулинподобен растежен фактор – 1, дихидроепиандростерон и мелатонин, но не обяснява аспектите на синдрома на стареещия мъж с нивата на андрогените. Sihll през 2001 година предлага термина “криза на средната възраст”.

Най-често използвано определение на андрогенен дефицит е андропауза, а по-рядко се среща виропауза и пенопауза. През 1998 година се е обсъждало и понятието «андропения». Характерните промени, съпътстващи стареещия мъж, налагат въвеждането на термин,

който не предизвиква асоциации с менопаузата. Термините виروпауза и мъжки климактериум са неприемливи, тъй като не настъпва намалена маскулинизация или спиране (прекъсване) на циклични промени.

Особено популярен в Канада и САЩ е ADAM – **A**ndrogen **D**ecline in the **A**ging **M**ale. Този термин е сполучлив с оглед на биологичните процеси, които характеризират промените. Не обхваща явлението изцяло защото не включва всички отличителни промени за пола и периода на поява. Австрийското урологично дружество предлага PADAM – **P**artial **A**ndrogen **D**eficiency of the **A**ging **M**ale /частичен андрогенен недостиг у стареещия мъж/. Съществуват и други акроними – PEDAM, PEVAM.

Понятието «андропауза» (пауза, край) е най-уместно да се използва в състояние след кастрация, било тя хирургична, медикаментозна или лъчева.

Терминът “андропауза” не е единственият, който обобщава синдрома на възрастовозависимите промени и постепенното и прогресивно намаление на нивото на тестостерон, опосредствани от стареенето. В последните години най-често употребяваният от експертите термин е LOH (Late Onset Hypogonadism)¹.

Многообразието от предложения за подходящо определение показва колко неточни и непълни са познанията до момента. Търсенето на нови варианти вероятно ще продължи, докато не се намери най-подходящото обозначение за клиничното и биологичното състояние, бележещо остаряването на силния пол.

Проблемите, свързани с остаряването на мъжете търсят своето изясняване. Не е уточнен и термина, с който да се обобщат симптомите, свързани с намаляването на нивото на тестостерона в процеса на старението при мъжете. Направени са клинични проучвания за ползите и рисковете от заместителната терапия с тестостерон. Експерименталните проучвания на този проблем ще помогнат в създаването на батерия от диагностични тестове за характеризиране на клиничните симптоми, свързани с остаряването на мъжете. Ползите от такива изследвания са и в полето на заместителната терапия с тестостерон. Промените в хематологични клинично-лабораторни и други

специфични за състоянието показатели при остро и хронично третиране на животни са важни за изясняване на механизмите на настъпилите промени, както и ползата и риска от заместителната терапия с тестостерон, дозите и продължителността на лечението с препарати, съдържащи тестостерон, оптимизиране на приложението на различните лекарствени форми, които се използват.

Корекцията на симптомите, свързани с остаряването на мъжете ще подобри качеството им живот, ще подпомогне профилактиката на сърдечно-съдовите, мозъчно-съдовите заболявания в тази възраст.

ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР

1. Физиологична основа на андропазата – възрастовозависимо намаление на серумните нива на тестостерона. В много популационни (cross-sectional studies)^{2,3,4,5,6,7,8,9} и кохортни и панелни проучвания^{10,11,12,13,14,15}, от тридесетте години на миналия век, стареенето се асоциира с постепенно и прогресивно намаление на стойностите на тестостероновите нива приблизително с около 1% на година. Като краен резултат около 20% от мъжете на възраст над 60 години и приблизително 50% от мъжете на 80 годишна възраст имат серумни нива на тестостерона по-ниски от референтните за млад мъж^{16,17}.

Циркулиращият тестостерон е свързан приблизително 98% със серумните протеини, предимно с глобулин, който притежава най-висок афинитет към половите хормони и албумин^{18,19,20}. Само 1-2% от тестостерона в циркулацията не е свързан с протеините. Тестостеронът притежава най-висок афинитет към СПХГ, а комплексът СПХГ-тестостерон е недостъпен за действие в повечето тъкани. Обратно тестостеронът, свързан слабо с албумина, както и свободният тестостерон е наличен за действие в повечето тъкани. Тъй като концентрацията на СПХГ се увеличава с напредването на възрастта, концентрацията на свободния и свързания с албумин тестостерон намалява подчертано при стареенето в сравнение с тоталния^{21,22,23,24,25,26,27}. Това е причината голям процент от стареещите мъже да имат по-ниска концентрация на тези две биологично активни фракции на тестостерона далеч по-ниски от циркулиращи фракции на свободен и свързан с албумин тестостерон при младите мъже²⁸.

Повишеният СПХГ има важно клинично и практическо значение за диагностицирането на андрогенната недостатъчност. Нивото на СПХГ се повишава с напредването на възрастта. Остаряващите мъже с ниско или нормално ниво на тестостерона имат свободен тестостерон, със стойности по-ниски от референтните за млад мъж. Тестикуларната функция и хипоталамичната регулация на ГТРХ намалява със

стареенето. Установено е, че понижаването на серумното ниво на тестостерона с увеличаване на възрастта се дължи на намалената продукция на тестостерон от тестисите и редукция в секрецията на ГТРХ от хипоталамуса в резултат на неадекватна стимулация от лутеинизиращ хормон, продукт на хипофизната жлеза.

Изследването на биологично активен (свободен) тестостерон не се влияе от промените в количеството на СПХГ. Това осигурява по-добра оценка на биологично активния тестостерон в кръвта, особено при възрастни индивиди, където може да се наблюдава умерено увеличение или намаление на СПХГ^{29,30,31}.

Възрастните мъже имат демонстративно намаление в броя на Лайдиговите клетки^{32,33,34}. Наблюдава се понижена продукция на базален тестостерон^{35,36} и значително редуцирана секреция на тестостерон в отговор на максимална стимулация след прилагане на човешки хорионгонадотропин, хормон, подобен на лутеинизиращия^{37,38,39,40,41}. Влиянието на редуцираната продукция на тестостерон върху нивото на циркулиращия тестостерон се подценява заради намаления му метаболитен клирънс, който се наблюдава при стареенето⁴². Нормалните циркадни вариации в серумните нива на тестостерона с пикови концентрации сутрин са описани при здрави възрастни мъже, сравнени с млади^{43,44,45,46,47,48}. Този факт говори за промяна в циркадната функция на хипоталамуса. Поради тази причина след намаленото ниво на секреция на тестостерон рано сутрин, в късния следобед се наблюдават почти еднакви нива на хормона при възрастни спрямо млади здрави мъже⁴⁹.

С напредване на възрастта се установява намаление на функциите на полулунните каналчета. При възрастни мъже в сравнение с млади, сперматогенезата, определена хистологично е редуцирана^{50,51,52}. Количеството на еякулираната сперма е често намалено като резултат от снижени еякулаторен обем и честота, но може да бъде и непроменено⁵³. Броят на сперматозоидите с нормален мотилитет и морфология също намалява с напредване на възрастта, но оплодителната способност „ин витро“ е добре съхранена при

възрастните мъже⁵⁴. Въпреки всеобщия запазен оплодителен потенциал⁵⁵ и документалните доказателства за бащинство след 90 годишна възраст, нивото на фертилност намалява с нарастването на възрастта^{56,57}, най-често като следствие на намалената сексуална активност⁵⁸. Броят на Сертолиевите клетки⁵⁹, полулунните каналчета, подпомагащи сперматогенезата и серумните нива на инхибин-Б намаляват в процеса на стареенето⁶⁰. Инхибин-Б е пептид, продукт на сертолиевите клетки, отговорен за потискане на секрецията на фоликулостимулиращ хормон от хипофизната жлеза на принципа на обратната връзка. По-осезаемо намаление на нивото на инхибин-Б се наблюдава при мъже на средна възраст. Концентрацията му остава стабилна от средна до старческа възраст⁶¹.

1.1. Промени в нивото на хипоталамо -хипофизарни хормони.

В множество клинични проучвания намалението на серумните нива на тестостерона се свързва с увеличението на серумните гонадотропини, ФСХ и в по-малка степен с концентрацията на лутеинизиращ хормон^{62,63,64}. Нивата на гонадотропините се увеличават при стареенето, но те често запазват стойностите си в широки граници, които са нормални за млади мъже. Крайният хормонален рисунок с ниски нива на серумния тестостерон и нормални гонадотропини при възрастни мъже, предполага продължителна хипоталамо -хипофизна дисфункция, съпроводена с първично отпадане на дейността на тестисите. Ниски нива на серумния тестостерон, съчетан с нормален гонадотропин са честа находка при възрастни мъже със симптоми на андрогенен дефицит и са изява на вторичен хипогонадизъм⁶⁵.

Детайлните проучвания на пулсовата секреция на гонадотропин дават индиректни доказателства за свързано с възрастта прекратяване на секрецията на ГТРХ от хипоталамуса. В сравнение с нормалните, младите хипогонадни мъже с ниски серумни тестостеронови нива показват увеличена пулсова честота и амплитуда на лутеинизиращия хормон, в резултат на намалена тестостеронова негативна обратна връзка^{66,67}. При здрави възрастни мъже с ниски серумни нива на тестостерон, сравнени с младите, лутеинизиращият хормон има

абнормена пулсова честота, намалена пулсова амплитуда и по-нередовна секреция. Това предполага възрастово-зависимо увреждане на хипоталамусния ГТРХ пулсов генератор^{68,69,70,71,72,73,74,75}. Базалната секреция и пулсова амплитуда на фоликулостимулиращ хормон се увеличават. Сравнено с младите мъже се наблюдава нормална секреция на фоликулостимулиращ хормон при възрастни мъже^{76,77,78}. Възрастните мъже също така показват отслабена стимулация на гонадотропна секреция от налтрексон и налоксон и антагонистите на опиоидните рецептори. Този факт предполага, че с възрастта се уврежда централно нервната регулация на ендогенните опиоиди, които влияят на секрецията на ГТРХ⁷⁹. Чувствителността на гонадотропиновата секреция спрямо тестостерон-негативната обратна връзка се увеличава^{80,81,82} и гонадотропният отговор на предизвиканата от андроген рецепторен антагонист (флутамид) или инхибитор на андрогенната синтеза (кетоконазол) андрогенната загуба е по-слаба при възрастните, отколкото при младите мъже^{83,84}.

Сравнени с младите, възрастните мъже показват слабо намален гонадотропен отговор след остро прилагане на ГТРХ^{85,86,87}. Намалените стойности на лутеинизиращ хормон при наличен хроничен пулсов ГТРХ предполага, че хипофизната гонадотропна секреция не се променя с възрастта. Взети заедно, тези находки показват, че стареенето е свързано с нарушения, както във функцията на тестисите, така и в хипоталамусната регулация на гонадотропната секреция.

1.2. Възрастово-зависими увреждания от андрогенното действие и активния метаболизъм на тестостерона.

1.2.1. Генотип на андрогенни рецептори – значение и особености.

От достъпната до момента литература става ясно, че проучванията относно ролята на тестостерона в механизмите на негативна обратна връзка са доста ограничени. Не е провеждана системна оценка на възрастово-зависимите промени в андрогенното действие в таргетните органи. Андроген рецепторната генна експресия в СА1 региона на хипокампуса и броят на свързващите места на

андрогенните рецептори в кожата на гениталиите са намалени при възрастните, в сравнение с младите мъже^{88,89,90}. При възрастни мъже без наличие на доброкачествена простатна хиперплазия андрогенната рецепторна експресия и плътността на нуклеарните андрогенни рецептори остават непроменени и са подобни на тези при млади мъже^{91,92}. Независимо от този факт при възрастни мъже с ДХП простатната андрогенна рецепторна експресия е намалена и нивата на нуклеарните андрогенни рецептори са увеличени⁹³.

Честотата на повторение на тринуклеотида CAG (цитозин, аденин, гуанин) в гена за андрогенния рецептор е вариабилна. Тя най-вероятно е свързана с разлики в транскрипционната активност. Почестите CAG повторения са свързани с по-голяма активност на андрогенния рецептор и вероятно по-силно действие като цяло⁹⁴. В най-мощното, провеждано досега изследване на мъжкото стареене (MMAS) е установена връзка между нивата на тоталния серумен тестостерон и свободния тестостерон и честотата на CAG повторенията в гена на андрогенния рецептор⁹⁵. Възрастните мъже с по-ниски серумни нива на тестостерона имат генотип на андрогенния рецептор, характеризиращ се с по-чести повторения на тринуклеотида CAG. Този факт предполага по-голяма андрогенна активност. Хипотетично почестите CAG повторения при възрастни мъже и повишената андрогенна активност на нивото на оста хипоталамус – хипофиза може да доведе до по-висока степен на потискане по механизма на обратната връзка и така на свой ред да доведе до повлияване на ендогенната секреция на тестостерон. Това може да бъде един вътрешен механизъм, който лежи в основата на физиологичния спад на нивото на серумния тестостерон с увеличаването на възрастта. Почестите CAG повторения в гена на андрогенния рецептор също така са свързани с повишен риск и тежест на бенигнената простатна хиперплазия^{96,97,98,99,100,101,102} и карцином на простатата, както и с по-ранната възраст на диагностициране и агресивността на простатния карцином^{103,104,105,106}.

Андрогенното действие не е просто функция на андрогенната рецепторна експресия в таргетните тъкани и честотата на CAG

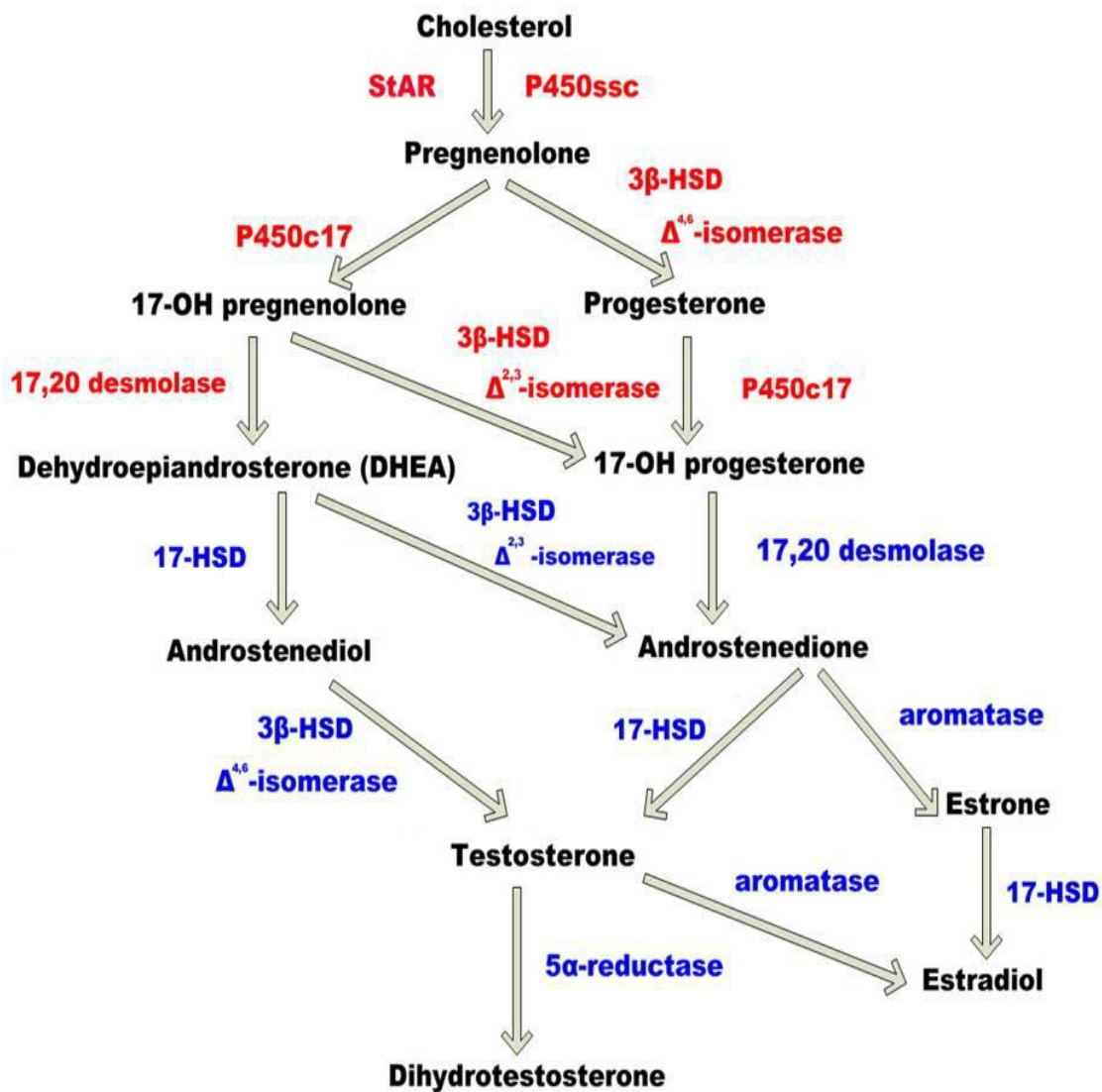
повторенията. То включва и сложни взаимодействия между андрогенните лиганди, като тестостерон, андрогенния рецептор и тъканно специфичните коактиватори и корепресори с елементи на андрогенен отговор в определени гени^{107,108}. Досега не са изследвани възрастово свързаните увреждания на транскрипционните фактори в андрогенните прицелни тъкани и техните ефекти върху андрогенното действие. Все пак разкритите първични находки показват, че освен циркулаторните нива на тестостерона и свързаните с възрастта промени в андрогенното действие могат да играят важна роля в нарушаването на физиологичните функции.

1.2.2. Метаболизъм на тестостерон.

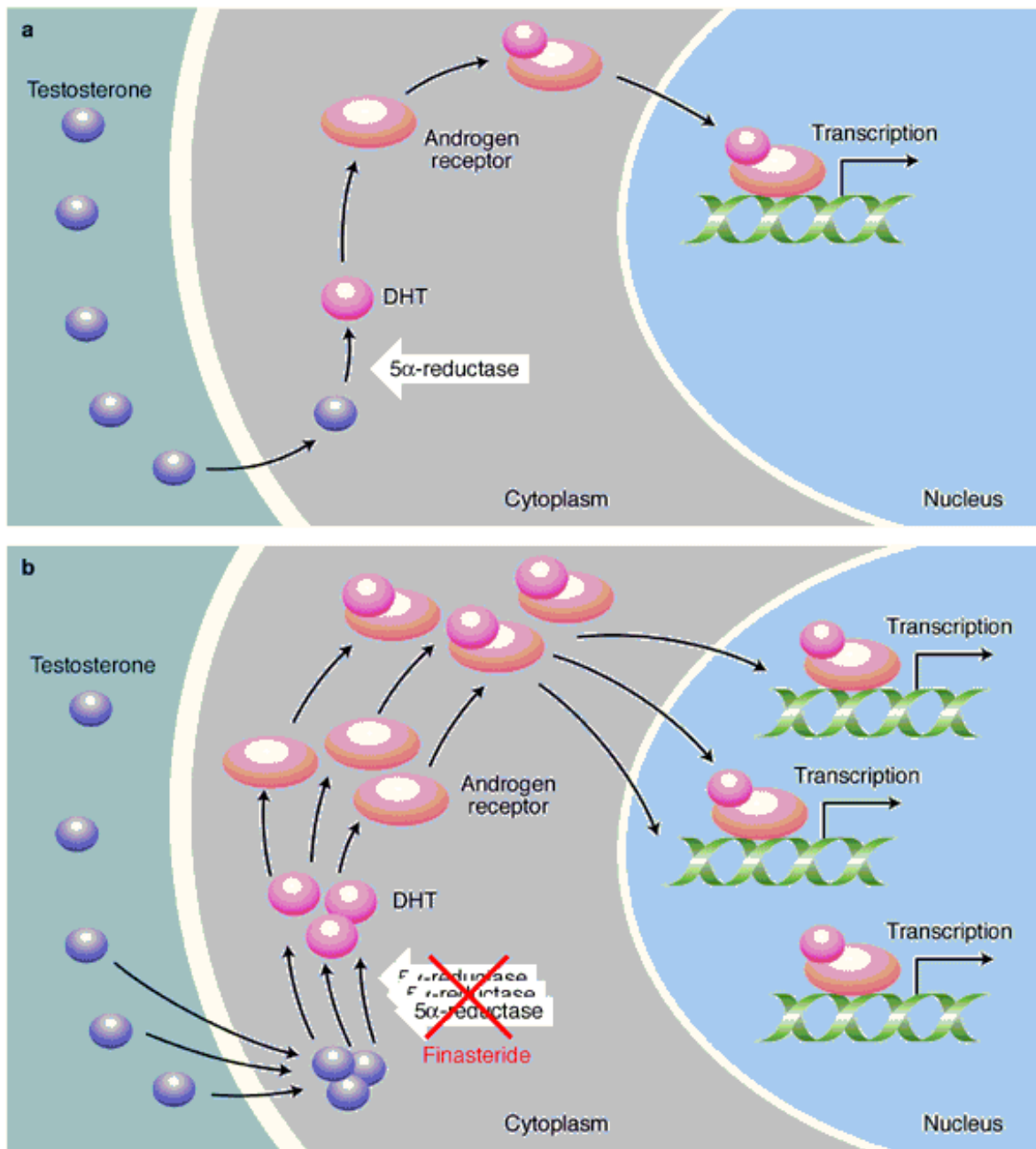
Тестостеронът се метаболизира до естроген и естрадиол от ензима ароматаза и се локализира предимно в мастната тъкан като 5-алфа-дихидротестостерон. ДХТ е по-силен андроген от тестостерона. В кожата и простатата се намира ДХТ, който се метаболизира предимно от ензима 5-алфа-редуктаза – тип 1 и тип 2^{109,110,111}. Много от ефектите на тестостерона са медиранни частично от неговите активни метаболити (Фигура 1). Това са Е2, които се откриват в кости, мозък и липиди и ДХТ в простата. Според различни автори тоталните серумни нива на Е2 и ДХТ не се променят или спадат в съвсем малка степен с възрастта въпреки, че нивото на тестостерон намалява^{112,113,114,115,116}. Това означава, че в процеса на стареенето се наблюдава относително нарастване на ароматизацията на тестостерон до Е2 (вероятно свързано с увеличения обем на мастната тъкан) и 5-алфа-редукцията на тестостерон до ДХТ и/ или редукцията на метаболитния клирънс на Е2 с ДХТ. Според други автори бионаличния Е2 намалява прогресивно с възрастта и влияе в много по-голяма степен на костната минерална плътност при мъжете отколкото тестостерона¹¹⁷. Серумното ниво на бионаличния или свободен Е2 и ДХТ се очаква да намалее с възрастта, поради увеличеното количество на СПХГ в серума. Физиологичното значение на бионаличните Е2 и ДХТ все още не е добре проучено.

Серумните маркери на периферното андрогенно действие като 3 алфа-, 17 бета-андростендиолглюкуронид (3 алфа-диол) намаляват

значително с възрастта. Този факт предполага цялостен спад в тоталния циркулаторен андрогенен пул¹¹⁸. С напредване на възрастта тъканната концентрация на ДХТ намалява в епителния дял, а Е2 се увеличава в стромалния дял на нормална и бенигнено хиперплазираща простатна жлеза. Така се подчертава значението на активния метаболизъм на тестостерона в андрогенните таргетни органи, както и в определен техен регион^{119,120}.



Фиг. 1. Метаболизъм на стероидните хормони (Shaw-Jenq Tsai et al. J. Invas. Dermatology 2008)



Фиг.2. Механизъм на действие на тестостерона (Justine A et al. Expert Reviews in Molecular Medicine. Cambridge University Press, 2002)

2. Фактори, водещи до намаление на серумното ниво на тестостерон.

2.1. Медикаментозното лечение на възрастово обусловени хронични бъбречни, чернодробни, белодробни заболявания, неоплазии и др.

При нормалния процес на стареенето се увеличават и възрастово обусловените придружаващи заболявания – хронични бъбречни, чернодробни, белодробни заболявания, неоплазии и др. Употребата на някои често използвани при лечението на тези заболявания медикаменти като глюкокортикоиди, лекарствени продукти с активност върху централната нервна система и др. могат да доведат до намалени нива на тестостерон¹²¹. Сравнени със социално активни здрави възрастни мъже, тези със сериозни заболявания (инфаркт на миокарда, инсулт в период на рехабилитация и сестринско наблюдение, злокачествени тумори) имат значително по-ниски серумни нива на тестостерона¹²². При тях преобладават серумни нива под нормалните стойности, сравнени както с млади /60-90%/ , така и с възрастни мъже /20-30%/.

2.2. Недоимъчното хранене води до намаляване на серумните нива на тестостерона^{123,124};

2.3. Серумните концентрации на ДХЕА, който е слаб адренален андроген и прекурсор на тестостерона, намаляват по-бързо и по-чувствително от тези на тестостерона^{125,126,127,128} при остаряване. Това явление се счита за “адренопауза”. Физиологичното значение на циркулиращия ДХЕА е все още неясно. Досега проведените изследвания на лечение с ДХЕА не показват значителни клинични ефекти при възрастни мъже и въздействия върху общото състояние^{129,130,131,132,133}. Все пак терминът „андропауза” е специфичен за възрастово зависимото намаляване на тестостерона, който е основният циркулиращ андроген в кръвта.

3. Свързани с възрастта физиологични промени при андрогенен дефицит.

Остаряването е свързано със значителни промени във физиологичните функции, много, от които се регулират от андрогени. Възрастово обусловеното намаление на серумните нива на тестостерона води до физиологични увреждания като:

3.1. намаление на общата телесна и мускулна маса (предимно фибри тип II)^{134,135,136,137,138,139,140,141,142,143,144,145};

3.2. намалена мускулна сила^{146,147,148,149,150,151,}

3.3. намалена физическа активност, аеробен капацитет и баланс^{152,153,154,155,156,157,158,}

3.4. напълняване в периода на средна до старческа възраст и то най-вече засягане на мастната тъкан на вътрешните органи. Това явление е свързано с инсулинова резистентност и повишен риск от захарен диабет тип 2, хипертония и атеросклероза. През периода на късна старост се установява стабилно намаление на количеството мастна тъкан^{159,160,161,162,163,164}, намалена костна минерална плътност, повишен риск от остеопороза и фрактури^{165,166,167,168,169,170,171}, намаление на дебелината на кожата и телесното окосмяване, по-трудно зарастване на раните^{172,173}, намален тонус и влошено общо състояние, раздразнителност и депресия¹⁷⁴, намалена сексуална функция (понижено либидо, сексуална активност и еректилна дисфункция)^{175,176,177,178.}; нарушения в концентрацията и когнитивните функции^{179,180}, смущения в количеството и качеството на съня^{181,182}, намалена хемопоеза^{183,184}.

Подобни промени във физиологичните функции настъпват и при по-млади хипогонадни мъже с андрогенен дефицит. При тях заместителна терапия с тестостерон води до:

3.5. увеличаване на телесната и мускулна маса;

3.6. увеличаване на мускулната сила;

3.7. намаляване обема на мастната тъка;

3.8. повишена жизненост и чувство за благополучие¹⁸⁵;

3.9. повишено либидо, по-честа спонтанна ерекция по време на сън и предизвикани сексуални мисли;

3.10. Подобрява се сексуалната функци;

3.11. Увеличава се еритропоезата и стойностите на хематокрита^{186,187,188,189,190,191,192,193,194,195,196,197,198,199}.

4. Връзка между нивото на тестостерона и някои показатели:

Предполага се, че понижението на серумните тестостеронови нива допринася поне частично за възрастово обусловени увреждания на физиологичните функции^{200,201,202,203,204,205,206,207,208,209,210,211,212,213}. Това касае

особено възрастните мъже със серумни нива на тестостерона под нормалните за млади мъже^{214,215,216,217,218,219,220,221}. Най-нови проучвания установяват връзка между серумните нива на тестостерон и повечето настъпили независимо от възрастта физиологични промени^{222,223,224,225,226,227,228,229,230,231,232,233,234,235}.

4.1. Обща телесна и мускулна маса и сила.

Установява се правопрпорционална връзка между нивото на тестостерона и общата телесна и мускулна маса и сила при възрастни мъже^{236,237}, а в други проучвания не се открива такава връзка^{238,239}. Повечето изследвания показват обратно пропорционална връзка между нивото на тестостерон и количеството на телесната и абдоминална мастна тъкан. Предполага се взаимозависимост между нивото на серумния тестостерон и възрастово обусловените промени в конституцията на тялото и мускулната сила.

4.2. Повишен риск от развитие на диабет тип II.

Понижаването на стойностите на серумния тестостерон се свързва с повишен риск от развитие на Т2ЗД²⁴⁰. Серумното ниво на тестостерона е по ниско при мъже с Т2ЗД^{241,242,243,244}. Трябва да се вземе предвид, че при много от проучванията на връзката между нивото на тестостерона с общото и висцерално напълняване и диабетът са основани на данни за нивото на общия и свободен тестостерон, които са повлияни от концентрацията на СПХГ, значимо понижена при умерено затлъстели мъже^{245,246}. В достъпната ни литература липсват данни от експериментални проучвания за промени в нивата на важни фактори, които повлияват основни жизнени функции при възрастни животни и при млади, оперирани животни.

4.3. Метаболитни промени (HDL холестерол, инсулиновите и глюкозни нива, протромбиновите фактори, образуване на атеросклеротични плаки).

При клинични изследвания е установена корелация между нивото на свободния тестостерон и това на HDL холестерола^{247,248,249,250,251,252} и обратна връзка между концентрацията на тестостерон и високото кръвно налягане^{253,254}, инсулиновите и глюкозни нива^{255,256},

протромбиновите фактори²⁵⁷, образуване на атеросклеротични плаки²⁵⁸, наличие на коронарната артериална болест^{259,260} и тежестта на протичането ѝ. При по-продължителните проучвания обаче не е установена връзка между нивата на тестостерон и исхемичните инциденти^{261,262,263}. Не е изяснена и връзката между нивата на тестостерон и смъртността от кардиоваскуларни заболявания^{264,265}. В епидемиологични проучвания авторите предполагат по-скоро прогресивен или неутрален ефект на тестостерона спрямо риска от сърдечно-съдови заболявания. Експериментални данни от проучвания по посочените в текста по-горе показатели в достъпната литература липсват.

4.4. Костообразуване, КМП плътност.

Тестостеронът и Е2 са важни за костообразуването. Е2 се получава от тестостерон, след ароматизация. Възрастово-обусловения спад на серумния Е2 в процеса на стареене е свързан поне частично с намаляването на неговия субстрат-тестостерон. При някои проучвания се открива относително слаба положителна връзка между нивата на свободния или общ тестостерон с костната минерална плътност (КМП) и риска от фрактури^{266,267,268,269,270,271,272}. При други проучвания не е открита такава връзка^{273,274}. Най-новите изследвания установяват по-голяма зависимост за риск от фрактури с нивата на Е2 и КМП, отколкото от нивата на тестостерона²⁷⁵. Тежка остеопороза се наблюдава при мъже с естрогенен дефицит или резистентност на андрогенния рецептор, причинена от мутации в ароматазния ген. КМП се увеличава при лечение с Е2. Това е сериозно доказателство за значението на Е2 в развитието и поддържането на нормалната костна маса^{276,277,278,279,280,281,282}. За предотвратяване на костната резорбция важна роля има преобразуването на тестостерон в Е2^{283,284}. Мъжете с андрогенна резистентност, причинена от мутация в гена на андрогенния рецептор имат намалена КМП, доказателство, че андрогените имат важна роля и в развитието и поддържането на минералното костно съдържание при мъжете^{285,286,287}. Специфичните ефекти на тестостерона и Е2 в регулацията на костообразуването са изследвани при възрастни

мъже и модели с дефицит на тестостерон и E2 (предизвикан от ГТРХ антагонист плюс ароматазен инхибитор), лекувани с тестостерон или E2 заместителна терапия²⁸⁸. Установява се, че E2, а не тестостеронът е с доминираща роля в предотвратяването на костната резорбция, но ниските нива на тестостерон са рисков фактор за бедрени фрактури при възрастни мъже^{289,290,291}.

Свързаното с възрастта намаление на нивото на бионаличния E2 е по-важен определящ фактор за костната загуба при стареещи мъже, отколкото нивото на тестостерона^{292,293}.

4.5. Мозъчни функции-настроение, памет, сън.

В клинични изследвания е установена значима връзка между нивото на тестостерон и мозъчните функции. Тестостеронът играе роля в регулирането на настроението²⁹⁴. Намерена е обратна пропорционална зависимост между нивото на свободния тестостерон и броя на депресиите, които се установяват. Нивото на тестостерона е свързано с качеството и структурата на съня²⁹⁵ и значително с измеренията на психосоциалния стрес²⁹⁶. Съобщава се и за връзка между свободния тестостерон, общите и специфични когнитивни функции^{297,298,299}. Предполага се потенциално важна роля на тестостерона в осъществяването на възприятието и паметта^{300,301}.

В някои проучвания се регистрира слаба зависимост между нивото на тестостерона, либидото и сексуалната активност^{302,303,304,305,306,307,308}, а в други - не³⁰⁹. Относително ниски нива на серумния тестостерон са достатъчни да предизвикат сексуален интерес и желание^{310,311}. Въпреки, че андрогенния дефицит може да допринесе за появата на сексуална дисфункция, той рядко е единствена или главна причина за еректилните смущения при възрастни мъже. Последните най-често се дължат на съдови заболявания, невропатия или лечение с медикаменти^{312,313}.

Поради мултифакторната природа на възрастообусловените физиологични увреждания не е учудващо, че има сравнително слаба връзка между нивата на серумния тестостерон и степента на настъпилите с възрастта промени^{314,315}. На практика най-новите

епидемиологични студии показват, че възрастоообусловения спад на серумните нива на тестостерон съпътства други, свързани със стареенето заболявания, прием на медикаменти и начин на живот^{316,317}.

5. Мултифакторна етиология на свързаните с възрастта физиологични промени.

Етиологията на повечето възрастоообусловени увреждания на физиологичната функция е зависима от много фактори, повечето от които допринасят за физиологичното намаление на функциите и могат да бъдат модифицирани и лекувани.

Възрастово зависимо намаляване на КМП и нарушенията в костната структура могат да се дължат на:

- ниско ниво на тестостерон;
- ниските концентрации на E2, растежен хормон и IGF;
- недостатъчен прием на калции, дефицит на витамин Д;
- недоимъчно хранене;
- липса на физическа активност;
- вредни навици (тютюнопушене, алкохолизъм);
- възрастоообусловени заболявания (първичен и вторичен хиперпаратиреоидизъм, множествен миелом);
- генетична предиспозиция и/ или ниска първоначална костна маса през пубертета и ранна зрялост;
- продължително залежаване и лечение с медикаменти, намаляващи костната плътност като глюкокортикоиди, антиконвулсанти;
- късно настъпил пубертет³¹⁶.

Гериатрите и геронтолозите трябва да разглеждат стареенето като процес, който протича през целия живот на индивида, тъй като някои от етиологичните фактори се появяват в различни етапи от живота.

Взаимодействията между потенциалните етиологични фактори, които допринасят за възрастоообусловения физиологичен спад усложняват клиниката и определят мултифакторен подход при лечението на възрастни пациенти. Например ниските нива на серумния тестостерон могат да доведат до: намалени нива на E2, растежен

хормон, IGF-1, намалена физическа активност (поради слабост или демотивация). Лечението с тестостерон може да повиши КМП, чрез увеличаване нивата на E2, растежен хормон, IGF-1 и физическа активност. Обратно много от факторите, които намаляват КМП (недоимъчно хранене, медикаменти и др.) също могат да допринесат за редуция в серумното ниво на тестостерона. Корекция в диетата, прекъсването на приемането на някои медикаменти (глюкокортикоиди), лечението на съпътстващите заболявания, спирането на алкохола и тютюнопушенето могат да повишат серумните нива на тестостерона и да отхвърлят нуждата от заместителна терапия. Затова е необходимо като клиничен подход да бъде възприето извършването на мултифакторна оценка на възможните причини, допринасящи за останалите възрастообусловени физиологични увреждания при възрастни мъже с ниски серумни концентрации на тестостерон.

6. Потенциални последици и значение на възрастообусловените физиологични промени.

Възрастообусловените промени във физиологичните функции могат да имат важни потенциални последици, които включват:

- намалена физическа активност;
- повишен риск от редица заболявания (ИБС, диабет, остеопороза);
- намалена възстановителна способност след остри заболявания;
- увеличена склонност към фрактури^{318,319}.

Последиците от тези промени са: неспособност за самообслужване и нужда от дългосрочни професионални грижи, тежка психологическа и социална изолация и повишена смъртност. С оглед ограничаване на възрастообусловения физиологичен спад в серумните тестостеронови нива най-важните клинични въпроси, останали без отговор са дали заместителната терапия при възрастни мъже ще подобри функционалния статус, ще предотврати заболявания, ще подобри качеството на живот и ще намали риска от фрактури³²⁰.

7. Заместителна терапия с тестостерон при възрастни мъже:

7.1. Влияние върху телосложение, мускулна сила, КМП

При повечето контролирани проучвания върху възрастни мъже лечението с тестостерон води до подобряване на телосложението. Както при контролираните³²¹, така и при неконтролираните³²² и експериментални проучвания най-значимите ефекти от заместителната терапия с тестостерон е анаболният ефект и ремоделирането на мастната тъкан. Едно от изследванията показва, че лечението с тестостерон води до намалено количество на висцералната мастна тъкан и увеличава чувствителността към инсулина³²³. Ефектите на заместителната терапия върху мускулната сила при възрастни индивиди са по-вариабилни. Някои от цитираните автори установяват повишение на силата при максимално мускулно съкращение в горната част на тялото, а други описват същия ефект в долната му част³²⁴. Липсата на постоянен ефект върху мускулната сила може да се дължи на използването на различни методи за нейното изследване и различните дози, лекарствени форми и продължителност на терапията с тестостерон. При възрастни мъже, лекувани трансдермално три години не се установява подобряване във физическите функции, сравнени с плацебо³²⁵. Има данни, че само при възрастните мъже³²⁶ дози на тестостерон над физиологичните норми повишават секрецията на друг анаболен хормон -растежния.

Контролирани изследвания, при които е прилаган тестостерон за една година показват увеличение на лумбалната гръбначна и бедрена КМП и предотвратяване на костната резорбция в шийката на фемура^{327,328}, при сравнение с показателите при нетретиранни възрастни мъже. Липсват изследвания, оценяващи ефекта на тестостерона върху костната архитектура, както върху големи групи възрастни мъже, така и при експериментални модели.

7.2. Влияние върху либидо, сексуална активност, качество на живот

При някои от изследванията лечението с тестостерон повишава либидото и сексуалната активност, подобрява тонуса и качество на живот, докато други студии не потвърждават тези данни^{329,330}. Неконтролирано изследване съобщава за повишен тонус, либидо,

качество на живот и сексуална активност³³¹. Други наблюдения показват, че не се намира клиничен ефект при депресиите на възрастни мъже, лекувани с тестостерон³⁶⁹. В двойно сляпо рандомизирано, плацебо контролирано проучване на депресирани хипогонадни мъже, предписване на тестостерон за 6 седмици подобрява сексуалната функция, но няма отношение към депресивното състояние в сравнение с плацебо³³².

7.3. Влияние върху процесите на обучение и памет

В плацебо контролирани изследвания пространствената, речевата и работната памет се подобряват след лечение с тестостерон при възрастни мъже³³³, докато общата памет и речевият поток не се променят³³⁴. Петдневен прием на тестостерон води до силно подобрение на вербалния поток³³⁵. Оскъдни са данните за експериментално проведени изследвания за когнитивните функции при модели на андрогенен дефицит и третирани с тестостерон животни. В достъпната ни литература не открихме данни дали лечението с тестостерон може да забави клинично старческата деменция при мъжете.

7.4. Влияние върху функциите на сърдечно-съдова система

При мъже с ИБС венозното въвеждане на тестостерон по време на кардиална катетеризация подобрява исхемията при физическо усилие, най-вероятно чрез предизвикване на вазодилатация на коронарните артерии³³⁶. Болни с ангина пекторис съобщават за значително подобрение на качеството на живот, особено в болковата перцепция и ограничена подвижност³³⁷. Следователно, обратно на общото схващане, че андрогените вредят на ССС, назначаването на тестостерон може да има положителен ефект при възрастни мъже със сърдечна патология. Липсват експериментални и задълбочени клинични проучвания, обхващащи голям брой възрастни индивиди с андрогенен недостиг и заместителна терапия с тестостерон, проследявани в по-дълъг период от време, за да се оценят ефектите на тестостерона при кардиоваскуларни инциденти.

Освен ограничения брой проучвания споменати по-горе, ефектите на заместителната терапия с тестостерон върху физиологичните

функции, качеството на живот и предотвратяването на старческата слабост (потенциална цел при възрастни мъже, лекувани с тестостерон), не са достатъчно изяснени. Възрастни в безпомощно състояние мъже са с висок риск от загуба на възможност за самообслужване, нужда от дългосрочни грижи. За тях се изразходват много допълнителни средства. Ползата при такива пациенти от заместителна терапия с тестостерон е икономически и социално оправдана.

В контролирани изследвания с продължителност до 3 години, терапията с тестостерон при възрастни мъже се понася много добре. Потенциалните рискове не са добре изучени.

7.5. Промени на хематологични показатели и биомаркери

При повечето контролирани и експериментални проучвания на лечението с тестостерон при възрастни мъже се установява стимулиране на еритропоезата и повишаване на хематокрита с 3%-5% над нормата. Високите стойности на хематокрита (55%-60%) водят до съществено повишаване на вискозитета на кръвта. Еритроцитоза по време на тестостеронова терапия се установява при 6%-25% от възрастните индивиди^{338,339,340}. Еритроцитоза настъпва както при парентерално приложение³⁴¹, така и при ентерално³⁴², най-рядко се появява при използването на трансдермални терапевтични системи³⁴³. Това може би се дължи на факта, че чрез първите няколко дни след инжектирането на тестостеронов естер се установяват нива на тестостерон над физиологичните норми³⁴⁴. и като цяло се наблюдава по-високо ниво на средните серумни концентрации на тестостерон в сравнение с по-физиологичните нива на тестостерон при използване на ТТС или гел³⁴⁵. Липсват данни как ниски дози тестостерон пропионат влияят върху еритропоезата.

7.6. Влияние при обструктивна сънна апнея

Съществуват данни, че лечението с тестостерон индуцира или влошава синдрома на обструктивната сънна апнея при по-млади хипогонадни мъже³⁴⁶. Това усложнение не се наблюдава при клинични изследвания на възрастни мъже³⁴⁷. ОСА може да е свързана с ниска

серумна концентрация на тестостерон^{348,349}. Следователно възрастни мъже с рискови фактори (затлъстяване) или симптоми на ОСА (дневна сънливост, хъркане) трябва да бъдат проследявани по време на терапията^{350,351,352,353}.

7.7. Риск от клинично проявено заболяване на простатата

Най-сериозната нежелана реакция при тестостеронова терапия е потенциалният риск от индуцирането на клинично проявено заболяване на простатата. Повечето³⁵⁴, но не всички^{355,356} обстойни изследвания не намират статистически значима връзка между ендогенното ниво на тестостерон и развитието на ДХП и рак на простатата. В някои изследвания нивата на серумния ПСА се повишава леко, но в рамките на нормата (под 4 нг/мл)^{357,358}.

Трябва да се има предвид, че общият брой на лекувани с тестостерон мъже и продължителността на терапията са били ограничени и изследванията нямат статистическа достоверност за оценка на дългосрочните рискове за възникването на ДХП и карцином на простатата. Необходимо е провеждане на задълбочени експериментални проучвания за влиянието на тестостерона върху простатата за изясняване на ползата и риска от тази заместителна терапия.

При млади мъже с тежък хипогонадизъм и заместителна терапия с тестостерон се наблюдава намаляване на HDL холестерола-факт, който се установява и при приложение на тестостерон при еугонадни индивиди³⁵⁹. При възрастни мъже повечето проучвания установяват значително намаление на HDL холестерола³⁶⁰. Както беше споменато и по-горе в повечето изследвания нивото на общия и LDL холестерол се намалява³⁶¹, или остава непроменено при терапията при възрастни мъже³⁶². Както при заболяванията на простатата, клиничните проучвания не са изследвали дългосрочно риска от кардиоваскуларни заболявания при възрастни мъже с ТЗТ. Те нямат достатъчна статистическа достоверност да определят дали лечението с тестостерон влияе на кардиоваскуларните инциденти.

НЛР като развитието или появяване на отоци³⁶³, гинекомастия³⁶⁴ и потискане на сперматогенезата при ТЗТ при по-млади хипогонадни мъже не се установяват при клинични изследвания на възрастни индивиди.

При заместителната терапия с тестостерон на възрастни мъже трябва да съпоставят потенциалните ползи с възможните рискове³⁶⁵. Те са базирани най-вече на клинични проучвания върху ефектите на тестостероновото заместване при много андрогендефицитни хипогонадни мъже, и на много малък брой контролни опити с възрастни мъже и експериментални модели.

7.8. Потенциални ползи от заместителна терапия с тестостерон

Потенциалните ползи от заместителната терапия с тестостерон при възрастни мъже включват: увеличена обща телесна маса, намаление на мастната тъкан и висцералното затлъстяване, намален риск от развитие на диабет, увеличена мускулна сила и маса и КМП, намален риск от остеопороза и фрактури, повишаване на дебелината на кожата и телесното окосмяване, подобро заздравяване на раните, физикалните функции, аеробен капацитет и баланс, подобро либидо и сексуална функция, чувство за благополучие и енергичност. Намалява се раздразнителността и депресивните настроения, подобрява се концентрацията и когнитивните функции, качеството на съня, хемопоезата и вероятно намалява риска от ИБС.

7.9. Рискове от заместителната терапия

7.9.1. Краткотрайни рискове при предписването на тестостерон при възрастни мъже са: стимулиране на еритропоезата, което да доведе до еритроцитоза и тромботични усложнения, индукция или влошаване на обструктивна сънна апнея, развитие на гинекомастия и влошаване на периферните отоци.

7.9.2. Най-значимият потенциален дългосрочен риск от заместителна терапия с тестостерон при възрастни мъже е стимулирането на вече съществуващ недиагностициран или метастатичен карцином на простатата³⁶⁶. Това е най-често срещаното злокачествено заболяване при мъжете. Много възрастни индивиди имат

микроскопични локуси, които не се проявяват клинично по време на техния живот³⁶⁷. При повечето^{368,369,370,371}, но не при всички³⁷² епидемиологични проучвания серумните нива на тестостерон не се асоциират с риска от карцином на простатата. Растежът на този карцином е андроген-зависим. Счита се, че лечение с тестостерон при възрастни мъже може да стимулира растежа на вече съществуващ карцином и да доведе до клиничната му изява. Някои изследвания установяват по-голяма честота на рак на простатата (25%) при биопсии на възрастни мъже с ниски серумни нива на тестостерон, нормални нива на ПСА и негативно дигитално изследване³⁷³. Недостатък на тези проучвания е липсата на биопсии и на възрастово подбрана контрола от мъже с нормални нива на тестостерон³⁷⁴. В следствие на по-интензивен мониторинг на дигиталните ректални изследвания и нивата на ПСА се разкрива друг, често подценяван потенциален риск от лечението с тестостерон при възрастни мъже – откриването на субклиничен локализиран карцином на простатата.

7.9.3. Друг потенциален дългосрочен риск, свързан с лечението с тестостерон при възрастни мъже е стимулирането на ДХП и влошаване на симптомите – уринарен ток и ретенция на урина. Това може да доведе до необходимостта от оперативна интервенция, например трансуретрална резекция.

Доброкачествената простатна хиперплазия също е андроген зависима. По време на пубертета обемът на простатата се увеличава, в отговор на повишената ендогенна продукция на тестостерон. Пациентите с тежък предпуберитетен андрогенен дефицит са с малки недоразвити простатни жлези и ако останат нелекувани, те не развиват ДХП³⁷⁵. Дългосрочното лечение с тестостерон при млади хипогонадни мъже увеличава обема на простатата до степен, съизмерима с тази при еугонадните мъже на същата възраст³⁷⁶. При мъже с ДХП лечението с инхибитор на 5-алфа редуказата (финастерид)³⁷⁷, блокиращ превръщането на тестостерон в потентния ДХТ, намалява симптомите на ДХП и необходимостта от оперативно лечение³⁷⁸.

7.9.4. Намаляване на потенциалната оплодителна способност.

Рядко лечението с тестостерон може да потисне вече увредената продукция на сперма при възрастни мъже

7.9.5. Риск от кардиоваскуларни заболявания

Рискът от ИБС при мъже е по висок от същия при жените. Също така лечението на хипогонадни мъже с тежък андрогенен дефицит с физиологични дози тестостерон и на еугонадни мъже с надфизиологични дози тестостерон намалява нивото на HDL холестерола и се създава атерогенен фон^{379,380,381}. Това води до заключението, че заместителната терапия с тестостерон при възрастни мъже би могла да увеличи риска от кардиоваскуларни заболявания³⁸². Както бе отбелязано по-горе, повечето проучвания показват, че ниските нива на тестостерон са свързани с повишена честота и тежест на ИБС^{383,384}. Въпреки липсата на дългосрочни детайлни проучвания, оценящи ефекта на тестостерона върху главните кардиоваскуларни инциденти като коронарна смърт³⁸⁵, ОМИ и инсулт остава вероятността, че терапия с тестостерон при възрастни мъже може да увеличи риска от кардиоваскуларни заболявания^{386,387}.

Липсва официална оценка на зависимостта доза-ефект при лечението с тестостерон при възрастни мъже, сравнена с тази при млади с андрогенен дефицит³⁸⁸. Липсват доказателства, че ефектите на лечението с тестостерон са по-слабо проявени при възрастни в сравнение с млади индивиди³⁸⁹. Не е изяснен ефектът от лечението при различна степен на тежест на тестостероновия дефицит³⁹⁰.

8. Диагностични подходи при андрогенен дефицит на възрастни мъже.

Въпреки, че с напредване на възрастта все по-голям брой мъже показват ниски серумни нива на тестостерон, основната част от тях поддържат нива в референтни граници. При тези индивиди може да има клинична картина, характерна за андрогенен дефицит. Съмнително е, дали те имат относителен андрогенен дефицит (значително възрастово обусловено ниво на тестостерона под нормата), което допринася за техните клинични изяви. Манифестацията на андрогенния дефицит не е

специфична, а обикновено има мултифакторна природа. Липсват доказателства, че терапия би била полезна при тези мъже. Практическото значение на леко понижено серумно ниво на тестостерона при липса на клинична изява на андрогенен дефицит е неясно. Диагнозата „андропауза” изисква наличието както на клинична изява и синдроми, така и намаление на нивото на тестостерона под нормата за млади мъже.

За да се дефинира клиничен синдром, свързан с ниското ниво на тестостерон и за да се идентифицират възрастните мъже с висок риск от ниски серумни нива на тестостерон са разработени 2 скрининг методики. Въпросникът ADAM може да идентифицира възрастни мъже със симптоми на нисък тестостерон с 88% чувствителност и 60% специфичност³⁹¹. Симптомите, свързани с ниско серумно ниво на тестостерон в него са: понижено либидо, енергия, загуба на височина, чувство за потиснатост, еректилна дисфункция, намалена работоспособност, заспиване след вечеря^{392,393,394,395}. MMAS въпросникът се базира на етиологията и идентифицира рисковите фактори на понижено ниво на тестостерон при възрастни мъже със 75% чувствителност и 50 % специфичност³⁹⁶. Рисковите фактори, свързани с ниското ниво на тоталния тестостерон са: възраст над 60г., лекуван диабет, употреба на глюкокортикоиди, понижен ИТМ 27-30 или с по-големи стойности.

Комбинацията от симптоми и рискови фактори може да идентифицира по-добре индивидите с ниско ниво на тестостерон. Симптомите на андрогенен дефицит при възрастни мъже включват: намалена мускулна сила и издържливост, намалена способност за работа и спорт, загуба на височина, анамнеза за нетравматична фрактура, намалено пубисно с аксиално окосмяване, снижен сексуален интерес, намалена степен и адекватност на ерекцията, лесна уморяемост, липса на тонус и раздразнителност, депресивно настроение, влошено общо състояние и радост от живота, смущения в съня, изпотявания, горещи вълни. Белези за това са: понижена мускулна маса и сила, висцерално затлъстяване, КМП по-малка от -2,5,

остеопороза или остеопения, наличие на гръбначни или бедрени фрактури, намалено пубисно и аксиално окосмяване, намален обем на тестисите, нормоцитна нормохромна анемия³⁹⁷.

Диагностично андрогенен дефицит може да се докаже чрез:

8.1. Ранно сутрешно измерване на нивата на тестостерон. При андрогенен дефицит трябва да се потвърди ниско серумно ниво на тестостерон. При млади хипогонадни мъже нивата тестостерон под нормалното обикновено се свързват със симптомите на андрогенен дефицит. Нормално ниво на тестостерон за млади мъже се използва за сравнение с възрастните индивиди.

8.2. Като алтернативен метод стойностите на свободния тестостерон могат да се изчислят от нивото на общия тестостерон и СПХГ. Получените по този начин резултати са съизмерими с еквилибрената диализа и метода на утаяване с амониев сулфат³⁹⁸. Тъй като СПХГ се секретира само в ембрионалния период на мъжките плъхове, изследването на тестостерон в случая може да бъде проведено и чрез аналогов имуноанализ.

8.3. Измерване на КМП. Оценява се риска от възникване на фрактури чрез сравняване на стойностите на КМП при млади и възрастни мъже (Т число по-малко от -2,5).

8.4. Установяване на други фактори, повлияващи нивото на тестостерон като остри и хронични заболявания, медикация и начин на хранене. Това помага да се определят причините за ниското ниво на тестостерон. В такива случаи нивото на тестостерон трябва да се измери повторно след преминаване на заболяването, прекъсването на медикаментите и нормализиране на храненето.

8.5. Измерване на стойностите на серумните гонадотропини (ЛХ, ФСХ)³⁹⁹, заедно с нивата на тестостерон.

Има значителни биологични и методологични вариации в стойностите на серумния тестостерон. Например при 15% от здравите млади мъже могат да се открият нива на тестостерон под нормата за период от 24 часа⁴⁰⁰. Възрастни мъже с първоначално ниски стойности

на тестостерон могат да имат нормални такива в следващи кръвни проби⁴⁰¹.

В заключение, тъй като клиничната изява на андрогенния дефицит при възрастни мъже има сложна етиология, оценката и подходящото лечение на другите съпътстващи заболявания трябва да се проведе едновременно с лечението на андрогенния дефицит⁴⁰².

Познанието за рисковете и ползите от лечение с тестостерон се базира на ограничен брой краткосрочни експериментални и клинични изследвания^{403,404}. Липсват задълбочени проучвания за дългосрочните ползи и рискове от заместителна терапия с тестостерон⁴⁰⁵. Следователно данните за формулиране на заключения, базирани на стабилни доказателства са оскъдни⁴⁰⁶. В крайна сметка целта на лечението е да се възстанови серумното ниво на тестостерон в средна норма и да облекчи симптомите на андрогенен дефицит⁴⁰⁷.

9. Лекарствени препарати за заместителна терапия с тестостерон.

Съществуват различни начини за тестостероново заместване⁴⁰⁸.

9.1. Лекарствени форми за парентерално приложение – предимства и недостатъци:

Най-често прилагани форми за тестостероново заместване са 17-бета хидроксиестерите на тестостерона, тестостерон енантат, ципронат или пропионат, въвеждани парентерално чрез мускулни инжекции. Апликации при възрастни мъже се налагат 2-4 пъти месечно⁴⁰⁹. Тези естери на тестостерона са безопасни, високоефективни и най-евтини. През първите няколко дни след инжектиране на тестостеронови естери, нивото на серумния тестостерон се увеличава до наднормено ниво и спада леко под нормата, непосредствено преди следващата апликация⁴¹⁰. Големите вариации в нивото на тестостерона може да се придружават от повишена енергичност, либидо и настроение⁴¹¹. Тези вариации в нивата на тестостерона могат да доведат и до проявя на някои нежелани реакции, например еритроцитоза⁴¹². Възможно е андрогенно заместване с ниски дози тестостерон енантат или ципронат да имат положителни ефекти, без да се проявят нежелани реакции, но

липсват данни за проведени проучвания в тази насока⁴¹³. Най-употребявани са препаратите Nebido® (Bayer Schering Pharma AG), Testoviron Depot® (Bayer Schering Pharma AG), Testosterone Cypionate USP (Genesis Rejuvenation Drugs), Sustanon 250 (Organon Pharma).

Няма данни за ефектите на тестостерон пропионат, прилаган веднъж седмично, както в клинични проучвания, така и на експериментални модели.

9.2. Трансдермални лекарствени форми – предимства и недостатъци

В момента се използват 3 вида ТТС за заместителна терапия^{414,415}. Те трябва да се поставят всеки ден, но осигуряват по-физиологични нива на серумния тестостерон. Предимство е, че лечението може незабавно да се прекрати при поява на нежелана реакция, за разлика от депо-формите⁴¹⁶. Лепенките Тестодерм (Testoderm TTS 6 mg/ 24ч. ALZA Pharmaceuticals) се залепят на скротума (предварително измит, подсушен и избръснат), място което за много пациенти е неприемливо, а на опитни животни практически непримено⁴¹⁷. Те предизвикват също така високо серумно ниво на ДХТ, което вероятно е резултат от повишена активност на 5-алфа редуказата в скроталната кожа⁴¹⁸. Последици от от високото ниво на ДХТ не са описани. Пластирите Андродерм (Androderm TTS 2,5 mg/ 24ч. Watson Pharma) могат да се поставят и върху нескротална кожа, но използваните от тях адхезивни ленти могат да раздразнят кожата и да предизвикат алергии^{419,420,421}. Това може да се предотврати чрез използване на глюкокортикоиден крем, например триамцинолон⁴²². Тестодерм ТТС също могат да се прилагат извън скротума и причиняват по-малко дразнене на кожата, защото са по-малко адхезивни и не използват усилващи агенти⁴²³. Размерът им е по-голям от този на Андродерм и прилепват по-слабо към кожата, особено при изпотяване, което е техен сериозен недостатък⁴²⁴.

Разработени са трансдермални гелове за за заместителна терапия (Androgel 1% 50 г – Solvay Pharma; Testim 1% 50 г. – Ferring Pharmaceutical)^{425,426}. Ежедневната апликация на тези хидроалкохолни

тестостеронови гелове поддържа физиологични нива на серумния тестостерон⁴²⁷. Дозата може да се приспособи за постигане на серумно ниво на тестостерона в долна, средна или горна граница без значително дразнене на кожата⁴²⁸. Андрогел може да предизвика наднормено серумно ниво на ДХТ, най-вероятно като резултат от покриването на голяма кожна повърхност⁴²⁹.

9.3. Лекарствени форми за перорално приложение – предимства и недостатъци

Оралните 17-алфа алкилирани андрогени /метилтестостерон/ не трябва да се прилагат като заместителна терапия⁴³⁰. Те са по-малко ефективни от парентералните и трансдермалните форми. При тяхното приложение се установява потенциално висока хепатотоксичност и по-голямо потискане на нивото на LDL холестерол⁴³¹. Извън САЩ една форма на тестостерона – ундеканоат (Undestor caps. 40 mg – Organon), за перорално приложение е използвана успешно в продължение на много години за заместителна терапия, както при млади, така и при възрастни мъже с андрогенен дефицит⁴³². За разлика от 17-алфа алкилираните андрогени, тестостерон ундеканоат се резорбира от ГИТ. При него се избягва ефекта на първо преминаване през черния дроб, не е хепатотоксичен⁴³³. Резорбцията му обаче е много вариабилна и зависи от приема на храна⁴³⁴. За заместителна терапия има разработена и букална форма (Striant tab. bucc. 30mg – Actient Pharma)⁴³⁵. Както пероралната така и букалната форма имат предимството, че лечението с тях, ако възникнат нежелани реакции може да се спре много бързо. Недостатък е, че трябва да се приемат на 12 или осем часа, което затруднява по-възрастните пациенти⁴³⁶ и влошава участието на пациентите в лечението.

Разработени са много форми със забавено освобождаване и удължено действие за заместителна терапия с тестостерон /ундеканоат, сукцинат, микросфери/, които се инжектират веднъж на няколко месеца.

9.4. Тестостероновите импланти също са ефективни. Използват се в експериментални проучвания⁴³⁷, както и за ХЗТ при мъже⁴³⁸.

9.5. Селективни модулатори на андрогенния рецептор.

Аналогично на наскоро разработените селективни модулатори на естрогенния рецептор за хормонално заместителна терапия при жени в постменопауза, има такива селективни модулатори на андрогенния рецептор (SMARs)⁴³⁹. Това за т. нар. “дизайнерски” андрогени за заместителна терапия⁴⁴⁰. Идеалният SMAR би бил агент, който води до всички положителни ефекти на тестостерона върху мускули, кости⁴⁴¹, сексуална функция, настроение, възприятието⁴⁴², кардиоваскуларната система и без нежеланите лекарствени реакции върху простатата и ССС⁴⁴³.

9.6. Други андрогени за заместителна терапия

17-алфа-метил-19-нортестостерон (MENT) е синтетичен андроген, който не претърпява 5-алфа редукция, но може да се ароматизира до естроген⁴⁴⁴. В проучвания върху животни той е 10 пъти по-активен от тестостерона в потискането на гонадотропиновото ниво и увеличаването на мускулната маса, но е 2 пъти по-неактивен от тестостерона в стимулирането растежа на простатата^{445, 446}. Следователно предимствата на малки дози MENT при хипогонадни мъже вероятно може да подобри мускулната сила и мозъчните функции без да стимулира простатната жлеза⁴⁴⁷. MENT е бил разработен като имплант и предварителните проучвания предполагат, че той е способен да възстанови либидото и сексуалната функция при хипогонадни мъже⁴⁴⁸.

10. Диагностични тестове за проследяване на ефектите от заместителната терапия с тестостерон.

Ефикасността от терапията се определя въз основа на субективни и обективни критерии.

10.1. Изследване на клинично-лабораторни показатели: брой еритроцити, хемоглобин, хематокрит, левкоцити, среден обем на еритроцита и тромбоцити:

Повишаването на хематокрита над 52% изисква редукция на дозата на тестостерона или прекъсване на лечението. При тежка еритроцитоза (хематокрит над 55%) заместителната терапия с

тестостерон трябва незабавно да се прекъсне, за да се предотвратят нежеланите ефекти на хипервискозната кръв. След нормализирането на хематокрита лечението може отново да бъде възобновено с по-ниски дози или трансдермални лекарствени форми. При възрастни индивиди, клинични изследвания като кръвна картина и ПСА трябва да се провеждат на 3 или 6 месеца, след назначаване на тестостерон, а след това на 12 месеца.

10.2. Изследване на ПСА Абнормни стойности на ПСА са индикации за задълбочени урологични изследвания⁴⁴⁹.

10.3. Изследване на КМП При липса на субективно подобрене на симптомите след 6 до 12 месеца след началото на заместителната терапия, липса на промени в КМП трябва да се мисли за прекъсване на терапията.

10.4. Изследване на нивата на серумния тестостерон. Нивата на серумния тестостерон, измерени в средата на интервала между апликациите и поставянето на ТТС могат да се използват за верифициране на нива в средните граници на нормата. Серумното ниво на тестостерон, измерено точно преди следваща апликация на естер на тестостерона е полезно за установяване на нуждата от корекция на дозата. В дисертационния труд кръвта за изследване се събираше точно преди следващото инжектиране на тестостерон.

10.5. Консултация с уролог. По време на лечение с тестостерон се препоръчва урологична оценка при следните ситуации: съмнение за карцином, ниво на ПСА по-голямо от 4 нг/мл, което не е свързано с инфекция на уринарния тракт⁴⁵⁰, установяване на увеличен ПСА с 0,5 нг/мл при последователни проби в рамките на 2 години, тежки симптоми на ДХП.

11. Експериментални модели на андропауза.

11.1. Орхиектомия (кастрация) на мъжки плъхове^{451,452,453}. Билатералната орхиектомия в експерименталните проучвания е най-предпочитаният метод според редица автори^{454,455,456,457,458,459}.

11.2. Използване на възрастни (над 36 месеца) животни⁴⁶²;

11.3. Медикаментозна⁴⁶⁰. Най-често използваните лекарствени продукти са систематизирани в таблица 1⁴⁶¹.

11.4. Химична кастрация – Инжектиране на 20% хипертоничен разтвор на натриев хлорид директно в тестисите⁴⁶². Методът е алтернатива на билатералната орхиектомия. Той не е подходящ в настоящото проучване, тъй като предизвиканата тестикуларна некроза би могла да промени стойностите на проследяваните лабораторни показатели.

Според СЗО плъховете са най-подходящите експериментални модели при проучване на стареенето поради редица причини:

- Техниките за отглеждането им са много добре изяснени;
- имат кратък жизнен цикъл;
- подробно е изучена биологията и поведението им.

Таблица 1. Лекарствени средства за „медикаментозна кастрация“ – по Nima S 2005.

Лекарствена група	Представители	Място на действие	Механизъм на действие
Агонисти на ГТРХ	Leuprolide Goserelin	Преден дял на хипофизата	Намалява освобождаването на ЛХ (down regulation на рецепторите за ГТРХ)
Антагонисти на ГТРХ	Abarelix*	Преден дял на хипофизата	Директно инхибиране на рецепторите за ГТРХ
Средства за адренална аблация	Ketoconazole	Надбъбречна жлеза	Намалява синтеза на андрогени от стероидни прекурсори чрез инхибиране на цитохром P450
Антагонисти на андрогенните рецептори	Flutamide, Bicalutamide, Nilutamide	Простатна жлеза	Инхибиране на лиганд-свързващия домен на андрогените рецептори – компетитивен антагонизъм
Инхибитори на 5 α -редуктазата	Finasteride	Простатна жлеза	Намалява конверсията на тестостерон до ДХТ – инхибиране на 5 α -редуктазата

Взети заедно тези факти полагат солидни основи за изясняване на промените, асоциирани с напредване на възрастта. Получените резултати могат да бъдат съпоставими с тези при хора^{463,464}.

Обобщение:

С възрастта в мъжкия организъм настъпва прогресивен значителен спад на нивото на тестостерона, който се утежнява

допълнително от възрастообусловените увреждания в конституцията на тялото, сексуалната функция, настроението, когнитивните функции, съня и еритропоезата. Подобни промени настъпват при младите хипогонадни мъже или след кастрация. Първоначалните краткосрочни изследвания на тестостероновата терапия върху малък брой мъже и модели на андропауза показват положителни ефекти. Подобрява се телесната конституция, КМП, липидния профил, намаляват исхемични инциденти при физическо усилие. В клиничните и експериментални проучвания все още не са проучени добре вероятните НЛР на заместителната терапия, както и възможни патологоанатомични промени в повечето органи и тъкани. В повечето изследвания единствената нежелана лекарствена реакция е еритроцитозата. Въз основа на тези находки би било разумно да се проведат повече експериментални проучвания, които ще допълнят малкото на брой клинични изследвания.

Въз основа на досегашните находки би могло да помисли за тестостеронова терапия при възрастни мъже с клиничен синдром на андрогенен дефицит и повторни ниски нива на тестостерона в серума, като се преценят внимателно потенциалните ползи и рискове. Тъй като възрасто обусловените увреждания във физиологичните функции обикновено са резултат от сложна етиология, важно е да се оценят и лекуват и другите фактори, които в допълнение с ниското ниво на тестостерона могат да доведат до клиничен синдром на андрогенен дефицит. Относително малък брой експериментални и контролирани рандомизирани проучвания разглеждат ефектите на заместителната терапия с тестостерон^{465,466,467}. В тях е използвано голямо разнообразие от лекарствени форми и дозировки на тестостерона⁴⁶⁸. Лекувани са предимно здрави възрастни мъже, а резултатите са получени чрез различни методики⁴⁶⁹. Сравнително малко е проучен ефектът на заместителната терапия с тестостерон на експериментални модели на андропауза⁴⁷⁰. Въпреки оскъдните данни в достъпната литература се стига до извода, че лечението с тестостерон има положително въздействие върху телосложението⁴⁷¹, КМП⁴⁷², LDL-холестерола⁴⁷³,

ИБС^{474,475,476} мускулна сила^{477,478,479}, сексуална функция^{480,481} общото състояние⁴⁸², хемопоезата, съня и когнитивните функции^{483,484,485,486}.

Основни възражения срещу лечение на възрастни мъже с тестостерон са, че дългосрочните полезни ефекти върху честотата на фрактурите, настъпване на деменция, фатални кардиоваскуларни инциденти, физическа сила, старческо безсилие и качество на живота, риск от клинично проявено заболяване на простатата (ДХП или карцином на простатата) не са известни. Следователно рутинно лечение с тестостерон не бива да се прави. Балансът между ползите и рисковете на заместителната терапия с тестостерон трябва да продължи внимателно да се проследява клинично и да се изследва експериментално.

В достъпната литература липсват данни за влиянието на тестостерон пропионат при заместителна терапия върху динамиката на най-често използваните в рутинната практика лабораторни показатели. Необходимо е да се проучи действието му при остро и хронично приложение върху най-достъпните маркери за костно-мозъчна, хепатална функция и метаболитен контрол и др. Получените резултати биха могли да се използват като достъпни показатели за ефекта от ТЗТ, които да насочат специалистите към по-задълбочени високо специализирани или хормонални изследвания.

ЦЕЛ И ЗАДАЧИ:

Целта на дисертационния труд е да се проучи влиянието на тестостерон пропионат върху някои лабораторни показатели при модели на андрогенен дефицит (орхиектомия, възрастни животни) в експериментални условия на остро и хронично третиране.

Основни задачи на проучването са:

- 1. Да се изследва ефекта на тестостерон заместителната терапия върху хематологичните показатели (еритроцити, хемоглобин, хематокрит, среден обем на еритроцитите, левкоцити и тромбоцити);**
- 2. Да се проследи ефекта на тестостерон заместителната терапия върху показатели за метаболитни нарушения (тотален холестерол, триглицериди, серумна глюкоза);**
- 3. Да се изследва активността на ензими, свързани с хепаталния статус (АлАТ, АсАТ, АФ, ЛДХ) по време на заместителната терапия с тестостерон пропионат;**
- 4. Да се проследи влиянието на тестостерон заместителната терапия върху нивата на серумните протеини (тотален протеин, албумин);**
- 5. Да се изследва динамиката в концентрацията на серумен калций при тестостерон заместителна терапия;**
- 6. Да се проучи влиянието на тестостерон пропионат при заместителна терапия върху нивата на някои хормони:**
 - 6.1. Динамика в стойностите на тоталния тестостерон;**
 - 6.2. Концентрация на мелатонин в серума.**
- 7. Да се проучи динамиката в стойностите на простатно специфичен антиген по време на заместителна терапия с тестостерон пропионат.**

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ:

Използвани са 140 мъжки плъхове, порода Wistar, с тегло от 270 до 380 грама. Дизайнът на експеримента е одобрен от Българска Агенция по Безопасност на Храните (Разрешително №21/19.03.2012г.) и решение на Етичната комисия при МУ-Пловдив с протокол №3/25.07.2012г. Животните са разпределени в групи (Таблица 2).

Таблица 2. Разпределение по групи.

Група	Легенда	Описание
1.	КМХ	Контролна група млади, кастрирани, хронично третирани животни
2.	СОХ	Симулативно оперирани млади, хронично третирани животни
3.	МХ4	Млади, хронично третирани с тестостерон в доза 4 mg/kg т.м. животни
4.	МХ8	Млади, хронично третирани с тестостерон 8 mg/kg т.м. животни
5.	КСХ	Контролна група стари, хронично третирани животни
6.	СХ4	Стари, хронично третирани с тестостерон 4 mg/kg т.м. животни
7.	СХ8	Стари хронично третирани с тестостерон 8 mg/kg т.м. животни
8.	КМО	Контролна група млади, кастрирани, остро третирани животни
9.	МСО	Симулативно оперирани млади, остро третирани животни
10.	МО4	Млади, остро третирани с тестостерон 4 mg/kg т.м. животни
11.	МО8	Млади остро третирани с тестостерон 8 mg/kg т.м. животни
12.	СО4	Стари, остро третирани с тестостерон 4 mg/kg т.м. животни
13.	СО8	Стари, остро третирани с тестостерон 8 mg/kg т.м. животни
14.	КСО	Контролна група стари, остро третирани животни

Младите животни в експерименталното проучване са на възраст 6 месеца със средно тегло $275 \pm 5,1$ грама. Старите плъхове са на възраст над 3 години със средно тегло $376 \pm 6,2$ грама.

След проведената интервенция и аклиматизация за 14 дни плъховете се инжектират мускулно (заднен бедрен мускул) веднъж седмично, както следва (Таблица 3).

Таблица 3. Дизайн на експеримента

Група	Легенда	N	Третиране	Продължителност
1.	COX	10	0,5 ml Oleum helianti (Sopharma)	15 седмици
2.	KMX	10	0,5 ml Oleum helianti (Sopharma)	15 седмици
3.	MX4	10	4 mg/ kg b.w Testosterone propionate (Sopharma)	15 седмици
4.	MX8	10	8 mg/ kg b.w Testosterone propionate (Sopharma)	15 седмици
5.	KC	10	0,5 ml Oleum helianti (Sopharma)	15 седмици
6.	CX4	10	4 mg/ kg b.w Testosterone propionate (Sopharma)	15 седмици
7.	CX8	10	8 mg/ kg b.w Testosterone propionate (Sopharma)	15 седмици
8.	KMO	10	0,5 ml Oleum helianti (Sopharma)	15 дни
9.	MCO	10	0,5 ml Oleum helianti (Sopharma)	15 дни
10.	MO4	10	4 mg/ kg b.w Testosterone propionate (Sopharma)	15 дни
11.	MO8	10	8 mg/ kg b.w Testosterone propionate (Sopharma)	15 дни
12.	CO4	10	4 mg/ kg b.w Testosterone propionate (Sopharma)	15 дни
13.	CO8	10	8 mg/ kg b.w Testosterone propionate (Sopharma)	15 дни
14.	KCO	10	0,5 ml Oleum helianti (Sopharma)	15 дни

Орхиектомия (кастрация) на мъжки плъхове:

Общата анестезия се извършва с 2,5 mg/kg т.м Midazolam (Dormicum, Roche) и 0,25 mcg/kg т.м Fentanyl (Fentanyl, Richter-Gedeon) интраперитонеално. След така приложената анестезия животните заспиват дълбоко и се събуждат след 20±2 минути.

На върха на скротума се прави кожна инцизия с дължина 10 mm. След това се продължава с 5 милиметрова инцизия към левия и десен тестикуларен сак. Издърпва се cauda epididimidis, заедно с тестиса, последван от caput epididimidis. Лигират се vas deferens заедно със сперматикусувите кръвоносни съдове. Следва отпрепарирването и

отстраняването на тестисите. Разрезите се зашиват с копринен конец и локално се третират с антибиотик (Gentamycin, Sopharma). Кастрираните животни се поставят за възстановяване 48 часа в индивидуални самостоятелни клетки със свободен достъп до храна и вода (Фигура 3).

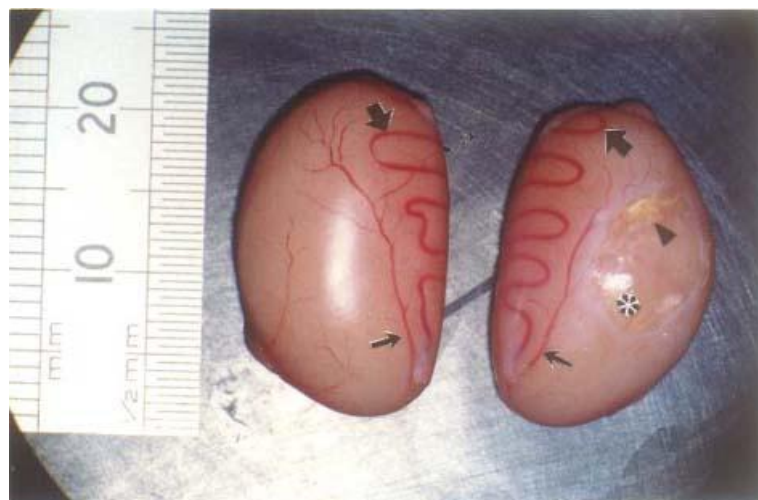
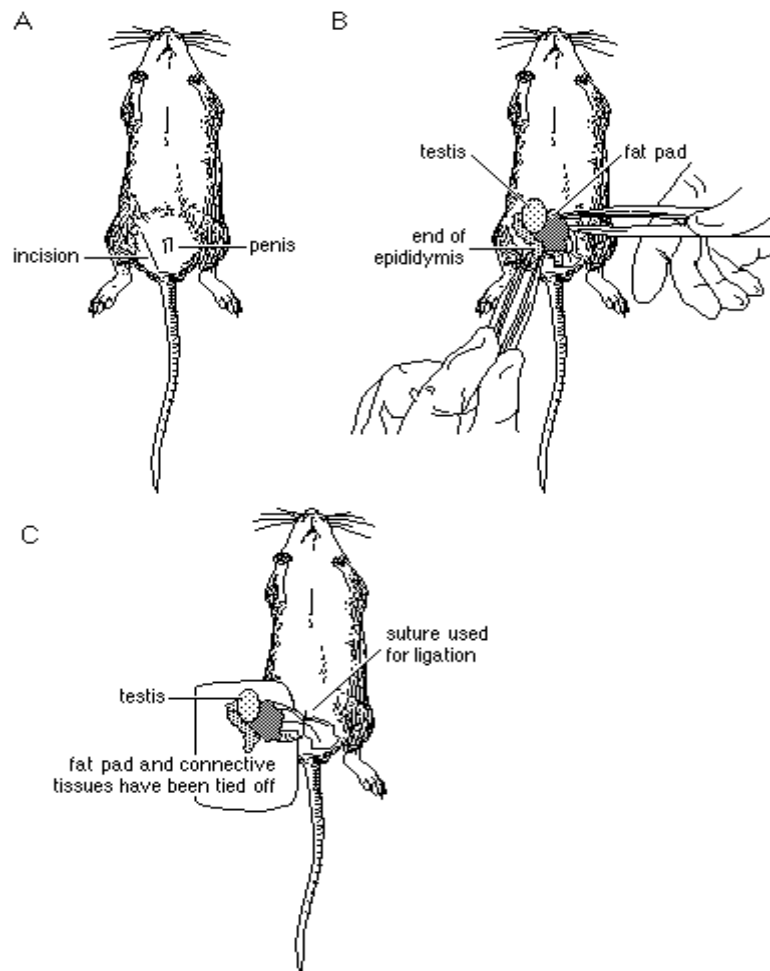
Симулативна орхиектомия (кастрация) на мъжки плъхове.

Общата анестезия се извършва с 2,5 mg/kg т.м Midazolam (Dormicum, Roche) и 0,25 mcg/kg т.м. Fentanyl (Fentanyl, Richter-Gedeon) интраперитонеално.

На върха на скротума се прави кожна инцизия с дължина 10 mm. След това се продължава с 5 милиметров разрез към левия и десен тестикуларен сак. Издърпва се cauda epididimis, заедно с тестиса, последван от caput epididimis. След това cauda epididimis, заедно с тестиса се връщат на нормалната си анатомична позиция, като кръвоносните съдове се оставят интактни. Разрезите се зашиват с копринен конец и локално се третират с антибиотик (Gentamycin, Sopharma). Симулативно оперираните животни се поставят за възстановяване 48 часа в индивидуални самостоятелни клетки със свободен достъп до храна и вода и стандартни лабораторни условия.

По време на експеримента всички животни се отглеждат при стандартни лабораторни условия: Температура на въздуха 26 ± 1 °C, относителна влажност на въздуха $65 \pm 5\%$, свободен достъп до храна и вода.

Кръвната колекция се събира чрез декапитация под етерна наркоза, под стъклен звънец, изпълнен с пари на диетиловия етер за 60 секунди. Получените проби се изпращат незабавно в Катедра клинична лаборатория на МУ -Пловдив. Проследени са на хематологични, клинично-химични и специализирани показатели.



Фигура 3. Основни моменти при кастрацията (А, В, С) и вид на тестисите след интервенцията.

Хематологичните показатели (пълна кръвна картина) са определени на хематологичен брояч Coulter T-660. *Изследвани параметри:* HGB, RBC, HCT, MCV, WBC, PLT

Принципи на определяне:

HGB (g/l) – Измерването на хемоглобиновата концентрация се извършва на хемоглобинометър, след лизиране на RBC в WBC-канала. Определянето е *фотометрично на хемиглобинцианиден принцип*: производните на хемоглобина се окисляват от $K_3Fe(CN)_6$ до хемиглобин (Hi), с CN се образува хемоглобин цианид (HiCN) - цветен комплекс, който се фотометрира при 560 nm. В HiCN се трансформират всички производни на хемоглобина без сулфхемоглобин, дериватът е стабилен, реакцията не се интерферира от плазмените белтъци, законът на Ламбер-Бер е в сила в широки граници.

Кръвни клетки (WBC – $\times 10^9/l$; PLT – $\times 10^9/l$; RBC – $\times 10^{12}/l$) – Кондуктометричен принцип (Culter method) – базира се на импедансна вариация, генерирана при преминаване на клетките през калибрирана микроапертура, от всяка страна, на която са монтирани електроди. Интактните кръвни клетки, поради високото си мембранно липидно съдържание, оказват по-високо електрическо съпротивление от заобикалящия ги електролит. Когато през апертурата преминават суспендирани в електролитен дилуент клетки, електричният импеданс между електродите се увеличава рязко и пропорционално на клетъчния обем, което поражда импулс на напрежението.

Изброяват се само суспендирани частици, с диаметър ~ 10 пъти по-малък от апертурния микро-отвор и за които $r \gg r_0$. Преминаването на суспендирана частица променя напрежението между електродите с ΔR .

$$\Delta R = 0.637 a^3 / r^4 r_0$$

a – радиус на частицата; r – радиус на апертурата

r и r_0 са постоянни величини, поради което клетки с нееднакви радиуси предизвикват силно различаващи се промени в съпротивлението $-\Delta R$, така се генерират електрични импулси с различна големина.

Броят на създадените импулси е пропорционален на броя на преминалите през апертурата клетки, а амплитудата на импулсите е пропорционална на размера (обема) им. Електронен дискриминатор изключва частици с по-малък обем от определен праг. Електронен усилвател подава сигнала към амплитудни дискриминатори, електронни

устройства с регулируем праг на чувствителност (дискриминация). Във всеки дискриминатор могат да влизат само сигнали с \geq на неговия праг на чувствителност, така че електронната система да може да ги отдиференцира от фоновия шум. Аналогово-цифров преобразувател превръща електричните импулси в цифрови данни.

MCV (fl) – Осреднена височина на генерираните еритроцитни импулси, пропорционална на обема на анализирани клетки.

НСТ (I/I) – функция на RBC и MCV:

$$\text{НСТ (I/I)} = \text{MCV (fl)} \times \text{RBC (x } 10^{12}/\text{l)} \times 10^{-3}$$

Реактиви: фирмени

Diatron Diff, cat № 15301

Dialyse, cat № 15313

Clenz, cat № 15307

Аналитичната надеждност на резултатите е в допустимите граници, съобразно изискванията на Медицински стандарт “Клинична лаборатория”, обн. ДВ бр.44/ 30.05.2006, актуализирани август 2010.

Контрол на възпроизводимостта (precision)

Оценка на непрецизността в трите клинично значими области за директно измерваните параметри:

HGB (CV% от 0.49 до 0.87)

RBC (CV% от 0.24 до 1.27)

WBC (CV% от 1.53 до 2.25)

PLT (CV% от 1.45 до 4.06)

MCV (CV% от 0.17 до 0.43)

Контрол на достоверността (trueness)

Оценка на недостоверността в трите клинично значими области за директно измерваните параметри:

HGB (d% от +0.89 до + 1.36)

RBC (d% от -1.13 до +2.48)

WBC (d% от +1.87 до +2.31)

PLT (d% от -4.33 до +3.9)

MCV (d% от +0.15 до +2.8)

Всички клинично-химични анализи са извършени на анализатор: Konelab 60i, Thermo electron Co (USA) по оригинални програми.

Общ белтък

Метод: колориметричен-биуретов

Реактив: тест-набор Cormay, Полша . Кат. № 2-236,2-237

Аналитична надеждност

Невъзпроизводимост в серия: CV от 1.31% до 2.06%

Невъзпроизводимост във време: CV от 3.00% до 3.94%

Неточност: 6% от -3.27 до +4.02

Албумин

Метод: колориметричен-бромкрезил зрwn (BCG)

Реактив: тест-набор Cormay, Полша.

Аналитична надеждност

Невъзпроизводимост в серия: CV от 1.97% до 2.67%

Невъзпроизводимост във време: CV от 2.98% до 3.79%

Неточност: 6% от -1.34 до +3.45

Глюкоза

Метод: колориметричен (GOD-PAP)

Реактиви: тест-набор Cormay, Полша. Кат. № 2-122

Аналитична надеждност

Невъзпроизводимост в серия: CV от 1.31% до 2.06%

Невъзпроизводимост във време: CV от 3.00% до 3.94%

Неточност: 6% от -3.27 до +4.02

Общ холестерол

Метод: колориметричен (CHOD-PAP)

Реактиви: тест-набор Cormay, Полша.

Аналитична надеждност

Невъзпроизводимост в серия: CV от 2.0% до 2.5%

Невъзпроизводимост във време: CV от 2.8% до 3.5%

Неточност: 6% от -3.47 до +4.32

Триглицериди

Метод: колориметричен (GPO-PAF)

Реактиви: тест-набор Cormau, Полша.

Аналитична надеждност

Невъзпроизводимост в серия: CV от 1.81% до 2.26%

Невъзпроизводимост във време: CV от 2.2% до 3.34%

Неточност: d% от -4.0 до+3.22

Общ калций

Метод: колориметричен (О-крезолфталеинкомплексон)

Реактиви: тест-набор Cormau, Полша.

Аналитична надеждност

Невъзпроизводимост в серия: CV от 1.35% до 2.46%

Невъзпроизводимост във време: CV от 2.2% до 3.57%

Неточност: 6% от -4.0 до+3.22

АсАТ

Метод: Кинетичен UV(37°C)

Реактиви: тест-набор Cormau, Полша. Кат. № 1-215

Аналитична надеждност

Невъзпроизводимост в серия: CV от 3.60% до 4.10%

Невъзпроизводимост във време: CV от 3.78% до 4.66%

Неточност: 6% от -2.97 до+3.11

АлАТ

Метод: Кинетичен UV(37°C)

Реактиви: тест-набор Cormau, Полша. Кат. № 1-312

Аналитична надеждност

Невъзпроизводимост в серия: CV от 3.56% до 4.00%

Невъзпроизводимост във време: CV от 3.90% до 4.35%

Неточност: d% от -3.10 до+3.76

Алкална фосфатаза

Метод: кинетичен колориметричен (DEA буфер, 37°C)

Реактиви: тест-набор Konelab, Финландия. Кат. № 981359

Аналитична надеждност.

<i>Невъзпроизводимост в серия:</i>	CV	от 4.01 % до 4.18%
<i>Невъзпроизводимост във време:</i>	CV	от 4.25% до 5.00%
<i>Неточност:</i>	d%	от-3.00 до+2.54

ЛДХ

Метод: *Кинетичен UV(37°C)*

Реактиви: *тест-набор Cormau, Полша. Кат. № 1-239*

Аналитична надеждност

<i>Невъзпроизводимост в серия:</i>	CV	от 1.56% до 3.25%
<i>Невъзпроизводимост във време:</i>	CV	от 2.28%) до 5.15%
<i>Неточност:</i>	d%	от -2.86 до +4.08

Проследени бяха и следните показатели, които за краткост в текста ще бъдат наричани специализирани.

Общ тестостерон

Реактиви: ELISA (ензимно свързан имуносорбентен анализ) – кит на фирмата DRG International, Inc. USA с кат. № EIA – 1559.

Анализатор: SIRIO – microplate reader, SEAC, ITALY.

Принцип: директен имуноензимен – тестостеронът от пробата и определено количество тестостерон маркиран с horse – radish peroxidase се конкурират за свързване с моноклонално антитяло от твърдата фаза. Ензимната реакция се визуализира посредством субстратен разтвор – хромоген ТМВ (tetramethylbenzidine). Интензитетът на цветния продукт е обратнопропорционален на количеството тестостерон в пробата. Работени са двойни проби.

Аналитична надеждност: чувствителност – 0,069 ng/ml; невъзпроизводимост в серия – CV < 5,82%; невъзпроизводимост във време – CV < 4,44%; recovery: без разреждане – 98,3 ÷ 105,1%, с разреждане – 93,9 ÷ 113,5%; методът е специфичен, не се установява кръстосана реакция с дихидротестостерон, андростендион, прогестерон, 17 α-ОН прогестерон, кортизол, DHEA-S.

Референтни граници: жени – 0,1 ÷ 1,2 ng/ml
мъже – 2,4 ÷ 12 ng/ml

Мелатонин

Реактиви: ELISA (ензимно свързан имуносорбентен анализ) – кит на фирмата IBL-Hamburg, Germany с кат. № RE 54021.

Анализатор: Sirio microplate reader, SEAC, Italy

Принцип: конкурентен хетерогенен имуноензимен анализ – **Мелатонинът** от пробата и определено количество маркиран с Biotin-**Melatonin** в присъствие на мелатонинов антисерум се конкурират за свързване с фиксирано върху твърдата фаза анти тяло. Прибавя се маркирано с AP антибиотиново анти тяло, което взаимодейства с комплекса Аг-Ат. Реакцията се визуализира посредством субстратен разтвор–p-nitrophenyl phosphate. Интензитетът на цветния продукт е пропорционален на количеството **Melatonin** в пробата. Работени са двойни проби.

Калибрационна крива: 6 точки (0; 3; 10; 30; 100 и 300 pg/ml)

Аналитична надеждност: чувствителност – 1.6 pg/ml; специфичност – не се установява кръстосана реакция с 5-methoxy-tryptophole, N-acetylserotonin и 5-methoxy-tryptamine; невъзпроизводимост в серия – CV 3.9 – 12.6%; невъзпроизводимост във време CV 6.0 – 16.7%; recovery – 83–125%.

Простатно специфичен антиген - Total Prostate specific antigen (Rat PSA)

Реактиви: MEIA (микрочастичков имуноензимен анализ) – кит на фирмата Abbott Laboratories USA с кат. № 3C19.

Анализатор: AxSYM™ system

Принцип: “сандвичев“ имуноен анализ – простатно специфичният антиген от пробата формира с анти – PSA микрочастици и анти – PSA – АФ конюгат имуноен комплекс. Конюгатът хидролизира флуорогенен субстрат, при което се получава флуоресценция, пропорционална на концентрацията на изследвания компонент.

Аналитична надеждност: чувствителност – 0.04 ng/ml;

невъзпроизводимост в серия – CV от 2.47 до 7.39%;
невъзпроизводимост във време – CV от 3.45 до 11.1% ; recovery: 91 –

103%; методът е специфичен, не се установява кръстосана реакция с Bilirubin (50 mg/dl); с Prostatic acid phosphatase (1000 ng/dl), с Proscar (25 µg/ml).

Статистически методи

Статистическите анализи са проведени с пакет IBM SPSS 20.0 (Statistical Package for Social Science) за Windows 7. За всеки от показателите е изчислена средната стойност (Mean) и стандартната грешка (SEM). За определяне на разпределението е проведен непараметричен тест на Kolmogorov-Smirnov. При нормално разпределение стойностите се съпоставят помежду си чрез Independent Samples T-test. При нехомогенно разпределение показателите се сравняват чрез непараметричен Two independent samples test (Mann-Whitney U). При всички анализи, разликите с $p < 0.05$ се определят като статистически значими.

Таблиците и фигурите са построени чрез програмен пакет Microsoft Office 2010. Използвани са приложенията MS Word и MS Excel.

РЕЗУЛТАТИ

Резултатите от проследените показатели са представени на таблици от 4 до 39.

Резултати от хематологичните изследвания:

Таблица 4. Съпоставяне стойностите на еритроцитите ($\times 10^{12}/l$) при остро и хронично третиране на млади кастрирани мъжки плъхове

Групи	Брой	Mean \pm SEM	t	p
КМО	10	9,83 \pm 0,16	1,37	0,19
МСО	10	10,14 \pm 0,16		
КМО	10	9,83 \pm 0,16	3,72	0,002*
МО4	10	8,51 \pm 0,31		
КМО	10	9,83 \pm 0,16	1,44	0,17
МО8	10	9,49 \pm 0,17		
МСО	10	10,14 \pm 0,16	4,65	< 0,0001*
МО4	10	8,51 \pm 0,31		
МСО	10	10,14 \pm 0,16	2,83	0,011*
МО8	10	9,49 \pm 0,17		
МО4	10	8,51 \pm 0,31	2,76	0,013*
МО8	10	9,49 \pm 0,17		
КМХ	10	6,07 \pm 0,21	3,16	0,006*
СОХ	10	6,92 \pm 0,17		
КМХ	10	6,07 \pm 0,21	4,05	0,001*
МХ4	10	7,62 \pm 0,32		
КМХ	10	6,07 \pm 0,21	7,13	< 0,0001*
МХ8	10	7,61 \pm 0,06		
СОХ	10	6,92 \pm 0,17	1,92	0,076
МХ4	10	7,62 \pm 0,32		
СОХ	10	6,92 \pm 0,17	3,84	0,001*
МХ8	10	7,61 \pm 0,06		
МХ4	10	7,62 \pm 0,32	0,019	0,99
МХ8	10	7,61 \pm 0,06		
МО4	10	8,51 \pm 0,31	1,99	0,062
МХ4	10	7,62 \pm 0,32		
МО8	10	9,49 \pm 0,17	10,65	< 0,0001*
МХ8	10	7,61 \pm 0,06		

* Разликите са статистически значими

При остро третираните кастрирани плъхове тестостерон пропионатът в доза 4 mg/kg т.м статистически достоверно ($p = 0,002$)

понижава броя на еритроцитите. По-високата доза 8mg/kg т.м. макар и несигнификантно има същия ефект върху еритропоезата. При сравнението със симулативно оперираните и двете дози статистически сигнификантно ($p < 0,0001$, $p = 0,011$) редуцират еритроцитния брой. По-високата доза достоверно стимулира еритропоезата ($p = 0,013$).

При хроничното третиране броят на еритроцитите е сигнификантно по-висок ($p = 0,006$) при симулативно оперираните животни, където стероидогенезата е запазена в сравнение с орхиектомираните. Приложението на тестостерон пропионат и в двете дози сигнификантно увеличава еритроцитния брой спрямо кастрираните ($p = 0,001$, $p < 0,0001$). При симулативно оперираните статистически сигнификантна разлика спрямо третираните животни има само при по-високата доза ($p = 0,001$). Няма достоверни различия в проследявания показател между двете дози.

При сравнение ефекта на всяка от дозите при остро и хронично третиране статистически достоверно се установява понижаване в еритроцитния брой при хронично третираните с 8 mg/kg ($p < 0,0001$) спрямо остро приложение на същата доза.

Таблица 5. Съпоставяне стойностите на еритроцитите ($\times 10^{12}/l$) при остро и хронично третиране на възрастни мъжки плъхове

Групи	Брой	Mean \pm SEM	t	p
КСО	10	6,96 \pm 0,16	4,38	< 0,0001*
СО4	10	8,48 \pm 0,31		
КСО	10	6,96 \pm 0,16	10,91	< 0,0001*
СО8	10	9,49 \pm 0,17		
СО4	10	8,48 \pm 0,31	2,89	0,01*
СО8	10	9,49 \pm 0,17		
КСХ	10	6,88 \pm 0,16	4,42	< 0,0001*
СХ4	10	7,83 \pm 0,14		
КСХ	10	6,88 \pm 0,16	4,66	< 0,0001*
СХ8	10	7,88 \pm 0,14		
СХ4	10	7,83 \pm 0,14	0,26	0,78
СХ8	10	7,88 \pm 0,14		
СХ4	10	7,83 \pm 0,14	1,92	0,07
СО4	10	8,48 \pm 0,31		
СХ8	10	7,88 \pm 0,14	7,42	< 0,001*
СО8	10	9,49 \pm 0,17		

* Разликите са статистически значими

Острото и хронично третиране с тестостерон пропионат в доза 4 и 8 mg/kg т.м статистически достоверно повишава ($p < 0,0001$) броя на еритроцитите при сравнение с контролните групи. Статистически достоверна разлика в ефекта при сравнение между двете дози се наблюдава само при остро третираните ($p = 0,01$). Петнадесетседмичното третиране с 8 mg/kg има сигнификантно значим ефект върху еритроцитния брой ($p = 0,001$) при сравнение с острото приложение на същата доза. При доза 4 mg/kg продължителността на терапията, макар и несигнификантно също увеличава стойността на проследявания показател.

Таблица 6. Съпоставяне стойностите на хемоглобин (g/l) при остро и хронично третиране на млади кастрирани мъжки плъхове

Групи	Брой	Mean \pm SEM	T	p
КМО	10	156,4 \pm 1,19	0,41	0,69
МСО	10	155,1 \pm 2,98		
КМО	10	156,4 \pm 1,19	3,71	0,002*
МО4	10	141,1 \pm 3,94		
КМО	10	156,4 \pm 1,19	2,4	0,032*
МО8	10	150,0 \pm 2,39		
МСО	10	155,1 \pm 2,98	2,83	0,012*
МО4	10	141,1 \pm 3,94		
МСО	10	155,1 \pm 2,98	1,34	0,2
МО8	10	150,0 \pm 2,39		
МО4	10	141,1 \pm 3,94	1,93	0,083
МО8	10	150,0 \pm 2,39		
КМХ	10	139,4 \pm 2,11	1,91	0,073
СОХ	10	145,2 \pm 2,19		
КМХ	10	139,4 \pm 2,11	4,29	< 0,0001*
МХ4	10	151,5 \pm 1,87		
КМХ	10	139,4 \pm 2,11	3,37	0,004*
МХ8	10	152,7 \pm 3,34		
СОХ	10	145,2 \pm 2,19	2,19	0,042*
МХ4	10	151,5 \pm 1,87		
СОХ	10	145,2 \pm 2,19	1,88	0,079
МХ8	10	152,7 \pm 3,34		
МХ4	10	151,5 \pm 1,87	0,31	0,76
МХ8	10	152,7 \pm 3,34		
МО4	10	141,1 \pm 3,94	2,38	0,028*
МХ4	10	151,5 \pm 1,87		
МО8	10	150,0 \pm 2,39	0,66	0,52
МХ8	10	152,7 \pm 3,34		

* Разликите са статистически значими

Петнадесетдневното третиране с тестостерон пропионат в доза 4 и 8 mg/kg т.м статистически значимо понижава стойностите на хемоглобина ($p = 0,002$, $p = 0,032$) при сравнение с контролната орхиектомирана група. При сравнение със симулативно оперираните по-ниската доза сигнификантно понижава този показател ($p = 0,012$), а високата доза – несигнификантно. Няма достоверни различия в ефекта при съпоставяне на двете дози.

При хроничното третиране и двете дози статистически значимо ($p < 0,0001$, $p = 0,004$) повишават стойностите на хемоглобина спрямо кастрираните животни. При съпоставяне със симулативно оперираните значимо повишение ($p = 0,042$) се наблюдава само при групата, третирана с 4 mg/kg т.м тестостерон пропионат; без статистическа достоверност стойността на показателя се повишава и при дозата 8 mg/kg т.м. Подобно на регистрираното при острия опит няма значими промени в стойностите на хемоглобина между групите, третирани с двете дози.

Продължителността на третиране сигнификантно повишава стойностите на хемоглобина ($p = 0,028$) само при доза 4 мг/кг т.м.

Таблица 7. Съпоставяне стойностите на хемоглобин (g/l) при остро и хронично третиране възрастни мъжки плъхове

Групи	Брой	Mean \pm SEM	T	P
КСО	10	148,1 \pm 3,87	1,58	0,13
СО4	10	139,2 \pm 4,11		
КСО	10	148,1 \pm 3,87	0,66	0,52
СО8	10	145 \pm 2,64		
СО4	10	139,2 \pm 4,11	1,19	0,25
СО8	10	145 \pm 2,64		
КСХ	10	148,6 \pm 3,97	2,69	0,016*
СХ4	10	161,5 \pm 2,7		
КСХ	10	148,6 \pm 3,97	1,3	0,22
СХ8	10	154,6 \pm 2,38		
СХ4	10	161,5 \pm 2,7	1,92	0,072
СХ8	10	154,6 \pm 2,38		
СХ4	10	161,5 \pm 2,7	4,54	< 0,0001*
СО4	10	139,2 \pm 4,11		
СХ8	10	154,6 \pm 2,38	2,7	0,015*
СО8	10	145 \pm 2,64		

* Разликите са статистически значими

Острото третиране не променя сигнификантно стойностите на хемоглобина при старите животни. Продължителното приложение на тестостерон пропионат в доза 4 mg/kg т.м сигнификантно ($p = 0,016$) повишава хемоглобина, докато дозата 8 mg/kg т.м го променя несигнификантно. Няма значима разлика между двете дози, както при краткосрочното, така и при хроничното третиране. Продължителното третиране с двете дози сигнификантно ($p < 0,0001$, $p = 0,015$) повишава хемоглобина спрямо острото приложение.

Таблица 8. Съпоставяне стойностите на хематокрита (l/l) при остро и хронично третиране на млади кастрирани мъжки плъхове

Групи	Брой	Mean \pm SEM	T	p
КМО	10	0,48 \pm 0,01	0,5	0,62
МСО	10	0,49 \pm 0,001		
КМО	10	0,48 \pm 0,01	4,55	< 0,0001*
МО4	10	0,397 \pm 0,015		
КМО	10	0,48 \pm 0,01	2,18	0,044*
МО8	10	0,45 \pm 0,008		
МСО	10	0,49 \pm 0,001	5,19	< 0,0001*
МО4	10	0,397 \pm 0,015		
МСО	10	0,49 \pm 0,001	2,99	0,008*
МО8	10	0,45 \pm 0,008		
МО4	10	0,397 \pm 0,015	3,21	0,006*
МО8	10	0,45 \pm 0,008		
КМХ	10	0,36 \pm 0,01	1,26	0,23
СОХ	10	0,37 \pm 0,004		
КМХ	10	0,36 \pm 0,01	0,46	0,66
МХ4	10	0,35 \pm 0,02		
КМХ	10	0,36 \pm 0,01	3,44	0,003*
МХ8	10	0,404 \pm 0,008		
СОХ	10	0,37 \pm 0,004	1,41	0,19
МХ4	10	0,36 \pm 0,01		
СОХ	10	0,37 \pm 0,004	3,48	0,004*
МХ8	10	0,404 \pm 0,008		
МХ4	10	0,35 \pm 0,02	3,07	0,009*
МХ8	10	0,404 \pm 0,008		
МО4	10	0,397 \pm 0,015	2,24	0,038*
МХ4	10	0,35 \pm 0,02		
МО8	10	0,45 \pm 0,008	4,08	0,001*
МХ8	10	0,404 \pm 0,008		

* Разликите са статистически значими

15 дневната суплементация с тестостерон пропионат и в двете изследвани дози статистически достоверно понижава стойностите на хематокрита при сравнение с орхиектомираната ($p < 0,0001$, $p = 0,044$) и симулативно оперираната група ($p < 0,0001$, $p = 0,008$). По-високата доза сигнификантно повишава стойностите му ($p = 0,006$) при остро третираните животни.

При хроничното третиране статистически значимо повишаване стойността на хематокрит се наблюдава само при по-високата изследвана доза, в сравнение с двете контролни групи ($p = 0,003$, $p = 0,004$). Като логично последствие тестостерон пропионат в доза 8 mg/kg т.м има статистически значим ефект върху проследявания показател при съпоставяне с доза 4 mg/kg т.м ($p = 0,009$).

Продължителното третиране достоверно понижава хематокрита и при двете дози ($p = 0,038$, $p = 0,001$). Въпреки това при хроничното третиране стойността му при високата доза остава достоверно по-висока, сравнена с контролите.

Таблица 9. Съпоставяне стойностите на хематокрита (l/l) при остро и хронично третиране на възрастни мъжки плъхове

Групи	Брой	Mean \pm SEM	t	P
КСО	10	0,34 \pm 0,025	1,94	0,078
СО4	10	0,39 \pm 0,009		
КСО	10	0,34 \pm 0,025	1,85	0,092
СО8	10	0,389 \pm 0,008		
СО4	10	0,39 \pm 0,009	0,25	0,81
СО8	10	0,389 \pm 0,008		
КСХ	10	0,341 \pm 0,23	3,23	0,007*
СХ4	10	0,423 \pm 0,01		
КСХ	10	0,341 \pm 0,23	2,68	0,015*
СХ8	10	0,406 \pm 0,007		
СХ4	10	0,423 \pm 0,01	1,32	0,2
СХ8	10	0,406 \pm 0,007		
СХ4	10	0,423 \pm 0,01	2,24	0,038*
СО4	10	0,39 \pm 0,009		
СХ8	10	0,406 \pm 0,007	1,56	0,14
СО8	10	0,389 \pm 0,008		

* Разликите са статистически значими

Острото приложение на тестостерон пропионат на възрастни мъжки плъхове не променя сигнификантно стойностите на хематокрита. И двете изследвани дози значимо повишават стойностите му спрямо контролната група ($p = 0,007$, $p = 0,015$) при хронично третиране. Няма разлика в ефекта между двете дози. Продължителността на приложение води до сигнификантно покачване на хематокрита при ниската доза ($p = 0,038$) и несигнификантно при високата доза 8 mg/kg т.м.

Таблица 10. Съпоставяне стойностите на MCV (fl) при остро и хронично третиране на млади кастрирани мъжки плъхове

Групи	Брой	Mean \pm SEM	t	p
КМО	10	50,55 \pm 0,54	2,32	0,033*
МСО	10	48,92 \pm 0,45		
КМО	10	50,55 \pm 0,54	1,56	0,14
МО4	10	49,22 \pm 0,66		
КМО	10	50,55 \pm 0,54	3,18	0,005*
МО8	10	48,1 \pm 0,55		
МСО	10	48,92 \pm 0,45	0,38	0,71
МО4	10	49,22 \pm 0,66		
МСО	10	48,92 \pm 0,45	1,16	0,26
МО8	10	48,1 \pm 0,55		
МО4	10	49,22 \pm 0,66	1,3	0,21
МО8	10	48,1 \pm 0,55		
КМХ	10	55,51 \pm 0,25	3,72	0,002*
СОХ	10	53,53 \pm 0,47		
КМХ	10	55,51 \pm 0,25	5,07	< 0,0001*
МХ4	10	48,93 \pm 1,27		
КМХ	10	55,51 \pm 0,25	7,57	< 0,0001*
МХ8	10	51,97 \pm 0,4		
СОХ	10	53,53 \pm 0,47	3,38	0,003*
МХ4	10	48,93 \pm 1,27		
СОХ	10	53,53 \pm 0,47	2,53	0,021*
МХ8	10	51,97 \pm 0,4		
МХ4	10	48,93 \pm 1,27	2,28	0,035*
МХ8	10	51,97 \pm 0,4		
МО4	10	49,22 \pm 0,66	0,2	0,84
МХ4	10	48,93 \pm 1,27		
МО8	10	48,1 \pm 0,55	5,72	< 0,001*
МХ8	10	51,97 \pm 0,4		

* Разликите са статистически значими

Кастрацията сигнификантно повишава средния обем на еритроцита ($p = 0,033$ при сравнение със симулативно оперираните) при 15 дневния опит. Тестостероновата суплементация сигнификантно намалява този ефект само при високата доза ($p = 0,005$), докато 4 mg/kg т.м. понижава проследявания показател недостоверно. Няма статистическа разлика в обема на еритроцита между двете дози.

При хроничния опит средния обем на еритроцитите се запазва сигнификантно по-висок ($p = 0,002$) при орхиектомираните, сравнени със симулативно оперираните животни. И двете проследявани дози статистически значимо понижават стойността на този показател, както спрямо кастрираните ($p < 0,0001$), така и спрямо симулативно оперираните ($p = 0,003$, $p = 0,021$) плъхове. По-високата доза достоверно повишава средния еритроцитен обем ($p = 0,035$) при съпоставяне с 4 mg/kg т.м.

Продължителността на третиране води до сигнификантни променя средния обем на еритроцита при високата доза ($p < 0,0001$).

Таблица 11. Съпоставяне стойностите на MCV (fl) при остро и хронично третиране на възрастни мъжки плъхове

Групи	Брой	Mean \pm SEM	t	p
КСО	10	49,1 \pm 1,08	1,07	0,3
СО4	10	50,69 \pm 1,01		
КСО	10	49,1 \pm 1,08	1,11	0,29
СО8	10	51,06 \pm 1,4		
СО4	10	50,69 \pm 1,01	0,22	0,83
СО8	10	51,06 \pm 1,4		
КСХ	10	49,19 \pm 1,06	3,5	0,003*
СХ4	10	53,87 \pm 0,82		
КСХ	10	49,19 \pm 1,06	2,58	0,019*
СХ8	10	52,87 \pm 0,96		
СХ4	10	53,87 \pm 0,82	0,79	0,44
СХ8	10	52,87 \pm 0,96		
СХ4	10	53,87 \pm 0,82	2,44	0,026*
СО4	10	50,69 \pm 1,01		
СХ8	10	52,87 \pm 0,96	1,06	0,3
СО8	10	51,06 \pm 1,4		

* Разликите са статистически значими

15 дневната тестостеронова администрация в доза 4 и 8 mg/kg не променя сигнификантно средния обем на еритроцита. При хронично третиране обаче той достоверно се повишава и от двете изследвани дози ($p = 0,003$, $p = 0,019$) без значима разлика от размера на дозата. По-високата доза несигнификантно повишава проследения показател при продължително третиране, докато този ефект е статистически значим при 4 mg/kg т.м ($p = 0,026$).

Таблица 12. Съпоставяне стойностите на тромбоцитите ($\times 10^9/l$) при остро и хронично третиране на млади кастрирани мъжки плъхове

Групи	Брой	Mean \pm SEM	T	p
КМО	10	1058,9 \pm 56,35	1,03	0,32
МСО	10	1134,5 \pm 47,62		
КМО	10	1058,9 \pm 56,35	0,11	0,91
МО4	10	1046,8 \pm 93,85		
КМО	10	1058,9 \pm 56,35	0,068	0,95
МО8	10	1066,3 \pm 93,38		
МСО	10	1134,5 \pm 47,62	0,83	0,42
МО4	10	1046,8 \pm 93,85		
МСО	10	1134,5 \pm 47,62	0,65	0,53
МО8	10	1066,3 \pm 93,38		
МО4	10	1046,8 \pm 93,85	0,15	0,89
МО8	10	1066,3 \pm 93,38		
КМХ	10	731,5 \pm 25,32	0,64	0,53
СОХ	10	765,7 \pm 46,92		
КМХ	10	731,5 \pm 25,32	1,3	0,21
МХ4	10	851 \pm 88,39		
КМХ	10	731,5 \pm 25,32	1,28	0,22
МХ8	10	826,1 \pm 69,37		
СОХ	10	765,7 \pm 46,92	0,85	0,41
МХ4	10	851 \pm 88,39		
СОХ	10	765,7 \pm 46,92	0,72	0,48
МХ8	10	826,1 \pm 69,37		
МХ4	10	851 \pm 88,39	0,22	0,83
МХ8	10	826,1 \pm 69,37		
МО4	10	1046,8 \pm 93,85	1,52	0,15
МХ4	10	851 \pm 88,39		
МО8	10	1066,3 \pm 93,38	2,07	0,055
МХ8	10	826,1 \pm 69,37		

* Разликите са статистически значими

Орхиектомията не променя сигнификантно стойностите на тромбоцитите както при остро, така и при хронично проследяване. В

съответствие с този факт няма статистически достоверна промяна в стойностите на този показател от двете изследвани дози тестостерон пропионат, прилагани остро или хронично на кастрираните животни.

Таблица 13. Съпоставяне стойностите на тромбоцитите ($\times 10^9/l$) при остро и хронично третиране на възрастни мъжки плъхове

Групи	Брой	Mean \pm SEM	T	P
КСО	10	839 \pm 68,89	2,86	0,012*
СО4	10	1193 \pm 103,22		
КСО	10	839 \pm 68,89	3,76	0,002*
СО8	10	1261,9 \pm 89,05		
СО4	10	1193 \pm 103,22	0,5	0,62
СО8	10	1261,9 \pm 89,05		
КСХ	10	826,1 \pm 69,37	1,37	0,2
СХ4	10	943,7 \pm 50,59		
КСХ	10	826,1 \pm 69,37	0,075	0,94
СХ8	10	818,9 \pm 65,6		
СХ4	10	943,7 \pm 50,59	1,51	0,15
СХ8	10	818,9 \pm 65,6		
СХ4	10	943,7 \pm 50,59	2,18	0,043*
СО4	10	1193 \pm 103,22		
СХ8	10	818,9 \pm 65,6	4,01	0,001*
СО8	10	1261,9 \pm 89,05		

* Разликите са статистически значими

Сигнификантни промени в стойностите на тромбоцитите се наблюдават само при остро третираните стари плъхове и в двете изследвани дози ($p = 0,012$, $p = 0,002$). Наблюдаваната промяна е в посока на повишение в техния брой. Може да се твърди, че този процес е преходен, тъй като при съпоставяне по продължителност на двете дози броят им сигнификантно се понижава ($p = 0,043$, $p = 0,001$).

Таблица 14. Съпоставяне стойностите на левкоцитите ($\times 10^9/l$) при остро и хронично третиране на млади кастрирани мъжки плъхове

Групи	Брой	Mean \pm SEM	t	p
КМО	10	12,92 \pm 1,37	2,25	0,04*
МСО	10	9,33 \pm 0,81		
КМО	10	12,92 \pm 1,37	0,56	0,58
МО4	10	12,11 \pm 0,47		
КМО	10	12,92 \pm 1,37	0,22	0,82
МО8	10	13,37 \pm 0,15		
МСО	10	9,33 \pm 0,81	2,97	0,008*

MO4	10	12,11 ± 0,47		
MCO	10	9,33 ± 0,81	2,37	0,033*
MO8	10	13,37 ± 0,15		
MO4	10	12,11 ± 0,47	0,8	0,43
MO8	10	13,37 ± 0,15		
KMX	10	7,98 ± 0,37	0,62	0,55
COX	10	7,58 ± 0,53		
KMX	10	7,98 ± 0,37	2,85	0,011*
MX4	10	10,98 ± 0,99		
KMX	10	7,98 ± 0,37	4,44	< 0,0001*
MX8	10	11,14 ± 0,61		
COX	10	7,58 ± 0,53	3,03	0,007*
MX4	10	10,98 ± 0,99		
COX	10	7,58 ± 0,53	4,4	< 0,0001*
MX8	10	11,14 ± 0,61		
MX4	10	10,98 ± 0,99	0,14	0,89
MX8	10	11,14 ± 0,61		
MO4	10	12,11 ± 0,47	1,03	0,32
MX4	10	10,98 ± 0,99		
MO8	10	13,37 ± 0,15	1,38	0,19
MX8	10	11,14 ± 0,61		

* Разликите са статистически значими

Кастрацията сигнификантно повишава броя на левкоцитите при 15 дневно проследените животни в сравнение със симулативно оперираните ($p = 0,04$). Тестостероновото приложение не променя сигнификантно този ефект и при двете изследвани дози. Съответно на това, групите, третирани с 4 mg/kg т.м и 8 mg/kg т.м тестостерон пропионат сигнификантно ($p = 0,008$, $p = 0,033$) се различават от симулативно оперираната контрола по броя на левкоцитите.

При хроничния опит няма статистически значима разлика в проследявания показател между кастрираните и симулативно оперираните контроли. Тестостерон пропионатът сигнификантно повишава броя на левкоцитите спрямо контролните групи, както в доза 4 mg/kg т.м ($p = 0,011$, $p = 0,007$), така и в доза 8 mg/kg т.м ($p < 0,0001$). Няма достоверна разлика в повлияването на левкоцитния брой между двете дози.

Продължителността на третиране няма сигнификантно влияние върху броя на левкоцитите и при двете изследвани дози.

Таблица 15. Съпоставяне стойностите на левкоцитите ($\times 10^9/l$) при остро и хронично третиране на възрастни мъжки плъхове

Групи	Брой	Mean \pm SEM	T	p
КСО	10	10,77 \pm 0,81	0,74	0,47
СО4	10	11,43 \pm 0,37		
КСО	10	10,77 \pm 0,81	0,6	0,56
СО8	10	11,41 \pm 0,68		
СО4	10	11,43 \pm 0,37	0,026	0,98
СО8	10	11,41 \pm 0,68		
КСХ	10	10,56 \pm 0,93	0,65	0,53
СХ4	10	11,86 \pm 1,59		
КСХ	10	10,56 \pm 0,93	0,84	0,42
СХ8	10	9,57 \pm 0,74		
СХ4	10	11,86 \pm 1,59	1,25	0,24
СХ8	10	9,57 \pm 0,74		
СХ4	10	11,86 \pm 1,59	0,2	0,84
СО4	10	11,43 \pm 0,37		
СХ8	10	9,57 \pm 0,74	1,83	0,085
СО8	10	11,41 \pm 0,68		

* Разликите са статистически значими

Острото и хронично третиране на възрастни мъжки плъхове с тестостерон пропионат в доза 4 и 8 mg/kg т.м не променят сигнификантно броя на левкоцитите. Няма достоверна промяна в този показател при сравнение между двете дози и при съпоставяне на остро и хронично третираните с еднакви дози животни.

Резултати от клинично – химичните тестове: Чернодробни показатели:

Таблица 16. Съпоставяне стойностите на АлАТ (IU/l) при остро и хронично третиране на млади кастрирани мъжки плъхове

Групи	Брой	Mean \pm SEM	U	p
КМО	10	30,4 \pm 5	31,5	0,16
МСО	10	38,7 \pm 4,78		
КМО	10	30,4 \pm 5	21,5	0,031*
МО4	10	62,5 \pm 9,58		
КМО	10	30,4 \pm 5	15,5	0,009*
МО8	10	44,8 \pm 4,86		
МСО	10	38,7 \pm 4,78	25	0,059
МО4	10	62,5 \pm 9,58		
МСО	10	38,7 \pm 4,78	43	0,6

MO8	10	44,8 ± 4,86		
MO4	10	62,5 ± 9,58	30	0,13
MO8	10	44,8 ± 4,86		
KMX	10	51,8 ± 9,38	47	0,82
COX	10	50,2 ± 6,19		
KMX	10	51,8 ± 9,38	45	0,71
MX4	10	41,1 ± 3,21		
KMX	10	51,8 ± 9,38	36,5	0,31
MX8	10	37,4 ± 2,02		
COX	10	50,2 ± 6,19	37	0,33
MX4	10	41,1 ± 3,21		
COX	10	50,2 ± 6,19	28	0,1
MX8	10	37,4 ± 2,02		
MX4	10	41,1 ± 3,21	39,5	0,43
MX8	10	37,4 ± 2,02		
MO4	10	62,5 ± 9,58	24	0,049
MX4	10	41,1 ± 3,21		
MO8	10	44,8 ± 4,86	35	0,26
MX8	10	37,4 ± 2,02		

* Разликите са статистически значими

Непараметричният тест на Колмогоров-Смирноф показва неравномерно разпределение, поради което за съпоставяне на средните стойности на АлАТ между групите беше използван U-критерия на Mann-Whitney при степен на значимост ($p < 0,05$).

Не се наблюдават статистически значими разлики между кастрираните и симулативно оперираните плъхове при острия и хроничен опит. При 15 дневно третиране и при двете използвани дози тестостерон пропионат се наблюдава сигнификантно покачване в стойностите на АлАТ при сравнение с контролата ($p = 0,031$, $p = 0,009$). При сравнение със симулативно оперираните покачването на този показател е несигнификантно.

При хронично третиране с тестостерон пропионат в доза 4 и 8 mg/kg т.м и двете дози несигнификантно понижават стойностите на АлАТ, като това е по-изразено при по-високата доза.

Продължителността на третиране няма значим ефект върху стойностите на АлАТ, но се наблюдава тенденция към понижаването му при хроничния опит.

Таблица 17. Съпоставяне стойностите на АлАТ (IU/l) при остро и хронично третиране на възрастни мъжки плъхове

Групи	Брой	Mean \pm SEM	U	p
КСО	10	36,5 \pm 3,95	43,5	0,62
СО4	10	39,2 \pm 7,88		
КСО	10	36,5 \pm 3,95	38,5	0,38
СО8	10	40,37 \pm 5,54		
СО4	10	39,2 \pm 7,88	36	0,29
СО8	10	40,37 \pm 5,54		
КСХ	10	37,2 \pm 3,87	50	1
СХ4	10	36,1 \pm 3,32		
КСХ	10	37,2 \pm 3,87	37	0,32
СХ8	10	33,2 \pm 2,87		
СХ4	10	36,1 \pm 3,32	44,5	0,68
СХ8	10	33,2 \pm 2,87		
СХ4	10	36,1 \pm 3,32	43	0,6
СО4	10	39,2 \pm 7,88		
СХ8	10	33,2 \pm 2,87	32	0,17
СО8	10	40,37 \pm 5,54		

Приложението на тестостерон пропионат в дози 4 и 8 mg/kg т.м на възрастни мъжки плъхове не променя сигнификантно стойностите на АлАТ. При съпоставяне между остро и хронично приложение на дозите няма значими разлики, но хроничното третиране показва тенденция към понижаване на проследявания показател.

Таблица 18. Съпоставяне стойностите на АсАТ (IU/l) при остро и хронично третиране на млади кастрирани мъжки плъхове

Групи	Брой	Mean \pm SEM	T	p
КМО	10	131 \pm 6,85	0,69	0,5
МСО	10	123,2 \pm 8,95		
КМО	10	131 \pm 6,85	0,24	0,81
МО4	10	128,4 \pm 8,47		
КМО	10	131 \pm 6,85	0,26	0,8
МО8	10	127,8 \pm 10,12		
МСО	10	123,2 \pm 8,95	0,42	0,68
МО4	10	128,4 \pm 8,47		
МСО	10	123,2 \pm 8,95	0,34	0,74
МО8	10	127,8 \pm 10,12		
МО4	10	128,4 \pm 8,47	0,05	0,96
МО8	10	127,8 \pm 10,12		
КМХ	10	152,7 \pm 12,19	0,48	0,64
СОХ	10	162,3 \pm 16,05		
КМХ	10	152,7 \pm 12,19	0,99	0,34

MX4	10	167,7 ± 8,9		
KMX	10	152,7 ± 12,19	0,22	0,83
MX8	10	149 ± 12,18		
COX	10	162,3 ± 16,05	0,29	0,77
MX4	10	167,7 ± 8,9		
COX	10	162,3 ± 16,05	0,66	0,52
MX8	10	149 ± 12,18		
MX4	10	167,7 ± 8,9	1,24	0,23
MX8	10	149 ± 12,18		
MO4	10	128,4 ± 8,47	3,2	0,051*
MX4	10	167,7 ± 8,9		
MO8	10	127,8 ± 10,12	1,34	0,2
MX8	10	149 ± 12,18		

* Разликите са статистически значими

Не се наблюдават статистически значими различия между двете контролни групи и третираните с 4 и 8 mg/kg т.м. тестостеврон пропионат животни, както при остро, така и при хронично приложение.

Таблица 19. Съпоставяне стойностите на АсАТ (IU/l) при остро и хронично третиране на възрастни мъжки плъхове.

Групи	Брой	Mean ± SEM	T	p
KCO	10	179,6 ± 14,82	2,82	0,015*
CO4	10	130,5 ± 10,41		
KCO	10	179,6 ± 14,82	1,51	0,15
CO8	10	147,3 ± 48,78		
CO4	10	130,5 ± 10,41	0,9	0,38
CO8	10	147,3 ± 48,78		
KCX	10	179,3 ± 15,56	1,63	0,13
CX4	10	150,2 ± 8,84		
KCX	10	179,3 ± 15,56	1,95	0,066
CX8	10	147,3 ± 5,12		
CX4	10	150,2 ± 8,84	0,29	0,78
CX8	10	147,3 ± 5,12		
CX4	10	150,2 ± 8,84	1,45	0,17
CO4	10	130,5 ± 10,41		
CX8	10	147,3 ± 5,12	0,01	1
CO8	10	147,3 ± 48,78		

* Разликите са статистически значими

Както остро, така и хроничното третиране с тестостерон пропионат на възрастни мъжки плъхове води до понижаване в стойностите на АсАТ, което е статистически значимо ($p = 0,015$) само в групата, третирана 15 дни с 4 mg/kg т.м.

Таблица 20. Съпоставяне стойностите на АФ (IU/l) при остро и хронично третиране на млади кастрирани мъжки плъхове

Групи	Брой	Mean ± SEM	U	p
КМО	10	395,8 ± 31,39	18	0,016*
МСО	10	290,3 ± 65,84		
КМО	10	395,8 ± 31,39	45	0,71
МО4	10	439 ± 69,24		
КМО	10	395,8 ± 31,39	29	0,11
МО8	10	300,8 ± 38,32		
МСО	10	290,3 ± 65,84	26	0,07
МО4	10	439 ± 69,24		
МСО	10	290,3 ± 65,84	34	0,23
МО8	10	300,8 ± 38,32		
МО4	10	439 ± 69,24	25	0,06
МО8	10	300,8 ± 38,32		
КМХ	10	386,3 ± 38,34	35	0,26
СОХ	10	325,1 ± 25,45		
КМХ	10	386,3 ± 38,34	43	0,6
МХ4	10	349,7 ± 42,41		
КМХ	10	386,3 ± 38,34	22	0,034*
МХ8	10	264,9 ± 18,6		
СОХ	10	325,1 ± 25,45	35	0,26
МХ4	10	349,7 ± 42,41		
СОХ	10	325,1 ± 25,45	24	0,05
МХ8	10	264,9 ± 18,6		
МХ4	10	349,7 ± 42,41	30	0,13
МХ8	10	264,9 ± 18,6		
МО4	10	439 ± 69,24	36,5	0,31
МХ4	10	349,7 ± 42,41		
МО8	10	300,8 ± 38,32	29	0,11
МХ8	10	264,9 ± 18,6		

* Разликите са статистически значими

Орхиектомията сигнификантно покачва стойностите на АФ със степен на значимост $p = 0,016$ ($U = 18$) между двете контролни групи при острия опит. Тестостерон пропионатър в доза 4 mg/kg т.м несигнификантно покачва, а в доза 8 mg/kg т.м несигнификантно понижава стойностите на показателя при остро третирани животни. Съпоставянето на двете дози показва незначимо понижение в стойностите на АФ, индуцирано от по-високата доза.

При хроничния опит няма статистически значими разлики между двете контролни групи. При дозата 8 mg/kg т.м се наблюдава

достоверно ($p = 0,034$, $p = 0,05$) понижение на стойностите на АФ спрямо контролните групи.

Хроничното приложение на тестостерон пропионат в доза 4 и 8 mg/kg т.м води до несигнификантно понижение в стойностите на АФ при сравнение с острото му аплициране в същите дози.

Таблица 21. Съпоставяне стойностите на АФ (IU/l) при остро и хронично третиране на възрастни мъжки плъхове

Групи	Брой	Mean \pm SEM	U	p
КСО	10	566,6 \pm 102,54	37	0,33
СО4	10	364,6 \pm 65,71		
КСО	10	566,6 \pm 102,54	27	0,082
СО8	10	324,2 \pm 54,39		
СО4	10	364,6 \pm 65,71	45	0,71
СО8	10	324,2 \pm 54,39		
КСХ	10	579,3 \pm 105,69	8	0,001*
СХ4	10	254,9 \pm 22,27		
КСХ	10	579,3 \pm 105,69	1	< 0,000*1
СХ8	10	220,7 \pm 14,7		
СХ4	10	254,9 \pm 22,27	38	0,36
СХ8	10	220,7 \pm 14,7		
СХ4	10	254,9 \pm 22,27	30	0,13
СО4	10	364,6 \pm 65,71		
СХ8	10	220,7 \pm 14,7	28	0,1
СО8	10	324,2 \pm 54,39		

* Разликите са статистически значими

15 дневното третиране с тестостерон пропионат на възрастни мъжки плъхове води до несигнификантно понижение в стойностите на АФ и в двете изследвани дози. Хроничното му приложение в изследваните дози значимо понижава този показател ($p = 0,001$, $p < 0,0001$). И двете изследвани дози недостоверно понижават АФ при хронично третиране, в сравнение с 15 дневното им приложение.

Таблица 22. Съпоставяне стойностите на ЛДХ (IU/l) при остро и хронично третиране на млади кастрирани мъжки плъхове

Групи	Брой	Mean \pm SEM	U	p
КМО	10	2402,8 \pm 371,1	18	0,016*
МСО	10	1270,4 \pm 183,97		
КМО	10	2402,8 \pm 371,1	15	0,008*
МО4	10	1099,3 \pm 177,2		

KMO	10	2402,8 ± 371,1	21	0,028*
MO8	10	1442,7 ± 158,04		
MCO	10	1270,4 ± 183,97	45	0,71
MO4	10	1099,3 ± 177,2		
MCO	10	1270,4 ± 183,97	38	0,36
MO8	10	1442,7 ± 158,04		
MO4	10	1099,3 ± 177,2	32	0,17
MO8	10	1442,7 ± 158,04		
KMX	10	1812 ± 220,13	36	0,29
COX	10	1470,9 ± 204,7		
KMX	10	1812 ± 220,13	25	0,059
MX4	10	2371,5 ± 295,4		
KMX	10	1812 ± 220,13	36	0,29
MX8	10	2201,6 ± 381,37		
COX	10	1470,9 ± 204,7	26	0,07
MX4	10	2371,5 ± 295,4		
COX	10	1470,9 ± 204,7	27	0,082
MX8	10	2201,6 ± 381,37		
MX4	10	2371,5 ± 295,4	47	0,82
MX8	10	2201,6 ± 381,37		
MO4	10	1099,3 ± 177,2	13	0,005*
MX4	10	2371,5 ± 295,4		
MO8	10	1442,7 ± 158,04	30	0,13
MX8	10	2201,6 ± 381,37		

* Разликите са статистически значими

При орхиектомираните животни стойностите на ЛДХ сигнификантно се повишават в сравнение със симулативно оперираните ($p = 0,016$) при 15 дневното наблюдение. Тестостерон пропионатът в доза 4 и 8 mg/kg т.м достоверно снижават този показател при сравнение с контролната група кастрирани животни ($p = 0,008$, $p = 0,028$).

Няма достоверна разлика между симулативно оперираните и третираните животни, както и между двете използвани дози. При хроничния опит стойностите на ЛДХ не се различават значимо между кастрираните и симулативно оперираните плъхове, но се запазва тенденцията за нарастването ѝ в групата на орхиектомираните. Администрирането на тестостерон пропионат повишава стойностите на показателя, което е значимо само в групата третирана с 4 mg/kg т.м при сравнението ѝ с кастрираната контрола ($p = 0,07$).

Хроничното приложение на тестостерон води до повишаване стойностите на ЛДХ спрямо остро третираните плъхове, като

сигнификантност се наблюдава само при дозата от 4 mg/kg т.м ($p = 0,005$).

Таблица 23. Съпоставяне стойностите на ЛДХ (IU/l) при остро и хронично третиране на възрастни мъжки плъхове

Групи	Брой	Mean \pm SEM	U	p
КСО	10	4006,4 \pm 382,35	2	< 0,0001*
СО4	10	1401,3 \pm 192,58		
КСО	10	4006,4 \pm 382,35	5	0,001*
СО8	10	1660,5 \pm 194,32		
СО4	10	1401,3 \pm 192,58	34	0,23
СО8	10	1660,5 \pm 194,32		
КСХ	10	4007,3 \pm 381,81	17	0,013*
СХ4	10	2571,1 \pm 209,59		
КСХ	10	4007,3 \pm 381,81	34	0,23
СХ8	10	3474,9 \pm 235,94		
СХ4	10	2571,1 \pm 209,59	16	0,01*
СХ8	10	3474,9 \pm 235,94		
СХ4	10	2571,1 \pm 209,59	6	0,001*
СО4	10	1401,3 \pm 192,58		
СХ8	10	3474,9 \pm 235,94	0	< 0,000*1
СО8	10	1660,5 \pm 194,32		

* Разликите са статистически значими

Възрастните мъжки плъхове, третирани 15 дни с тестостерон пропионат в доза 4 и 8 mg/kg т.м демонстрират сигнификантно понижение в стойностите на ЛДХ ($p < 0,0001$, $p = 0,001$) в сравнение с контролната група. Регистрираната от по-високата доза тенденция към понижение е несигнификантна. При сравняване на групите хронично третиране с 4 и 8 mg/kg т.м тестостерон пропионат помежду им се установява, че по-ниската доза е тази, която сигнификантно понижава стойността на ЛДХ. ($p = 0,01$). Хронично третираните плъхове в двете изследвани дози сигнификантно понижават изследвания показател в сравнение с остро третираните ($p = 0,01$, $p < 0,0001$).

Клинично-химични тестове: Метаболитни показатели

Таблица 23. Съпоставяне стойностите на тотален холестерол (mmol/l) при остро и хронично третиране на млади кастрирани мъжки плъхове

Групи	Брой	Mean ± SEM	U	P
КМО	10	1,96 ± 0,099	28,5	0,1
МСО	10	1,7 ± 0,098		
КМО	10	1,96 ± 0,099	45,5	0,73
МО4	10	1,93 ± 0,13		
КМО	10	1,96 ± 0,099	7,5	0,001*
МО8	10	1,35 ± 0,11		
МСО	10	1,7 ± 0,098	34,5	0,24
МО4	10	1,93 ± 0,13		
МСО	10	1,7 ± 0,098	19,5	0,02*
МО8	10	1,35 ± 0,11		
МО4	10	1,93 ± 0,13	12	0,004*
МО8	10	1,35 ± 0,11		
КМХ	10	1,26 ± 0,09	44,5	0,67
СОХ	10	1,35 ± 0,08		
КМХ	10	1,26 ± 0,09	38,5	0,38
МХ4	10	1,11 ± 0,13		
КМХ	10	1,26 ± 0,09	21,5	0,03*
МХ8	10	0,98 ± 0,08		
СОХ	10	1,35 ± 0,08	32	0,17
МХ4	10	1,11 ± 0,13		
СОХ	10	1,35 ± 0,08	14	0,006*
МХ8	10	0,98 ± 0,08		
МХ4	10	1,11 ± 0,13	32,5	0,18
МХ8	10	0,98 ± 0,08		
МО4	10	1,93 ± 0,13	4	< 0,0001*
МХ4	10	1,11 ± 0,13		
МО8	10	1,35 ± 0,11	19,5	0,02*
МХ8	10	0,98 ± 0,08		

* Разликите са статистически значими

15 дневното третиране с тестостерон пропионат в доза 8 mg/kg т.м сигнификантно редуцира нивата на тоталния холестерол (p = 0,001, p = 0,02) в сравнение с двете контролни групи. Съпоставянето на двете дози помежду им при остро третираните животни също показва, че по-високата доза достоверно понижава нивото на холестерола (p = 0,004).

При хроничното третиране отново само високата доза значимо понижава изследвания показател (p = 0,03, p = 0,06) спрямо орхиектомираните и симулативно оперираните животни. Тенденцията

снижение се регистрира и при по-ниската доза, поради което сравняването на двете дози помежду им не показва статистическа достоверност.

Съпоставянето на ефекта от хроничното приложение на тестостерон пропионат в двете изследвани дози показва статистическа достоверност спрямо остро третиране ($p < 0,0001$, $p = 0,02$).

Таблица 25. Съпоставяне стойностите на тотален холестерол (mmol/l) при остро и хронично третиране на възрастни мъжки плъхове

Групи	Брой	Mean \pm SEM	U	P
КСО	10	1,5 \pm 0,07	9,5	0,002*
СО4	10	1,15 \pm 0,07		
КСО	10	1,5 \pm 0,07	6,5	0,001*
СО8	10	1,05 \pm 0,07		
СО4	10	1,15 \pm 0,07	38	0,36
СО8	10	1,05 \pm 0,07		
КСХ	10	1,47 \pm 0,09	27	0,079
СХ4	10	1,27 \pm 0,05		
КСХ	10	1,47 \pm 0,09	13	0,005*
СХ8	10	1,03 \pm 0,08		
СХ4	10	1,27 \pm 0,05	22	0,032*
СХ8	10	1,03 \pm 0,08		
СХ4	10	1,27 \pm 0,05	37,5	0,33
СО4	10	1,15 \pm 0,07		
СХ8	10	1,03 \pm 0,08	48	0,88
СО8	10	1,05 \pm 0,07		

* Разликите са статистически значими

Краткосрочното третиране на възрастни мъжки плъхове с тестостерон пропионат в доза 4 и 8 mg/kg т.м достоверно снижава тоталния серумен холестерол ($p = 0,002$, $p = 0,001$) в сравнение с контролната група. Няма статистически значими разлики в ефекта на двете дози при 15 дневното третиране. При хроничния опит само високата доза значимо редуцира стойностите на изследвания показател ($p = 0,005$) спрямо контролата, докато ниската доза показва само тенденция към снижение. Като следствие от това, ефектът на дозата 8 mg/kg т.м е сигнификантно значим ($p = 0,032$), спрямо по-малката доза тестостерон. При съпоставяне на остро и хронично третираните

животни с двете използвани дози не се установяват статистически значими различия.

Таблица 26. Съпоставяне стойностите на ТГ (mmol/l) при остро и хронично третиране на млади кастрирани мъжки плъхове

Групи	Брой	Mean ± SEM	T	P
КМО	10	0,81 ± 0,14	2,69	0,015*
МСО	10	0,43 ± 0,04		
КМО	10	0,81 ± 0,14	1,16	0,26
МО4	10	0,64 ± 0,05		
КМО	10	0,81 ± 0,14	0,86	0,4
МО8	10	0,67 ± 0,08		
МСО	10	0,43 ± 0,04	3,46	0,003*
МО4	10	0,64 ± 0,05		
МСО	10	0,43 ± 0,04	2,61	0,022*
МО8	10	0,67 ± 0,08		
МО4	10	0,64 ± 0,05	0,3	0,77
МО8	10	0,67 ± 0,08		
КМХ	10	0,65 ± 0,13	1,16	0,26
СОХ	10	0,48 ± 0,07		
КМХ	10	0,65 ± 0,13	0,63	0,54
МХ4	10	0,76 ± 0,12		
КМХ	10	0,65 ± 0,13	0,19	0,85
МХ8	10	0,68 ± 0,09		
СОХ	10	0,48 ± 0,07	2,03	0,06*
МХ4	10	0,76 ± 0,12		
СОХ	10	0,48 ± 0,07	1,7	0,11
МХ8	10	0,68 ± 0,09		
МХ4	10	0,76 ± 0,12	0,52	0,61
МХ8	10	0,68 ± 0,09		
МО4	10	0,64 ± 0,05	0,94	0,36
МХ4	10	0,76 ± 0,12		
МО8	10	0,67 ± 0,08	0,095	0,93
МХ8	10	0,68 ± 0,09		

* Разликите са статистически значими

При острия опит орхиектомираниите животни показват сигнификантно по-високи стойности на триглицериди ($p = 0,015$) спрямо симулативно оперираните животни. 15 дневното третиране с тестостерон пропионат в доза 4 и 8 mg/kg т.м не редуцира сигнификантно този показател спрямо кастрираните плъхове и го

повишава значимо ($p = 0,003$, $p = 0,022$) при съпоставяне със симулативно оперираните. Няма статистически значима разлика в ефекта на двете дози при сравнение помежду им.

При хроничния опит орхиектомираните животни остават с по-високи нива на серумните триглицериди, но без статистическа достоверност при сравнение със симулативно оперираните плъхове. При съпоставяне на третираните животни с контролните групи се установява, че и двете дози повишават нивата на триглицеридите без статистически значима разлика.

При сравнение на хронично с остро третираните групи и в двете изследвани дози няма сигнификантни различия.

Таблица 27. Съпоставяне стойностите на ТГ (mmol/l) при остро и хронично третиране на възрастни мъжки плъхове

Групи	Брой	Mean \pm SEM	T	P
КСО	10	0,84 \pm 0,08	2,32	0,035*
СО4	10	0,6 \pm 0,05		
КСО	10	0,84 \pm 0,08	2,43	0,031*
СО8	10	0,61 \pm 0,04		
СО4	10	0,6 \pm 0,05	0,14	0,89
СО8	10	0,61 \pm 0,04		
КСХ	10	0,84 \pm 0,08	2,5	0,024*
СХ4	10	0,58 \pm 0,06		
КСХ	10	0,84 \pm 0,08	1,44	0,17
СХ8	10	0,67 \pm 0,07		
СХ4	10	0,58 \pm 0,06	0,99	0,34
СХ8	10	0,67 \pm 0,07		
СХ4	10	0,58 \pm 0,06	0,27	0,8
СО4	10	0,6 \pm 0,05		
СХ8	10	0,67 \pm 0,07	0,75	0,47
СО8	10	0,61 \pm 0,04		

* Разликите са статистически значими

15 дневното третиране на възрастни мъжки плъхове с тестостерон пропионат в доза 4 и 8 mg/kg т.м сигнификантно редуцира нивата на серумните триглицериди ($p = 0,035$, $p = 0,031$). При хронично третиране този ефект е сигнификантен само при ниската доза ($p = 0,024$). При високата доза се отчита несигнификантно понижение. Няма

достоверна разлика при сравняване на двете дози помежду им, както и на остро и хронично третирани животни.

Таблица 34. Съпоставяне стойностите на глюкоза (mmol/l) при остро и хронично третиране на млади кастрирани мъжки плъхове

Групи	Брой	Mean \pm SEM	T	P
КМО	10	7,57 \pm 0,16	1,17	0,27
МСО	10	8,09 \pm 0,41		
КМО	10	7,57 \pm 0,16	2,79	0,014*
МО4	10	6,67 \pm 0,28		
КМО	10	7,57 \pm 0,16	7,51	< 0,0001*
МО8	10	5,5 \pm 0,23		
МСО	10	8,09 \pm 0,41	2,84	0,012*
МО4	10	6,67 \pm 0,28		
МСО	10	8,09 \pm 0,41	5,49	< 0,0001*
МО8	10	5,5 \pm 0,23		
МО4	10	6,67 \pm 0,28	3,25	0,005*
МО8	10	5,5 \pm 0,23		
КМХ	10	6,25 \pm 0,15	2,83	0,013*
СОХ	10	7,08 \pm 0,25		
КМХ	10	6,25 \pm 0,15	1,74	0,098
МХ4	10	6,61 \pm 0,14		
КМХ	10	6,25 \pm 0,15	1,37	0,2
МХ8	10	6,86 \pm 0,42		
СОХ	10	7,08 \pm 0,25	1,63	0,13
МХ4	10	6,61 \pm 0,14		
СОХ	10	7,08 \pm 0,25	0,45	0,66
МХ8	10	6,86 \pm 0,42		
МХ4	10	6,61 \pm 0,14	0,57	0,58
МХ8	10	6,86 \pm 0,42		
МО4	10	6,67 \pm 0,28	0,19	0,85
МХ4	10	6,61 \pm 0,14		
МО8	10	5,5 \pm 0,23	2,87	0,013*
МХ8	10	6,86 \pm 0,42		

* Разликите са статистически значими

Не се наблюдава сигнификантна разлика между двете контролни групи при 15 дневното проследяване. Тестостерон пропионатът в доза 4 и 8 mg/kg т.м сигнификантно понижава стойностите на глюкозата при сравнение с орхиектомираната група ($p = 0,014$, $p < 0,0001$) и симулативно оперираната контрола ($p = 0,012$, $p < 0,0001$). При

съпоставяне на двете изследвани дози помежду им се установи, че по-високата доза сигнификантно понижава изследвания показател ($p = 0,005$) в сравнение с дозата 4 mg/kg т.м.

При хроничния опит кастрираните животни са със сигнификантно по-ниска серумна глюкоза в сравнение със симулативно оперираните ($p = 0,013$). Не се установиха достоверни различия между третираните и контролните групи, както и между двете използвани дози.

При съпоставяне на остро и хронично третираните животни сигнификантен резултат се регистрира само при по-високата доза ($p = 0,013$) в посока на повишение.

Таблица 35. Съпоставяне стойностите на глюкоза (mmol/l) при остро и хронично третиране на възрастни мъжки плъхове

Групи	Брой	Mean \pm SEM	t	P
КСО	10	5,82 \pm 0,16	1,54	0,15
СО4	10	5,33 \pm 0,28		
КСО	10	5,82 \pm 0,16	3,32	0,004*
СО8	10	4,91 \pm 0,22		
СО4	10	5,33 \pm 0,28	1,18	0,25
СО8	10	4,91 \pm 0,22		
КСХ	10	5,86 \pm 0,15	0,84	< 0,0001*
СХ4	10	8,66 \pm 0,28		
КСХ	10	5,86 \pm 0,15	6,09	< 0,0001*
СХ8	10	7,94 \pm 0,31		
СХ4	10	8,66 \pm 0,28	1,84	0,1
СХ8	10	7,94 \pm 0,31		
СХ4	10	8,66 \pm 0,28	8,48	< 0,0001*
СО4	10	5,33 \pm 0,28		
СХ8	10	7,94 \pm 0,31	7,98	< 0,0001*
СО8	10	4,91 \pm 0,22		

* Разликите са статистически значими

Краткосрочното приложение на тестостерон пропионат на възрастни мъжки плъхове редуцира серумните нива на глюкозата със сигнификантност при дозата 8 mg/kg т.м ($p = 0,004$). При хроничното третиране и двете използвани дози сигнификантно понижават показателя ($p < 0,0001$) в сравнение с контролната група. Няма статистически значими разлики между ефекта на двете дози, както при острия, така и при хроничния опит. При съпоставяне на остро и

хронично третирани групи се установи, че при хроничното третиране и двете дози сигнификантно понижават серумната глюкоза ($p < 0,0001$).

Хормонален статус:

Таблица 28. Съпоставяне стойностите на тотален тестостерон (ng/ml) при остро и хронично третиране на млади кастрирани мъжки плъхове

Групи	Брой	Mean \pm SEM	U	P
КМО	10	1,07 \pm 0,21	7	0,001*
МСО	10	2,45 \pm 0,2		
КМО	10	1,07 \pm 0,21	45	0,7
МО4	10	2,4 \pm 1,1		
КМО	10	1,07 \pm 0,21	5	0,001*
МО8	10	2,21 \pm 0,15		
МСО	10	2,45 \pm 0,2	27	0,08
МО4	10	2,4 \pm 1,1		
МСО	10	2,45 \pm 0,2	31,5	0,16
МО8	10	2,21 \pm 0,15		
МО4	10	2,4 \pm 1,1	28,5	0,1
МО8	10	2,21 \pm 0,15		
КМХ	10	1,89 \pm 0,19	32	0,17
СОХ	10	3,37 \pm 0,77		
КМХ	10	1,89 \pm 0,19	33,5	0,21
МХ4	10	2,44 \pm 0,4		
КМХ	10	1,89 \pm 0,19	10	0,002*
МХ8	10	3,17 \pm 0,34		
СОХ	10	3,37 \pm 0,77	38	0,36
МХ4	10	2,44 \pm 0,4		
СОХ	10	3,37 \pm 0,77	43,5	0,62
МХ8	10	3,17 \pm 0,34		
МХ4	10	2,44 \pm 0,4	28	0,095
МХ8	10	3,17 \pm 0,34		
МО4	10	2,4 \pm 1,1	29,5	0,12
МХ4	10	2,44 \pm 0,4		
МО8	10	2,21 \pm 0,15	12	0,004*
МХ8	10	3,17 \pm 0,34		

* Разликите са статистически значими

При 15 дневното наблюдение орхиектомираните плъхове са със сигнификантно по-ниски нива на серумен тестостерон ($p = 0,001$) при сравнение със симулативно оперираните животни. Тестостерон пропионатът в доза 4 и 8 mg/kg т.м повишава нивата на тоталния тестостерон, като сигнификантност се наблюдава при по-високата доза

($p = 0,001$). Няма статистически значими разлики между третираните животни и симулативно оперираната контрола. При съпоставяне на двете дози помежду им няма достоверна разлика.

При хроничния опит серумните нива на тоталния тестостерон при кастрираните животни остават по-ниски в сравнение със симулативно оперираните, без да се наблюдава статистическа достоверност. По-високата използвана доза достоверно повишава нивата на изследвания показател ($p = 0,002$) при сравнение с орхиектомираната контрола. Не се установяват значими разлики при съпоставяне на симулативно оперираните и третираните животни, както и на двете третирани групи помежду им.

При сравнение на хронично и остро третираните животни сигнификантност се установява само при дозата 8 mg/kg т.м ($p = 0,004$).

Таблица 28. Съпоставяне стойностите на тотален тестостерон (ng/ml) при остро и хронично третиране на възрастни мъжки плъхове

Групи	Брой	Mean \pm SEM	U	P
КСО	10	1,42 \pm 0,06	46,5	0,79
СО4	10	1,413 \pm 0,08		
КСО	10	1,42 \pm 0,06	33,5	0,21
СО8	10	1,708 \pm 0,16		
СО4	10	1,413 \pm 0,08	31	0,15
СО8	10	1,708 \pm 0,16		
КСХ	10	1,68 \pm 0,11	25,5	0,063
СХ4	10	2,23 \pm 0,23		
КСХ	10	1,68 \pm 0,11	14,5	0,007*
СХ8	10	2,49 \pm 0,2		
СХ4	10	2,23 \pm 0,23	40,5	0,47
СХ8	10	2,49 \pm 0,2		
СХ4	10	2,23 \pm 0,23	14,5	0,007*
СО4	10	1,413 \pm 0,08		
СХ8	10	2,49 \pm 0,2	15,5	0,009*
СО8	10	1,708 \pm 0,16		

* Разликите са статистически значими

Острото третиране на възрастни мъжки плъхове с тестостерон пропионат в доза 4 и 8 mg/kg т.м не променя сигнификантно серумните му нива при сравнение с контролната група. При хроничното третиране по-високата изследвана доза статистически достоверно повишава

тоталния серумен тестостерон ($p = 0,007$). Няма статистически достоверни различия при съпоставяне между групите, остро и хронично третирани с двете дози. При сравнение на остро и хронично третирани групи се установи статистическа достоверност и при двете изследвани дози ($p = 0,007$, $p = 0,009$).

Серумни протеини:

Таблица 30. Съпоставяне стойностите на тотален протеин (g/l) при остро и хронично третиране на млади кастрирани мъжки плъхове

Групи	Брой	Mean \pm SEM	t	p
КМО	10	74,1 \pm 4,23	0,73	0,48
МСО	10	77,4 \pm 1,61		
КМО	10	74,1 \pm 4,23	1,46	0,17
МО4	10	67,6 \pm 1,42		
КМО	10	74,1 \pm 4,23	0,89	0,45
МО8	10	70,7 \pm 0,78		
МСО	10	77,4 \pm 1,61	4,58	< 0,0001*
МО4	10	67,6 \pm 1,42		
МСО	10	77,4 \pm 1,61	3,86	0,001*
МО8	10	70,7 \pm 0,78		
МО4	10	67,6 \pm 1,42	1,92	0,085
МО8	10	70,7 \pm 0,78		
КМХ	10	66,6 \pm 1	2,97	0,008*
СОХ	10	70,6 \pm 0,9		
КМХ	10	66,6 \pm 1	0,72	0,49
МХ4	10	69,1 \pm 3,35		
КМХ	10	66,6 \pm 1	2,52	0,022*
МХ8	10	70 \pm 0,91		
СОХ	10	70,6 \pm 0,9	0,43	0,67
МХ4	10	69,1 \pm 3,35		
СОХ	10	70,6 \pm 0,9	0,47	0,64
МХ8	10	70 \pm 0,91		
МХ4	10	69,1 \pm 3,35	0,26	0,8
МХ8	10	70 \pm 0,91		
МО4	10	67,6 \pm 1,42	0,41	0,69
МХ4	10	69,1 \pm 3,35		
МО8	10	70,7 \pm 0,78	0,59	0,57
МХ8	10	70 \pm 0,91		

* Разликите са статистически значими

Орхиектомията при 15 дневно наблюдаваните плъхове води до понижение в стойностите на тоталните серумни протеини, без да се

наблюдава статистическа достоверност при сравнение със симулативно оперираните животни. Тестостерон пропионатът в дози 4 и 8 mg/kg т.м не променя сигнификантно този показател при сравнение с кастрираните животни. Съпоставянето на третираните със симулативно оперираните плъхове показва статистически достоверно понижение в стойностите на тоталните протеини и за двете използвани дози ($p < 0,0001$, $p = 0,001$). Няма статистически значими разлики между групите, третирани с 4 и 8 mg/kg т.м тестостерон пропионат.

При хроничният опит кастрираните животни са със сигнификантно по-ниски нива на тоталните серумни протеини ($p = 0,008$) при сравнение със симулативно оперираните. И двете използвани дози повишават нивата им при кастрираните животни, което е значимо само при дозата 8 mg/kg т.м ($p = 0,022$). Няма значими разлики между третираните и симулативно оперираните животни, както и при съпоставяне на двете третирани групи помежду им.

При сравнение на остро и хронично третираните плъхове не се установи статистически достоверно различие.

Таблица 31. Съпоставяне стойностите на тотален протеин (g/l) при остро и хронично третиране на възрастни мъжки плъхове

Групи	Брой	Mean \pm SEM	t	P
КСО	10	72,6 \pm 0,7	6,15	< 0,0001*
СО4	10	64,2 \pm 1,19		
КСО	10	72,6 \pm 0,7	4,24	0,001*
СО8	10	66,4 \pm 1,3		
СО4	10	64,2 \pm 1,19	1,24	0,23
СО8	10	66,4 \pm 1,3		
КСХ	10	72,9 \pm 0,62	0,09	0,93
СХ4	10	72,8 \pm 0,95		
КСХ	10	72,9 \pm 0,62	1,32	0,21
СХ8	10	71,2 \pm 1,12		
СХ4	10	72,8 \pm 0,95	1,09	0,29
СХ8	10	71,2 \pm 1,12		
СХ4	10	72,8 \pm 0,95	5,64	< 0,0001*
СО4	10	64,2 \pm 1,19		
СХ8	10	71,2 \pm 1,12	2,79	0,012*
СО8	10	66,4 \pm 1,3		

* Разликите са статистически значими

Острото третиране на възрастни мъжки плъхове с тестостерон пропионат в доза 4 и 8 mg/kg т.м достоверно понижава нивото на тоталните серумни протеини ($p < 0,0001$; $p = 0,001$). Няма статистически сигнификантни разлики между контролната и третираните групи при хроничния опит. Съпоставянето на групите, третирани с двете различни дози помежду им установи значими разлики както при острия, така и при хроничния опит. При сравнение на остро и хронично третираните животни се наблюдава сигнификантно покачване в нивата на тоталните серумни протеини при 15 седмично третираните плъхове и за двете дози ($p < 0,0001$, $p = 0,012$).

Таблица 32. Съпоставяне стойностите на албумин (g/l) при остро и хронично третиране на млади кастрирани мъжки плъхове

Групи	Брой	Mean \pm SEM	U	P
КМО	10	37,1 \pm 0,67	14	0,006*
МСО	10	34,3 \pm 0,5		
КМО	10	37,1 \pm 0,67	1	< 0,0001*
МО4	10	30,3 \pm 0,63		
КМО	10	37,1 \pm 0,67	20	0,022*
МО8	10	34,6 \pm 0,65		
МСО	10	34,3 \pm 0,5	5	0,001*
МО4	10	30,3 \pm 0,63		
МСО	10	34,3 \pm 0,5	46	0,76
МО8	10	34,6 \pm 0,65		
МО4	10	30,3 \pm 0,63	6,5	0,001*
МО8	10	34,6 \pm 0,65		
КМХ	10	31,8 \pm 0,65	30	0,12
СОХ	10	30,3 \pm 0,62		
КМХ	10	31,8 \pm 0,65	47,5	0,85
МХ4	10	32 \pm 0,97		
КМХ	10	31,8 \pm 0,65	49,5	0,97
МХ8	10	31,7 \pm 0,8		
СОХ	10	30,3 \pm 0,62	32	0,17
МХ4	10	32 \pm 0,97		
СОХ	10	30,3 \pm 0,62	31,5	0,15
МХ8	10	31,7 \pm 0,8		
МХ4	10	32 \pm 0,97	47	0,82
МХ8	10	31,7 \pm 0,8		
МО4	10	30,3 \pm 0,63	32	0,17
МХ4	10	32 \pm 0,97		
МО8	10	34,6 \pm 0,65	18,5	0,016*
МХ8	10	31,7 \pm 0,8		

* Разликите са статистически значими

При острия опит серумните нива на албумина при кастрираните животни са сигнификантно по-високи в сравнение със симулативно оперираните ($p = 0,006$). При третирането с тестостерон пропионат в доза 4 и 8 mg/kg т.м стойностите му остават сигнификантно по-ниски при сравнение с кастрираните животни ($p < 0,0001$, $p = 0,022$). Статистически достоверни разлики между третираните и симулативно оперираните животни се установяват само при дозата 4mg/kg т.м ($p = 0,001$). При сравнение на плъховете, третирани с двете различни дози помежду им се установи, че 8 mg/kg т.м сигнификантно ($p = 0,001$) покачва стойностите на серумния албумин.

При хронично третираните животни не се установи статистически достоверно различие между третираните и двете контролни групи. Няма значима разлика и при сравнение на двете дози помежду им.

При сравнение на остро и хронично третираните плъхове достоверност се наблюдава само при дозата 8 mg/kg т.м ($p = 0,016$) в посока на понижение стойностите на албумина.

Таблица 33. Съпоставяне стойностите на албумин (g/l) при остро и хронично третиране на възрастни мъжки плъхове

Групи	Брой	Mean \pm SEM	U	P
КСО	10	30,5 \pm 0,91	22	0,031*
СО4	10	33,2 \pm 0,61		
КСО	10	30,5 \pm 0,91	10,5	0,002*
СО8	10	34,1 \pm 0,5		
СО4	10	33,2 \pm 0,61	30,5	0,13
СО8	10	34,1 \pm 0,5		
КСХ	10	30,7 \pm 0,91	22	0,03*
СХ4	10	33 \pm 0,42		
КСХ	10	30,7 \pm 0,91	44,5	0,67
СХ8	10	31,2 \pm 0,9		
СХ4	10	33 \pm 0,42	27	0,072
СХ8	10	31,2 \pm 0,9		
СХ4	10	33 \pm 0,42	45	0,69
СО4	10	33,2 \pm 0,61		
СХ8	10	31,2 \pm 0,9	17	0,012*
СО8	10	34,1 \pm 0,5		

* Разликите са статистически значими

15 дневното третиране на възрастни мъжки плъхове с тестостерон пропионат в дози 4 и 8 mg/kg т.м статистически значимо повиши нивата на серумния албумин ($p = 0,031$, $p = 0,002$) при сравнение с контролната група. При хроничният опит значимо повишение се установи само при дозата 4 mg/kg ($p = 0,03$). При съпоставяне на остро и хронично третирани с една и съща доза животни сигнификантна промяна се наблюдава само при дозата 8 mg/kg ($p = 0,012$) в посока на по-ниски нива албумин.

Други клинично – химични тестове:

Серумен калций

Таблица 36. Съпоставяне стойностите на серумен калций (mmol/l) при остро и хронично третиране на млади кастрирани мъжки плъхове

Групи	Брой	Mean \pm SEM	t	P
КМО	10	1,8 \pm 0,15	3,18	0,005*
МСО	10	1,12 \pm 0,15		
КМО	10	1,8 \pm 0,15	0,85	0,41
МО4	10	1,64 \pm 0,11		
КМО	10	1,8 \pm 0,15	1,86	0,08
МО8	10	1,42 \pm 0,14		
МСО	10	1,12 \pm 0,15	2,78	0,013*
МО4	10	1,64 \pm 0,11		
МСО	10	1,12 \pm 0,15	1,45	0,16
МО8	10	1,42 \pm 0,14		
МО4	10	1,64 \pm 0,11	1,25	0,23
МО8	10	1,42 \pm 0,14		
КМХ	10	1,24 \pm 0,12	0,73	0,47
СОХ	10	1,13 \pm 0,09		
КМХ	10	1,24 \pm 0,12	4,54	< 0,0001*
МХ4	10	1,98 \pm 0,11		
КМХ	10	1,24 \pm 0,12	2,87	0,014*
МХ8	10	1,84 \pm 0,18		
СОХ	10	1,13 \pm 0,09	6,21	< 0,0001*
МХ4	10	1,98 \pm 0,11		
СОХ	10	1,13 \pm 0,09	3,59	0,003*
МХ8	10	1,84 \pm 0,18		
МХ4	10	1,98 \pm 0,11	0,68	0,51
МХ8	10	1,84 \pm 0,18		
МО4	10	1,64 \pm 0,11	2,25	0,037*
МХ4	10	1,98 \pm 0,11		
МО8	10	1,42 \pm 0,14	1,88	0,077
МХ8	10	1,84 \pm 0,18		

* Разликите са статистически значими

При острия опит орхиектомията сигнификантно повишава стойностите на серумния калций ($p = 0,005$) при сравнение със симулативно оперираните животни. Независимо от третирането с тестостерон пропионат в доза 4 и 8 mg/kg т.м стойностите му в тези групи остават по-ниски, сравнени с кастрираната контрола. Сигнификантност се наблюдава само при дозата 8 mg/kg т.м ($p = 0,008$) при сравнение с орхиектомираната група. Приложението на тестостерон пропионат повишава стойностите на този показател при сравнение със симулативно оперираната контрола, като този резултат е достоверен при дозата 4 mg/kg т.м ($p = 0,013$). Няма статистически значима разлика в ефекта при съпоставяне на двете дози.

При 15 седмичния опит двете контролни групи не се различават достоверно помежду си. Тестостерон пропионатът и в двете проследени дози повишава стойностите на серумния калций при сравнение с орхиектомираната контрола ($p < 0,0001$, $p = 0,014$) и симулативно оперираната група ($p < 0,0001$, $p = 0,003$). При съпоставяне на групите, третирани с двете различни дози не се установи достоверност.

При сравнение на остро и хронично третирани животни се наблюдава достоверност само при дозата 4 mg/kg т.м ($p = 0,037$) в посока на повишение.

Таблица 37. Съпоставяне стойностите на серумен калций (mmol/l) при остро и хронично третиране на възрастни мъжки плъхове

Групи	Брой	Mean \pm SEM	t	P
КСО	10	1,8 \pm 0,31	1,41	0,18
СО4	10	1,6 \pm 0,11		
КСО	10	1,8 \pm 0,31	0,88	0,39
СО8	10	1,67 \pm 0,11		
СО4	10	1,6 \pm 0,11	0,49	0,63
СО8	10	1,67 \pm 0,11		
КСХ	10	1,76 \pm 0,12	0,5	0,62
СХ4	10	1,85 \pm 0,15		
КСХ	10	1,76 \pm 0,12	3,98	0,002*
СХ8	10	2,28 \pm 0,05		
СХ4	10	1,85 \pm 0,15	2,8	0,012*
СХ8	10	2,28 \pm 0,05		
СХ4	10	1,85 \pm 0,15	1,41	0,18

CO4	10	1,6 ± 0,11		
CX8	10	2,28 ± 0,05	5,06	< 0,0001*
CO8	10	1,67 ± 0,11		

* Разликите са статистически значими

При краткосрочното третиране на възрастни мъжки плъхове с тестостерон пропионат в дози 4 и 8 mg/kg т.м не се установиха статистически достоверни различия в нивото на серумния калций спрямо контролната група. При хроничното третиране и двете дози повишават проследения показател, което е статистически достоверно при 8 mg/kg т.м ($p = 0,002$). Като следствие от това съпоставянето на двете дози помежду им показва, че по-високата го повишава сигнификантно ($p = 0,012$) спрямо по-ниската. При сравнение на остро и хронично третирани групи се установи, че дозата 8 mg/kg т.м достоверно повишава серумния калций при хронично спрямо остро приложения тестостерон ($p < 0,0001$).

Серумен мелатонин:

Таблица 38. Съпоставяне стойностите на мелатонин (pg/ml) при остро и хронично третиране на млади кастрирани мъжки плъхове

Групи	Брой	Mean ± SEM	T	P
КМО	10	87,05 ± 4,03	0,47	0,65
МСО	10	83,72 ± 5,85		
КМО	10	87,05 ± 4,03	0,96	0,35
МО4	10	80,97 ± 4,91		
КМО	10	87,05 ± 4,03	0,28	0,78
МО8	10	85,43 ± 4,06		
МСО	10	83,72 ± 5,85	0,36	0,72
МО4	10	80,97 ± 4,91		
МСО	10	83,72 ± 5,85	0,24	0,81
МО8	10	85,43 ± 4,06		
МО4	10	80,97 ± 4,91	0,7	0,49
МО8	10	85,43 ± 4,06		
КМХ	10	78,81 ± 5,05	0,087	0,93
СОХ	10	78,2 ± 4,85		
КМХ	10	78,81 ± 5,05	0,088	0,93
МХ4	10	78,07 ± 6,71		
КМХ	10	78,81 ± 5,05	0,22	0,83
МХ8	10	80,75 ± 7,48		

COX	10	78,2 ± 4,85	0,016	0,99
MX4	10	78,07 ± 6,71		
COX	10	78,2 ± 4,85	0,29	0,78
MX8	10	80,75 ± 7,48		
MX4	10	78,07 ± 6,71	0,27	0,79
MX8	10	80,75 ± 7,48		
MO4	10	80,97 ± 4,91	0,35	0,73
MX4	10	78,07 ± 6,71		
MO8	10	85,43 ± 4,06	0,55	0,59
MX8	10	80,75 ± 7,48		

* Разликите са статистически значими

Не се установиха сигнификантни разлики между кастрираните и симулативно оперираните животни при острия и хроничния опит. Приложението на тестостерон пропионат в доза 4 и 8 mg/kg т.м несигнификантно понижи нивото на серумния мелатонин спрямо орхиектомираната контрола при 15 дневно третиране. При сравнение със симулативно оперираните и двете дози не промениха значимо нивата на този показател. При по-високата доза се установи несигнификантно покачване.

При хроничния опит няма достоверна разлика между двете контролни групи. Администрирането на тестостерон пропионат в двете дози несигнификантно повиши серумния мелатонин при сравнение с кастрираната и симулативно оперираната група.

При съпоставяне на остро и хронично третираните групи помежду им няма сигнификантни различия.

Таблица 39. Съпоставяне стойностите на мелатонин (pg/ml) при остро и хронично третиране на възрастни мъжки плъхове

Групи	Брой	Mean ± SEM	T	P
KCO	10	82,11 ± 5,88	2,2	0,041*
CO4	10	63,96 ± 5,76		
KCO	10	82,11 ± 5,88	1,72	0,085
CO8	10	66,72 ± 6,08		
CO4	10	63,96 ± 5,76	0,33	0,75
CO8	10	66,72 ± 6,08		
KCX	10	83,86 ± 6,35	2,61	0,019*
CX4	10	62,97 ± 4,9		

KCX	10	83,86 ± 6,35	1,49	0,15
CX8	10	70,55 ± 6,27		
CX4	10	62,97 ± 4,9	0,95	0,35
CX8	10	70,55 ± 6,27		
CX4	10	62,97 ± 4,9	0,13	0,9
CO4	10	63,96 ± 5,76		
CX8	10	70,55 ± 6,27	0,44	0,67
CO8	10	66,72 ± 6,08		

* Разликите са статистически значими

Острото и хронично приложение на тестостерон пропионат на възрастни мъжки плъхове в доза 4 mg/kg т.м. сигнификантно понижава стойностите на серумния мелатонин ($p = 0,041$, $p = 0,019$). При високата доза този ефект е несигнификантен. Съпоставянето на остро и хронично третирани групи помежду им не показва достоверни различия. Налице е тенденция към редуциране нивата на мелатонина при хроничното приложение на ниската доза и повишаването му при високата.

ОБСЪЖДАНЕ

В настоящия дисертационен труд изследваме ефекта на тестостерон пропионата върху някои от най-често използваните хематологични и клинично-химични показатели при орхиектомирани и възрастни мъжки плъхове. Орхиектомията сигнификантно понижи нивата на серумния тестостерон при 15 дневния опит и несигнификантно при хроничния. Суплементацията с тестостерон пропионат повиши нивата му със значимост при по-високата доза. При възрастните мъжки плъхове също се наблюдава повишение в серумните нива на тестостерона, резултат от приложението на пропионовата му сол. Значимост се получи при хроничното използване на доза 8 mg/kg т.м.

Ефект на ТЗТ върху хематологичните показатели

Андрогените повлияват еритропоезата. Те са се използвали като основни фармакологични средства за стимулиране на еритроцитната продукция преди да бъдат въведени рекомбинантните хемопоеични растежни фактори. Показания за лечение са били апластична анемия⁴⁸⁷ и бъбречна недостатъчност⁴⁸⁸. Редукцията на нормалните серумни нива на тестостерон се свързва с потискане на еритропоезата.

При клинични проучвания с аналози на гонадотропин-рилизинг хормона са установени промени в показателите на червения кръвен ред. Двугодишната терапия с Busereline acetate при мъже с високи серумни нива на ПСА води до сигнификантно понижаване стойностите на хемоглобина с максимум на 16^{та}. седмица след началото на терапията. Прекратяването на лечението бавно покачва този показател. Наблюдаваната промяна в стойностите на хемоглобина следва това на серумния тестостерон⁴⁸⁹. Подобни резултати са документирани и при проучване на друг аналог (leuproide), използван за лечение на мъже с бенигна простатна хиперплазия⁴⁹⁰.

Андроген-дефицитна анемия се наблюдава не само при фармакогенно потискане на андрогенсинтезата. Билатералната орхиектомия е метод, използван в терапията на метастатичен простатен

карцином⁴⁹¹. Тя се съпътства с изразено понижаване на циркулиращите серумни нива на андрогените. Fonseca и съавтори (1998) проучват влиянието на орхиектомията върху серумните нива на хемоглобина. Получените от тях резултати демонстрират изразено понижаване на този показател следоперативно при двугодишно наблюдение⁴⁹². Други автори също съобщават за трайно понижаване на хемоглобина след орхиектомия при четиригодишен период на проследяване⁴⁹³. Поради постоперативна анемия, както и други симптоми на тестостеронов дефицит (остеопороза, поведенчески промени и други) някои изследователи съобщават за значителна полза от интермитентната андрогенна терапия при орхиектомияни пациенти⁴⁹⁴.

При болни с простатен карцином ефектът на билатералната орхиектомия върху хемопоезата е еднакъв с този на блокирането на андрогенните рецептори с ципротерон ацетат или блокиране синтеза на ДХТ с Флутамид⁴⁹⁵. Подобен е ефектът и на комбинирания андрогенен блок (орхиектомия и 5 алфа редуктазен инхибитор) върху нивата на хемоглобина и хематокрита при 12 месечна терапия⁴⁹⁶.

Възрастовообусловената анемия аналогично поне отчасти е свързана с понижени нива на циркулиращи андрогени⁴⁹⁷. Полицитемията представлява един от нежеланите рискове на тестостерон заместителната терапия, който изисква наблюдение⁴⁹⁸.

Посочените по-горе данни са доказателство, че андрогените регулират еритропоезата при момчетата на принципа на положителната обратна връзка⁴⁹⁹ и играят роля в поддържането на нормални хемоглобинови нива при възрастните мъже⁵⁰⁰.

Получение от нас данни показват, че остро третираните в продължение на 15 дни кастрирани мъжки плъхове не показват сигнификантни разлики в стойностите на еритроцитите, хемоглобина и хематокрита в сравнение със симулативно оперираните контроли. Този ефект вероятно не се дължи на стимулиращо действие на естрогените върху еритропоезата, въпреки че по-стари данни сочат за такава възможност⁵⁰¹. По-съвременна е концепцията, че тестостеронът сам по себе си активира еритропоезата и не е необходима конверсията му в

естрогени за осъществяване на този ефект, за разлика от някои от другите му биологични ефекти^{502,503}. Най-вероятната причина за липсата на статистическа разлика между двете контроли е краткият период на наблюдение. В цитираните по-горе данни от клинични проучвания най-ранният период за проследяване на тези показатели е един месец. При хроничното третиране вече се наблюдава сигнификантно понижение при еритроцитите и хемоглобина и тенденция за понижаване на хематокрита.

Точният механизъм на действие на тестостерона върху еритропоезата е неизяснен. Въпреки че мъжете и жените се различават по стойностите на еритроцитите, хемоглобин и хематокрит, които са по-високи при мъжете, те имат сравними нива на еритропоетин и soluble transferrin receptor (sTfR)^{504,505}. От друга страна при андроген-индуцирана еритроцитоза нивата на еритропоетина са по-скоро ниски, отколкото високи⁵⁰⁶. Използването на андрогени за лечение на апластична анемия и анемия при бъбречни заболявания, е ефективно въпреки липсата на еритропоетинова стимулация^{507,508}. По-нови проучвания с проследяване на експресията за информационна РНК на еритропоетина и серумните му нива при орхиектомирани плъхове или такива с андрогенен дефицит (индуциран от флутамид или ципротерон) показват, че експресията на еритропоетин и серумните му нива не се променят и при трите модела на андрогенна депривация⁴⁸⁴. Възможно е тестостеронът да стимулира еритропоезата чрез директен ефект върху костномозъчните хемопоетични стволови клетки⁴⁹⁵. Този директен ефект се опосредства чрез индукция на IGF-1 от андроген-рецепторен медиран механизъм⁵⁰⁹. В достъпната ни литература има данни, че тестостеронът усилва резорбцията на желязото, инкорпорирането му в еритроцитите и хемоглобиновия синтез⁵¹⁰.

Направената справка за механизма на действие на тестостерона върху еритропоезата обяснява наблюдавания от нас ефект на стимулиране при орхиектомираните плъхове едва при дългосрочното им третиране. Ефектът е бавен, тъй като е рецепторно медиран, а рецепторите за тестостерон са генноактивни. Поради това при 15

дневното му аплициране проследяваните показатели на кастрираните животни (въпреки третирането) са по-скоро понижени, отколкото повишени.

От трите проследени показатели доза-зависим е ефектът само при хематокрита, където по-високата доза има сигнификантно по-силен ефект. Тъй като този показател е водещ при клиничната диагноза на анемията можем да заключим, че ефектът на тестостерона върху еритропоезата при орхиектомирани плъхове е дозозависима.

Клинично проучване на млади (18 – 35 годишна възраст) еугонадни мъже, чиято ендогенна секреция на тестостерон е потисната с въвеждане на дългодействащ агонист на ГТРХ установява, че прилагането на тестостерон енантат в покачващи се дози води до дозозависимо увеличаване нивото на хемоглобина⁵¹¹.

При клинични проучвания на стари мъже (60 – 75 годишна възраст) тестостерон енантатът също води до дозозависимо повишаване нивата на хемоглобина и хематокрита⁵¹². При сравнително клинично проучване на млади и стари мъже, получаващи дългодействащи агонисти на ГТРХ и тестостерон енантат в покачващи се дози се установява, че ефектът при групата на старите мъже е значително по-изразен³⁹⁰.

Нашите данни потвърждават резултатите от клиничните проучвания за по-висока честота на еритроцитозата при старите плъхове, тъй като сигнификантно по-високи стойности на еритроцитите при сравнение с контролите се получават както при остро, така и при хронично третиране. По отношение стойностите на хемоглобина и хематокрита нашите резултати обаче показват сигнификантно по-високи стойности спрямо контролата, само по отношение на хронично третираните животни. Механизмът на възрастовозависимите промени на еритропоетичната тъкан към тестостерона не са ясни. Възможно е напредването на възрастта да се асоциира с продукцията на еритропоетичен инхибитор, който тестостеронът инактивира³⁹⁰. Доза-ефект зависимост по отношение на тестостерон пропионата получаваме само при изследване на броя на еритроцитите, но не и при другите

показатели, по което нашите данни се различават от цитираните по-горе клинични резултати за тестостерон енантат.

Продължителността на терапията оказва влияние върху проследяваните хематологични показатели. Тези данни съвпадат с резултатите от клинични проучвания за необходимост от продължителното им проследяване в хода на тестостероновото лечение. The Endocrine Society on Androgen Deficiency in Men препоръчва хематокритът да се мониторира 3 месеца след началото на тестостероновата суплементация и след това веднъж годишно⁵¹³. Andrea D. и съзвтори (2008) установяват, че хематокритът продължава да се покачва и след дванадесетата седмица³⁴². При получените от нас данни този факт се потвърждава при хронично третирани 15 седмици млади животни, но при възрастните мъжки плъхове сигнификантност показва само дозата 4 mg/kg т.м. Тенденция за покачване, но без статистическа достоверност се наблюдава при дозата 8 mg/kg т.м. ТП. Тези факти дават основание да се препоръча по-чест мониторинг на хематокрита при пациенти, лекувани с тестостерон. Това се налага, защото еритроцитозата е най-честата и подценявана нежелана реакция при това лечение⁵¹⁴. Повишаването на хемоглобина може да бъде и полезно при стареещи мъже с анемичен синдром. Woodman и съавтори (2005) съобщават, че това състояние е често при хора над 65 години и честотата нараства след 85 годишна възраст, като в една трета от случаите генезата е неизяснена. Наред с това анемията се асоциира с повишен риск от смъртност⁵¹⁵. Наред с ползите от покачването на хемоглобина епидемиологичните проучвания показват, че високите му нива са асоциирани с повишен риск от сърдечно-съдови заболявания⁵¹⁶.

Тестостеронът участва в регулацията не само на еритропоезата, но и на левкопоезата. В достъпната ни литература съществуват множество данни за имунорегулаторната роля на тестостерона, реализирана чрез въздействие върху Т- и Б-лимфоцитните популации. Тимусът е най-вероятното място на действие на андрогените, тъй като неговия размер е зависим от андрогенния статус⁵¹⁷. Орхиектомията е свързана с развитието на тимомегалия, която се наблюдава дори при

възрастни животни^{518,519}. Сигнификантно уголемяване на тимуса се установява и в условията на андроген-резистентни състояния⁵²⁰. Всичко това се съпътства и с увеличаване броя на циркулиращите Т-клетки^{521,522}. Експресията на андрогенни рецептори се доказва, както в тимуса, така и в костния мозък. Те се откриват в лимфоидните и нелимфоидни клетки на тези органи. При опити с трансгенни мишки е установено, че андрогенните рецептори локализирани върху тимусните епителни клетки са от по-съществено значение за андроген-индуцираната инволюция на тимуса⁵²³. Точният механизъм на действие не е известен, но се предполага, че тестостеронът по рецепторен път стимулира тимоцитната апоптоза⁵²⁴. В костният мозък андрогенните рецептори се откриват също и в стромалните клетки. Кастрацията на C57 BL/6 мишки (андроген-чувствителна клетъчна линия) води до увеличаване на В-клетъчната субпопулация в слезката и костния мозък, но последващо приложение на тестостерон води до обратен ефект само в костния мозък⁵²⁵. Вероятно слезката не е таргет на андрогените.

Андрогенните рецептори се откриват в незрелите клетъчни елементи на тимуса и костния мозък и изчезват преди миграцията им в периферните лимфоидни органи⁵²⁶. По това тези рецептори се различават от естрогенните⁵²⁷, които се експресират в периферните лимфоидни тъкани и органи⁵²⁸.

При клинични проучвания на мъже с хипогонадотропен хипогонадизъм и първичен хипогонадизъм се установява увеличен брой на Т-лимфоцити в периферията, като при мъжете над 50 години това увеличение е по-слабо изразено отколкото при по-младите. Възрастта вероятно е съществен фактор в експанзията на Т-клетките при хипогонадни състояния. Заместителната терапия с тестостерон при това клинично наблюдение връща лимфоцитния брой до нормата⁵²⁹.

При орхиектомия на възрастни мъжки плъхове се наблюдава повишено ниво на В-лимфоцити. Предполага се, че този ефект се дължи на понижени нива на естрогените, които не се образуват при ароматизирането на тестостерона⁵³⁰. При клинично проучване на приложението на тестостерон ундеcanoат се установява, че успоредно с

повишаването на тестостероновите нива се понижава общия брой на левкоцитите, Т- и Б лимфоцитите, без промяна в нивата на НК клетките⁵³¹.

Посочените по-горе данни обясняват стимулиращия ефект на орхиектомията върху левкопоезата и получените сигнификантни разлики между кастрираните и симулативно оперираните животни при 15 дневното наблюдение. Изненадващо обаче тестостерон пропионатът не понижи, а сигнификантно повиши левкоцитния брой при остро и хронично третираните животни. Вероятно тестостерон пропионатът има разнопосочно влияние върху субпопулациите левкоцити с краен резултат увеличаване на тоталния им брой. Експерименталните данни при плъхове с автоимунен орхит установяват, че тестостеронът инхибира развитието му. Това се свързва с приблизително трикратно увеличаване броя на CD4+CD25+Fox3+ регулаторните Т клетки. Последните имат инхибиращ ефект върху пролиферацията на CD4+CD25-ефекторните клетки⁵³². Друго вероятно обяснение за наблюдавания стимулиращ ефект на пропионовата сол за разлика от описания в литературата потискащ ефект на ундеканоата е използваната доза. При цитираното клинично проучване последният е използван в субмаксимална доза (20 мг/кг), което води до серумни нива многократно надвишаващи физиологичните⁵²⁰.

При възрастните плъхове остро и хронично третиране не показва сигнификантни разлики с контролите. Това се потвърждава и от клиничните данни, че възрастта е значим фактор в андроген-зависимото повлияване на Т клетките при хипогонадни състояния⁵¹⁸. Установява се обратна корелация т.е. при младите хипогонадни индивиди по-често се регистрира висок брой на Т лимфоцити, докато при възрастните броя им е сравним с този при контролите.

Настоящите експериментални резултати показват, че тестостеронът в изследваните дози повишава сигнификантно левкоцитния брой при млади хипогонадни плъхове. Това дава основание да се допусне съществен ефект върху левкопоезата. За разлика от този върху еритроцитите последният не е достатъчно

проучен. Точните механизми на действие и субпопулациите, които се повлияват изисква задълбочени, бъдещи изследвания.

Съществуват клинични и молекулярно-биологични данни, че половите хормони и специално андрогените повлияват броя и функциите на тромбоцитите. Има предположения, че андрогените могат да активират коагулационните фактори или тромбоцитната активност и да причинят артериални или венозни тромбози^{533,534}. Това би било проблем при андроген заместителната терапия. В сферата на хемостазата най-важните повлияни от тестостерона показатели са фибриногена, плазминогенния активаторен инхибитор – 1 (РАI-1) и тромбоцитната агрегация. Има данни, че тестостеронът понижава фибриногена и РАI-1⁵³⁵. Експерименталните данни с плъхове сочат, че дихидротестостеронът инхибира H_2O_2 – индуцираната тромбоцитна агрегация. Наред с това тя се повишава при кастрирани и предтретиращи с андрогенния антагонист флутамид плъхове. Наблюдават се и редуцирани нива на ТхА2 под действието на дихидротестостерона⁵²⁴.

В достъпната ни литература съществуват експериментални и клинични данни, че тестостеронът стимулира тромбоцитопоезата. При пациенти с миелодиспластичен синдром андрогените повишават тромбоцитния брой⁵³⁶. Отбелязват се различия в ефекта на анаболните препарати и тестостерон енантатът. Последният значимо по-изразено повишава тромбоцитния брой, дори при резистентност към действието на анаболното средство метенолон ацетат⁵³⁷. Установено е, че при жени с овариален карцином наблюдаваната тромбоцитоза, която е лош прогностичен белег е андроген медирана⁵³⁸. При мишки орхиектомията понижава тромбоцитния брой, а тестостеронът възстановява тромбоцитопоезата⁵³⁹.

В настоящето изследване орхиектомията макар и несигнификантно понижава тромбоцитния брой при острия и хроничен опит. Очакваното от приложението на тестостерон пропионат повишение също е несигнификантно и се наблюдава само при 15 седмично третиране.

Вероятно андрогените медираат ефектите си върху тромбоцитопоезата по рецепторен път. Мегакариоцитите и тромбоцитите експресират иРНК за андрогенни рецептори, на принципа на положителната обратна връзка с тестостерона^{540, 541}. За разлика от класическите андрогенни рецептори, които са локализирани в цитоплазмата и трябва да се транспортират до ядрото, за да повлияят генната експресия рецепторите върху тромбоцитите не са геномни. Последните са локализирани върху мембраната и водят до повишаване на вътреклетъчните калциеви нива⁵⁴². Тези рецептори водят до по-скорошен ефекторен отговор. Това обяснява наблюдаваното бързо и сигнификантно покачване на тромбоцитния брой само при остро третираниите възрастни мъжки плъхове. Тази тромбоцитоза е преходна и не се установи при хронично третираниите вероятно поради въвличане на контрарегулаторни механизми.

Ефект на ТЗТ върху клинично – химичните показатели:

Ефекти върху метаболитните показатели

Налице е обратна зависимост между нивата на серумния тестостерон и мастната тъкан при мъжете⁵⁴³. Кръстосани и лонгитудинални проучвания показват, че абдоминалното затлъстяване се асоциира с нисък серумен тестостерон^{544, 545}. При мъже със затлъстяване увеличените мастни депа водят до повишена активност на ензима ароматаза, който превръща тестостерона в естрадиол⁵⁴⁶. Тестостеронът играе голяма роля в липидния метаболизъм. При нормални серумни нива той инхибира развитието на адипоцитите⁵⁴⁷. Също така тестостеронът стимулира липолизата и редуцира синтеза на свободни мастни киселини⁵⁴⁸. При проучвания върху животни е установено, че тестостероновият дефицит потиска липолизата⁵⁴⁹.

Клиничното проучване „Телеком” при здрави възрастни мъже показва, че серумните триглицетиди, тотален холестерол и аполипопротеин Б са повишени при индивиди с ниски серумни нива на тестостерон⁵⁵⁰.

Има множество клинични проучвания върху пациенти с фармакогенно индуциран хипогонадизъм, които демонстрират, че тестостероновият дефицит е рисков фактор за развитие на метаболитен синдром и диабет тип 2. Braga-Bassaria и съавтори (2006) при изследване на мъже с простатен карцином и андрогенна депривация установява, че метаболитният синдром е по-чест в андроген-депривираната група, в сравнение с групите без антиандрогенна терапия и контролите. Мъжете, получили антиандрогени са с по-висока честота на абдоминално затлъстяване, хипергликемия и нива на триглицериди⁵⁵¹. При други проучвания увеличен риск от метаболитен синдром се установява при мъже с тестикуларен карцином, лекувани с химио и радиотерапия⁵⁵². Тестостероновата супресия при мъже с простатен карцином води до повишени нива на LDL-C след 3 месечно лечение⁵⁵³. Smith и съавтори 2006 г.⁵⁵⁴ установяват, че лечението на простатен карцином само за 3 месеца с агонисти на ГТРХ сигнификантно увеличава триглицеридите. Някои автори сочат, че 6 месечното лечение с антиандрогени няма статистически достоверен ефект върху HDL и нивата на ТГ. От друга страна Chen et al. (2005) доказват, че дългосрочната антиандрогенна терапия води до уникален липиден профил -значимо повишаване на ТГ и понижаване на HDL холестерола, като се повлиява само HDL-C3⁵⁵⁵.

Болшинството от кръстосаните клинични проучвания показват, че хипогонадизмът се асоциира с дислипидемия, макар резултатите са противоречиви⁵⁵⁶. Съществуват данни, че локалното приложение на тестостерон води до слабо покачване на HDL холестерола, но няма ефект върху триглицеридите и LDL холестерола при хипогонадни мъже^{557,558}. По-новите студии върху млади хипогонадни мъже с метаболитен синдром или диабет тип 2 доказват, че заместителната терапия с тестостеронов гел понижава тоталния и LDL холестерола⁵⁵⁹.

Настоящото експериментално проучване установява, че при орхиектомираните животни андрогенната депривация, макар и несигнификантно повишава серумните нива на холестерола както при остро, така и при хронично проследените групи. Нашите резултати

потвърждават посочените по-горе клинични данни, че заместителната терапия с тестостерон пропионат сигнификантно понижава тоталния серумен холестерол. Получените данни демонстрират за първи път, че пропионатната сол на тестостерона при интрамускулно приложение в доза 8 mg/kg сигнификантно редуцира серумните нива на холестерола както при модел на хипогонадизъм, така и при здравите контроли.

Орхиектомията сигнификантно повиши нивата на триглицеридите при краткотрайното третиране подобно на клиничните данни за промяната им при лечение с агонисти на ГТРХ. При хроничната ТЗТ поради по-късия период на наблюдение се установи само несигнификантно повишаване в нивата им.

Yannucci и съавтори (2006) проучват резултата от лечение на хиперлипидемията при пациенти с андрогенна депривация и статини. Тези автори характеризират ефекта от едновременния прием на последните и андрогенни антагонисти. Различните форми на андрогенна депривация включват: 1. ГТРХ-ангонист леупролид ацетат; 2. Комбинация от леупролид и бицулотаимид (5 α -редуктазен инхибитор); 3. Абареликс (ГТРХ-антагонист). Те установяват, че липидните показатели се покачват по-изразено при групи 1 и 3. Тези резултати сочат, че характера на андрогенната депривация вероятно има ефект върху наблюдаваните показатели в липидния профил. Интересен е фактът, че терапията със статини не подобрява сигнификантно липидните показатели при тези пациенти. Това предполага, че дислипидемията при мъже с андрогенен дефицит не е свързана с промени в регулацията на ХМГ-КоА редуктазата⁵⁶⁰. Други автори също установяват, че пациентите с андрогенен дефицит, лекувани за простатен карцином имат високи серумни нива на тотален холестерол, LDL и триглицериди⁵⁶¹. Посочените проучвания предполагат, че фармакогенният андрогенен дефицит повлиява липидния профил неблагоприятно и патофизиологията на това нарушение не може да се корегира при лечение със статини. При нашите данни хирургично предизвиканият чрез орхиектомия андрогенен дефицит потвърждава неблагоприятното си влияние върху

липидния профил. Тези резултати трябва да се имат предвид при преценката на ползите и рисковете от изкуствено предизвиканата андрогенна депривация.

Съществуват сравнителни проучвания върху нивата на тоталния холестерол, LDL, HDL и ТГ на възрастни (над 60г.) и млади мъже. Установява се, че 6 месечното лечение с тестостерон води до значително по-изразено редуциране на тоталния холестерол, LDL и ТГ при мъжете над 60 годишна възраст⁵⁶². Получените при настоящото проучване експериментални данни също показват, че ТЗТ при възрастни мъжки плъхове сигнификантно редуцира нивата на холестерола, независимо от дозата и продължителността на третирането. За сравнение при орхиектомираните плъхове тази статистическа достоверност се установи само при по-високата изследвана доза. По отношение нивата на ТГ ТЗТ доведе до статистически значима редукция само при краткосрочно третираните възрастни мъжки плъхове.

Получените данни за редукция в нивата на тоталния холестерол и ТГ предполагат участието на тестостерона в метаболизма, кумулацията и разпределението на мастната тъкан⁵⁶³. Вече е известно, че в мастната тъкан съществуват естрогенни, прогестеронови и андрогенни рецептори – пряко действие на тестостерона върху мастната обмяна. Механизмите, по които тестостеронът осъществява ефектите си върху липидния метаболизъм са свързани с редукция на адипозната мастна тъкан в абдоминалната област⁵⁶⁴. Тестостеронът инхибира обратното поемане на триглицеридите и липопротеинлипазната активност по рецепторен механизъм. Посочените автори изследват обратното поемане на ТГ и липопротеинлипазната активност преди и 9 месеца след трансдермално приложение на тестостерон. Установява се, че тестостеронът сигнификантно редуцира тези процеси. По-късно изследване на същите автори⁵⁶⁵ установява, че най-значимият ефект на тестостерона е върху редуцирането на обратното поемане на ТГ в оментума и ретроперитонеалната мастна тъкан. Получените от нас сигнификантни промени в стойностите на тоталния холестерол при

третираните животни вероятно е свързано с директен ефект върху рецептора. Тестостеронът има геномен механизъм на действие, което предполага бавен и продължителен ефект. Известно е, че дефицитът му се свързва с редуцирани инсулинови нива и резистентност при мъже със затлъстяване⁵⁶⁶. Сигнификантните промени в нивото на тоталния холестерол при третираните животни може да се обясни и с индиректното влияние на тестостерона върху липидната обмяна, подобрявайки показателите на метаболитния синдром.

Настоящото проучване показва, че регулярното прилагане на интрамускулен тестостерон пропионат в доза 8 mg/kg т.м. трайно понижава нивото на серумния холестерол при орхиектомирани и възрастни мъжки плъхове. Въпреки, че този дълготраен ефект на тестостерона е извънредно важен за болни с неблагоприятен липиден профил нови клинични изследвания установяват, че андрогенна терапия съчетана с модификация в начина на живот имат синергестичен ефект - повишаване нивата на HDL и редуциране тези на TG⁵⁶⁷.

Множество проучвания предполагат, че мъжете с ниски серумни нива на тестостерон имат по-висок риск от T23Д. Ниските му нива дори могат да се използват за прогнозиране на началото на заболяването^{568,569,570,571,572}. Ding et al. (2006) при системен обзор на 43 студии, включващи 6427 мъже показва, че високите плазмени нива на тестостерон се асоциират с по-нисък риск от T23Д и обратно⁵⁷³. Други автори сочат, че хипогонадизмът и T23Д често се диагностицират заедно⁵⁷⁴.

Съществува взаимна зависимост между андроген депривираща терапия и развитието на T23Д. Lage et al. (2006) установяват повишен относителен риск от поява на T23Д при мъже, получаващи антиандрогени в рамките на 1 година от началото на терапията⁵⁷⁵. Тази тенденция се запазва дори и при коригиране на останалите рискови фактори. При мъже диабетици с карцином на простатата и андрогенна депривация инсулиновите нужди се повишават прогресивно, което предполага негативното ѝ влияние върху инсулиновата резистентност и гликемичния контрол⁵⁷⁶. Внезапно спиране на андрогенната терапия за

2 седмици при млади здрави мъже с идиопатичен хипогонадотропен хипогонадизъм редуцира инсулиновата чувствителност. Предполага се, че е възможно и директно повлияване от тестостерона на въглехидратната хомеостаза и липса на връзка със затлъстяването⁵⁷⁷. Фактите сочат, че дълготрайната антиандрогенна терапия води до неблагоприятен хормонален и метаболитен профил, включително инсулинова резистентност и хипергликемия. Този риск е независим от възрастта и ИТМ⁵⁷⁸. Други автори смятат, че андрогенния дефицит е последствие, а не причина за неблагоприятния метаболитен статус⁵⁷⁹.

В настоящото експериментално проучване орхиектомията не промени съществено серумните нива на глюкозата при острия и хроничен опит. Тези данни подкрепят по-скоро последното становище, че андрогенният дефицит сам по себе си не е причина за хипергликемия.

Тестостероновата терапия при хипогонадни мъже редуцира хиперинсулинемията и инсулиновата резистентност. Увеличената инсулинова чувствителност корелира негативно и сигнификантно с базалните нива на тестостерона при тези пациенти⁵⁸⁰. Други автори също установяват, че мъже с Т23Д, получаващи тестостероново лечение в продължение на 3 месеца имат понижено ниво на глюкоза на гладно и след нахранване, както и по-ниски стойности на HbA1c, сравнени с базалните нива⁵⁸¹. Кароог и съавтори (2006) сочат, че ТЗТ при пациенти със Т23Д редуцира инсулиновата доза средно със 7 единици⁵⁸². Това вероятно е резултат от подобрена инсулинова чувствителност и редуцирани мастни депа, вследствие на дълготрайното приложение на тестостерон⁵⁸³. Наред с подобрената инсулинова чувствителност се предполага и директен ефект на тестостерона върху бета клетките на панкреаса. Това се потвърждава от факта, че при орхиектомирани животни тестостеронът обръща процеса на апоптозна увреда на тези клетки, индуцирано от цитостатика streptozotocin⁵⁸⁴. Получените резултати при млади орхиектомирани плъхове показват сигнификантно редуциране на глюкозните нива при остро третирани животни, при сравнение с кастрираните и здравите

контроли. Използваните животни не са с модел на инсулинонезависим диабет и инсулинова резистентност. Това предполага директно влияние на тестостерона върху панкреаса или съществуващи взаимодействия между хипоталамо-хипофизно-гонадната ос и инсулиновите нива, които не са напълно изяснени⁵⁶⁷. Pitteloud и съавтори (2005) изследват ефекта на потискане на ендогенните репродуктивни хормони⁵⁸⁵, последвано от секвенциална стимулация на хипофизата и тестисите, съответно с ГТРХ и ЧХГ⁵⁸⁶. ЧХГ стимулацията повишава тестостероновите нива, което корелира позитивно с инсулиновата чувствителност. Увеличаващата се инсулинова резистентност е асоциирана с намалена секреция на тестостерон от Лайдиговите клетки.

При хронично третираните орхиектомирани животни не се установиха сигнификантни разлики с контролните групи. Neufelder и съавтори (2009) при проучване върху мъже с новодиагностициран Т2ЗД и субнормални плазмени нива на тестостерона също описват тенденция към понижаване на глюкозата в третираната група без сигнификантна разлика с контролата⁵⁴⁶. Независимо от това мъжете лекувани с тестостерон в допълнение към диетата и физическата активност достигат таргетните стойности на гликиран хемоглобин. Това показва, че независимо от липсата на сигнификантни промени в стойностите на самата глюкоза тестостероновата терапия постига метаболитен контрол над заболяването. Необходимо е при бъдещи проучвания проследяване стойностите и на гликирания хемоглобин и плазмен инсулин.

При възрастните мъжки плъхове тестостерон пропионатът сигнификантно понижи нивото на глюкозата при 15 дневно третиране. Изненадващо хроничното приложение доведе до по-високи глюкозни нива в сравнение с контролите. Възможно обяснение на наблюдавания факт е, че понижаването на глюкозните нива изисква да се постигнат високи нормални стойности на тоталния тестостерон⁵⁶⁷. Интрамускулното приложение на тестостерон пропионат води до циркулиращи тестостеронов нива с пик за разлика от приложението му под формата на трансдермален гел. При хроничното приложение получените стойности на тоталния тестостерон са по-високи, отколкото

при остро, но при последното вероятно пиковите начални стойности са били по-големи. Наред с това използваните експериментални модели не възпроизвеждат захарен диабет и продължителността на опитната постановка е значително по-кратка от тази на клиничните проучвания. Съществуват данни при животни, че андроген заместителната терапия увеличава инсулиновата чувствителност, чрез стимулиране утилизацията на глюкоза в мускулите⁵⁸⁷. Наред с това е установено, че андрогените стимулират плурипотентните стволови клетки към диференциация в миоцити, а не в адипоцити⁵⁸⁸. Процесът е по-малко вероятно да протече при възрастните мъжки плъхове отколкото при младите. Това може да бъде възможното обяснение за разликата в ефекта на тестостерона върху нивото на глюкозата при хронично третираните млади и стари животни.

Множество проучвания, използващи различни експериментални дизайни демонстрират, че андрогените имат мощен стимулиращ ефект върху протеиновата синтеза. При изследване върху здрави мъже е установено, че тестостеронът повишава мускулната маса и мускулния протеинов синтез⁵⁸⁹. При момчета в предпубертетна възраст той действа общо стимулиращо върху образуването на протеини¹⁹¹. При хипогонадни мъже ГЗТ повишава телесното тегло, размерът и силата на мускулите успоредно с нарастването на плазмените нива на тестостерона. При здрави стари мъже (67 ± 2 години) парентералното приложение на тестостерон за 4 седмици води до серумни концентрации подобни на тези при по-младите мъже. Едновременно с това се повишават и протеиновия синтез и мускулна сила⁵⁷⁸. При супресия на продукцията на тестостерон с аналог на ГТРХ в продължение на 3 седмици се установява, че успоредно с понижаване концентрациите на тестостерона се намаляват и показателите за общ синтез на протеини²²⁰. В достъпната ни литература липсват данни как анаболното действие на тестостерона се отразява върху серумното ниво на общия протеин и албумин, като едни от най-често използваните и достъпни клиникалабораторни показатели. Орхиектомията не промени съществено нивото на тоталните серумни протеини при 15 дневното

наблюдение. При хроничния опит кастрираните животни показаха сигнификантно по-ниски стойности на серумните протеини. ТЗТ както при кастриране, така и при възрастните мъжки плъхове в острия опит понижи нивото на серумните протеини. Вероятно обяснение на този факт е стимулиране на мускулния протеинов синтез за сметка на протеин-синтетичните процеси в черния дроб. При хронично третираните животни не регистрирахме разлики в нивото на тоталния протеин. Westaby и съавтори (1977) също описват липса на ефект от приложението на тестостерон пропионат върху нивото на тоталните серумни протеини, независимо от използването на многократно по-висока доза⁵⁹⁰.

При орхиектомираните плъхове нивото на албумина се увеличи, в сравнение със симулативно оперираните, особено значимо при острия опит. Вероятно това се дължи на факта, че албумин свързания тестостерон за разлика от свързания със СПХГ е биологично активен. Възможно е компенсаторно повишаване на албумините за да се запази биологичната активност на ниските тестостеронови нива. При хронично третираните млади орхиектомирани и третираните възрастни мъжки плъхове тестостерон пропионатът повиши стойностите на албумина (но не над референтните стойности). Би могло да се допусне, че серумният албумин (но не и тоталните протеини) при възрастни мъже би могъл да се използва като достъпен маркер за анаболното действие на тестостерона.

Около 1/3 от всички остеопоротични фрактури са при мъжете, като след 60 години рискът нараства⁵⁹¹. Смъртността от фрактури на шийката на бедрената кост и гръбначния стълб е по-висока⁵⁹². Хипогонадизмът е причина за развитието на вторична остеопороза при мъжете^{593,594}. Проучвания установяват, че дефицит на тестостерон се открива при 50 – 66% от възрастните индивиди с бедрени фрактури⁵⁹⁵ и 20 % от мъжете с гръбначни фрактури⁵⁹⁶. Андроген-депривационната терапия при пациентите с простатен карцином също се асоциира с увеличен фрактурен риск⁵⁹⁷. ТЗТ повишава КМП⁵⁹⁸. През последните години се обръща внимание на дефицитът на витамин Д при развитие

на остеопороза. Позитивна взаимовръзка е установена между серумните нива на 25-хидрокси Д3 и тестостерона при мъже над 40 години със среден ИТМ над 25 и съпътстващи метаболитен синдром или диабет. Обратно при млади здрави мъже не се открива връзка между нивата на витамин Д и тестостерона^{599,600}. Клинични проучвания показват, че както серумните нива на 25-хидрокси Д3, така и тези на тестостерона намаляват с възрастта. Тези възрастовообусловени промени вероятно са от клинично значение за увеличаване на риска от фрактури при възрастните мъже⁶⁰¹. Съществува взаимодействие между андрогените и витамин Д. Възможно е той да стимулира андрогенния синтез, както и обратното⁶⁰². От друга страна тестостеронът сам по себе си стимулира калциевата абсорбция при проучване върху момчета в предпубертетна възраст⁶⁰³. При експериментални проучвания върху мишки андрогените усилват калциевата екскреция, като инхибират експресията на калциевия транспортен протеин в бъбрека⁶⁰⁴.

Клинични проучвания при мъже, сравняващи естрогените и тестостерона показват, че естрогените играят по-важна роля в костната хомеостаза⁶⁰⁵. Нивото на последните също се понижава с възрастта, вероятно поради намаления тестостерон, който се ароматизира до естрогени. Не се установява промяна в ароматазната активност със стареенето⁶⁰⁶. В настоящото проучване орхектомията води до сигнификантно покачване на серумния калций при острия опит спрямо симулативно оперираните. Това вероятно се дължи на промените в нивата на естрогените.

При хронично третираните орхектомирани и стари плъхове тестостерон заместителната терапия сигнификантно повиши стойностите на серумния калций. Механизмът на този ефект може да се обясни с цитираните по-горе данни за влиянието на тестостерона върху витамин Д и калциевата резорбция.

Независимо, че серумният калций не е лабораторен показател за определяне на риска от остеопороза, негови препарати намират приложение при лечението ѝ. Тригодишно двойно сляпо рандомизирано проучване върху 176 мъже показва, че терапия с калций и витамин Д

сигнификантно повишава костната плътност на феморалната шийка и тоталната КМП⁶⁰⁷. Практическата стойност на нашите резултати се състои в необходимостта от проследяване на калциевите нива при мъже, получаващи препарати за лечение на остеопорозата в допълнение към ТЗТ.

Ефект на ТЗТ върху активността на хепаталните ензими

Експерименталните и клинични данни за хепатотоксичност при ТЗТ са противоречиви. Андрогенните анаболни стероиди са синтетични деривати на тестостерона и имат сходство с неговата молекула. Краткосрочната и дългосрочна терапия с тях води до нежелани реакции в редица органи, но токсичността им върху черния дроб е едно от най-сериозните усложнения. Петседмичната терапия с анаболния стероид нандролон деканоат води до повишаване стойностите на трансаминазите и алкалната фосфатаза като израз на хепатоцитолита и холестаза⁶⁰⁸. В близкото минало в терапията на старческия хипогонадизъм са използвани 17-алфа алкилирани деривати на тестостерона (Methyltestosterone). Клиничният опит с тях е показал, че често се развива холестаза с парадоксално ниски нива на алкалната фосфатаза⁶⁰⁹. Наред с това пероралното им приложение е свързано с риск от тромбоза на чернодробните вени и хепатални тумори⁶¹⁰. С подобрен профил на безопасност са трансдермалните терапевтични системи, доставящи тестостерон, както и ундеканоатната му сол за инжекционно и орално приложение. Приложението на тестостерон ундеканоат при мъже с ниски серумни нива на тестостерон и съпътстващ метаболитен синдром не води до увеличаване на трансаминазната активност. Напротив, дори при чернодробна стеатоза, индуцирана от затлъстяване посочените показатели се подобряват⁶¹¹. В настоящото експериментално проучване преходно повишаване стойностите на АлАТ се установи само при остро третирани орхиектомирани животни. При останалите групи не се регистрира значима промяна. Не се установиха промени в стойностите на АсАТ. Тези резултати показват, че пропионовата сол на тестостерона има

сходна безопасност с ундеканоата и не променя трансаминазната активност при продължително третиране. Напротив-възрастооеобусловените промени в стойностите на АсАТ в посока повишаване⁶¹² статистически значимо се понижиха при възрастните мъжки плъхове, третирани 15 дни с тестостерон пропионат в доза 4 mg/kg т.м.

По отношение стойностите на алкалната фосфатаза се установи, че при хронично третираните възрастни мъжки плъхове в двете използвани дози и хронично третираните орхиектомирани животни с доза 8 mg/kg т.м. стойностите ѝ се понижават. Този резултат потвърждава установеното от Borhan-Manesh et al. (1989) при хронично третиране със 17 алкилирани деривати на тестостерона.

В настоящото проучване установихме, че орхиектомията преходно повишава стойностите на ЛДХ (при 15 дневно третиране), които се понижиха след приложението на тестостерон пропионат. За пръв път се установи възрастовозависимо повишение в стойностите на ЛДХ, които се нормализираха от заместителната терапия с тестостерон пропионат.

Ефект на ТЗТ върху специализираните показатели

Ефекти върху биомаркер за простатен карцином – простатно специфичен антиген

ПСА е серумен гликопротеин, продуциран от нормалната простата. Той се използва като туморен маркер, защото повишените му нива директно корелират с риска от простатен карцином. Стойност над 4 нанограма/ мл е индикация за простатна биопсия. По-нови проучвания показват, че е налице риск от карцином и при стойности между 2,6 и 4 нг/ мл. Това поражда въпроса за евентуално по-ниска горна граница на ПСА³⁸⁹. Преди повече от 60 години Huggins et al. (1941) демонстрират, че понижаването на тестостероновите депа води до регресия на простатния карцином⁴⁸⁰. Описани са клинични случаи, които показват, че ТЗТ може да превърне окултен карцином в клинично проявен,⁶¹³. По-нови изследвания показват ниска честота на простатен

карцином, асоцииран с ТЗТ. Множество проспективни проучвания върху ТЗТ установяват само 5 случая на простатен карцином сред 461 мъже, проследявани в продължение на 6 до 36 месеца. Установената честота е подобна в тази на общата популация^{230,614}. При обзор на литературата се забелязва, че са налице множество съобщения, които показват, че няма връзка между прогресията на простатния карцином и приложението на тестостерон. ТЗТ при нормални мъже и такива с повишен риск от простатен карцином не води до повишаване на честота му⁶¹⁵. Изненадващо при обширно проспективно проучване се установява повишен риск от простатен карцином при ниски стойности на тестостерона⁶¹⁶. Моргенталер и съавтори (2006) също доказват развитие на простатен карцином при 11 от 77 хипогонадни мъже³²⁹. При проучвания върху млади мъже се установява, че екзогенно въведените тестостерон не води до повишаване нивата на ПСА или обема на простатата^{500,617}. При хипогонадни мъже ТЗТ води до умерено увеличаване размера на простата, с около 15% нивото на ПСА и простатния обем⁴⁸⁷. Промените обема ѝ под влияние на тестостерона при хипогонадни мъже водят до достигане на нормален размер за еугонадни, но не и повече³³¹. Най-новите проучвания показват, че ТЗТ няма статистически сигнификантен ефект върху нивата на тоталния и свободния ПСА, както и на съотношението помежду им. Честотата на простатния карцином при дълготрайна ТЗТ е еквивалентна на тази, очаквана в общата популация^{618,619}.

Резултатите от настоящото експериментално проучване показват, че както при орхиектомирани, така и при възрастни мъжки плъхове приложението на тестостерон пропионат в продължение на 15 дни или 15 седмици не променят нивото на ПСА спрямо контролите. Нещо повече-при всички изследвани животни стойността му е нулева. Тези резултати потвърждават цитираните по-горе клинични данни за безопасност на тестостероновата терапия по отношение на простатния карцином. Независимо от това мониторинг на пациентите е необходим, тъй като честотата на заболяването нараства с напредването на възрастта. Настоящото проучване е първото демонстриращо влиянието

на тестостерон пропионата върху серумните нива на ПСА при експериментален модел на хипогонадизъм (орхиектомия, възрастни животни).

Ефекти на заместителна терапия с тестостерон върху концентрацията на мелатонин в серума

Пинеалната жлеза, наричана още епифиза е малка ендокринна структура, разположена в средния мозък. Главният и хормон е N-ацетил-5-метокситриптамин или по-често наричан мелатонин. Той се секретира циркадиално в съответствие с тъмно-светлия цикъл. Максималната секреция е през нощта, а експозицията на ретината към светлина води до бързото му понижаване. Редица проучвания показват, че нивото на мелатонина се понижава с възрастта^{620,621,622}. Съществуват противоречиви данни за взаимодействието между пинеалната жлеза и гонадната функция^{623,624,625}. Някои проучвания показват, че функцията на пинеалната жлеза зависи от нивото на половите хормони, тъй като плазмените нива на мелатонина намаляват с възрастта^{626,627}. Luboshitzky et al. (1996) установяват, че секрецията на мелатонин е усилена при мъже с дефицит на ГТРХ⁶²⁸. Същият автор доказва, че ТЗТ понижава нивото на мелатонин до нормални стойности при тези пациенти⁶²⁹. При клинично проучване на възрастни мъже с тестостеронов дефицит Rajmil и сътрудници (1997) установяват високи плазмени нива на мелатонин, сравнени с контролите, както по отношение на дневната, така и на нощната секреция. Тримесечното лечение с тестостерон понижава дневните и нощните нива на мелатонина⁶³⁰.

В настоящото експериментално проучване се установи подобна негативна корелация между плазменото ниво на мелатонина и тестостероновата терапия. Орхиектомията доведе до несигнификантно покачване на мелатонина при остро наблюдаваните животни. При възрастните мъжки плъхове също се наблюдаваха високи серумни нива на мелатонин, докато третираните групи бяха макар и несигнификантно с по-ниски стойности. Възможно обяснение на този факт е, че тестостеронът индуцира метаболизма на индоламините (мелатонин,

серотонин и др.) в черния дроб. Друго възможно обяснение се базира на факта, че гонадектомията при плъхове води до повишаване броя на бета рецепторите в епифизата⁶³¹. Установено е, че тези рецептори стимулират мелатониновата синтеза⁶¹². Настоящото проучване потвърждава описаните в литературата промени в стойностите на мелатонина при експериментални модели.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведеното експериментално проучване на андрогенен дефицит включва различни животински модели на млади кастрирани мъжки бели плъхове, симулативно оперирани плъхове и възрастни плъхове. Изследвани са хематологични, клиничко-химични и специфични показатели, които считаме, че имат значение за обективизиране на синдрома на андрогенен дефицит. Определянето на нивото серумен албумин при възрастни индивиди с ТЗТ може да се използва като достъпен маркер за ефективно лечение. Нашето проучване препоръчва проследяване на калциевите нива при ТЗТ или лечение на остеопороза. За пръв път се установи възрастовозависимо повишение в стойностите на ЛДХ, които се нормализираха от заместителната терапия с тестостерон пропионат. Резултатите от настоящото експериментално проучване показват, че както при орхиектомирани, така и при възрастни мъжки плъхове приложението на тестостерон пропионат в продължение на 15 дни или 15 седмици не променят нивото на ПСА спрямо контроли. Приложението на тестостерон пропионат не променя трансаминазната активност.

Получените резултати от проучването могат да се използват за профилактика и лечение на НЛР, свързани с тестостерон заместителна терапия, за определяне на дозата, начин на приложение и лекарствената форма на тестостерона. Правилното диагностициране и лечение на андрогения дефицит ще подобри качеството на живот на възрастни и млади мъже с хипогонадизъм, ще се намали смъртността от сърдечно-съдови заболявания и ще се подобри социалната им адаптация.

ИЗВОДИ

1. При модел на андрогенен дефицит с орхиектомия тестостерон пропионатът има дозо-зависим стимулиращ ефект върху хемопоезата: повишава броя на еритроцитите при остро и хронично третиране и води до нарастване в стойностите на хемоглобин и хематокрит при хронично приложение.
2. Установяват се данни за левкоцитна стимулация след орхиектомия при 15 дневно приложение на тестостерон пропионат на плъхове с андрогенен дефицит.
3. При орхиектомирани плъхове тестостерон пропионатът не повлиява тромбоцитния брой, докато третирането на възрастни мъжки плъхове причинява преходно покачване на тромбоцитите.
4. И при двата модела на андрогенен дефицит (орхиектомирани и възрастни мъжки плъхове) се демонстрира, че тестостерон пропионат в доза 8 mg/kg т.м. понижава общия холестерол и триглицеридите.
5. Влиянието на тестостерон пропионат върху стойностите на серумната глюкоза се свежда до намаленото ѝ ниво при остро и хронично третираните възрастни мъжки плъхове.
6. Приложението на тестостерон пропионат и при двата модела на андрогенен дефицит (орхиектомирани и възрастни мъжки плъхове) не причинява промени в чернодробната функция, съдейки по стойностите на трансминазите (АлАт, АсАТ). При хронично третиране се регистрира понижение на активността на алкалната фосфатаза при двата експериментални модела, както и намаление в активността на ЛДХ при възрастните третиранни животни.
7. Приложението на тестостерон пропионат при двата модела на андрогенен дефицит води до понижение на тоталните протеини при остро и хронично третиране и елевация в стойностите на серумния калций при хронично третираните орхиектомирани животни.

8. Тестостерон пропионатът, приложен на плъхове с андрогенен дефицит в доза 8 mg/kg т.м. възстановява физиологичните нива на тотален тестостерон, не променя стойностите на простатно-специфичния антиген и има двупосочен ефект върху нивото на мелатонин. Установяват се данни повишаване на серумния мелатонин при възрастни мъжки плъхове, третирани с тестостерон пропионат.

ПРИНОСИ

В резултат на нашето проучване могат да се посочат следните приноси:

I. Приноси с оригинален характер:

1. За първи път у нас се доказва, че заместителната терапия с тестостерон пропионат при млади плъхове стимулира левкопоезата след орхиектомия;
2. Установено беше, че орхиектомията не води до промени в стойностите на глюкозата при остро и хронично третиране с тестостерон пропионат;
3. Терапията с тестостерон пропионат налага проследяване на калциевите нива при възрастни индивиди на продължително заместително лечение;
4. За първи път се установи, че прилагането на тестостерон пропионат еднократно седмичо в доза 4 и 8 mg/kg т.м. води до възстановяване на нормалните серумни нива на тестостерон и не променя в активността на серумните трансаминази;
5. Установената елевация в активността на ЛДХ при възрастни мъжки плъхове се нормализира от заместителна терапия с тестостерон пропионат;
6. При заместителната терапия с тестостерон пропионат се открива негативна корелация между стойностите на мелатонин и тестостерон в серума.

II. Приноси с потвърдителен характер:

1. При заместителната терапия с тестостерон пропионат се повишава броя на еритроцитите;
2. При остро третирани орхиектомирани плъхове с тестостерон пропионат се установява стимулация на тромбоцитопоезата;
3. Прилагането на тестостерон пропионат като заместителна терапия не води до промени в стойностите на левкоцитите;

4. При краткотрайно третиране с тестостерон пропионат орхиектомирани и възрастни плъхове се установява понижаване на глюкозните нива;
5. При заместителната терапия с тестостерон пропионат се понижава нивото на серумен холестерол и триглицериди;
6. При заместителната терапия с тестостерон пропионат не се установява повишение на стойностите на простатно специфичния антиген.

ПУБЛИКАЦИИ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

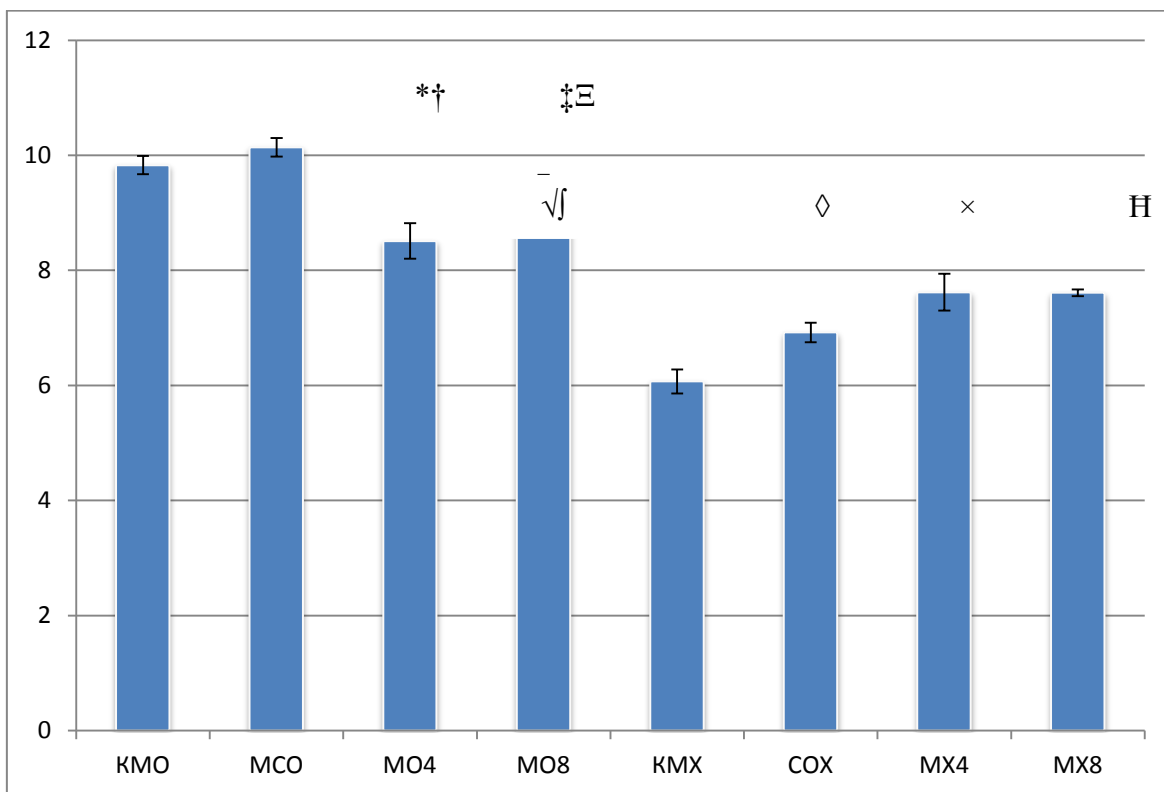
1. **Delev D.**, Kostadinov I, Kostadinova I, Saracheva K. Acute and Chronic Testosterone Propionate Replacement Therapy Does Not Lead to Hepatotoxicity in Old Male Wistar Rats. *Journal of Biomedical and Clinical Research*. 2011, 4 (2); 77-81.
2. **Делев Д.**, Костадинов И., Костадинова И. Промени в хематологичните показатели на възрастни мъжки плъхове при остро и хронично третиране с тестостерон. Конкурс на МНД „Асклепий” МУ-Пловдив Сборник с научни съобщения от конкурсни сесии 2009 и 2010 г. Пловдив 2010; 9-15 (първо място).
3. **Делев Д.**, Костадинов И., Костадинова И. Промени в биохимичните маркери за хепатоцитолита и холестаза при остро и хронично третиране на мъжки плъхове с тестостерон. Union of Scientists in Bulgaria – Plovdiv, International Conference of Young Scientists, 23 – 24 June 2011; 203-6. (First award winner).
4. **Delev D.**, Kostadinov I, Kostadinova I. Androgen Deficiency – Diagnostic Approaches, Benefits and Risks of Testosterone Replacement Therapy, A Review. *European Journal of Clinical and Medical Oncology*. 2012 (inpress).

УЧАСТИЯ В КОНГРЕСИ, КОНФЕРЕНЦИИ И ДР. НАУЧНИ ФОРУМИ:

1. **Delev D.**, Kostadinov I., Kostadinova I., Tuleva St., Ubenova D. Changes in haematologic indexes of adult male rats under acute and chronic testosterone treatment. Sixth National Congress of Pharmacology and Toxicology, 1-4 October 2009, Varna, Bulgaria.
2. **Delev D.**, Kostadinov I., Kostadinova I., Topolov M. Changes in the liver enzymes of adult male rats under acute and chronic testosterone treatment. International medical scientific conference for students and young doctors 20-23 October 2010 Medical University Pleven.
3. **Delev D.**, Kostadinov I, Kostadinova I, Saracheva K. Acute and Chronic Testosterone Propionate Replacement Therapy Does Not Lead to Hepatotoxicity in Old Male Rats. 9th International Medical Scientific Conference for Students and Young Doctors, 12-15 October 2011, Pleven, Bulgaria. (3rd Award winner).

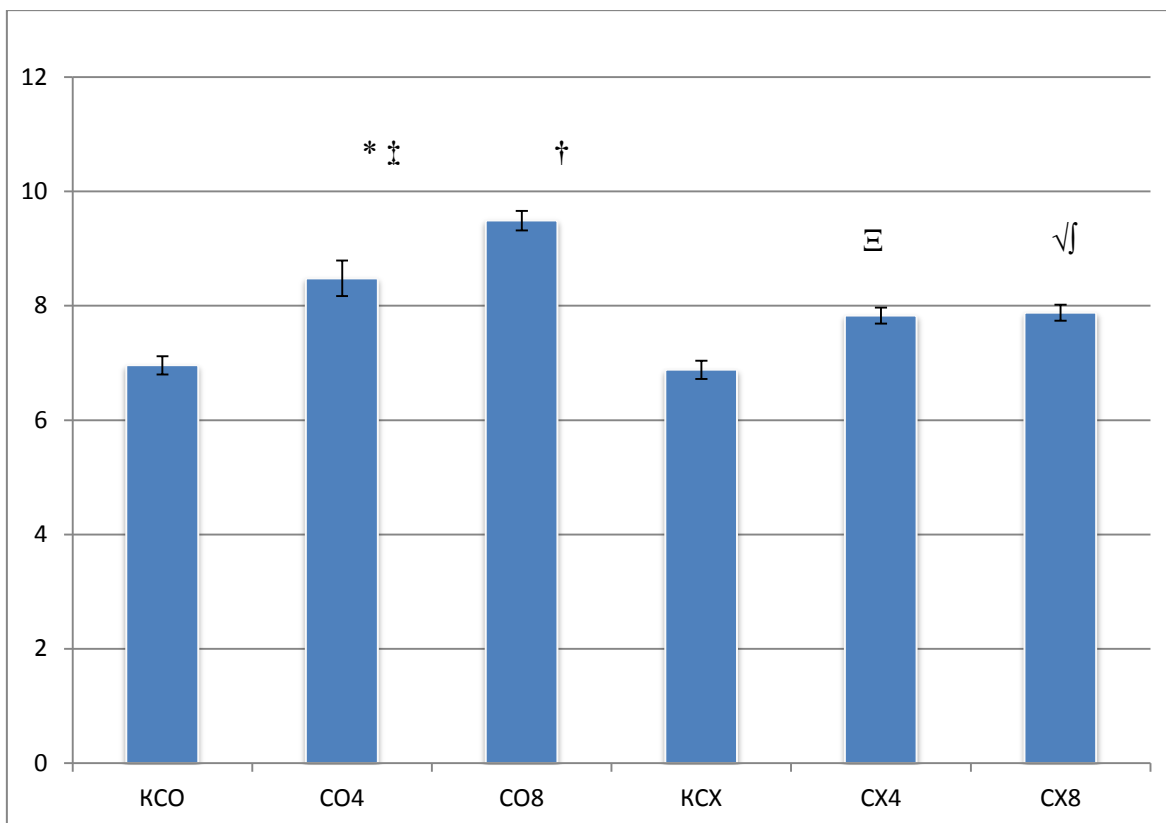
4. **Delev D.** Kostadinov I., Kostadinova I. Testosterone replacement therapy decreases the total cholesterol and the triglycerides in aged male wistar rats. Fifth National Pharmaceutical Congress with International Participation 1-3 April 2011 Hysarya.

ПРИЛОЖЕНИЕ



Фиг. 4. Промени в стойностите на еритроцитите ($\times 10^{12}/l$) – млади животни:
 * - $P= 0,02$ спрямо КМО; † - $P < 0,0001$ спрямо МСО; ‡ - $P= 0,011$ спрямо МСО; Ξ – $P = 0,013$ спрямо МО4; √ - $P= 0,006$ спрямо СОХ; ∫ - $P= 0,001$ спрямо МХ4; ◇ - $P= 0,001$ спрямо МХ8; Н - $P < 0,0001$ спрямо МХ8; ◇ - $P= 0,01$ спрямо МО8; × - $P < 0,0001$ спрямо МО8.

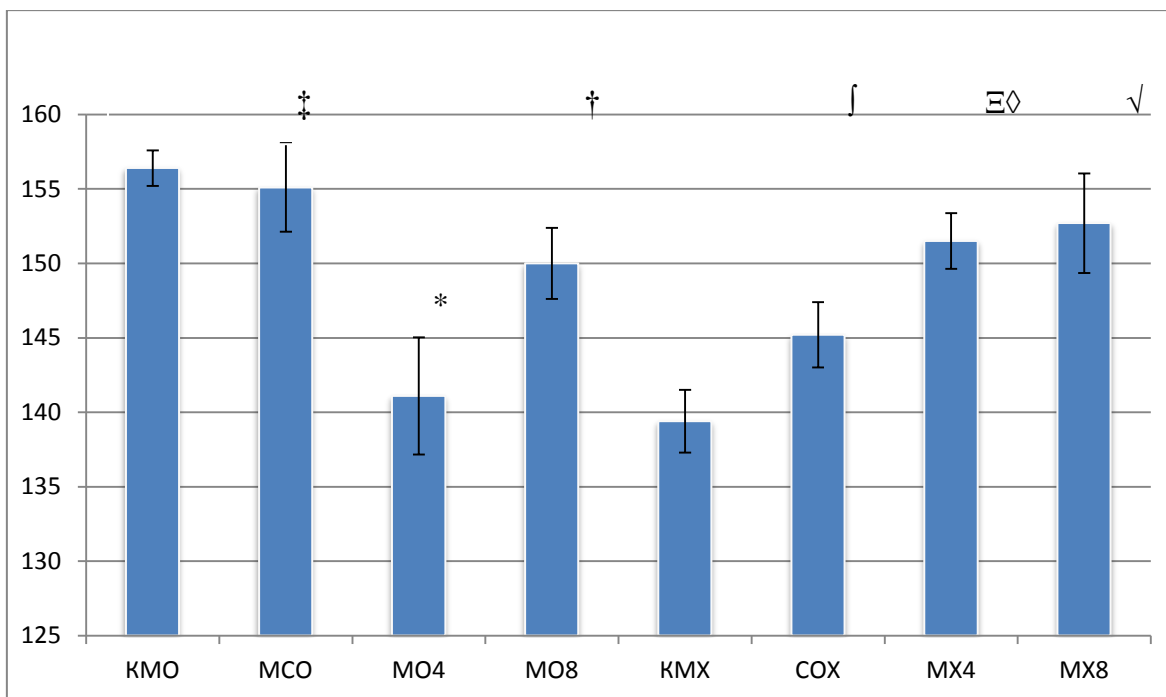
КМХ	Контролна група млади, кастрирани, хронично третиран животни
СОХ	Симулативно оперирани млади, хронично третиран животни
МХ4	Млади, хронично третиран с тестостерон 4 mg/kg т.м. животни
МХ8	Млади, хронично третиран с тестостерон 8 mg/kg т.м. животни
КМО	Контролна група млади, кастрирани, остро третиран животни
МСО	Симулативно оперирани млади, остро третиран животни
МО4	Млади, остро третиран с тестостерон 4 mg/kg т.м. животни
МО8	Млади остро третиран с тестостерон 8 mg/kg т.м. животни



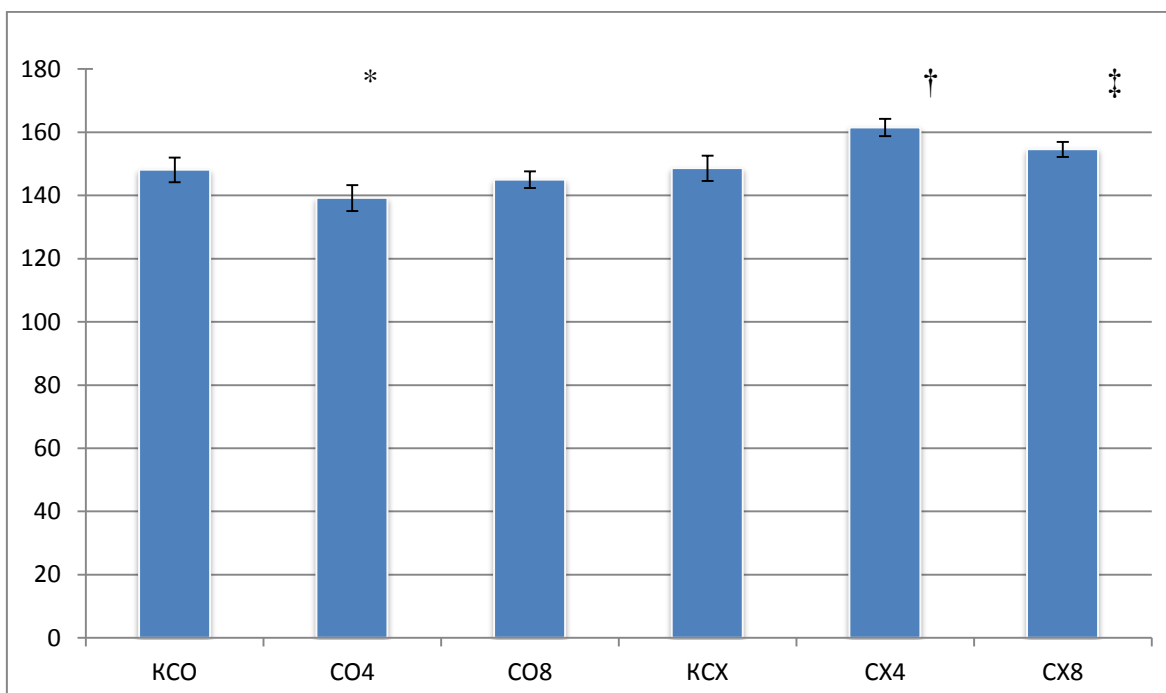
Фиг. 5. Промени в стойностите на еритроцитите ($\times 10^{12}/l$) – възрастни животни:
 * - $P < 0,0001$ спрямо КСО; ‡ - $P < 0,0001$ спрямо КСО; ‡ - $P = 0,01$ спрямо СО8; ¶ - $P < 0,0001$ спрямо КСХ; √ - $P < 0,0001$ спрямо КСХ; ∫ - $P = 0,001$ спрямо СО4.

Легенда:

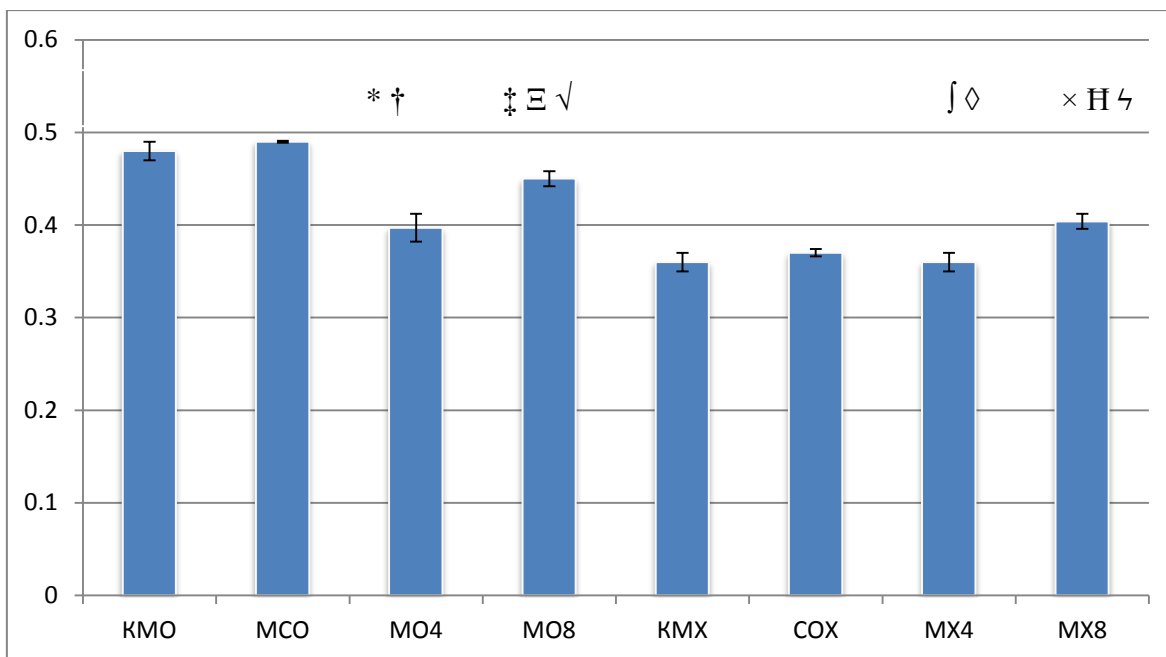
- КСХ** Контролна група стари, хронично третирани животни
- СХ4** Стари, хронично третирани с тестостерон 4 mg/kg т.м. животни
- СХ8** Стари хронично третирани с тестостерон 8 mg/kg т.м. животни
- СО4** Стари, остро третирани с тестостерон 4 mg/kg т.м. животни
- СО8** Стари, остро третирани с тестостерон 8 mg/kg т.м. животни
- КСО** Контролна група стари, остро третирани животни



Фиг. 6. Промени в стойностите на хемоглобин (g/l) – млади животни:
 * -P= 0,002 спрямо КМО; † -P= 0,032 спрямо КМО; ‡ -P= 0,012 спрямо МО4; ∞ – P< 0,0001 спрямо КMX; √ -P= 0,004 спрямо КMX; ∫ -P= 0,042 спрямо СОХ; ∫ -P= 0,028 спрямо МО4.

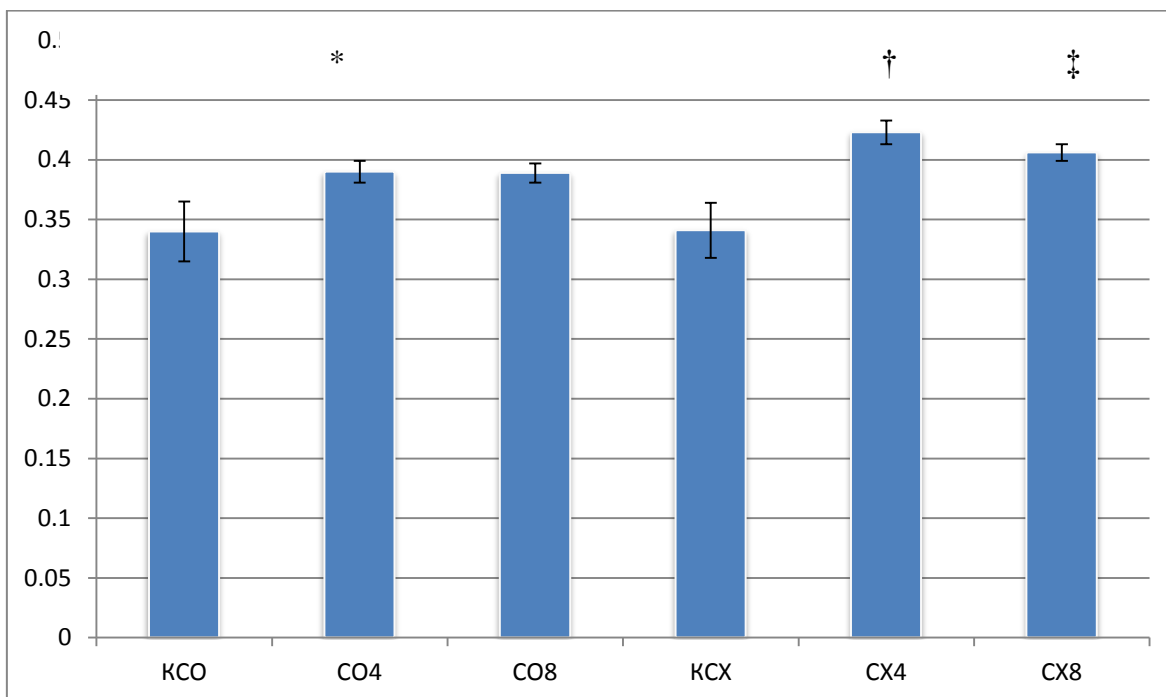


Фиг. 7. Промени в стойностите на хемоглобин (g/l) – възрастни животни:
 * -P< 0,0001 спрямо СХ4; † -P= 0,016 спрямо КСХ; ‡ -P= 0,015 спрямо СО8.



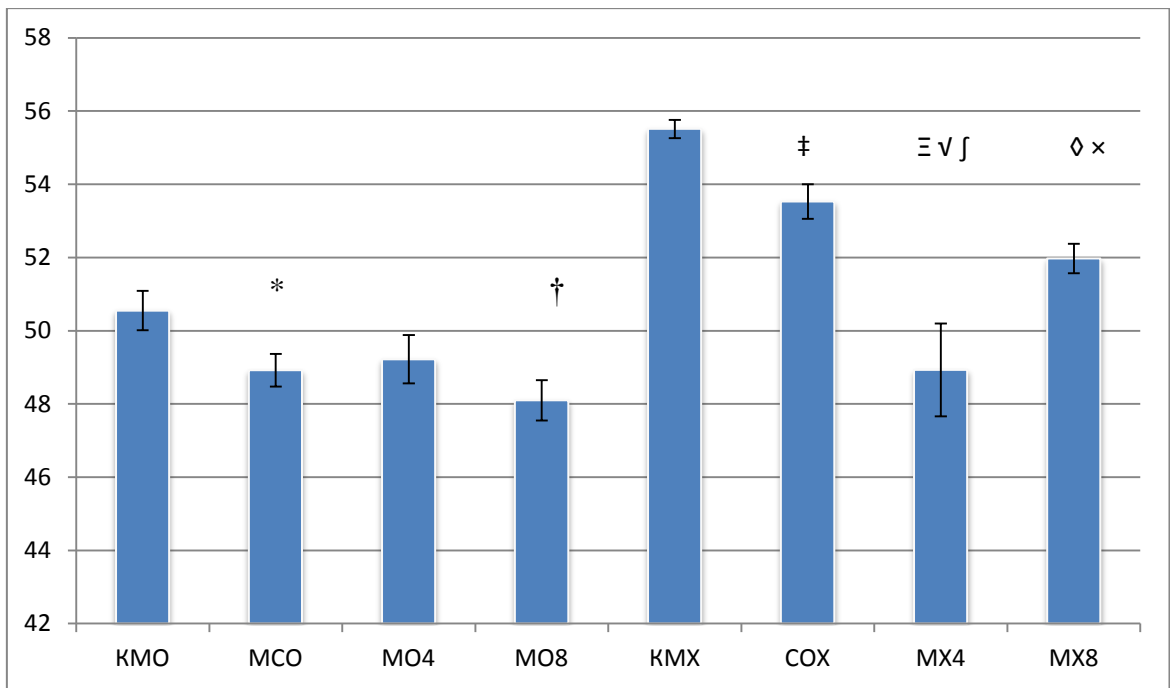
Фиг. 8. Промени в стойностите на хематокрит (l/l) – млади животни:

* - $P < 0,0001$ спрямо КМО; † - $P < 0,0001$ спрямо МСО; ‡ - $P = 0,044$ спрямо КМО; Ξ - $P = 0,008$ спрямо МСО; √ - $P = 0,006$ спрямо МО4; × - $P = 0,03$ спрямо КМХ; Н - $P = 0,004$ спрямо СОХ; ∫ - $P = 0,009$ спрямо МХ8; ◇ - $P = 0,038$ спрямо МО4; ♯ - $P = 0,001$ спрямо МО8.

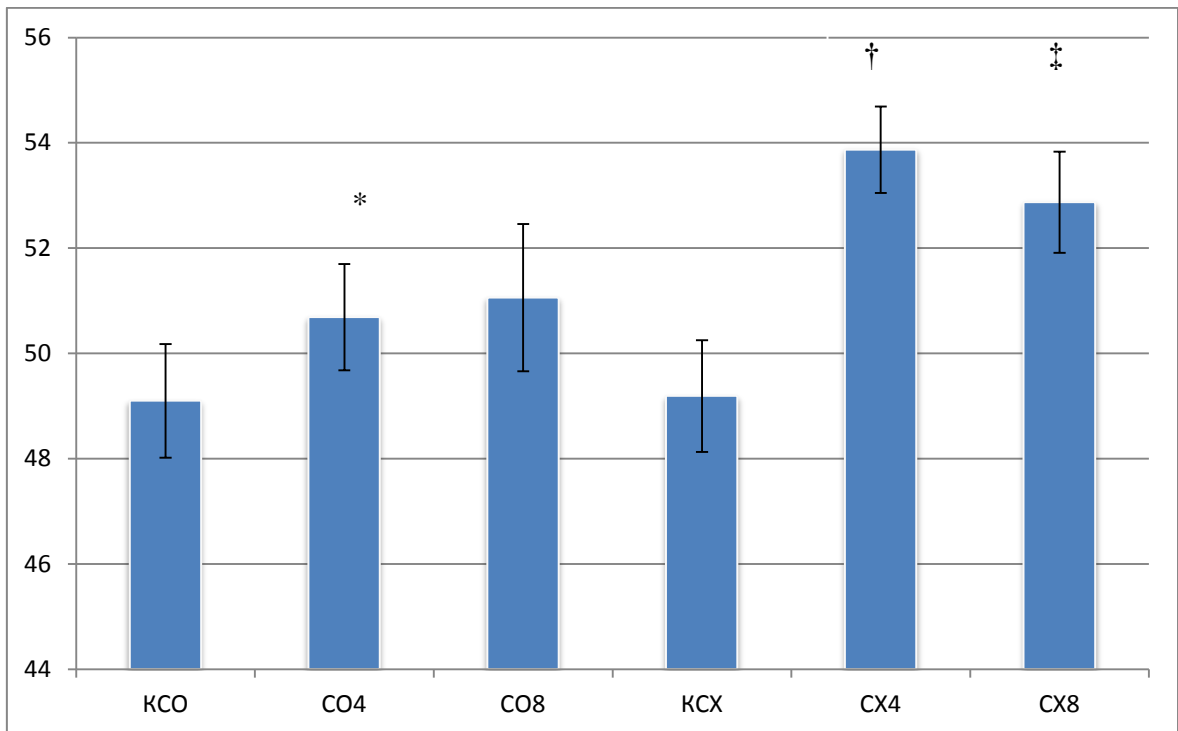


Фиг. 9. Промени в стойностите на хематокрит (l/l) – възрастни животни:

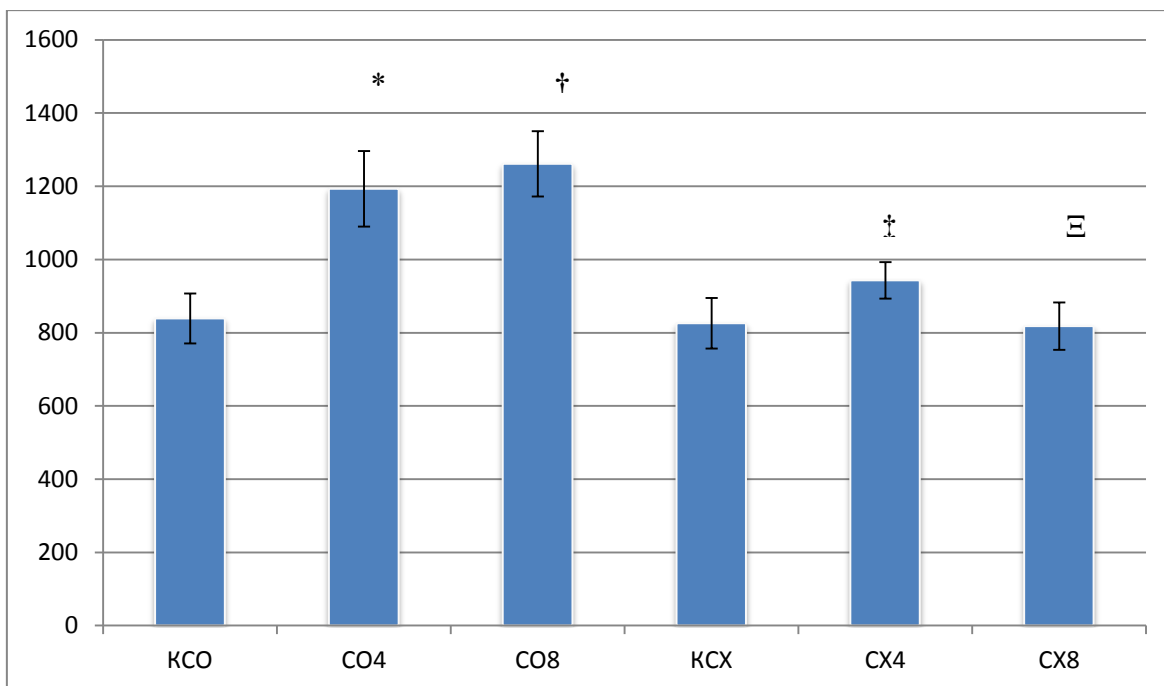
* - $P = 0,038$ спрямо СХ4; † - $P = 0,007$ спрямо КСХ; ‡ - $P = 0,015$ спрямо КСХ.



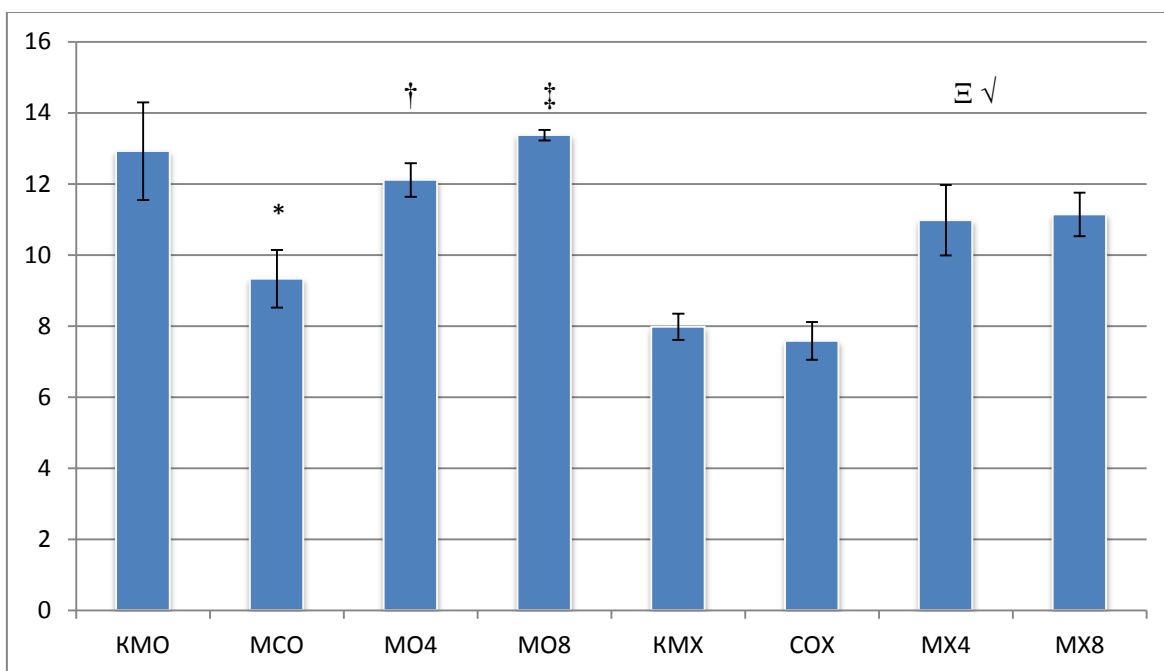
Фиг. 10. Промени в стойностите на среден обем на еритроцитите (fl) – млади животни: * -P= 0,033 спрямо KMO; † -P= 0,005 спрямо KMO; ‡ -P= 0,002 спрямо KMX; № – P< 0,0001 спрямо KMX; √ -P= 0,003 спрямо COX; √ -P= 0,035 спрямо MX8; ◇ -P< 0,0001 спрямо KMX; × -P= 0,021 спрямо COX; № – P< 0,0001 спрямо MO8.



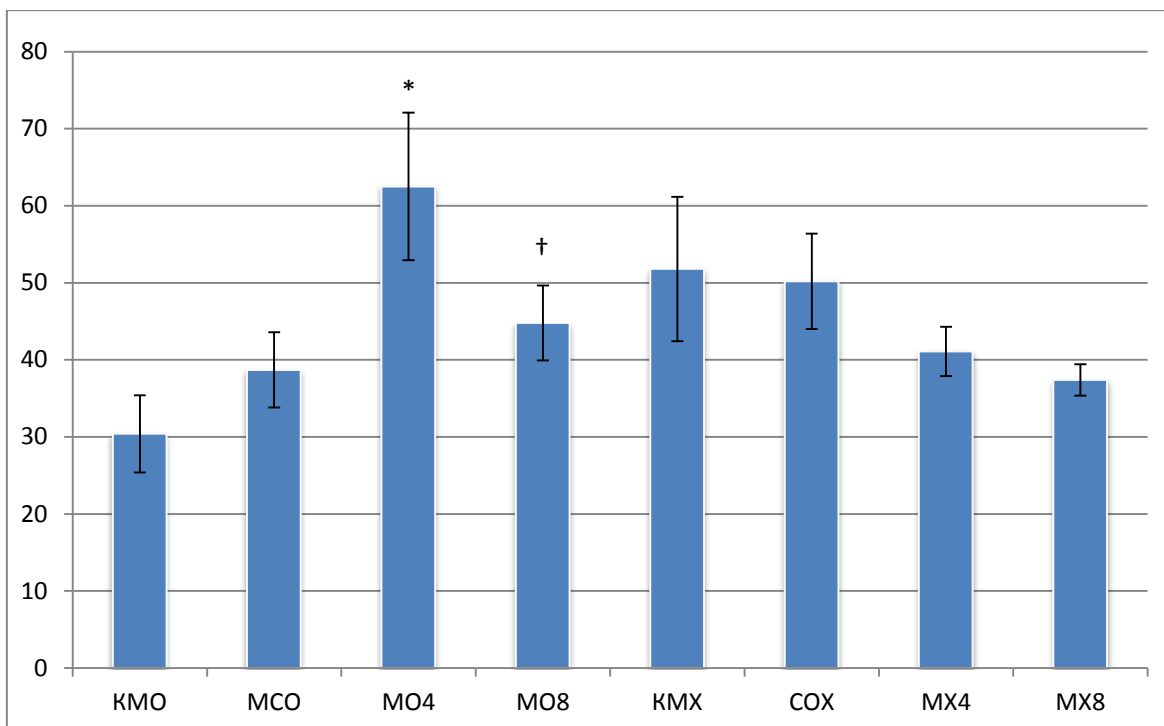
Фиг. 11. Промени в стойностите на среден обем на еритроцитите (fl) – възрастни животни: * -P= 0,026 спрямо CX4; † -P= 0,003 спрямо KCX; ‡ -P= 0,019 спрямо KCX.



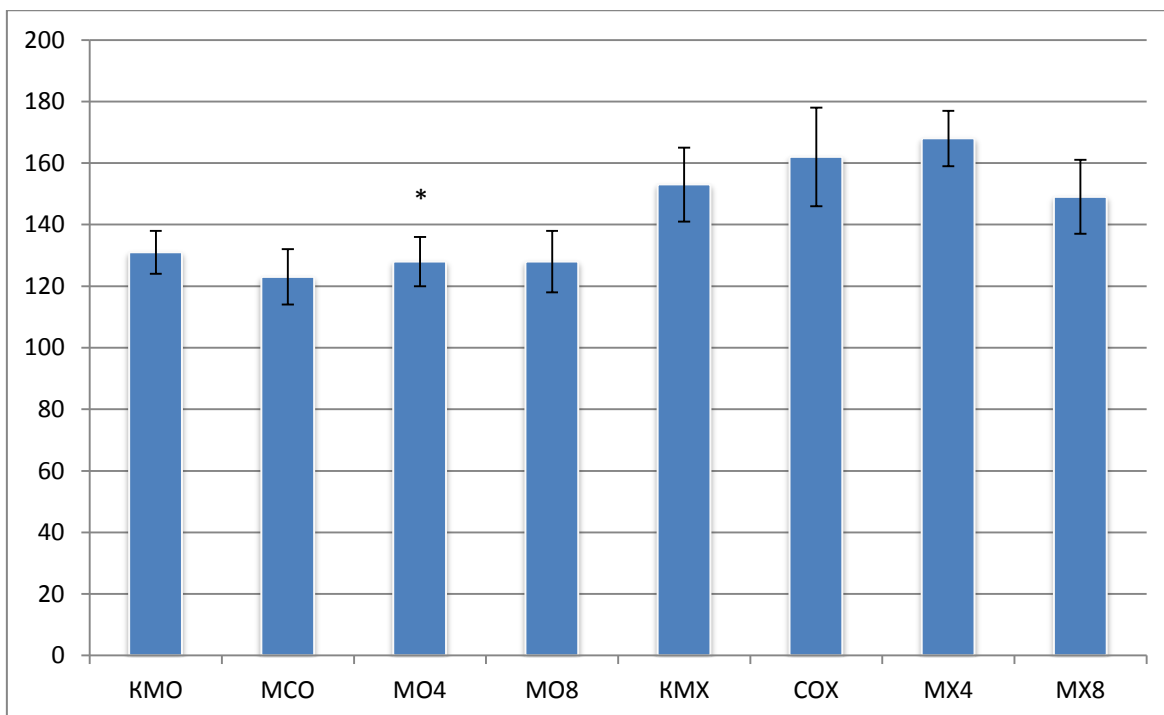
Фиг. 12. Промени в стойностите на тромбоцити ($\times 10^9/l$) – възрастни животни: * -P= 0,012 спрямо KCO; † -P= 0,002 спрямо KCO; ‡ -P= 0,043 спрямо CO4; ▤ – P= 0,001 спрямо CO8.



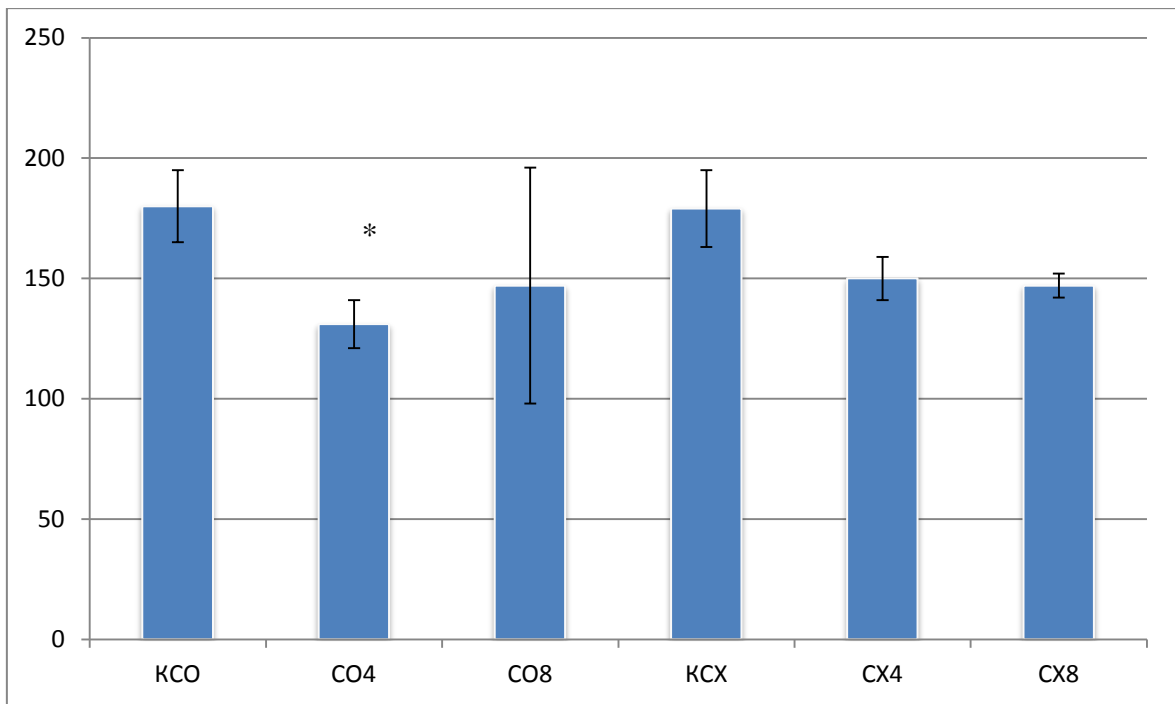
Фиг. 13. Промени в стойностите на левкоцити ($\times 10^9/l$) – млади животни: * -P= 0,04 спрямо KMO; † -P= 0,008 спрямо MCO; ‡ -P= 0,033 спрямо MCO; ▤ – P= 0,011 спрямо KMX; √ -P= 0,007 спрямо COX; ▤ -P< 0,0001 спрямо KMX; √ -P< 0,0001 спрямо COX.



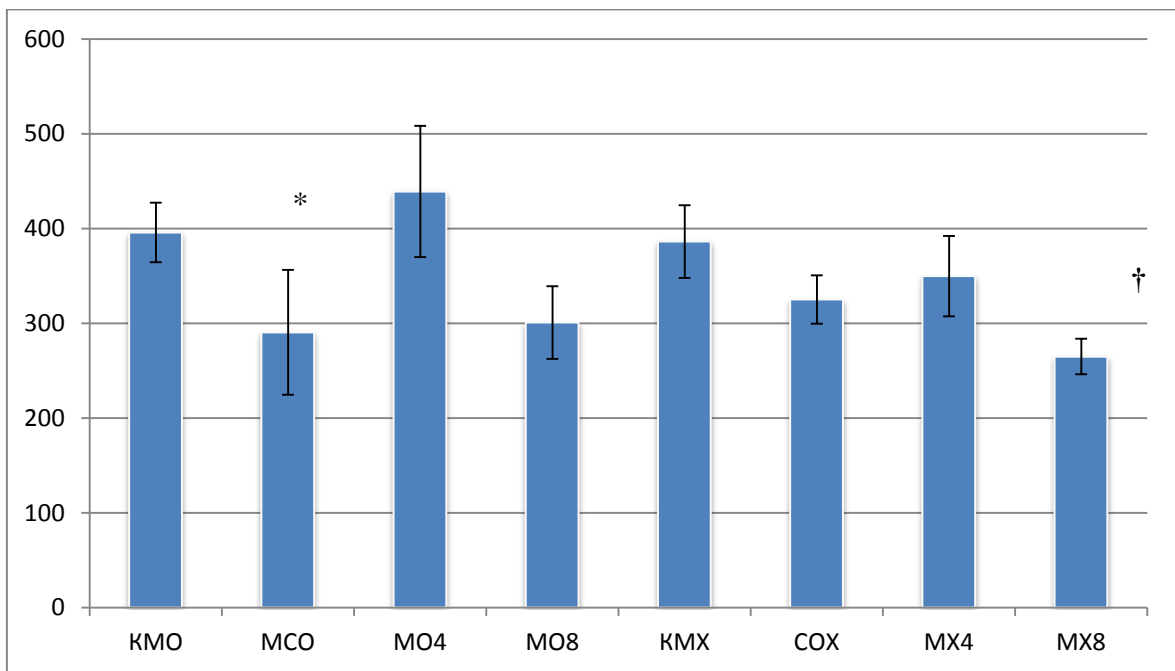
Фиг. 14. Промени в стойностите на АлАТ (IU/l) – млади животни:
 * -P= 0,031 спрямо КМО; † -P= 0,009 спрямо КМО.



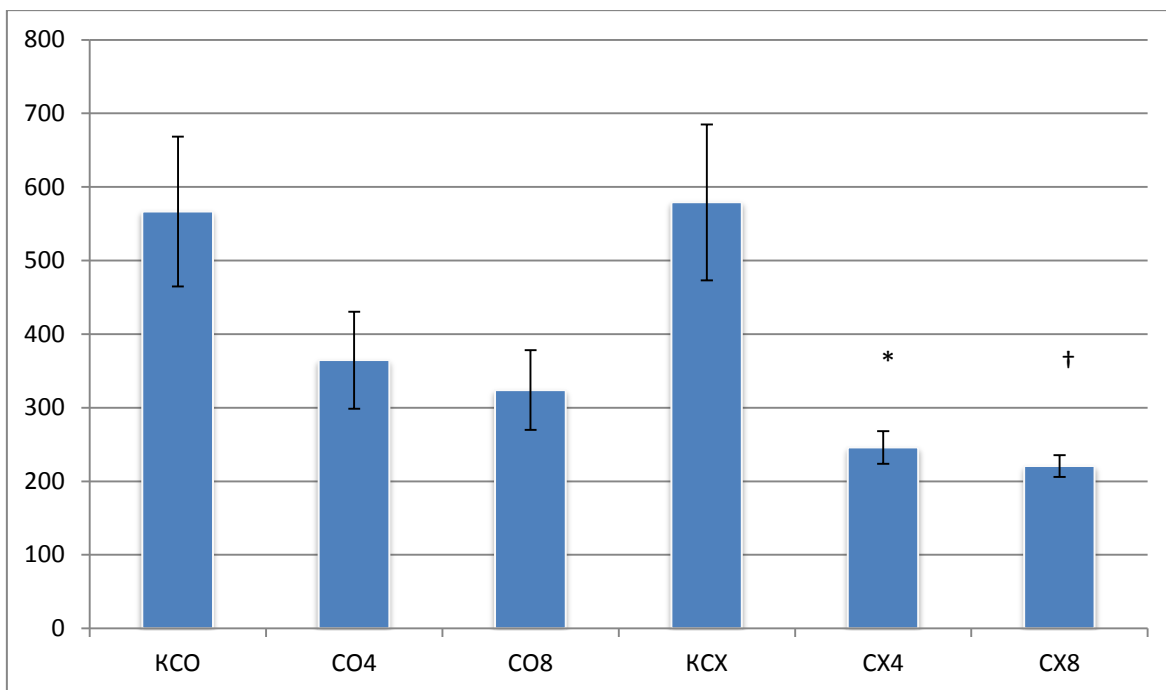
Фиг. 15. Промени в стойностите на АсАТ (IU/l) – млади животни:
 * -P= 0,051 спрямо МХ4.



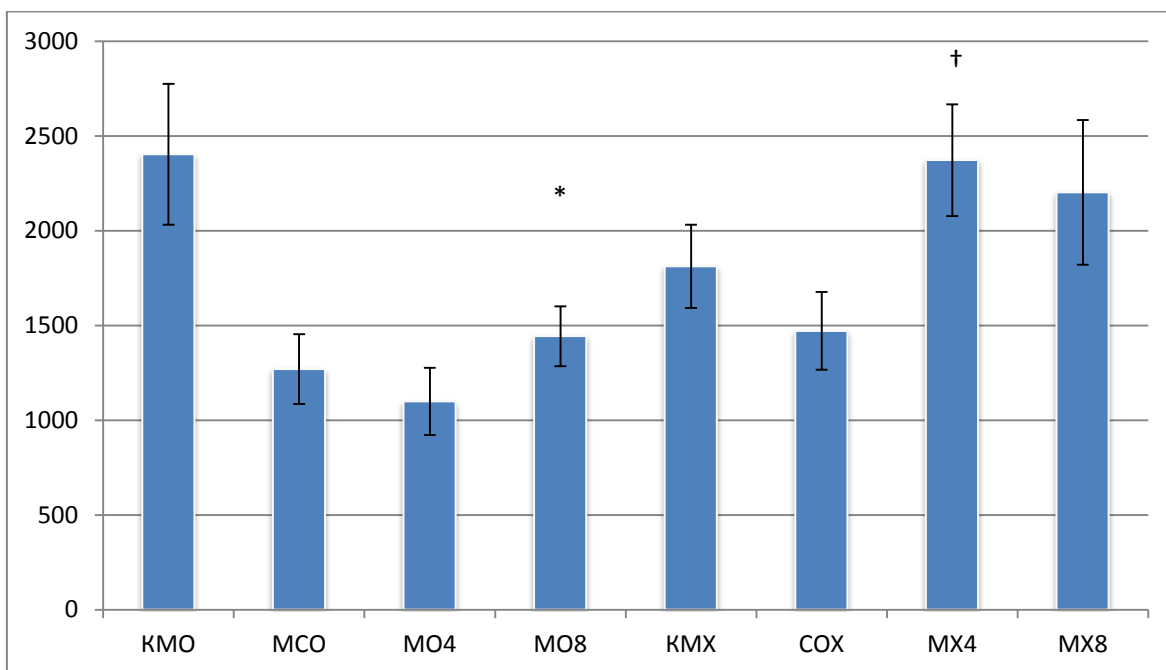
Фиг. 16. Промени в стойностите на АсАТ (IU/l) – възрастни животни:
* -P= 0,015 спрямо КСО.



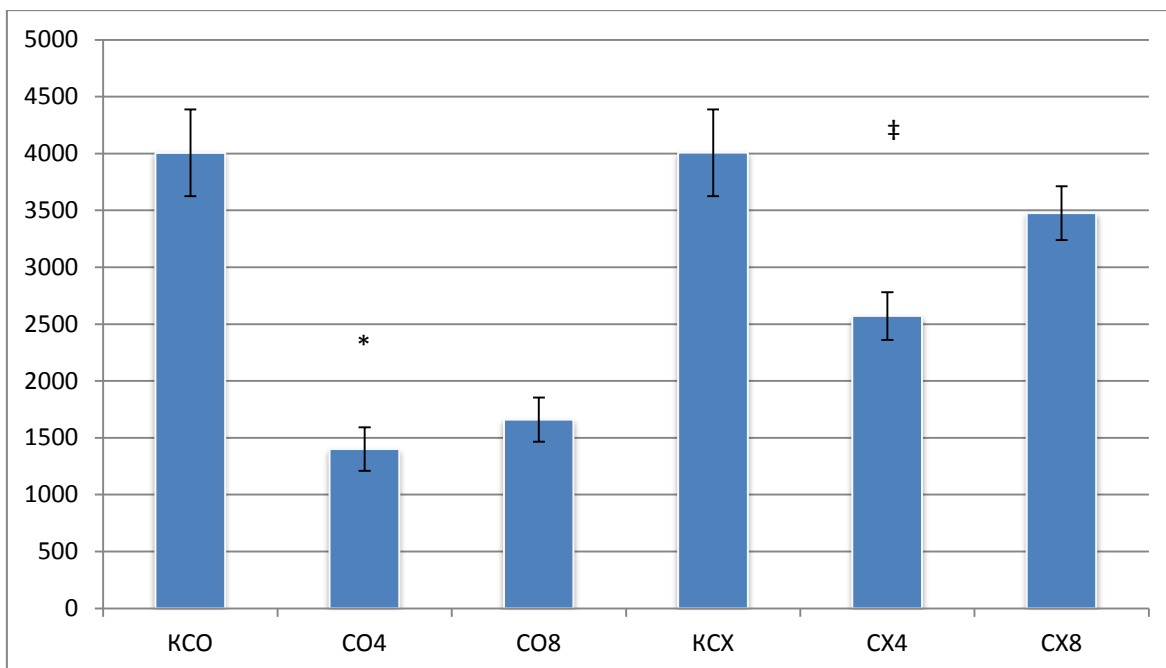
Фиг. 17. Промени в стойностите на АФ (IU/l) – млади животни:
* -P= 0,016 спрямо КМО; † -P= 0,034 спрямо КМХ.



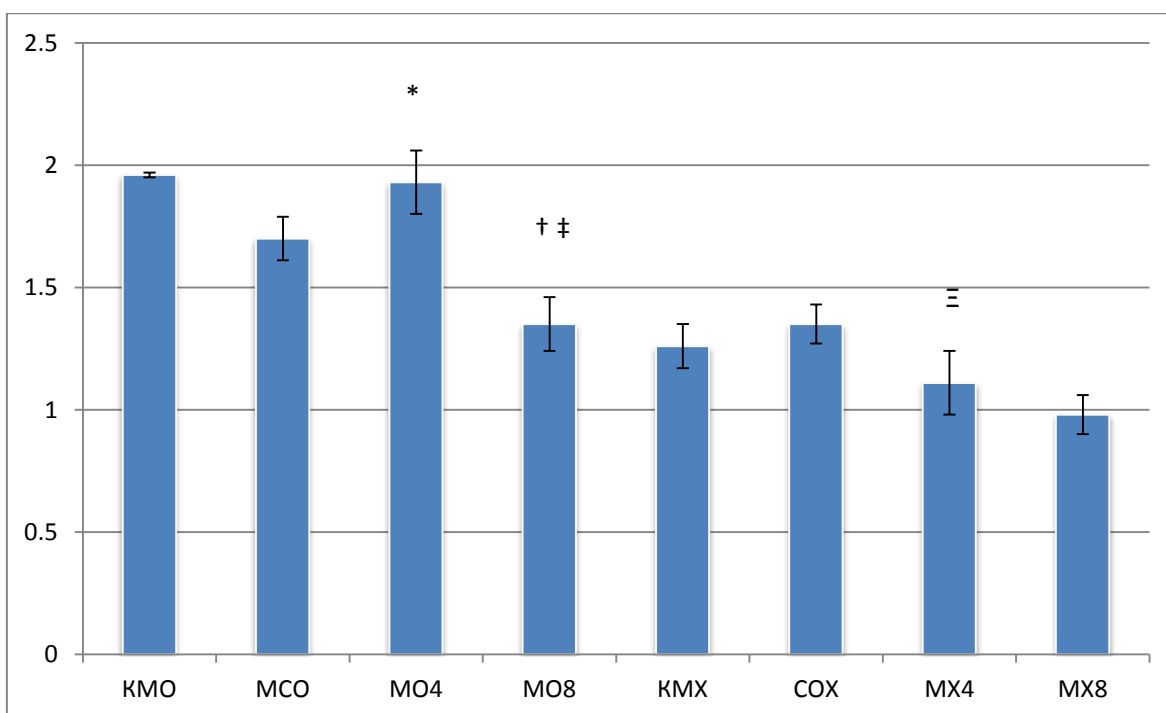
Фиг. 18. Промени в стойностите на АФ (IU/l) – възрастни животни:
 * -P= 0,001 спрямо КСХ; † -P< 0,0001 спрямо КСХ.



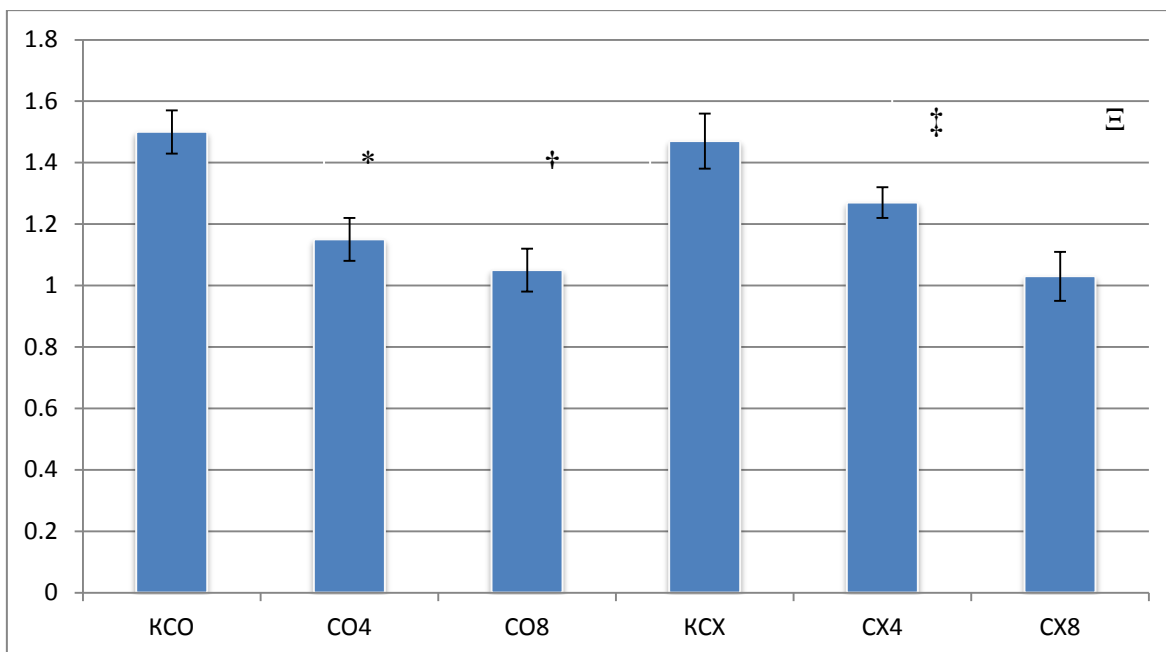
Фиг. 19. Промени в стойностите на ЛДХ (IU/l) – млади животни.
 * -P= 0,028 спрямо КМО; † -P= 0,005 спрямо МО4.



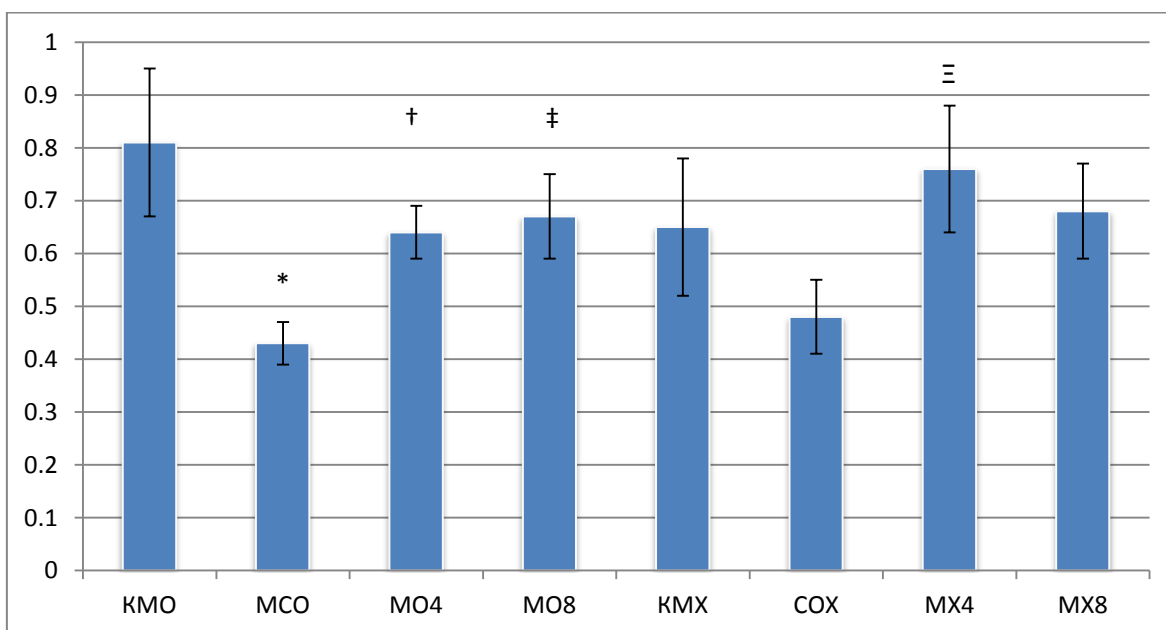
Фиг. 20. Промени в стойностите на ЛДХ (IU/l) – възрастни животни:
 * -P < 0,0001 спрямо КСО; † -P= 0,001 спрямо КСО; ‡ -P= 0,013 спрямо КСХ; ‡ -P < 0,0001 спрямо СО8.



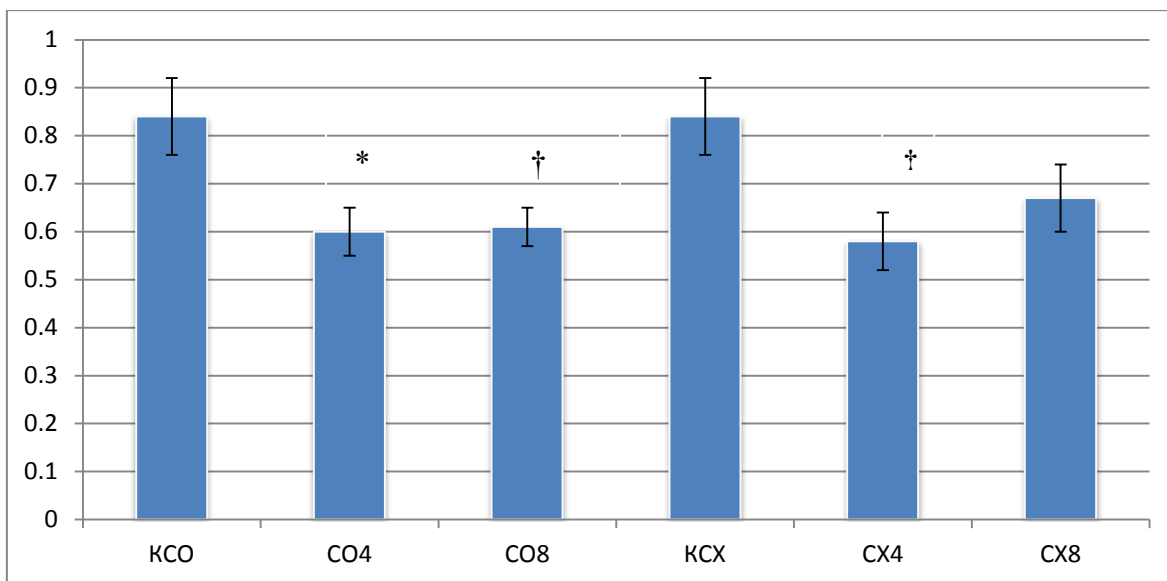
Фиг. 21. Промени в стойностите на тотален холестерол (mmol/l) – млади животни. * -P= 0,004 спрямо MO8; † -P= 0,001 спрямо KMO; ‡ -P= 0,02 спрямо MCO; ‡ -P < 0,0001 спрямо COX; √ -P= 0,02 спрямо MO8.



Фиг. 22. Промени в стойностите на тотален холестерол (mmol/l) – възрастни животни. * P= 0,002 спрямо KCO; † -P= 0,001 спрямо KCO; ‡ -P= 0.032 спрямо CX8; Ξ – P= 0,005 спрямо KCX.

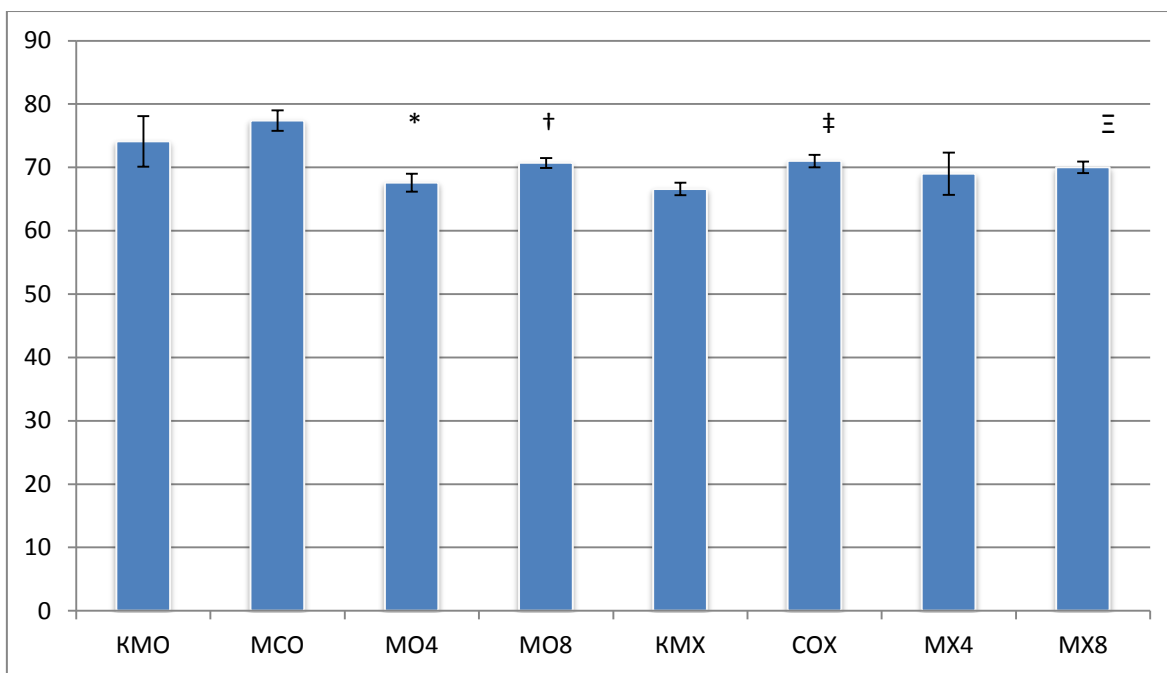


Фиг. 23. Промени в стойностите на ТГ (mmol/l) – млади животни. * -P= 0,015 спрямо KMO; † -P= 0.003 спрямо MCO; ‡ -P= 0,022 спрямо MCO; Ξ – P= 0,6 спрямо COX.



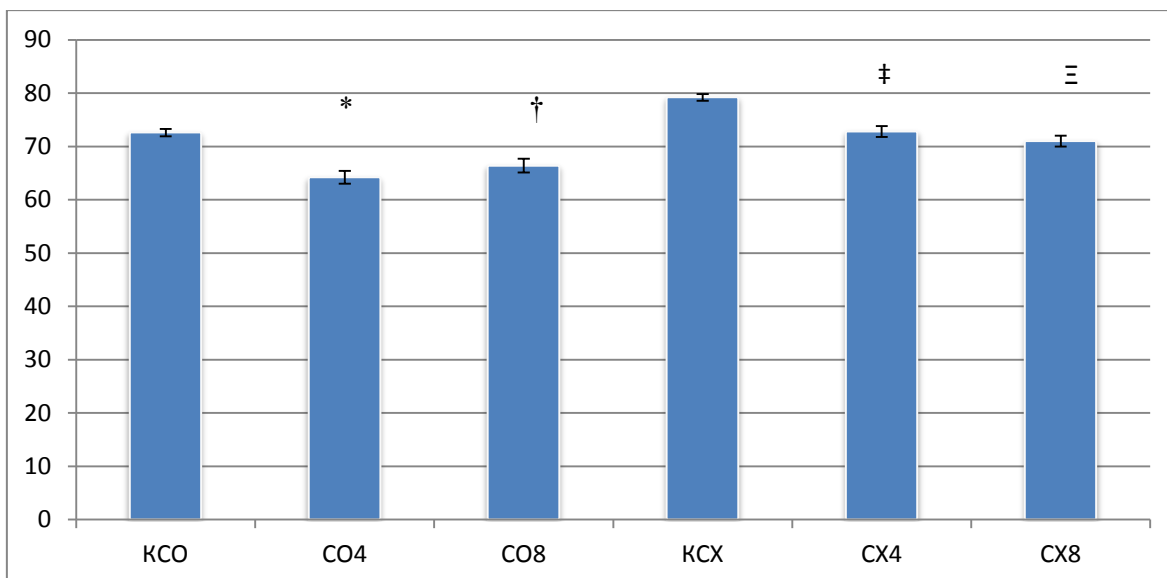
Фиг. 24. Промени в стойностите на ТГ (mmol/l)– възрастни животни.

* -P= 0,035 спрямо KCO; † -P= 0,031 спрямо KCO; ‡ -P= 0,024 спрямо KCX.

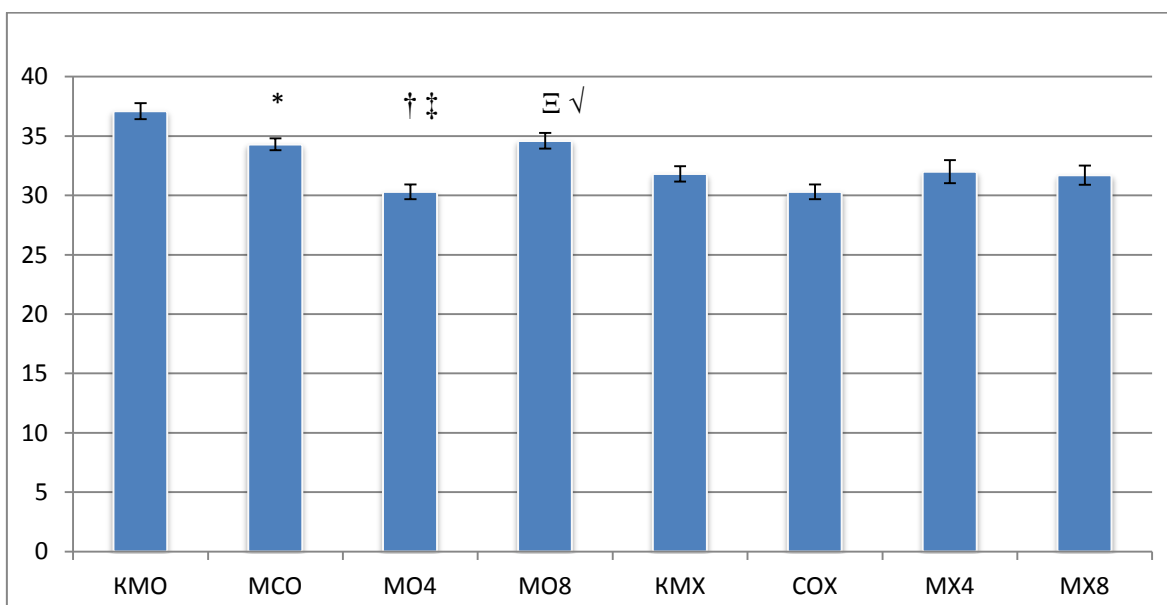


Фиг. 25. Промени в стойностите на тотален протеин-(g/l) млади животни:

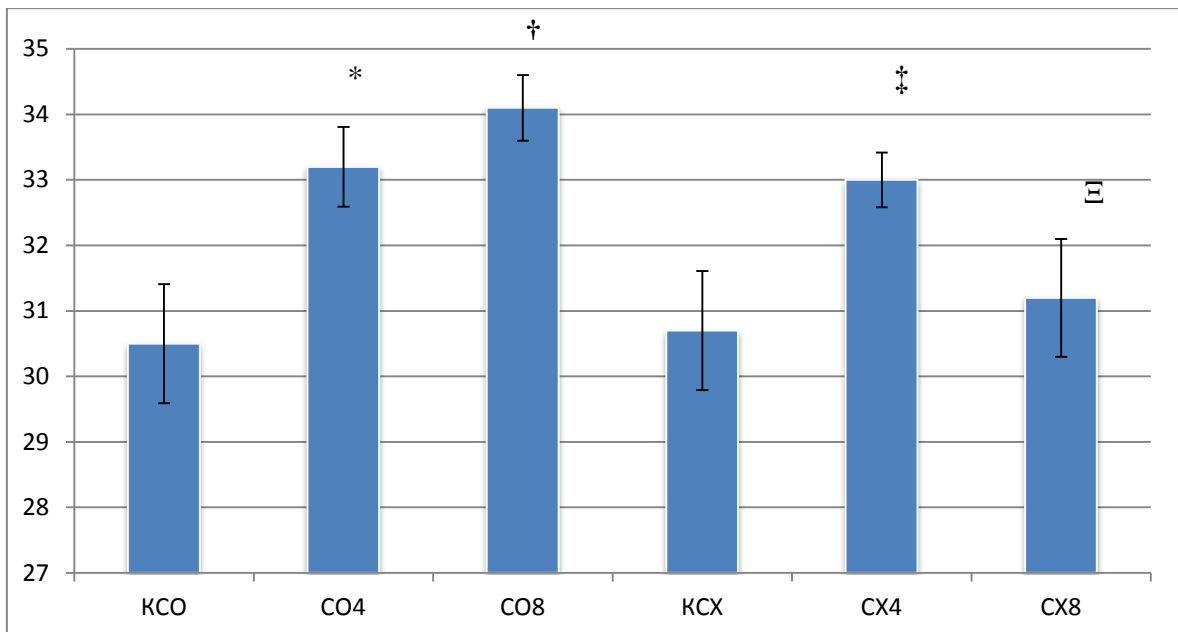
* -P< 0,0001 спрямо MCO; † -P= 0,001 спрямо MCO; ‡ -P= 0,008 спрямо KMX; Ξ – P= 0,022 спрямо KMX.



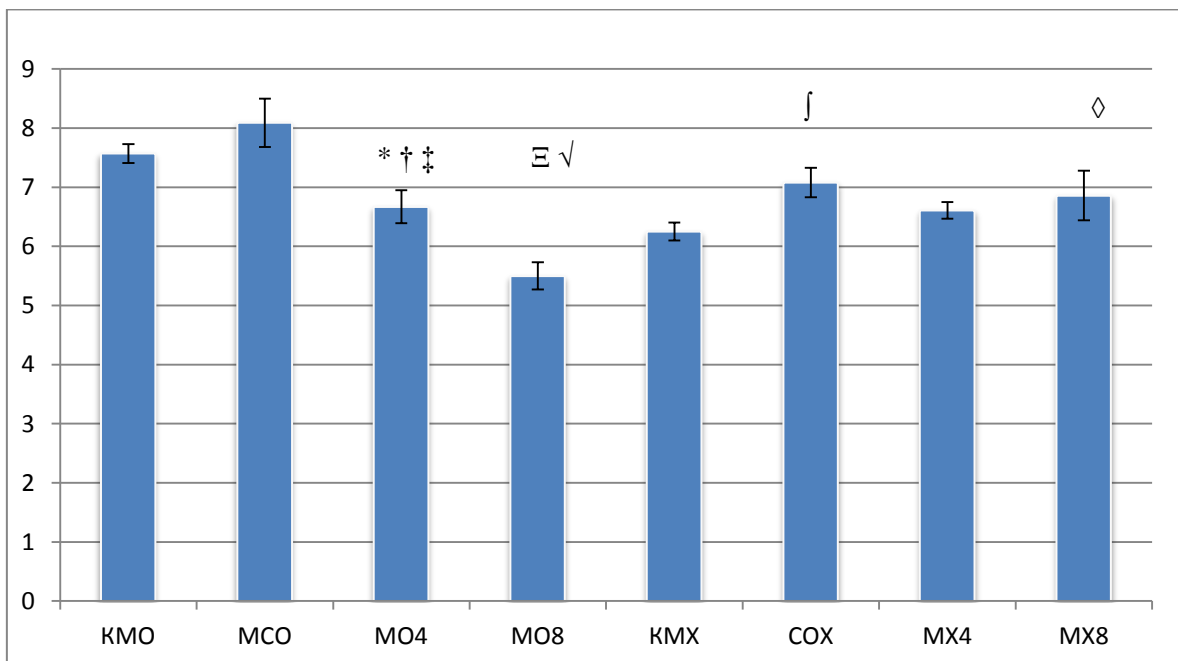
Фиг. 26. Промени в стойностите на тотален протеин (g/l) - възрастни животни: * - $P < 0,0001$ спрямо KCO; † - $P = 0,001$ спрямо KCO; ‡ - $P < 0,0001$ спрямо CO4; ≡ - $P = 0,012$ спрямо CO8.



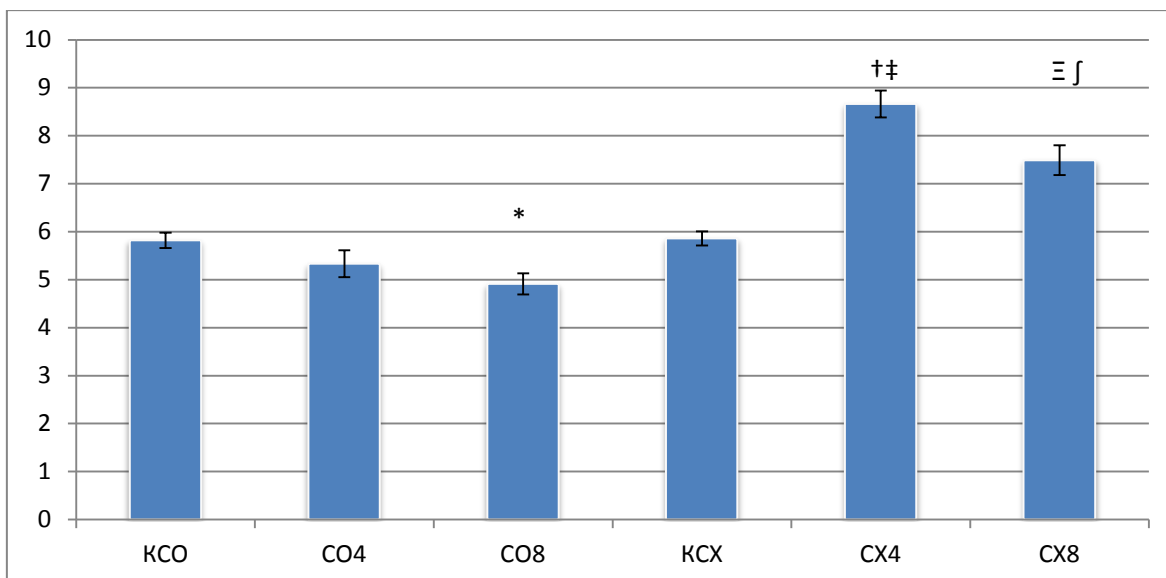
Фиг. 27. Промени в стойностите на албумин (g/l) – млади животни: * - $P = 0,006$ спрямо KMO; † - $P < 0,0001$ спрямо KMO; ‡ - $P = 0,001$ спрямо MCO; ≡ - $P = 0,022$ спрямо KMO; √ - $P = 0,001$ спрямо MO4; ∫ - $P = 0,016$ спрямо MO8.



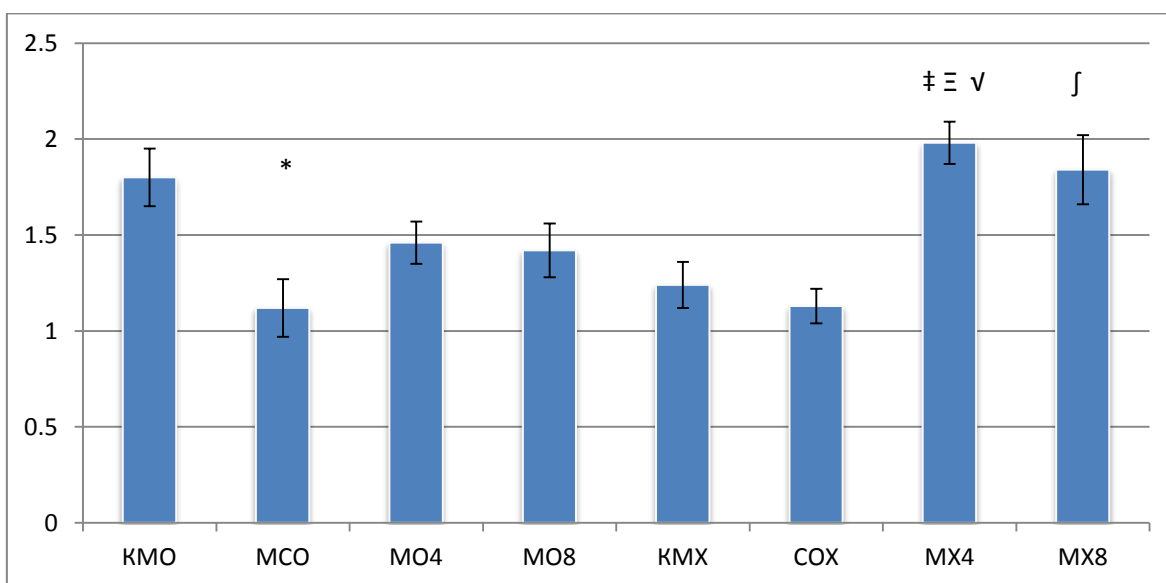
Фиг. 28. Промени в стойностите на албумин (g/l) – възрастни животни: * -P= 0,031 спрямо KCO; † -P= 0,002 спрямо KCO; ‡ P= 0,03 спрямо KСХ; ▤ – P= 0,012 спрямо CO8.



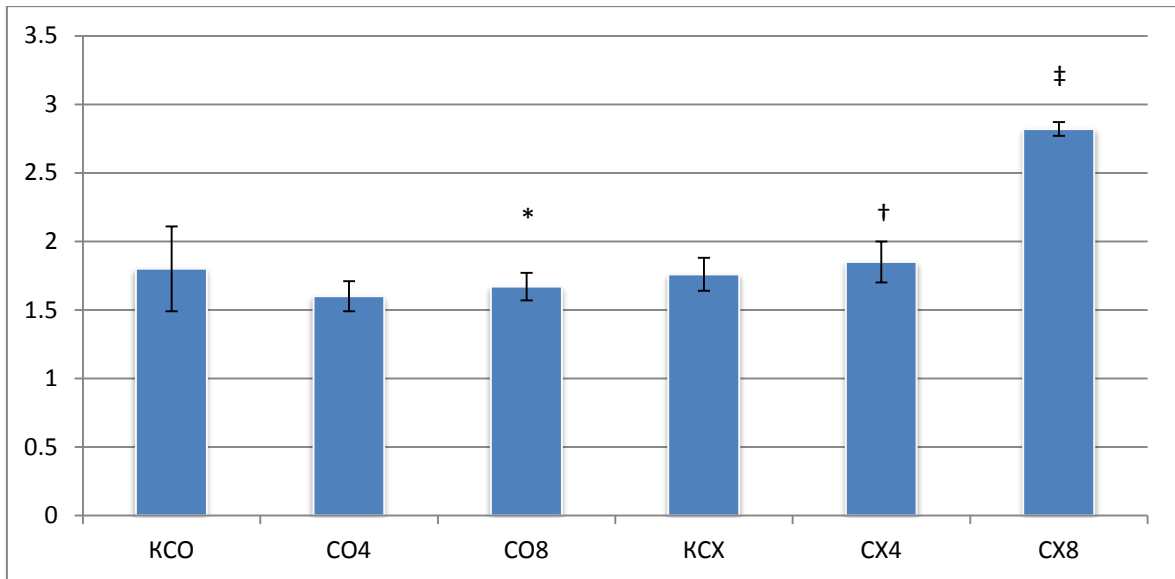
Фиг. 29. Промени в стойностите на глюкоза в серума (mmol/l) – млади животни. * - P= 0,014 спрямо KMO; † -P= 0,012 спрямо MCO; ‡ -P= 0,005 спрямо MO8; ▤ – P< 0,0001 спрямо KMO; √ -P< 0,0001 спрямо MCO; ∫ -P= 0,013 спрямо KМХ; ◊ -P= 0,013 спрямо MO8.



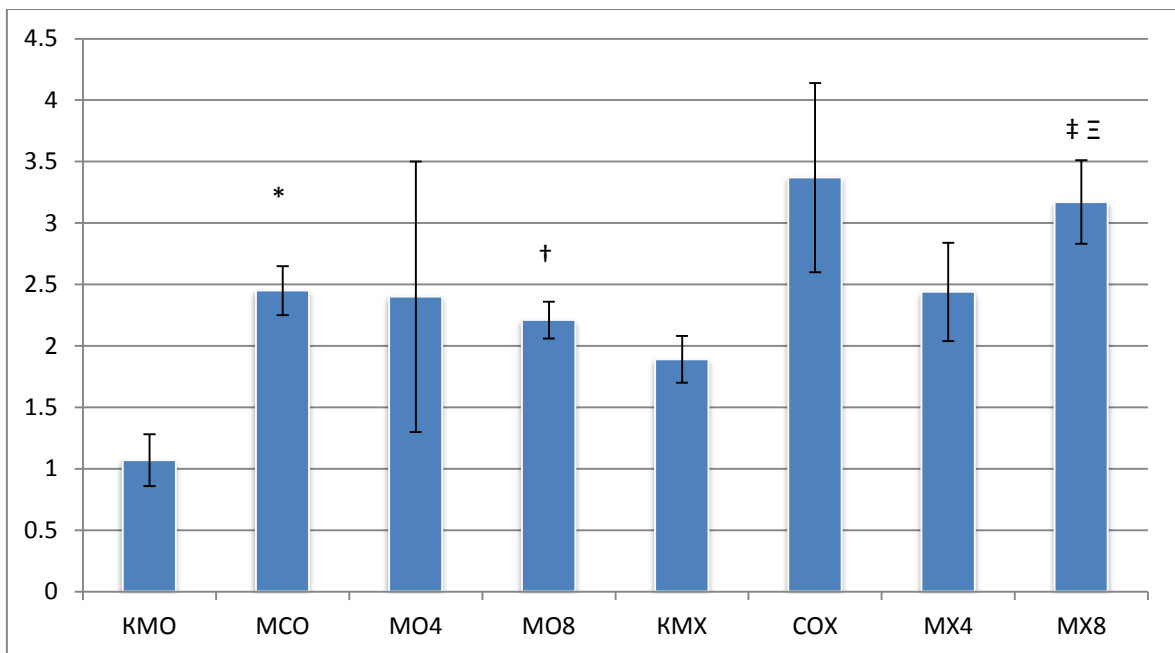
Фиг. 30. Промени в стойностите на глюкоза в серума (mmol/l) - възрастни животни: * -P= 0,004 спрямо KCO; † -P< 0,0001 спрямо KCX; ‡ -P< 0,0001 спрямо CO8; √ -P< 0,0001 спрямо KCX; √ -P< 0,0001 спрямо CO4.



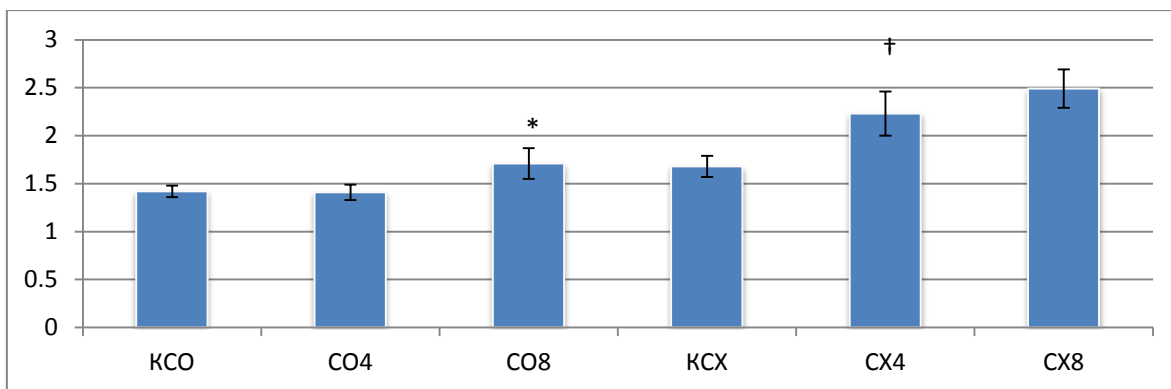
Фиг. 31. Промени в стойностите на калций в серума (mmol/l) – млади животни: * -P= 0,005 спрямо KMO; † -P= 0,013 спрямо MCO; ‡ -P< 0,0001 спрямо KMX; √ -P< 0,0001 спрямо COX; √ -P= 0,003 спрямо COX; √ -P= 0,014 спрямо с KMX; √ -P= 0,003 спрямо COX.



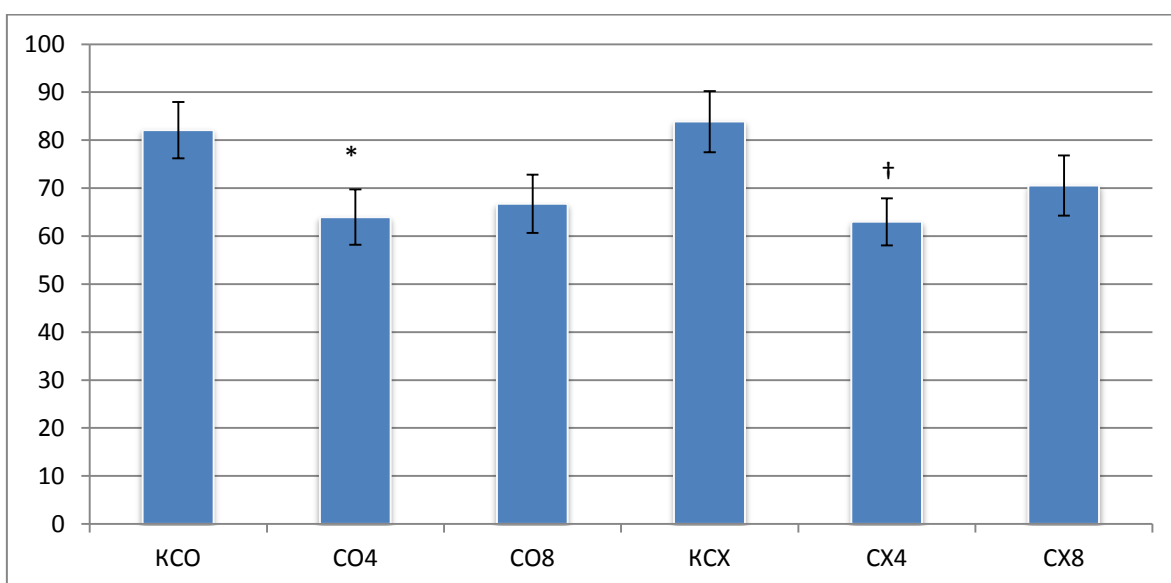
Фиг. 32. Промени в стойностите на калций в серума (mmol/l) – възрастни животни: * - $P < 0,0001$ спрямо СХ8; † - $P = 0,012$ спрямо СХ8; ‡ - $P = 0,002$ спрямо КСХ.



Фиг. 33. Промени в стойностите на тотален тестостерон (ng/ml) – млади животни: * $P = 0,001$ спрямо КМО; † - $P = 0,001$ спрямо КМО; ‡ - $P = 0,002$ спрямо КМХ; ≡ - $P = 0,004$ спрямо МО8.



Фиг. 34. Промени в стойностите на тотален тестостерон (ng/ml) – възрастни животни: * -P= 0,009 спрямо CX8; † -P= 0,007 спрямо CO4; ‡ -P= 0,007 спрямо KCX.



Фиг. 35. Промени в стойностите на мелатонин (pg/ml) – възрастни животни: * -P = 0,041 спрямо KCO; † -P= 0,019 спрямо KCX.

БИБЛИОГРАФИЯ

- ¹ T Hugh Jones Late onset hypogonadism. *MJ BMJ* 2009; 338:352
- ² Vermeulen A. Clinical review 24: androgens in the aging male. *J Clin Endocrinol Metab.* 1991;73:221-224.
- ³ Abbasi A, Mattson DE, Cuisinier M, et al. Hyposomatomedinemia and hypogonadism in hemiplegic men who live in nursing homes. *Arch Phys Med Rehabil.* 1994;75:594-599.
- ⁴ Zumoff B, Strain GW, Kream J, et al. Age variation of the 24-hour mean plasma concentrations of androgens, estrogens, and gonadotropins in normal adult men. *J Clin Endocrinol Metab.* 1982;54:534-538
- ⁵ Baker HW, Burger HG, de Kretser DM, et al. Changes in the pituitary-testicular system with age. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1976;5:349-372.
- ⁶ Bartsch W. Interrelationships between sex hormone-binding globulin and testosterone, 5 alpha-dihydrotestosterone and oestradiol-17 beta in blood of normal men. *Maturitas.* 1980;2:109-118.
- ⁷ Leifke E, Gorenou V, Wichers C, Von Zur Muhlen A, Von Buren E, Brabant G. Age-related changes of serum sex hormones, insulin-like growth factor-I and sex-hormone binding globulin levels in men: cross-sectional data from a healthy male cohort. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2000;53:689-695.
- ⁸ Belanger A, Candas B, Dupont A, et al. Changes in serum concentrations of conjugated and unconjugated steroids in 40-to 80-year-old men. *J Clin Endocrinol Metab.* 1994;79:108-1090.
- ⁹ Simon D, Preziosi P, Barrett-Connor E, et al. The influence of aging on plasma sex hormones in men: the Telecom Study. *Am J Epidemiol.* 1992;135:783-791.
- ¹⁰ Harman SM, Metter EJ, Tobin JD, Pearson J, Blackman MR. Longitudinal effects of aging on serum total and free testosterone levels in healthy men. Baltimore Longitudinal Study of Aging. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86:724-731
- ¹¹ Krithivas K, Yurgalevitch SM, Mohr BA, et al. Evidence that the CAG repeat in the androgen receptor gene is associated with the age-related decline in serum androgen levels in men. *J Endocrinol.* 1999; 162:137-142.
- ¹² Money JE, Kaiser FE, Perry HM 111. et al. Longitudinal changes in testosterone, luteinizing hormone, and follicle-stimulating hormone in healthy older men. *Metabolism.* 1997;46:410-413.
- ¹³ Zmuda JM, Cauley JA, Kriska A, Glynn NW, Gutai JP, Kuller LH. Longitudinal relation between endogenous testosterone and cardiovascular disease risk factors in middle-aged men. A 13-year followup of former Multiple Risk Factor Intervention Trial participants. *Am J Epidemiol.* 1997;146:609-617.
- ¹⁴ Kaufman JM, Vermeulen A. Declining gonadal function in elderly men. *Baillieres Clin Endocrinol Metab.* 1997; 11:289-309.
- ¹⁵ Drafta D, Schindler AE, Stroe E, Neacsu E. Age-related changes of plasma steroids in normal adult males. *J Steroid Biochem.* 1982;17: 683-687.
- ¹⁶ Kaufman JM, Vermeulen A. Declining gonadal function in elderly men. *Baillieres Clin Endocrinol Metab.* 1997; 11:289-309.
- ¹⁷ Tenover IL. Effects of androgen supplementation in the aging male. In: Oddens B, Vermeulen A, eds. *Androgens and the Aging Male.* Pearl River, NY: Parthenon Publishing Group; 1996:191-204.

-
- ¹⁸ Dunn JF, Nisula BC, Rodbard D. Transport of steroid hormones: binding of 21 endogenous steroids to both testosterone-binding globulin and corticosteroid-binding globulin in human plasma. *J Clin Endocrinol Metab.* 1981;53:588.
- ¹⁹ Rosner W. The functions of corticosteroid-binding globulin and sex hormone-binding globulin: recent advances. *Endocr Rev.* 1990;11: 80-91.
- ²⁰ Rosner W. Plasma steroid-binding proteins. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 1991;20:697-720.
- ²¹ Morley JE, Kaiser F, Raum WJ, et al. Potentially predictive and manipulable blood serum correlates of aging in the healthy human male: progressive decreases in bioavailable testosterone, dehydroepiandrosterone sulfate, and the ratio of insulin-like growth factor I to growth hormone. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1997;94:7537-7542.
- ²² Bartsch W. Interrelationships between sex hormone-binding globulin and testosterone, 5 alpha-dihydrotestosterone and oestradiol-17 beta in blood of normal men. *Maturitas.* 1980;2:109-118.
- ²³ Gray A, Feldman HA, McKinlay JB, Longcope C. Age, disease, and changing sex hormone levels in middle-aged men: results of the Massachusetts Male Aging Study. *J Clin Endocrinol Metab.* 1991;73: 1016-1025
- ²⁴ Simon D, Charles MA, Nahoul K, et al. Association between plasma total testosterone and cardiovascular risk factors in healthy adult men: the Telecom Study. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82:682685.
- ²⁵ Nahoul K, Roger M. Age-related decline of plasma bioavailable testosterone in adult men. *J Steroid Biochem.* 1990;35:293-299.
- ²⁶ Harman SM, Metter EJ, Tobin JD, Pearson J, Blackman MR. Longitudinal effects of aging on serum total and free testosterone levels in healthy men. Baltimore Longitudinal Study of Aging. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86:724-731.
- ²⁷ Money JE, Kaiser FE, Perry HM 111. et al. Longitudinal changes in testosterone, luteinizing hormone, and follicle-stimulating hormone in healthy older men. *Metabolism.* 1997;46:410-413.
- ²⁸ Morley JE, Charlton E, Patrick P, et al. Validation of a screening questionnaire for androgen deficiency in aging males. *Metabolism.* 2000;49:1239-1242.
- ²⁹ Manni A, Pardridge WM, Cefalu W, et al. Bioavailability of albumin-bound testosterone. *J Clin Endocrinol Metab.* 1985;61:705-710.
- ³⁰ . Matsumoto AM. The testis. In: Felig P, Frohman LA, eds. *Endocrinol/gy and Metabolism*, 4th ed. New York: McGraw-Hill; 2001:635
- ³¹ Vermeulen A, Verdonck L, Kaufman JM. A critical evaluation of simple methods for the estimation of free testosterone in serum. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84:3666-3672.
- ³² Haji M, Tanaka S, Nishi Y, et al. Sertoli cell function declines earlier than Leydig cell function in aging Japanese men. *Maturitas.* 1994; 18: 143-153
- ³³ Neaves WB, Johnson L, Porter JC, Parker CR Jr, Petty CS. Leydig cell numbers, daily sperm production, and serum gonadotropin levels in aging men. *J Clin Endocrinol Metab.* 1984;59:756-763.
- ³⁴ Kaler LW, Neaves WB. Attrition of the human Leydig cell population with advancing age. *Anat Rec.* 1978;192:513-518.
- ³⁵ Pirke KM, Sintermann R, Vogt HJ. Testosterone and testosterone precursors in the spermatic vein and in the testicular tissue of old men. Reduced oxygen supply may explain the relative increase of testicular progesterone and 17 alpha-hydroxyprogesterone content and production in old age. *Gerontology.* 1980;26:221-230.

-
- ³⁶ Takahashi J, Higashi Y, LaNasa JA, et al. Studies of the human testis. XVIII. Simultaneous measurement of nine intratesticular steroids: evidence for reduced mitochondrial function in testis of elderly men. *J Clin Endocrinol Metab.* 1983;56:1178-1187.
- ³⁷ Longcope C. The effect of human chorionic gonadotropin on plasma steroid levels in young and old men. *Steroids.* 1973;21:583-592.
- ³⁸ Muroso EP, Nankin HR, Lin T, Osterman J. The aging Leydig cell. VI. Response of testosterone precursors to gonadotrophin in men. *Acta Endocrinol (Copenh).* 1982;100:455-461.
- ³⁹ Nankin HR, Lin T, Muroso EP, Osterman J. The aging Leydig cell. III. Gonadotropin stimulation in man. *J Androl.* 1981;2:181-189.
- ⁴⁰ Nankin HR, Muroso E, Lin T, Osterman J. Morning and evening human Leydig cell responses to hCG. *Acta Endocrinol (Copenh).* 1980; 95:560-565.
- ⁴¹ Rubens R, Dhont M, Vermeulen A. Further studies on Leydig cell function in old age. *J Clin Endocrinol Metab.* 1974;39:40-45
- ⁴² Vermeulen A, Rubens R, Verdonck L. Testosterone secretion and metabolism in male senescence. *J Clin Endocrinol Metab.* 1972;34: 730-735.
- ⁴³ Bremner WJ, Vitiello MV, Prinz PN. Loss of circadian rhythmicity in blood testosterone levels with aging in normal men. *J Clin Endocrinol Metab.* 1983;56:1278-1281
- ⁴⁴ Marrama P, Carani C, Baraghini GF, et al. Circadian rhythm of testosterone and prolactin in the ageing. *Maturitas.* 1982;4:131-138.
- ⁴⁵ Montanini V, Simoni M, Chiossi G, et al. Age-related changes in plasma dehydroepiandrosterone sulphate, cortisol, testosterone and free testosterone circadian rhythms in adult men. *Horm Res.* 1988;29:156.
- ⁴⁶ Muroso EP, Nankin HR, Lin T, Osterman J. The aging Leydig cell V. Diurnal rhythms in aged men. *Acta Endocrinol (Copenh).* 1982; 99:619-623.
- ⁴⁷ Tenover JS, Matsumoto AM, Clifton DK, Bremner WJ. Age-related alterations in the circadian rhythms of pulsatile luteinizing hormone and testosterone secretion in healthy men. *J Gerontol Med Sci.* 1988; 43:M 163-M 169.
- ⁴⁸ Plymate SR, Tenover JS, Bremner WJ. Circadian variation in testosterone, sex hormone-binding globulin, and calculated non-sex hormone-binding globulin bound testosterone in healthy young and elderly men. *J Androl.* 1989;10:366-371.
- ⁴⁹ Gray A, Berlin JA, McKinlay JB, Longcope C. An examination of research design effects on the association of testosterone and male aging: results of a meta-analysis. *J Clin Epidemiol.* 1991;44:671-684
- ⁵⁰ Rosner W. Errors in the measurement of plasma free testosterone. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82:2014-2015
- ⁵¹ Johnson L, Grumbles JS, Bagheri A, Petty CS. Increased germ cell degeneration during postprophase of meiosis is related to increased serum follicle-stimulating hormone concentrations and reduced daily sperm production in aged men. *Biol Reprod.* 1990;42:281-287.
- ⁵² Neaves WB, Johnson L, Petty CS. Seminiferous tubules and daily sperm production in older adult men with varied numbers of Leydig cells. *Biol Reprod.* 1987;36:301-308.
- ⁵³ Schwartz D, Mayaux MJ, Spira A, et al. Semen characteristics as a function of age in 833 fertile men. *Fertil Steril.* 1983;39:530-535.
- ⁵⁴ Gallardo E, Simon C, Levy M, Guanes PP, Remohi J, Pellicer A. Effect of age on sperm fertility potential: oocyte donation as a model. *Fertil Steril.* 1996;66:260-264.

-
- ⁵⁵ Rolf C, Behre HM, Nieschlag E. Reproductive parameters of older compared to younger men of infertile couples. *Int J Androl*. 1996;19: 135-142.
- ⁵⁶ Silber SJ. Effects of age on male fertility. *Semin Reprod Endocrinol*. 1991;9:241-248
- ⁵⁷ Plas E, Berger P, Hermann M, Pfluger H. Effects of aging on male fertility? *Exp Gerontol*. 2000;35:543-551.
- ⁵⁸ McKinlay JD, Feldman MA. Age related variation in sexual activity and interest in normal men: results of the Massachusetts Male Aging Study. In: Rossi AJ, ed. *Sexuality Across the Life Course*. Chicago, IL: The University of Chicago Press; 1994:231-236.
- ⁵⁹ Johnson L, Zane RS, Petty CS, Neaves WB. Quantification of the human Sertoli cell population: its distribution, relation to germ cell numbers, and age-related decline. *Biol Reprod*. 1984;31:785-795. 83
- ⁶⁰ Mahmoud AM, Goemaere S, De Bacquer D, Comhaire FH, Kaufman JM. Serum inhibin B levels in community-dwelling elderly men. *Clin Endocrinol (Ox)*. 2000;53:141-147.
- ⁶¹ Tenover JS, McLachlan RI, Dahl KD, Burger HG, de Kretser DM, Bremner WJ. Decreased serum inhibin levels in normal elderly men: evidence for a decline in Sertoli cell function with aging. *J Clin Endocrinol Metab*. 1988;67:455-459.
- ⁶² Harman SM, Tsitouras PD, Costa PT, Blackman MR. Reproductive hormones in aging men. II. Basal pituitary gonadotropins and gonadotropin responses to luteinizing hormone-releasing hormone. *J Clin Endocrinol Metab*. 1982;54:547-551.
- ⁶³ Kaiser FE, Morley JE. Gonadotropins, testosterone, and the aging male. *Neurobiol Aging*. 1994; 15:559-563.
- ⁶⁴ Marrama P, Montanini V, Celani MF, et al. Further studies on basal immunoreactive luteinizing hormone (LH), serum testosterone and pituitary responsiveness to luteinizing hormone releasing hormone (LH-RH) in elderly men. *Minerva Endocrinol*. 1984;9:146
- ⁶⁵ Korenman SG, Morley JE, Mooradian AD, et al. Secondary hypogonadism in older men: its relation to impotence. *J Clin Endocrinol Metab*. 1990;71:963-969
- ⁶⁶ Matsumoto AM, Bremner WJ. Modulation of pulsatile gonadotropin secretion by testosterone in man. *J Clin Endocrinol Metab*. 1984;58: 609-614.
- ⁶⁷ Winters SJ, Troen P. A reexamination of pulsatile luteinizing hormone secretion in primary testicular failure. *J Clin Endocrinol Metab*. 1983;57:432-435.
- ⁶⁸ Deslypere iP, Kaufman JM, Vermeulen T, Vogelaers D, Vandalem JL, Vermeulen A. Influence of age on pulsatile luteinizing hormone release and responsiveness of the gonadotrophs to sex hormone feedback in men. *J Clin Endocrinol Metab*. 1987;64:68-73
- ⁶⁹ Kaufman JM, Deslypere JP, Giri M, Vermeulen A. Neuroendocrine regulation of pulsatile luteinizing hormone secretion in elderly men. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 1990;37:421-430.
- ⁷⁰ Pincus SM, Mulligan T, Iranmanesh A, Gheorghiu S, Godschalk M, Veldhuis JD. Older males secrete luteinizing hormone and testosterone more irregularly, and jointly more asynchronously, than younger males. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996;93:14100-14105.
- ⁷¹ Tenover JS, Bremner WJ. The effects of normal aging on the response of the pituitary-gonadal axis to chronic clomiphene administration in men. *J Androl*. 1991;12:258-263.
- ⁷² Urban RJ, Veldhuis JD, Blizzard RM, Dufau ML. Attenuated release of biologically active luteinizing hormone in healthy aging men. *J Clin Invest*. 1988;81:1020-1029.
- ⁷³ Veldhuis JD, Urban RJ, Lizarralde G, Johnson ML, Iranmanesh A. Attenuation of luteinizing hormone secretory burst amplitude as a proximate basis for the hypoandrogenism of healthy aging in men. *J Clin Endocrinol Metab*. 1992;75:707-713.
- ⁷⁴ Vermeulen A, Deslypere JP, Kaufman JM. Influence of antiopioids on luteinizing hormone pulsatility in aging men. *J Clin Endocrinol Metab*. 1989;68:68-72.

-
- ⁷⁵ Vermeulen A, Kaufman JM, Deslypere JP, Thomas G. Attenuated luteinizing hormone (LH) pulse amplitude but normal LH pulse frequency, and its relation to plasma androgens in hypogonadism of obese men. *J Clin Endocrinol Metab.* 1993;76:1140-1146.
- ⁷⁶ Urban RJ, Dahl KD, Lippert MC, Veldhuis JD. Modulation of immunoradiometric and bioactive follicle stimulating hormone secretion and clearance in young and elderly men during treatment with tamoxifen or flutamide. *J Androl.* 1992;13:579-586.
- ⁷⁷ Veldhuis JD, Iranmanesh A, Demers LM, Mulligan T. Joint basal and pulsatile hypersecretory mechanisms drive the monotropic folliclestimulating hormone (FSH) elevation in healthy older men: concurrent preservation of the orderliness of the FSH release process: a general clinical research center study. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84:3506-3514.
- ⁷⁸ Veldhuis JD, Iranmanesh A, Mulligan T, Pincus SM. Disruption of the young-adult synchrony between luteinizing hormone release and oscillations in follicle-stimulating hormone, prolactin, and nocturnal penile tumescence (NPT) in healthy older men. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84:3498-3505.
- ⁷⁹ Mikuma N, Kumamoto Y, Maruta H, Nitta T. Role of the hypothalamic opioidergic system in the control of gonadotropin secretion in elderly men. *Andrologia.* 1994;26:39-45.
- ⁸⁰ Veldhuis JD, Iranmanesh A, Samojlik E, Urban RJ. Differential sex steroid negative feedback regulation of pulsatile follicle-stimulating hormone secretion in healthy older men: deconvolution analysis and steady-state sex-steroid hormone infusions in frequently sampled healthy older individuals. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82:1248-1254.
- ⁸¹ 104. Winters SJ, Atkinson L. Serum LH concentrations in hypogonadal men during transdermal testosterone replacement through scrotal skin: further evidence that ageing enhances testosterone negative feedback. The Testoderm Study Group. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1997; 47:317-322.
- ⁸² Winters SJ, Sherins RJ, Troen P. The gonadotropin-suppressive activity of androgen is increased in elderly men. *Metabolism.* 1984;33: 1052-1059.
- ⁸³ Veldhuis JD, Urban RJ, Dufau ML. Differential responses of biologically active luteinizing hormone secretion in older versus young men to interruption of androgen negative feedback. *J Clin Endocrinol Metab.* 1994;79:1763-1770.
- ⁸⁴ Veldhuis JD, Zwart A, Mulligan T, Iranmanesh A. Muting of androgen negative feedback unveils impoverished gonadotropin-releasing hormone/luteinizing hormone secretory reactivity in healthy older men. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86:529-535.
- ⁸⁵ Winters SJ, Troen P. Episodic luteinizing hormone (LH) secretion and the response of LH and follicle-stimulating hormone to LH-releasing hormone in aged men: evidence for coexistent primary testicular insufficiency and an impairment in gonadotropin secretion. *J Clin Endocrinol Metab.* 1982;55:560-565.
- ⁸⁶ Kaufman JM, Giri M, Deslypere JM, Thomas G, Vermeulen A. Influence of age on the responsiveness of the gonadotrophs to luteinizing hormone-releasing hormone in males. *J Clin Endocrinol Metab.* 1991;72:1255-1260.
- ⁸⁷ Celani MF, Montanini V, Baraghini GF, Carani C, Manama P. Effects of acute stimulation with gonadotropin releasing hormone (GTPX) on biologically active serum luteinizing hormone (LH) in elderly men. *J Endocrinol Invest.* 1984;7:589-595

-
- ⁸⁸ Ono K, Haji M, Nawata H, Maki T, Kato K, Ibayashi H. Age-related changes in glucocorticoid and androgen receptors of cultured human pubic skin fibroblasts. *Gerontology*. 1988;34:128-133
- ⁸⁹ Tohgi H, Utsugisawa K, Yamagata M, Yoshimura M. Effects of age on messenger RNA expression of glucocorticoid, thyroid hormone, androgen, and estrogen receptors in postmortem human hippocampus. *Brain Res*. 1995;700:245-253.
- ⁹⁰ Roehrborn CG, Lange JL, George FW, Wilson JD. Changes in amount and intracellular distribution of androgen receptor in human foreskin as a function of age. *J Clin Invest*. 1987;79:44-47.
- ⁹¹ Bonnet P, Reiter E, Bruyninx M, et al. Benign prostatic hyperplasia and normal prostate aging: differences in types I and II 5 alpha-reductase and steroid hormone receptor messenger ribonucleic acid (mRNA) levels, but not in insulin-like growth factor mRNA levels. *J Clin Endocrinol Metab*. 1993;77:1203-1208.
- ⁹² Grimaldo JJ, Meikle AW. Increased levels of nuclear androgen receptors in hyperplastic prostate of aging men. *J Steroid Biochem*. 1984;21:147-150.
- ⁹³ Sanchez-Visconti G, Herrero L, Rabadan M, Pereira I, Ruiz-Torres A. Ageing and prostate: age-related changes in androgen receptors of epithelial cells from benign hypertrophic glands compared with cancer. *Mech Ageing Dev*. 1995;82:19-29.
- ⁹⁴ Beilin J, Ball EM, Favalaro JM, Zajac JD. Effect of the androgen receptor CAG repeat polymorphism on transcriptional activity: specificity in prostate and non-prostate cell lines. *J Mol Endocrinol*. 2000;25:85-96.
- ⁹⁵ Krithivas K, Yurgalevitch SM, Mohr BA, et al. Evidence that the CAG repeat in the androgen receptor gene is associated with the age-related decline in serum androgen levels in men. *J Endocrinol*. 1999; 162:137-142.
- ⁹⁶ Giovannucci E, Platz EA, Stampfer MJ, et al. The CAG repeat within the androgen receptor gene and benign prostatic hyperplasia. *Urology*. 1999;53:121-125.
- ⁹⁷ Giovannucci E, Stampfer MJ, Chan A, et al. CAG repeat within the androgen receptor gene and incidence of surgery for benign prostatic hyperplasia in U.S. physicians. *Prostate*. 1999;39:130-134.
- ⁹⁸ Giovannucci E, Stampfer MJ, Krithivas K, et al. The CAG repeat within the androgen receptor gene and its relationship to prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1997;94:3320-3323.
- ⁹⁹ Hakimi JM, Schoenberg MP, Rondinelli RH, Piantadosi S, Barrack ER. Androgen receptor variants with short glutamine or glycine repeats may identify unique subpopulations of men with prostate cancer. *Clin Cancer Res*. 1997;3:1599-1608.
- ¹⁰⁰ Mitsumori K, Terai A, Oka H, et al. Androgen receptor CAG repeat length polymorphism in benign prostatic hyperplasia (BPH): correlation with adenoma growth. *Prostate*. 1999;41:253-257.
- ¹⁰¹ Xue W, Irvine RA, Yu MC, Ross RK, Coetzee GA, Ingles SA. Susceptibility to prostate cancer: interaction between genotypes at the androgen receptor and prostate-specific antigen loci. *Cancer Res*. 2000;60:839-841
- ¹⁰² Stanford JL, Just JJ, Gibbs M, et al. Polymorphic repeats in the androgen receptor gene: molecular markers of prostate cancer risk. *Cancer Res*. 1997;57:1194-1198
- ¹⁰³ Bratt O, Borg A, Kristoffersson U, Lundgren R, Zhang QX, Olsson H. CAG repeat length in the androgen receptor gene is related to age at diagnosis of prostate cancer and response to endocrine therapy, but not to prostate cancer risk. *Br J Cancer*. 1999;81:672-676.

-
- ¹⁰⁴ Edwards SM, Badzioch MD, Minter R, et al. Androgen receptor polymorphisms: association with prostate cancer risk, relapse and overall survival. *Int J Cancer*. 1999;84:458-465.
- ¹⁰⁵ Hardy DO, Scher HI, Bogenreider T, et al. Androgen receptor CAG repeat lengths in prostate cancer: correlation with age of onset. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996;81:4400-4405.
- ¹⁰⁶ Nam RK, Elhaji Y, Krahn MD, et al. Significance of the CAG repeat polymorphism of the androgen receptor gene in prostate cancer progression. *J Urol*. 2000;164:567-572.
- ¹⁰⁷ Lamb DJ, Weigel NL, Marcelli M. Androgen receptors and their biology. *Vitam Horm*. 2001;62:199-230.
- ¹⁰⁸ Roy AK, Lavrovsky Y, Song CS, et al. Regulation of androgen action. *Vitam Horm*. 1999;55:309-352.
- ¹⁰⁹ Russell DW, Wilson JD. Steroid 5 alpha-reductase: two genes/two enzymes. *Annu Rev Biochem*. 1994;63:25-61
- ¹¹⁰ Simpson ER. Role of aromatase in sex steroid action. *J Mol Endocrinol*. 2000;25:149-156.
- ¹¹¹ Simpson ER, Zhao Y, Agarwal VR, et al. Aromatase expression in health and disease. *Recent Prog Horm Res*. 1997;52:185-213; discussion 213-214
- ¹¹² Baker HW, Hudson B. Changes in the pituitary-testicular axis with age. *Monogr Endocrinol*. 1983;25:71-83
- ¹¹³ Ishimaru T, Pages L, Horton R. Altered metabolism of androgens in elderly men with benign prostatic hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab*. 1977;45:695-701
- ¹¹⁴ Khosla S, Melton LJ III, Atkinson EJ, O'Fallon WM, Klee GG, Riggs BL. Relationship of serum sex steroid levels and bone turnover markers with bone mineral density in men and women: a key role for bioavailable estrogen. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998;83:2266-2274
- ¹¹⁵ Labrie F, Belanger A, Cusan L, Gomez JL, Candas B. Marked decline in serum concentrations of adrenal C19 sex steroid precursors and conjugated androgen metabolites during aging. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82:2396-2402
- ¹¹⁶ van den Beld AW, de Jong FH, Grobbee DE, Pols HA, Lamberts SW. Measures of bioavailable serum testosterone and estradiol and their relationships with muscle strength, bone density, and body composition in elderly men. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;85:3276--3282.
- ¹¹⁷ Szulc P, Munoz F, Claustrat B, et al. Bioavailable estradiol may be an important determinant of osteoporosis in men: the MINOS study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86:192-199
- ¹¹⁸ Morimoto I, Edmiston A, Hawks D, Horton R. Studies on the origin of androstanediol and androstanediol glucuronide in young and elderly men. *J Clin Endocrinol Metab*. 1981;52:772-778.
- ¹¹⁹ Krieg M, Nass R, Tunn S. Effect of aging on endogenous level of 5 alpha-dihydrotestosterone, testosterone, estradiol, and estrone in epithelium and stroma of normal and hyperplastic human prostate. *J Clin Endocrinol Metab*. 1993;77:375-381
- ¹²⁰ Tunn S, Hochstrate H, Grunwald I, Fluchter SH, Krieg M. Effect of aging on kinetic parameters of 5 alpha-reductase in epithelium and stroma of normal and hyperplastic human prostate. *J Clin Endocrinol Metab*. 1986;77:70-76
- ¹²¹ Spratt DI, Cox P, Orav J, Moloney J, Bigos T. Reproductive axis suppression in acute illness is related to disease severity. *J Clin Endocrinol Metab*. 1993;76:1548-1554.

-
- ¹²² Abbasi A, Mattson DE, Cuisinier M, et al. Hyposomatomedinemia and hypogonadism in hemiplegic men who live in nursing homes. *Arch Phys Med Rehabil.* 1994;75:594-599
- ¹²³ Baker HWG. Testicular dysfunction in systemic disease. In: Becker KL, ed. *Principles and Practice of Endocrinology and Metabolism*, 3rd ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2001: 1150-1158
- ¹²⁴ Woolf PD, Hamill RW, McDonald JV, Lee LA, Kelly M. Transient hypogonadotropic hypogonadism after head trauma: effects on steroid precursors and correlation with sympathetic nervous system activity. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1986;25:265-274.
- ¹²⁵ Nippoldt TB, Nair KS. Is there a case for DHEA replacement? *Baillieres Clin Endocrinol Metab.* 1998; 12:507-520.
- ¹²⁶ Orentreich N, Brind JL, Vogelman JH, Andres R, Baldwin H. Longterm longitudinal measurements of plasma dehydroepiandrosterone sulfate in normal men. *J Clin Endocrinol Metab.* 1992;75:1002-1004
- ¹²⁷ Ravaglia G, Forti P, Maioli F, et al. The relationship of dehydroepiandrosterone sulfate (DHEAS) to endocrine-metabolic parameters and functional status in the oldest-old. Results from an Italian study on healthy free-living over-ninety-year-olds. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81:1173-1178
- ¹²⁸ Zumoff B, Rosenfeld RS, Strain GW, Levin J, Fukushima DK. Sex differences in the twenty-four-hour mean plasma concentrations of dehydroisoandrosterone (DHA) and dehydroisoandrosterone sulfate (DHAS) and the DHA to DHAS ratio in normal adults. *J Clin Endocrinol Metab.* 1980;51:330-333.
- ¹²⁹ Baulieu EE, Thomas G, Legrain S, et al. Dehydroepiandrosterone (DHEA), DHEA sulfate, and aging: contribution of the DHE Age Study to a sociobiomedical issue. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2000;97: 4279-4284
- ¹³⁰ Morales AJ, Haubrich RH, Hwang JY, Asakura H, Yen SS. The effect of six months treatment with a 100 mg daily dose of dehydroepiandrosterone (DHEA) on circulating sex steroids, body composition and muscle strength in age-advanced men and women. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1998;49:421-432.
- ¹³¹ Morales AJ, Nolan JJ, Nelson JC, Yen SS. Effects of replacement dose of dehydroepiandrosterone in men and women of advancing age. *J Clin Endocrinol Metab.* 1994;78:1360-1367
- ¹³² Reiter WJ, Pycha A, Schatzl G, et al. Dehydroepiandrosterone in the treatment of erectile dysfunction: a prospective, double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Urology.* 1999;53:590-594; discussion 594-595
- ¹³³ Flynn MA, Weaver-Osterholtz D, Sharpe-Timms KL, Allen S, Krause G. Dehydroepiandrosterone replacement in aging humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84:1527-1533
- ¹³⁴ Baumgartner RN, Koehler KM, Gallagher D, et al. Epidemiology of sarcopenia among the elderly in New Mexico. *Am J Epidemiol.* 1998; 147:755-763.
- ¹³⁵ Borkan GA, Hulth DE, Gerzof SG, Robbins AH, Silbert CK. Age changes in body composition revealed by computed tomography. *J Gerontol.* 1983;38:673-677
- ¹³⁶ Flynn MA, Nolph GB, Baker AS, Krause G. Aging in humans: a continuous 20-year study of physiologic and dietary parameters. *J Am Coll Nutr.* 1992;11:660-672
- ¹³⁷ Forbes GB. Longitudinal changes in adult fat-free mass: influence of body weight. *Am J Clin Nutr.* 1999;70:1025-1031
- ¹³⁸ Frontera WR, Hughes VA, Fielding RA, Fiatarone MA, Evans WJ, Roubenoff R. Aging of skeletal muscle: a 12-yr longitudinal study. *J Appl Physiol.* 2000;88:1321-1326.

-
- ¹³⁹ Frontera WR, Hughes VA, Lutz KJ, Evans WJ. A cross-sectional study of muscle strength and mass in 45-to 78-yr-old men and women. *J Appl Physiol.* 1991;71:644-650
- ¹⁴⁰ Frontera WR, Suh D, Krivickas LS, Hughes VA, Goldstein R, Roubenoff R. Skeletal muscle fiber quality in older men and women. *Am J Physiol.* 2000;279:C611-C618
- ¹⁴¹ Gallagher D, Ruts E, Visser M, et al. Weight stability masks sarcopenia in elderly men and women. *Am J Physiol.* 2000;279:E366-E375
- ¹⁴² Gallagher D, Visser M, De Meersman RE, et al. Appendicular skeletal muscle mass: effects of age, gender, and ethnicity. *J Appl Physiol.* 1997;83:229-239
- ¹⁴³ Larsson L, Ramamurthy B. Aging-related changes in skeletal muscle. Mechanisms and interventions. *Drugs Aging.* 2000; 17:303-316.
- ¹⁴⁴ Melton LJ III, Khosla S, Riggs BL. Epidemiology of sarcopenia. *Mayo Clin Proc.* 2000;75:S10-S12; discussion S12-S13.
- ¹⁴⁵ Porter MM, Vandervoort AA, Lexell J. Aging of human muscle: structure, function and adaptability. *Scand J Med Sci Sports.* 1995;5: 129-142
- ¹⁴⁶ Bassey EJ, Fiatarone MA, O'Neill EF, Kelly M, Evans WJ, Lipsitz LA. Leg extensor power and functional performance in very old men and women. *Clin Sci (Colch).* 1992;82:321-327
- ¹⁴⁷ Harris T. Muscle mass and strength: relation to function in population studies. *J Nutr.* 1997; 127:10045-I 006S.
- ¹⁴⁸ Hughes VA, Frontera WR, Wood M, et al. Longitudinal muscle strength changes in older adults: influence of muscle mass, physical activity, and health. *J Gerontol Biol Sci.* 2001;56A:B209-B217
- ¹⁴⁹ Larsson L, Grimby G, Karlsson J. Muscle strength and speed of movement in relation to age and muscle morphology. *J Appl Physiol.* 1979;46:451-456
- ¹⁵⁰ Lindle RS, Metter EJ, Lynch NA, et al. Age and gender comparisons of muscle strength in 654 women and men aged 20-93 yr. *J Appl Physiol.* 1997;83:1581-1587
- ¹⁵¹ Martin JC, Farrar RP, Wagner BM, Spirduso WW. Maximal power across the lifespan. *J Gerontol Med Sci.* 2000;SSA:M31 I-M316. 18
- ¹⁵² L. Fleg JL, Lakatta EG. Role of muscle loss in the age-associated reduction in V02 max. *J Appl Physiol.* 1988;65:1147-1151.
- ¹⁵³ Lindstrom B, Lexell J, Gerdle B, Downham D. Skeletal muscle fatigue and endurance in young and old men and women. *J Gerontol Biol Sci.* 1997;52A:B59-B66.
- ¹⁵⁴ Meltzer DE. Body-mass dependence of age-related deterioration in human muscular function. *J Appl Physiol.* 1996;80:1149-1155.
- ¹⁵⁵ Money JE. The aging athlete. *J Gerontol Med Sci.* 2000;SSA:M627M629
- ¹⁵⁶ Proctor DN, Joyner MJ. Skeletal muscle mass and the reduction of V02max in trained older subjects. *J Appl Physiol.* 1997;82:1411-1415.
- ¹⁵⁷ Rantanen T, Avela J. Leg extension power and walking speed in very old people living independently. *J Gerontol Med Sci.* 1997;52A: M225-M231.
- ¹⁵⁸ Skelton DA, Greig CA, Davies JM, Young A. Strength, power and related functional ability of healthy people aged 65-89 years. *Age Ageing.* 1994;23:371-377
- ¹⁵⁹ Kannel WB, Cupples LA, Ramaswami R, Stokes J III, Kreger BE, Higgins M. Regional obesity and risk of cardiovascular disease; the Framingham Study. *J Clin Epidemiol.* 1991;44:183-190.
- ¹⁶⁰ Kohrt WM, Malley MT, Dalsky GP, Holloszy JO. Body composition of healthy sedentary and trained, young and older men and women. *Med Sci Sports Exerc.* 1992;24:832-837

-
- ¹⁶¹ Lindblad U, Langer RD, Wingard DI, Thomas RG, Barrett-Connor EL. Metabolic syndrome and ischemic heart disease in elderly men and women. *Am J Epidemiol.* 2001; 153:481-489.
- ¹⁶² Mott JW, Wang J, Thornton JC, Allison DB, Heymsfield SB, Pierson RN Jr. Relation between body fat and age in 4 ethnic groups. *Am J Clin Nutr.* 1999;69:1007-1013.
- ¹⁶³ Silver AJ, Guillen CP, Kahl MJ, Morley JE. Effect of aging on body fat. *J Am Geriatr Soc.* 1993;41:211-213
- ¹⁶⁴ Snead DB, Birge SJ, Kohrt WM. Age-related differences in body composition by hydrodensitometry and dual-energy x-ray absorptiometry. *J Appl Physiol.* 1993;74:770-775.
- ¹⁶⁵ Jacobsen SJ, Goldberg J, Miles TP, Brody JA, Stiers W, Rimm AA. Hip fracture incidence among the old and very old: a populationbased study of 745,435 cases. *Am J Public Health.* 1990;80:871-873.
- ¹⁶⁶ Jones G, Nguyen T, Sambrook P, Kelly PJ, Eisman JA. Progressive loss of bone in the femoral neck in elderly people: longitudinal findings from the Dubbo osteoporosis epidemiology study. *BMJ.* 1994; 309:691-695.
- ¹⁶⁷ Melton LJ III, Therneau TM, Larson DR. Long-term trends in hip fracture prevalence: the influence of hip fracture incidence and survival. *Osteoporos Int.* 1998;8:68-74.
- ¹⁶⁸ Nguyen TV, Center JR, Sambrook PN, Eisman JA. Risk factors for proximal humerus, forearm, and wrist fractures in elderly men and women: the Dubbo Osteoporosis Epidemiology Study. *Am J Epidemiol.* 2001;153:587-595.
- ¹⁶⁹ Nguyen TV, Eisman JA, Kelly PJ, Sambrook PN. Risk factors for osteoporotic fractures in elderly men. *Am J Epidemiol.* 1996;144:255--263.
- ¹⁷⁰ Orwoll ES, Klein RF. Osteoporosis in men. *Endocr Rev.* 1995;16:871-16.
- ¹⁷¹ Wishart JM, Need AG, Horowitz M, Morris HA, Nordin BE. Effect of age on bone density and bone turnover in men. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1995;42:141-146
- ¹⁷² Braucher MC, Boissic S, Frances C, Robert AM. Skin thickness changes in normal aging skin. *Gerontology.* 1990;36:28-35
- ¹⁷³ Hall DA, Blackett AD, Zajac AR, Switala S, Airey CM. Changes in skinfold thickness with increasing age. *Age Ageing.* 1981;10:19-23.
- ¹⁷⁴ Koenig HG, Blazer DG. Epidemiology of geriatric affective disorders. *Clin Geriatr Med.* 1992;8:235-251.
- ¹⁷⁵ Bortz WM Jr, Wallace DH, Wiley D. Sexual function in 1,202 aging males: differentiating aspects. *J Gerontol Med Sci.* 1999;54A:M237M241
- ¹⁷⁶ Johannes CB, Araujo AB, Feldman HA, Derby CA, Kleinman KP, McKinlay JB. Incidence of erectile dysfunction in men 40 to 69 years old: longitudinal results from the Massachusetts Male Aging Study. *J Urol.* 2000;163:460-463
- ¹⁷⁷ Rowland DI, Greenleaf WJ, Dorfman LJ, Davidson JM. Aging and sexual function in men. *Arch Sex Behav.* 1993;22:545-557
- ¹⁷⁸ Schiavi RC, Schreiner-Engel P, Mandeli J, Schanzer H, Cohen E. Healthy aging and male sexual function. *Am J Psychiatry.* 1990;147: 766-771
- ¹⁷⁹ Bosworth HB, Schaie KW, Willis SL. Cognitive and sociodemographic risk factors for mortality in the Seattle Longitudinal Study. *J Gerontol Psych Sci.* 1999;54B:P273-P282.
- ¹⁸⁰ Schaie KW, Willis SL. Age difference patterns of psychometric intelligence in adulthood: generalizability within and across ability domains. *Psychol Aging.* 1993;8:44-55
- ¹⁸¹ Prinz PN, Vitiello MV, Raskind MA, Thorpy MJ. Geriatrics: sleep disorders and aging. *N Engl J Med.* 1990;323:520-526

-
- ¹⁸² Blackman MR. Age-related alterations in sleep quality and neuroendocrine function: interrelationships and implications. *JAMA*. 2000; 284:879-881.
- ¹⁸³ Lipschitz DA, Udupa KB, Milton KY, Thompson CO. Effect of age on hematopoiesis in man. *Blood*. 1984;63:502-509.
- ¹⁸⁴ Williamson CS. Influence of age and sex on hemoglobin: a spectrophotometric analysis of nine hundred nineteen cases. *Arch Intern Med*. 1976;18:505-515
- ¹⁸⁵ Seidman SN, Spatz E, Rizzo C, Roose SP. Testosterone replacement therapy for hypogonadal men with major depressive disorder: a randomized, placebo-controlled clinical trial. *J Clin Psychiatry*. 2001; 62:406-412.
- ¹⁸⁶ Arver S, Dobs AS, Meikle AW, Allen RP, Sanders SW, Mazer NA. Improvement of sexual function in testosterone deficient men treated for 1 year with a permeation enhanced testosterone transdermal system. *J Urol*. 1996;155:1604-1608
- ¹⁸⁷ Bancroft J, Wu FC. Changes in erectile responsiveness during androgen replacement therapy. *Arch Sex Behav*. 1983;12:59-66.
- ¹⁸⁸ Behre HM, Kliesch S, Leitke E, Link TM, Nieschlag E. Long-term effect of testosterone therapy on bone mineral density in hypogonadal men. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82:2386-2390.
- ¹⁸⁹ Behre HM, von Eckardstein S, Kliesch S, Nieschlag E. Long-term substitution therapy of hypogonadal men with transscrotal testosterone over 7-10 years. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1999;50:629-635
- ¹⁹⁰ Bhasin S. The dose-dependent effects of testosterone on sexual function and on muscle mass and function. *Mayo Clin Proc*. 2000;75: S70-575; discussion S75-576.
- ¹⁹¹ Bhasin S, Storer TW, Berman N, et al. Testosterone replacement increases fat-free mass and muscle size in hypogonadal men. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82:407-413
- ¹⁹² Brodsky IG, Balagopal P, Nair KS. Effects of testosterone replacement on muscle mass and muscle protein synthesis in hypogonadal men—a clinical research center study. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996;81:3469-3475
- ¹⁹³ Bross R, Casaburi R, Storer TW, Bhasin S. Androgen effects on body composition and muscle function: implications for the use of androgens as anabolic agents in sarcopenic states. *Baillieres Clin Endocrinol Metab*. 1998;12:365-378.
- ¹⁹⁴ Burriss AS, Banks SM, Carter CS, Davidson JM, Sherins RJ. A longterm, prospective study of the physiologic and behavioral effects of hormone replacement in untreated hypogonadal men. *J Androl*. 1992; 13:297-304
- ¹⁹⁵ Carani C, Granata AR, Bancroft J, Marrama P. The effects of testosterone replacement on nocturnal penile tumescence and rigidity and erectile response to visual erotic stimuli in hypogonadal men. *Psychoneuroendocrinology*. 1995;20:743-753.
- ¹⁹⁶ Clopper RR, Voorhess ML, MacGillivray MH, Lee PA, Mills B. Psychosexual behavior in hypopituitary men: a controlled comparison of gonadotropin and testosterone replacement. *Psychoneuroendocrinology*. 1993;18:149-161.
- ¹⁹⁷ Conway AJ, Boylan LM, Howe C, Ross G, Handelsman DJ. Randomized clinical trial of testosterone replacement therapy in hypogonadal men. *Int J Androl*. 1988;11:247-264
- ¹⁹⁸ Cunningham GR, Hirshkowitz M, Korenman SG, Karacan I. Testosterone replacement therapy and sleep-related erections in hypogonadal men. *J Clin Endocrinol Metab*. 1990;70:792-797
- ¹⁹⁹ Stock SA, Parker RA, Chen L, et al. Bone loss in men with prostate cancer treated with gonadotropin-releasing hormone agonists. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86:2787-2791.

-
- ²⁰⁰ Daniell HW, Dunn SR, Ferguson DW, Lomas G, Niazi Z, Stratte PT. Progressive osteoporosis during androgen deprivation therapy for prostate cancer. *J Urol.* 2000;163:181-186
- ²⁰¹ Davidson JM, Camargo CA, Smith ER. Effects of androgen on sexual behavior in hypogonadal men. *J Clin Endocrinol Metab.* 1979;48: 955-958
- ²⁰² Davidson JM, Kwan M, Greenleaf WJ. Hormonal replacement and sexuality in men. *J Clin Endocrinol Metab.* 1982;11:599-623.
- ²⁰³ Dobs AS, Meikle AW, Arver S, Sanders SW, Caramelli KE, Mazer NA. Pharmacokinetics, efficacy, and safety of a permeation-enhanced testosterone transdermal system in comparison with bi-weekly injections of testosterone enanthate for the treatment of hypogonadal men. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84:3469-3478.
- ²⁰⁴ Finkelstein JS, Klibanski A, Neer RM, et al. Increases in bone density during treatment of men with idiopathic hypogonadotropic hypogonadism. *J Clin Endocrinol Metab.* 1989;69:779-783
- ²⁰⁵ Finkelstein JS, Klibanski A, Neer RM, Greenspan SL, Rosenthal DI, Crowley WF Jr. Osteoporosis in men with idiopathic hypogonadotropic hypogonadism. *Ann Intern Med.* 1987;106:354-361
- ²⁰⁶ Goldray D, Weisman Y, Jaccard N, Merdler C, Chen J, Matzkin H. Decreased bone density in elderly men treated with the gonadotropin-releasing hormone agonist decapeptyl (D-Trp6- Γ TPX). *J Clin Endocrinol Metab.* 1993;76:288-290.
- ²⁰⁷ Greenspan SL, Oppenheim DS, Klibanski A. Importance of gonadal steroids to bone mass in men with hyperprolactinemic hypogonadism. *Ann Intern Med.* 1989;110:526-531.
- ²⁰⁸ Grinspoon S, Corcoran C, Stanley T, Baaj A, Basgoz N, Klibanski A. Effects of hypogonadism and testosterone administration on depression indices in HIV-infected men. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85: 60-65
- ²⁰⁹ Guo CY, Jones TH, Eastell R. Treatment of isolated hypogonadotropic hypogonadism effect on bone mineral density and bone turnover. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82:658-665.
- ²¹⁰ Hamilton JB, Bunch LD, Mestler GE, Imagawa R. Effect of castration in men upon blood sedimentation rate, hematocrit and hemoglobin. *J Clin Endocrinol Metab.* 1964;24:506-511.
- ²¹¹ Isaia G, Mussetta M, Pecchio F, Sciolla A, di Stefano M, Molinatti GM. Effect of testosterone on bone in hypogonadal males. *Maturitas.* 1992;15:47-51
- ²¹² Jain P, Rademaker AW, McVary KT. Testosterone supplementation for erectile dysfunction: results of a meta-analysis. *J Urol.* 2000;164: 371-375
- ²¹³ Jockenhovel F, Vogel E, Reinhardt W, Reinwein D. Effects of various modes of androgen substitution therapy on erythropoiesis. *Eur J Med Res.* 1997;2:293-298
- ²¹⁴ Katznelson L, Finkelstein JS, Schoenfeld DA, Rosenthal DI, Anderson EJ, Klibanski A. Increase in bone density and lean body mass during testosterone administration in men with acquired hypogonadism. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81:4358-4365
- ²¹⁵ Kwan M, Greenleaf WJ, Mann J, Crapo L, Davidson JM. The nature of androgen action on male sexuality: a combined laboratory-selfreport study on hypogonadal men. *J Clin Endocrinol Metab.* 1983; 57:557-562.
- ²¹⁶ Leibenluft E. Schmidt PJ, Turner EH, et al. Effects of leuprolide-induced hypogonadism and testosterone replacement on sleep, melatonin, and prolactin secretion in men. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997; 82:3203-3207
- ²¹⁷ Leifke E, Korner HC, Link TM, Behre HM, Peters PE, Nieschlag E. Effects of testosterone replacement therapy on cortical and trabecular bone mineral density, vertebral

-
- body area and paraspinal muscle area in hypogonadal men. *Eur J Endocrinol.* 1998;138:51-58.
- ²¹⁸ Margolese HC. The male menopause and mood: testosterone decline and depression in the aging male-is there a link? *J Geriatr Psychiatry Neurol.* 2000;13:93-101.
- ²¹⁹ Marin P, Krotkiewski M, Bjorntorp P. Androgen treatment of middle-aged, obese men: effects on metabolism, muscle and adipose tissues. *Eur J Med.* 1992;1:329-336.
- ²²⁰ Mauras N, Hayes V, Welch S, et al. Testosterone deficiency in young men: marked alterations in whole body protein kinetics, strength, and adiposity. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83:1886-1892.
- ²²¹ McClure RD, Oses R, Ernest ML. Hypogonadal impotence treated by transdermal testosterone. *Urology.* 1991;37:224-228.
- ²²² Medras M, Jankowska EA, Rogucka E. Effects of long-term testosterone substitutive therapy on bone mineral content in men with hypergonadotrophic hypogonadism. *Andrologia.* 2001;33:47-52.
- ²²³ Morales A, Johnston B, Heaton JP, Lundie M. Testosterone supplementation for hypogonadal impotence: assessment of biochemical measures and therapeutic outcomes. *J Urol.* 1997;157:849-854.
- ²²⁴ O'Carroll R, Shapiro C, Bancroft J. Androgens, behaviour and nocturnal erection in hypogonadal men: the effects of varying the replacement dose. *Clin Endocrinol (Off).* 1985;23:527-538.
- ²²⁵ Salmimies P, Kockott G, Pirke KM, Vogt HJ, Schill WB. Effects of testosterone replacement on sexual behavior in hypogonadal men. *Arch Sex Behav.* 1982; 11:345-353.
- ²²⁶ Seidman SN, Rabkin JG. Testosterone replacement therapy for hypogonadal men with SSRI-refractory depression. *J Affect Disord.* 1998;48:157-161.
- ²²⁷ Snyder PJ, Peachey H, Berlin JA, et al. Effects of testosterone replacement in hypogonadal men. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85: 2670-2677.
- ²²⁸ Tripathy D, Shah P, Lakshmy R, Reddy KS. Effect of testosterone replacement on whole body glucose utilisation and other cardiovascular risk factors in males with idiopathic hypogonadotrophic hypogonadism. *Horm Metab Res.* 1998;30:642-645.
- ²²⁹ Wang C, Eyre DR, Clark R, et al. Sublingual testosterone replacement improves muscle mass and strength, decreases bone resorption, and increases bone formation markers in hypogonadal men-a clinical research center study. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81:3654-3662
- ²³⁰ Wang C, Swedloff RS, Iranmanesh A, et al. Transdermal testosterone gel improves sexual function, mood, muscle strength, and body composition parameters in hypogonadal men. Testosterone Gel Study Group. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:2839-2853
- ²³¹ Wang C, Swedloff RS, Iranmanesh A, et al. Effects of transdermal testosterone gel on bone turnover markers and bone mineral density in hypogonadal men. *Clin Endocrinol (Oxj).* 2001;54:739-750.
- ²³² . Alexander GM, Swedloff RS, Wang C, et al. Androgen-behavior correlations in hypogonadal men and eugonadal men. I. Mood and response to auditory sexual stimuli. *Horm Behav.* 1997;31:110-119.
- ²³³ Alexander GM, Swedloff RS, Wang C, et al. Androgen-behavior correlations in hypogonadal men and eugonadal men. II. Cognitive abilities. *Horm Behav.* 1998;33:85-94.
- ²³⁴ Hatano T, Oishi Y, Furuta A, Iwamuro S, Tashiro K. Incidence of bone fracture in patients receiving luteinizing hormone-releasing hormone agonists for prostate cancer. *BJU Int.* 2000;86:449-452.

-
- ²³⁵ Warnock JK, Bundren JC, Morris DW. Depressive symptoms associated with gonadotropin-releasing hormone agonists. *Depress Anxiety* 1998;7:171-177
- ²³⁶ Baumgartner RN, Waters DI, Gallagher D, Morley JE, Garry PJ. Predictors of skeletal muscle mass in elderly men and women. *Mech Ageing Dev.* 1999;107:123-136. 270
- ²³⁷ Taaffe DR, Cooper CS, Holloway L, Duret C, Marcus R. Lack of association of anabolic hormone status and muscle strength with regional and whole body bone mineral density in healthy men aged 60-79 years. *Aging (Milano).* 1999;11:4-11.
- ²³⁸ Abbasi AA, Mattson DE, Duthie EH Jr, et al. Predictors of lean body mass and total adipose mass in community-dwelling elderly men and women. *Am J Med Sci.* 1998;315:188-193.
- ²³⁹ Kostka T, Arsac LM, Patricot MC, Berthouze SE, Lacour JR, Bonnefoy M. Leg extensor power and dehydroepiandrosterone sulfate, insulin-like growth factor-I and testosterone in healthy active elderly people. *Eur J Appl Physiol.* 2000;82:83-90.
- ²⁴⁰ Andersson B, Marin P, Lissner L, Vermeulen A, Bjorntorp P. Testosterone concentrations in women and men with NIDDM. *Diabetes Care.* 1994;17:405-411
- ²⁴¹ Defay R, Papoz L, Bamy S, Bonnot-Lours S, Caces E, Simon D. Hormonal status and NIDDM in the European and Melanesian populations of New Caledonia: a case-control study. The CALedonia DIAbetes Mellitus (CALDIA) Study Group. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1998;22:927-934
- ²⁴² Haffner SM, Shaten J, Stern MP, Smith GD, Kuller L. Low levels of sex hormone-binding globulin and testosterone predict the development of non-insulin-dependent diabetes mellitus in men. MRFIT Research Group. Multiple Risk Factor Intervention Trial. *Am J Epidemiol.* 1996;143:889-897.
- ²⁴³ Stellato RK, Feldman HA, Hamdy O, Horton ES, McKinlay JB. Testosterone, sex hormone-binding globulin, and the development of type 2 diabetes in middle-aged men: prospective results from the Massachusetts male aging study. *Diabetes Care.* 2000;23:490-494
- ²⁴⁴ Tibblin G, Adlerberth A, Lindstedt G, Bjorntorp P. The pituitary--gonadal axis and health in elderly men: a study of men born in 1913. *Diabetes.* 1996;45:1605-1609.
- ²⁴⁵ Vermeulen A. Decreased androgen levels and obesity in men. *Ann Med.* 1996;28:13-15.
- ²⁴⁶ Couillard C, Gagnon J, Bergeron J, et al. Contribution of body fatness and adipose tissue distribution to the age variation in plasma steroid hormone concentrations in men: the HERITAGE Family Study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:1026-1031.
- ²⁴⁷ Alexandersen P, Haarbo J, Christiansen C. The relationship of natural androgens to coronary heart disease in males: a review. *Atherosclerosis.* 1996;125:1-13.
- ²⁴⁸ Bagatell CJ, Bremner WJ. Androgen and progestagen effects on plasma lipids. *Prog Cardiovasc Dis.* 1995;38:255-271.
- ²⁴⁹ Barrett-Connor E. Lower endogenous androgen levels and dyslipidemia in men with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Ann Intern Med.* 1992;117:807-811
- ²⁵⁰ Khaw KT, Barrett-Connor E. Endogenous sex hormones, high density lipoprotein cholesterol, and other lipoprotein fractions in men. *Arterioscler Thromb.* 1991; 11:489-494.
- ²⁵¹ Freedman DS, O'Brien TR, Flanders WD, DeStefano F, Barboriak JJ. Relation of serum testosterone levels to high density lipoprotein cholesterol and other characteristics in men. *Arterio,scler Thromb.* 1991;11:307-315.

-
- ²⁵² . Kiel DP, Baron JA, Plymate SR, Chute CG. Sex hormones and lipoproteins in men. *Am J Med.* 1989;87:35-39.
- ²⁵³ Endre T, Mattiasson I, Berglund G, Hulthen UL. Low testosterone and insulin resistance in hypertension-prone men. *J Hum Hypertens.* 1996; 10:755-761.
- ²⁵⁴ Khaw KT, Barrett-Connor E. Blood pressure and endogenous testosterone in men: an inverse relationship. *J Hypertens.* 1988;6:329-332.
- ²⁵⁵ Haffner SM, Valdez RA, Mykkanen L, Stern MP, Katz MS. Decreased testosterone and dehydroepiandrosterone sulfate concentrations are associated with increased insulin and glucose concentrations in nondiabetic men. *Metabolism.* 1994;43:599-603.
- ²⁵⁶ Phillips GB. Relationship between serum sex hormones and the glucose-insulin-lipid defect in men with obesity. *Metabolism.* 1993;42: 116-120.
- ²⁵⁷ De Pergola G, De Mitrio V, Sciaraffia M, et al. Lower androgenicity is associated with higher plasma levels of prothrombotic factors irrespective of age, obesity, body fat distribution, and related metabolic parameters in men. *Metabolism.* 1997;46:1287-1293.
- ²⁵⁸ Jeppesen LL, Jorgensen HS, Nakayama H, Raaschou HO, Olsen TS, Winther K. Decreased serum testosterone in men with acute ischemic stroke. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1996; 16:749-754
- ²⁵⁹ Barrett-Connor E, Khaw KT. Endogenous sex hormones and cardiovascular disease in men. A prospective population-based study. *Circulation.* 1988;78:539-545.
- ²⁶⁰ Barrett-Connor EL. Testosterone and risk factors for cardiovascular disease in men. *Diabete Metab.* 1995;21:156-161.
- ²⁶¹ English KM, Mandour O, Steeds RP, Diver MJ, Jones TH, Charmer KS. Men with coronary artery disease have lower levels of androgens than men with normal coronary angiograms. *Eur Heart J.* 2000;21: 890-894.
- ²⁶² Phillips GB, Pinkernell BH, Jing TY. The association of hypotestosteronemia with coronary artery disease in men. *Arterioscler Thromb.* 1994;14:701-706
- ²⁶³ Simon D, Preziosi P, Barrett-Connor E, et al. Interrelation between plasma testosterone and plasma insulin in healthy adult men: the Telecom Study. *Diabetologia.* 1992;35:173-177.
- ²⁶⁴ Chute CG, Baron JA, Plymate SR, et al. Sex hormones and coronary artery disease. *Am J Med.* 1987;83:853-859.
- ²⁶⁵ Glueck CJ, Glueck HI, Stroop D, Speirs J, Hamer T, Tracy T. Endogenous testosterone, fibrinolysis, and coronary heart disease risk in hyperlipidemic men. *J Lab Clin Med.* 1993; 122:412-420
- ²⁶⁶ Clarke BL, Ebeling PR, Jones JD, et al. Changes in quantitative bone histomorphometry in aging healthy men. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81:2264-2270.
- ²⁶⁷ Foresta C, Ruzza G, Mioni R, et al. Osteoporosis and decline of gonadal function in the elderly male. *Horm Res.* 1984;19:18-22.
- ²⁶⁸ Greendale GA, Edelstein S, Barrett-Connor E. Endogenous sex steroids and bone mineral density in older women and men: the Rancho Bernardo Study. *J Bone Miner Res.* 1997; 12:1833-1843.
- ²⁶⁹ Murphy S, Khaw KT, Cassidy A, Compston JE. Sex hormones and bone mineral density in elderly men. *Bone Miner.* 1993;20:133-140
- ²⁷⁰ Ongphiphadhanakul B, Rajatanavin R, Chanprasertyothin S, Piaseu N, Chailurkit L. Serum oestradiol and oestrogen-receptor gene polymorphism are associated with bone mineral density independently of serum testosterone in normal males. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1998;49: 803-809

-
- ²⁷¹ Rudman D, Drinka PJ, Wilson CR, et al. Relations of endogenous anabolic hormones and physical activity to bone mineral density and lean body mass in elderly men. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1994;40:653-661.
- ²⁷² Scopacasa F, Horowitz M, Wishart JM, Morris HA, Chatterton BE, Need AG. The relation between bone density, free androgen index, and estradiol in men 60 to 70 years old. *Bone*. 2000;27:145-149.
- ²⁷³ Amin S, Zhang Y, Sawin CT, et al. Association of hypogonadism and estradiol levels with bone mineral density in elderly men from the Framingham study. *Ann Intern Med*. 2000;133:951-963
- ²⁷⁴ Martinez Diaz-Guerra G, Hawkins F, Rapado A, Ruiz Diaz MA, Diaz-Curiel M. Hormonal and anthropometric predictors of bone mass in healthy elderly men: major effect of sex hormone binding globulin, parathyroid hormone and body weight. *Osteoporos Int*. 2001;12:178-184.
- ²⁷⁵ Barrett-Connor E, Mueller JE, von Muhlen DG, Laughlin GA, Schneider DI, Sartoris DJ. Low levels of estradiol are associated with vertebral fractures in older men, but not women: the Rancho Bernardo Study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;85:219-223.
- ²⁷⁶ Carani C, Qin K, Simoni M, et al. Effect of testosterone and estradiol in a man with aromatase deficiency. *N Engl J Med*. 1997;337:91-95.
- ²⁷⁷ Grumbach MM, Auchus III. Estrogen: consequences and implications of human mutations in synthesis and action. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999;84:4677-4694.
- ²⁷⁸ Morishima A, Grumbach MM, Simpson ER, Fisher C, Qin K. Aromatase deficiency in male and female siblings caused by a novel mutation and the physiological role of estrogens. *J Clin Endocrinol Metab*. 1995;80:3689-3698.
- ²⁷⁹ Riggs BL, Khosla S, Melton LJ III. A unitary model for involutional osteoporosis: estrogen deficiency causes both type I and type II osteoporosis in postmenopausal women and contributes to bone loss in aging men. *J Bone Miner Res*. 1998; 13:763-773.
- ²⁸⁰ Rochira V, Faustini-Fustini M, Balestrieri A, Carani C. Estrogen replacement therapy in a man with congenital aromatase deficiency: effects of different doses of transdermal estradiol on bone mineral density and hormonal parameters. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;85: 1841-1845.
- ²⁸¹ Smith EP, Boyd J, Frank GR, et al. Estrogen resistance caused by a mutation in the estrogen-receptor gene in a man. *N Engl J Med*. 1994; 331:1056-1061.
- ²⁸² Katz MS. Geriatrics grand rounds: Eve's rib, or a revisionist view of osteoporosis in men. *J Gerontol Med Sci*. 2000;55A:M560-M569.
- ²⁸³ Taxel P, Kennedy D, Fall P, et al. The effect of short-term treatment with micronized estradiol on bone turnover and gonadotrophins in older men. *Endocr Res*. 2000;26:381-398.
- ²⁸⁴ Taxel P, Kennedy DG, Fall PM, Willard AK, Clive JM, Raisz LG. The effect of aromatase inhibition on sex steroids, gonadotropins, and markers of bone turnover in older men. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86:2869-2874.
- ²⁸⁵ Marcus R, Leary D, Schneider DI, Shane E, Favus M, Quigley CA. The contribution of testosterone to skeletal development and maintenance: lessons from the androgen insensitivity syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;85:1032-1037
- ²⁸⁶ Mizunuma H, Soda M, Okano H, et al. Changes in bone mineral density after orchidectomy and hormone replacement therapy in individuals with androgen insensitivity syndrome. *Hum Reprod*. 1998;13:2816-2818.
- ²⁸⁷ Soule SG, Conway G, Prelevic GM, Prentice M, Ginsburg J, Jacobs HS. Osteopenia as a feature of the androgen insensitivity syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1995;43:671-675.

-
- ²⁸⁸ Falahati-Nini A, Riggs BL, Atkinson EJ, O'Fallon WM, Eastell R, Khosla S. Relative contributions of testosterone and estrogen in regulating bone resorption and formation in normal elderly men. *J Clin Invest.* 2000;106:1553-1560.
- ²⁸⁹ Diamond T, Smerdely P, Kormas N, Sekel R, Vu T, Day P. Hip fracture in elderly men: the importance of subclinical vitamin D deficiency and hypogonadism. *MedJ Aust.* 1998;169:138-141.
- ²⁹⁰ Jackson JA, Riggs MW, Spiekerman AM. Testosterone deficiency as a risk factor for hip fractures in men: a case-control study. *Am J Med Sci.* 1992;304:4-8.
- ²⁹¹ Stanley HL, Schmitt BP, Poses RM, Deiss WP. Does hypogonadism contribute to the occurrence of a minimal trauma hip fracture in elderly men? *J Am Geriatr Soc.* 1991;39:766-771.
- ²⁹² Slemenda CW, Longcope C, Zhou L, Hui SL, Peacock M, Johnston CC. Sex steroids and bone mass in older men. Positive associations with serum estrogens and negative associations with androgens. *J Clin Invest.* 1997;100:1755-1759.
- ²⁹³ Ravaglia G, Ford P, Maioli F, et al. Body composition, sex steroids, IGF-I, and bone mineral status in aging men. *J Gerontol Med Sci.* 2000;SSA:M516-M521.
- ²⁹⁴ Barrett-Connor E, Von Muhlen DG, Kritz-Silverstein D. Bioavailable testosterone and depressed mood in older men: the Rancho Bernardo Study. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84:573-577.
- ²⁹⁵ Schiavi RC, White D, Mandeli J. Pituitary-gonadal function during sleep in healthy aging men. *Psychoneuroendocrinology.* 1992;17: 599-609
- ²⁹⁶ Nilsson PM, Moller L, Solstad K. Adverse effects of psychosocial stress on gonadal function and insulin levels in middle-aged males. *J Intern Med.* 1995;217:479-496
- ²⁹⁷ Barrett-Connor E, Goodman-Gruen D, Patay B. Endogenous sex hormones and cognitive function in older men. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84:3681-3685.
- ²⁹⁸²⁹⁸ Christiansen K. Sex hormone-related variations of cognitive performance in !Kong San hunter-gatherers of Namibia. *Neuropsychobiology.* 1993;27:97-107.
- ²⁹⁹ Christiansen K, Knusmann R. Sex hormones and cognitive functioning in men. *Neuropsychobiology.* 1987;18:27-36.
- ³⁰⁰ Silverman I, Kastuk D, Choi J, Phillips K. Testosterone levels and spatial ability in men. *Psychoneuroendocrinology.* 1999;24:813-822
- ³⁰¹ Stenn PG, Klaiber EL, Vogel W, Broverman DM. Testosterone effects upon photic stimulation of the electroencephalogram (EEG) and mental performance of humans. *Percept Mot Skills.* 1972;34:371-378.
- ³⁰² Davidson JM, Chen JJ, Crapo L, Gray GD, Greenleaf WJ, Catania JA. Hormonal changes and sexual function in aging men. *J Clin Endocrinol Metab.* 1983;57:71-77
- ³⁰³ Granata AR, Rochira V, Lerch] A, Marrama P, Carani C. Relationship between sleep-related erections and testosterone levels in men. *J Androl.* 1997;18:522-527.
- ³⁰⁴ Schiavi RC, Fisher C, White D, Beers P, Szechter R. Pituitary--gonadal function during sleep in men with erectile impotence and normal controls. *Psychosom Med.* 1984;46:239-254.
- ³⁰⁵ Schiavi RC, Schreiner-Engel P, White D, Mandeli J. Pituitary--gonadal function during sleep in men with hypoactive sexual desire and in normal controls. *Psychosom Med.* 1988;50:304-318.
- ³⁰⁶ Schiavi RC, Schreiner-Engel P, White D, Mandeli J. The relationship between pituitary-gonadal function and sexual behavior in healthy aging men. *Psycho.som Med.* 1991;53:363-374.

- ³⁰⁷ Schiavi RC, White D, Mandeli J, Schreiner-Engel P. Hormones and nocturnal penile tumescence in healthy aging men. *Arch Sex Behav.* 1993;22:207-215.
- ³⁰⁸ Tsitouras PD, Martin CE, Harman SM. Relationship of serum testosterone to sexual activity in healthy elderly men. *J Gerontol.* 1982;37: 288-293.
- ³⁰⁹ Kraemer HC, Becker HB, Brodie HK, Doering CH, Moos RH, Hamburg DA. Orgasmic frequency and plasma testosterone levels in normal human males. *Arch Sex Behav.* 1976;5:125-132.
- ³¹⁰ Bagatell CJ, Heiman JR, Rivier JE, Bremner WJ. Effects of endogenous testosterone and estradiol on sexual behavior in normal young men. *J Clin Endocrinol Metab.* 1994;78:711-716.
- ³¹¹ Buena F, Swerdloff RS, Steiner BS, et al. Sexual function does not change when serum testosterone levels are pharmacologically varied within the normal male range. *Fertil Steril.* 1993;59:1118-1123.
- ³¹² Kaiser FE, Viosca SP, Morley JE, Mooradian AD, Davis SS, Korenman SG. Impotence and aging: clinical and hormonal factors. *J Am Geriatr Soc.* 1988;36:511-519
- ³¹³ Lue TF. Erectile dysfunction. *N Engl J Med.* 2000;342:1802-1813. 351.
- ³¹⁴ Field AE, Colditz GA, Willett WC, Longcope C, McKinlay JB. The relation of smoking, age, relative weight, and dietary intake to serum adrenal steroids, sex hormones, and sex hormone-binding globulin in middle-aged men. *J Clin Endocrinol Metab.* 1994;79:1310-1316.
- ³¹⁵ Vermeulen A. Environment, human reproduction, menopause, and andropause. *Environ Health Perspect.* 1993; 101:91-100.
- ³¹⁶ Vermeulen A, Kaufman JM. Ageing of the hypothalamo-pituitary--testicular axis in men. *Horm Res.* 1995;43:25-28.
- ³¹⁷ Harper KD, Weber TJ. Secondary osteoporosis. Diagnostic considerations. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 1998;27:325-348.
- ³¹⁸ Morley JE, Kaiser FE, Sih R, Hajjar R, Perry HM III. Testosterone and frailty. *Clin Geriatr Med.* 1997;13:685-695.
- ³¹⁹ Fried LP, Tangen CM, Walston J, et al. Frailty in older adults: evidence for a phenotype. *J Gerontol Med Sci.* 2001 ;56A:MI46-M156.
- ³²⁰ Hodes RJ. Frailty and disability: can growth hormone or other trophic agents make a difference? *J Am Geriatr Soc.* 1994;42:1208-1211
- ³²¹ Tenover JS. Testosterone for all? Proceedings of The Endocrine Society 80th Annual Meeting; June 24-27, 1998; New Orleans, LA. Bethesda, MD: The Endocrine Society: 1998:24. Abstract S28-22.
- ³²² Urban RJ, Bodenbun YH, Gilkison C, et al. Testosterone administration to elderly men increases skeletal muscle strength and protein synthesis. *Am J Physiol.* 1995;269:E820-E826.
- ³²³ Marin P. Androgen treatment of abdominally obese men. *Obes Res.* 1993; 1:245-251.
- ³²⁴ Urban RJ, Bodenbun YH, Gilkison C, et al. Testosterone administration to elderly men increases skeletal muscle strength and protein synthesis. *Am J Physiol.* 1995;269:E820-E826.
- ³²⁵ Snyder PJ, Peachey H, Hannoush P, et al. Effect of testosterone treatment on body composition and muscle strength in men over 65 years of age. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84:2647-2653.
- ³²⁶ Gentili A, Mulligan T, Godschalk M, et al. Testosterone supplementation increases growth hormone secretion in older men [abstract]. Proceedings of The Endocrine Society

82nd Annual Meeting; June 21-24, 2000; Toronto, Canada. Bethesda. MD: The Endocrine Society: 2000. n. 470 [Abstract 1944].

³²⁷ Bebb RA, Anawalt BA, Wade J, et al. A randomized, double-blind, placebo controlled trial of testosterone undecanoate administration in aging hypogonadal men: effects on bone density and body composition [abstract]. Proceedings of The Endocrine Society 83rd Annual Meeting; June 20-23, 2001; Denver. CO. Bethesda, MD: The Endocrine Society; 2001:100. Abstract OR124-105

³²⁸ Kenny AM, Prestwood KM, Gruman CA, Marcello KM, Raisz LG. Effects of transdermal testosterone on bone and muscle in older men with low bioavailable testosterone levels. *J Gerontol Med Sci.* 2001; 56A:M266-M272.

³²⁹ Holmang S, Marin P, Lindstedt G, Hedelin H. Effect of long-term oral testosterone undecanoate treatment on prostate volume and serum prostate-specific antigen concentration in eugonadal middleaged men. *Prostate.* 1993;23:99-106.

³³⁰ Nankin HR, Lin T, Osterman J. Chronic testosterone cypionate therapy in men with secondary impotence. *Fertil Steril.* 1986;46:300307

³³¹ Hajjar RR, Kaiser FE, Morley JE. Outcomes of long-term testosterone replacement in older hypogonadal males: a retrospective analysis. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82:3793-3796.

³³² Seidman SN, Spatz E, Rizzo C, Roose SP. Testosterone replacement therapy for hypogonadal men with major depressive disorder: a randomized, placebo-controlled clinical trial. *J Clin Psychiatry.* 2001; 62:406-412

³³³ Janowsky JS, Chavez B, Orwoll E. Sex steroids modify working memory. *J Cogn Neurosci.* 2000; 12:407-414.

³³⁴ Janowsky JS, Oviatt SK, Orwoll ES. Testosterone influences spatial cognition in older men. *Behav Neurosci.* 1994; 108:325-332

³³⁵ Wolf OT, Preut R, Hellhammer DH, Kudielka BM, Schurmeyer TH, Kirschbaum C. Testosterone and cognition in elderly men: a single testosterone injection blocks the practice effect in verbal fluency, but has no effect on spatial or verbal memory. *Biol Psychiatry.* 2000;47: 650-654

³³⁶ Marin P, Oden B, Bjorntorp Is. Assimilation and mobilization of triglycerides in subcutaneous abdominal and femoral adipose tissue in vivo in men: effects of androgens. *J Clin Endocrinol Metab.* 1995;80: 239-243

³³⁷ English KM, Steeds RP, Jones TH, Diver MJ, Charmer KS. Lowdose transdermal testosterone therapy improves angina threshold in men with chronic stable angina: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Circulation.* 2000;102:1906-1911.

³³⁸ Bassil, Saad Alkaade, John E Morley The benefits and risks of testosterone replacement therapy: a review *Nazem Ther Clin Risk Manag.* 2009; 5: 427-448

³⁴⁰ Gustavo F. Gonzales, Manuel Gasco, Vilma Tapia, Cynthia Gonzales-Castañeda High serum testosterone levels are associated with excessive erythrocytosis of chronic mountain sickness in men. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2009 June; 296(6): E1319 E1325.

³⁴¹ Ernani Luis Rhoden, M.D., and Abraham Morgentaler. Risks of Testosterone-Replacement Therapy and Recommendations for Monitoring *N Engl J Med* 2004; 350:482-492

³⁴² Andrea D. Coviello, Beth Kaplan, Kishore M. Lakshman, Tai Chen, Atam B. Singh, Shalender Bhasin Effects of Graded Doses of Testosterone on Erythropoiesis in Healthy Young and Older Men *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* March 1, 2008 vol. 93 no. 3 914-919

-
- ³⁴³ R. S. Swerdloff and C. Wang Three-year follow-up of androgen treatment in hypogonadal men: preliminary report with testosterone gel *The Aging Male* 2003 6:3, 207-211
- ³⁴⁴ Luigi Ferrucci, Marcello Maggio, Stefania Bandinelli, Shehzad Basaria, Fulvio Lauretani, Alessandro Ble, Giorgio Valenti, William B. Ershler, Jack M. Guralnik, Dan L. Longo. Low Testosterone Levels and the Risk of Anemia in Older Men and Women *Arch Intern Med.* 2006;166:1380-1388.
- ³⁴⁵ Nasrollah T. Shahidi. Androgens and Erythropoiesis *N Engl J Med* 1973; 289:72-80 July 12, 1973
- ³⁴⁶ Matsumoto AM, Sandblom RE, Schoene RB, et al. Testosterone replacement in hypogonadal men: effects on obstructive sleep apnoea, respiratory drives, and sleep. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1985;22:713-721
- ³⁴⁷ Schneider BK, Pickett CK, Zwillich CW, et al. Influence of testosterone on breathing during sleep. *J Appl Physiol.* 1986;61:618-623
- ³⁴⁸ Grunstein RR, Handelsman DJ, Lawrence SJ, Blackwell C, Caterson ID, Sullivan CE. Neuroendocrine dysfunction in sleep apnea: reversal by continuous positive airways pressure therapy. *J Clin Endocrinol Metab.* 1989;68:352-358.
- ³⁴⁹ Santamaria JD, Prior JC, Fleetham JA. Reversible reproductive dysfunction in men with obstructive sleep apnoea. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1988;28:461-470.
- ³⁵⁰ Johns MW. A new method for measuring daytime sleepiness: the Epworth Sleepiness Scale. *Sleep.* 1991;14:540-545.
- ³⁵¹ Johns MW. Reliability and factor analysis of the Epworth Sleepiness Scale. *Sleep.* 1992;15:376-381
- ³⁵² Johns MW. Daytime sleepiness, snoring, and obstructive sleep apnea. The Epworth Sleepiness Scale. *Chest.* 1993;103:30-36.
- ³⁵³ Netzer NC, Stoohs RA, Netzer CM, Clark K, Strohl KP. Using the Berlin Questionnaire to identify patients at risk for the sleep apnea syndrome. *Ann Intern Med.* 1999; 131:485-491.
- ³⁵⁴ Gann PH, Hennekens CH, Longcope C, Verhoek-Oftedahl W, Grodstein F, Stampfer MJ. A prospective study of plasma hormone levels, nonhormonal factors, and development of benign prostatic hyperplasia. *Prostate.* 1995;26:40-49.
- ³⁵⁵ Hulka BS, Hammond JE, DiFerdinando G, et al. Serum hormone levels among patients with prostatic carcinoma or benign prostatic hyperplasia and clinic controls. *Prostate.* 1987;11:171-182.
- ³⁵⁶ Partin AW, Oesterling JE, Epstein JI, Horton R, Walsh PC. Influence of age and endocrine factors on the volume of benign prostatic hyperplasia. *J Urol.* 1991 145:405-409.
- ³⁵⁷ A. Barqawi and E. D. Crawford Testosterone Replacement Therapy and Prostate Cancer: The Effect of Testosterone Replacement on PSA and Prostate Volume *Int J Impot Res.* 2006;18(4):323-328.
- ³⁵⁸ David A. Svetec, Edith D. Canby, Ian M. Thompson, Edmund S. Sabanegh Jr. The effect of parenteral testosterone replacement on prostate specific antigen in hypogonadal men with erectile dysfunction. *The Journal of Urology*, November 1997, Volume 158, Issue 5, 1775-1777
- ³⁵⁹ Roger D Stanworth, Dheeraj Kapoor, Kevin S Channer, Hugh Jones Testosterone levels correlate positively with HDL cholesterol levels in men with Type 2 diabetes. *Endocrine Abstracts* 2007:14 P628
- ³⁶⁰ C. J. Bagatell, W. J. Bremner V. The Effects of Aging and Testosterone on Lipids and Cardiovascular Risk *JCEM* 1998 83: 3440-3441

- ³⁶¹ Karen L. Herbst, John K. Amory, John D. Brunzell, Howard A. Chansky, William J. Bremner Testosterone administration to men increases hepatic lipase activity and decreases HDL and LDL size in 3 wk *Am J Physiol Endocrinol Metab* June 1, 2003 284:(6) E1112-E1118
- ³⁶² Carr BR, Parker CR Jr, Ohashi M, MacDonald PC, Simpson ER. Regulation of human fetal testicular secretion of testosterone: low-density lipoprotein-cholesterol and cholesterol synthesized de novo as steroid precursor. *Am J Obstet Gynecol.*1983 Jun 1;146(3):241-7.
- ³⁶³ Chahla EJ, Hayek ME, Morley JE. Testosterone replacement therapy and cardiovascular risk factors modification. *Aging Male.* 2011 Jun;14(2):83-90.
- ³⁶⁴ E. P. McCullagh, H. R. Rossmiller. Methyltestosterone i., androgenic effects and the production of gynecomastia and oligospermia *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* June 1, 1941 vol. 1 no. 6 496-502
- ³⁶⁵ Rolf C, Nieschlag E. Potential adverse effects of long-term testosterone therapy. *Baillieres Clin Endocrinol Metab.* 1998;12:521-534.
- ³⁶⁶ . Fowler JE Jr, Whitmore WF Jr. The response of metastatic adenocarcinoma of the prostate to exogenous testosterone. *J Urol.* 1981;126: 372-375.
- ³⁶⁷ Breslow N, Chan CW, Dhom G, et al. Latent carcinoma of prostate at autopsy in seven areas. The International Agency for Research on Cancer, Lyons, France. *Int J Cancer.* 1977;20:680-688
- ³⁶⁸ Carter HB, Pearson JD, Metter EJ, et al. Longitudinal evaluation of serum androgen levels in men with and without prostate cancer. *Prostate.* 1995;27:25-31
- ³⁶⁹ de Jong FH, Oishi K, Hayes RB, et al. Peripheral hormone levels in controls and patients with prostatic cancer or benign prostatic hyperplasia: results from the Dutch-Japanese case-control study. *Cancer Res.* 1991;51:3445-3450.
- ³⁷⁰ Mohr BA, Feldman HA, Kalish LA, Longcope C, McKinlay JB. Are serum hormones associated with the risk of prostate cancer? Prospective results from the Massachusetts Male Aging Study. *Urology.* 2001;57:930-935.
- ³⁷¹ Hoffman MA, DeWolf WC, Morgentaler A. Is low serum free testosterone a marker for high grade prostate cancer? *J Urol.* 2000; 163: 824-827.
- ³⁷² Gann PH, Hennekens CH, Ma J, Longcope C, Stampfer MJ. Prospective study of sex hormone levels and risk of prostate cancer. *J Natl Cancer Inst.* 1996;88:1118-1126.
- ³⁷³ . Morgentaler A, Bruning CO III, DeWolf WC. Occult prostate cancer in men with low serum testosterone levels. *JAMA.* 1996;276:1904-1906.
- ³⁷⁴ Catalona WJ, Smith DS, Ornstein DK. Prostate cancer detection in men with serum PSA concentrations of 2.6 to 4.0 ng/mL and benign prostate examination. Enhancement of specificity with free PSA measurements. *JAMA.* 1997;277:1452-1455.
- ³⁷⁵ Behre HM, Bohmeyer J, Nieschlag E. Prostate volume in testosterone-treated and untreated hypogonadal men in comparison to age-matched normal controls. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1994;40:341-349.
- ³⁷⁶ Meikle AW, Arver S, Dobs AS, et al. Prostate size in hypogonadal men treated with a nonscrotal permeation-enhanced testosterone transdermal system. *Urology.* 1997;49:191-196.
- ³⁷⁷ Tenover JS. Effect of testosterone (T) and 5alpha-reductase inhibitor (5-ARI) administration on the responses to a sexual function questionnaire in older men [abstract]. *Proceedings of the American Society of Andrology 17th Annual Meeting; March 27-30, 1992; Bethesda, MD. Philadelphia, PA: J.B. Lippincott Company; 1992:P-50. Abstract 129.*

- ³⁷⁸ Gormley GJ, Stoner E, Bruskewitz RC, et al. The effect of finasteride in men with benign prostatic hyperplasia. The Finasteride Study Group. *N Engl J Med*. 1992;327:1185-1191.
- ³⁷⁹ Bagatell CJ, Heiman JR, Matsumoto AM, Rivier JE, Bremner WJ. Metabolic and behavioral effects of high-dose, exogenous testosterone in healthy men. *J Clin Endocrinol Metab*. 1994;79:561-567.
- ³⁸⁰ Bagatell CJ, Knopp RH, Vale WW, Rivier JE, Bremner WJ. Physiologic testosterone levels in normal men suppress high-density lipoprotein cholesterol levels. *Ann Intern Med*. 1992;116:967-973.
- ³⁸¹ Goldberg RB, Rabin D, Alexander AN, Doelle GC, Getz GS. Suppression of plasma testosterone leads to an increase in serum total and high density lipoprotein cholesterol and apoproteins A-I and B. *J Clin Endocrinol Metab*. 1985;60:203-207.
- ³⁸² Jockenhovel F, Bullmann C, Schubert M, et al. Influence of various modes of androgen substitution on serum lipids and lipoproteins in hypogonadal men. *Metabolism*. 1999;48:590-596.
- ³⁸³ Meriggiola MC, Marcovina S, Paulsen CA, Bremner WJ. Testosterone enanthate at a dose of 200 mg/week decreases HDL-cholesterol levels in healthy men. *Int J Androl*. 1995;18:237-242.
- ³⁸⁴ Thompson PD, Cullinane EM, Sady SP, et al. Contrasting effects of testosterone and stanozolol on serum lipoprotein levels. *JAMA*. 1989; 261:1165-1168.
- ³⁸⁵ Webb CM, McNeill JG, Hayward CS, de Zeigler D, Collins P. Effects of testosterone on coronary vasomotor regulation in men with coronary heart disease. *Circulation*. 1999; 100: 1690-1696.
- ³⁸⁶ Amory JK, Chansky HC, Anawalt BA, Matsumoto AM, Bremner WJ. Supraphysiologic androgen administration in elderly men undergoing joint replacement surgery [abstract]. *J Androl(Suppl)*. Proceedings of the VIIth International Congress of Andrology: June 15-19, 2001. San Francisco, CA: American Society of Anthology; 2001:175. Abstract P 175/176-084.
- ³⁸⁷ Webb CM, Adamson DL, de Zeigler D, Collins P. Effect of acute testosterone on myocardial ischemia in men with coronary artery disease. *Am J Cardiol*. 1999;83:437-439.
- ³⁸⁸ Morley JE, Perry HM III, Kaiser FE, et al. Effects of testosterone replacement therapy in old hypogonadal males: a preliminary study. *J Am Geriatr Soc*. 1993;41:149-152
- ³⁸⁹ Sih R, Morley JE, Kaiser FE, Perry HM III, Patrick P, Ross C. Testosterone replacement in older hypogonadal men: a 12-month randomized controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82: 1661-1667
- ³⁹⁰ Snyder PJ, Peachey H, Hannoush P, et al. Effect of testosterone treatment on bone mineral density in men over 65 years of age. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999;84:1966-1972.
- ³⁹¹ Morley JE, Charlton E, Patrick P, et al. Validation of a screening questionnaire for androgen deficiency in aging males. *Metabolism*. 2000;49:1239-1242.
- ³⁹² Drinka PJ, Voeks S, Bauwens S, Binkley N. Sensitivity and positive predictive value of clinical signs of hypogonadism in elderly men. *South Med J*. 1993;86:1264-1265.
- ³⁹³ Greenblatt RB, Nezhat C, Roesel RA, Natrajan PK. Update on the male and female climateric. *J Am Geriatr Soc*. 1979;27:481-490.
- ³⁹⁴ Wu CY, Yu TJ, Chen MJ. Age related testosterone level changes and male andropause syndrome. *Changcheng Yi Xue Za Zhi*. 2000;23:348353
- ³⁹⁵ Morales A, Bain J, Ruijs A, Chapdelaine A, Tremblay RR. Clinical practice guidelines for screening and monitoring male patients receiving testosterone supplementation therapy. *Int J Impot Res*. 1996; 8:95-97

- ³⁹⁶ Smith KW, Feldman HA, McKinlay JB. Construction and field validation of a self-administered screener for testosterone deficiency (hypogonadism) in ageing men. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2000;53:703--711.
- ³⁹⁷ Swerdloff RS, Blackman MR, Cunningham GR, et al. Summary of the Consensus Session from the 1st Annual Andropause Consensus 2000 Meeting. Bethesda, MD: The Endocrine Society; 2000:1-6.
- ³⁹⁸ Vermeulen A, Verdonck L, Kaufman JM. A critical evaluation of simple methods for the estimation of free testosterone in serum. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999;84:3666-3672.
- ³⁹⁹ Bhasin S, Bremner WJ. Clinical review 85: emerging issues in androgen replacement therapy. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82:3-8.
- ⁴⁰⁰ Spratt DI, O'Dea LS, Schoenfeld D, Butler J, Rao PN, Crowley WF Jr. Neuroendocrine-gonadal axis in men: frequent sampling of LH, FSH, and testosterone. *Am J Physiol*. 1988;254:E658-E666.
- ⁴⁰¹ Vermeulen A. Androgen replacement therapy in the aging male—a critical evaluation. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86:2380-2390.
- ⁴⁰² M. T. Haren, J. E. Morley, I. M. Chapman, P. D. O'Loughlin and G. A. Wittert Defining 'relative' androgen deficiency in aging men: how should testosterone be measured and what are the relationships between androgen levels and physical, sexual and emotional health? *Climacteric* 2002, Vol. 5, No. 1 :15-25
- ⁴⁰³ Snyder PJ. Effects of age on testicular function and consequences of testosterone treatment. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86:2369-2372.
- ⁴⁰⁴ Bhasin S, Buckwalter JG. Testosterone supplementation in older men: a rational idea whose time has not yet come. *J Androl*. 2001;22: 718-731.
- ⁴⁰⁵ Basaria S, Dobs AS. Hypogonadism and androgen replacement therapy in elderly men. *Am J Med*. 2001;110:563-572
- ⁴⁰⁶ Morley JE. Androgens and aging. *Maturitas*. 2001;38:61-71; discussion 71-73.
- ⁴⁰⁷ Tremblay RR, Morales A. Canadian practice recommendations for screening, monitoring and treating men affected by andropause or partial androgen deficiency. *The Aging Male*. 1998;1:213-218.
- ⁴⁰⁸ Matsumoto AM. Clinical use and abuse of androgens and antiandrogens. In: Becker KL, ed. *Principles and Practice of Endocrinology and Metabolism*, 3rd edition. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2001:1181-1200.
- ⁴⁰⁹ Snyder PJ, Lawrence DA. Treatment of male hypogonadism with testosterone enanthate. *J Clin Endocrinol Metab*. 1980;51:1335-1339
- ⁴¹⁰ Mary-Anne Mackey, Ann J. Conway, David J. Handelsman Andrology: Tolerability of intramuscular injections of testosterone ester in oil vehicle *Hum. Reprod.* (1995) 10 (4): 862-865.
- ⁴¹¹ Hermann M. Behre, Sigrid Von Eckardstein, Sabine Kliesch, Eberhard Nieschlag Long-term substitution therapy of hypogonadal men with transscrotal testosterone over 7–10 years. *Clinical Endocrinology* 1999 Volume 50(5); 629–635.
- ⁴¹² Olga M. Calof ,Atam B. Singh, Martin L. Lee , Anne M. Kenny , Randall J. Urban, Joyce L. Tenover, Shalender Bhasin. Adverse Events Associated With Testosterone Replacement in Middle-Aged and Older Men: A Meta-Analysis of Randomized, Placebo-Controlled Trials. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* (2005) 60 (11): 1451-1457.
- ⁴¹³ Ellyin FM, Gall EP, Akbar A, Paclibare LV. The safety and beneficial effects of low dose testosterone in the aging male hormone replacement. *Proceedings of The Endocrine Society 83rd Annual Meeting*; June 20-23, 2001; Denver, CO. Bethesda, MD: The Endocrine Society; 2001:240. Abstract P241-430.

-
- ⁴¹⁴ Amory JK, Matsumoto AM. The therapeutic potential of testosterone patches. *Expert Opin Invest Drugs*. 1998;7:1977-1988.
- ⁴¹⁵ McClellan KJ, Goa KL. Transdermal testosterone. *Drugs*. 1998;55: 253-258; discussion 259.
- ⁴¹⁶ Adrian S. Dobs, A. Wayne Meikle, Stefan Arver, Steven W. Sanders, Kim E. Caramelli, Norman A. Mazer. Pharmacokinetics, Efficacy, and Safety of a Permeation-Enhanced Testosterone Transdermal System in Comparison with Bi-Weekly Injections of Testosterone Enanthate for the Treatment of Hypogonadal Men. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* October 1, 1999 vol. 84 no. 10 3469-3478
- ⁴¹⁷ Z Yu, SK Gupta, SS Hwang, MS Kipnes, AD Mooradian, PJ Snyder, LE Atkinson Testosterone pharmacokinetics after application of an investigational transdermal system in hypogonadal men. *J Clin Pharmacol* December 1, 1997 vol. 37 no. 12 1139-1145.
- ⁴¹⁸ A W Meikle, S Arver, A S Dobs, S W Sanders, L Rajaram, N A Mazer Pharmacokinetics and metabolism of a permeation-enhanced testosterone transdermal system in hypogonadal men: influence of application site--a clinical research center study. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* May 1, 1996 vol. 81 no. 5 1832-1840.
- ⁴¹⁹ Bennett NJ. A burn-like lesion caused by a testosterone transdermal system. *Burns*. 1998;24:478-480.
- ⁴²⁰ Buckley DA, Wilkinson SM, Higgins EM. Contact allergy to a testosterone patch. *Contact Dermatitis*. 1998;39:91-92.
- ⁴²¹ Dobs AS, Bachorik PS, Arver S, et al. Interrelationships among lipoprotein levels, sex hormones, anthropometric parameters, and age in hypogonadal men treated for 1 year with a permeation-enhanced testosterone transdermal system. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86: 1026-1033.
- ⁴²² Wilson DE, Kaidbey K, Boike SC, Jorkasky DK. Use of topical corticosteroid pretreatment to reduce the incidence and severity of skin reactions associated with testosterone transdermal therapy. *Clin Ther*. 1998;20:299-306.
- ⁴²³ Basaria S.; Dobs A.S. New Modalities of Transdermal Testosterone Replacement Treatments in *Endocrinology*, Volume 2, Number 1, 2003 , pp. 1-9(9).
- ⁴²⁴ LG Gomella Testosterone (AndroGel, Androderm, Striant, Testim, Testoderm)[CIII] 2007 -The McGraw-Hill Companies . www.accessmedicine.com
- ⁴²⁵ Swerdloff RS, Wang C, Cunningham G, et al. Long-term pharmacokinetics of transdermal testosterone gel in hypogonadal men. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;85:4500-4510.
- ⁴²⁶ Wang C, Berman N, Longstreth JA, et al. Pharmacokinetics of transdermal testosterone gel in hypogonadal men: application of gel at one site versus four sites: a General Clinical Research Center Study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;85:964-969.
- ⁴²⁷ James D. Scott, Peter R. Wolfe, Peter Anderson, Gary R. Cohan, Anthony Scarsella. Prospective Study of Topical Testosterone Gel (AndroGel) Versus Intramuscular Testosterone in Testosterone-Deficient HIV-Infected Men. *HIV Clinical Trials* 2007(6);412-420
- ⁴²⁸ Zak PJ, Kurzban R, Ahmadi S, Swerdloff RS, Park J, et al. (2009) Testosterone Administration Decreases Generosity in the Ultimatum Game. *PLoS ONE* 4(12): e8330.
- ⁴²⁹ Hermann M. Behre, Lothar Heinemann, Alvaro Morales Rationale, design and methods of the ESPRIT study: Energy, Sexual desire and body Proportions with AndroGel®, Testosterone 1% gel therapy, in hypogonadal men. *The Aging Male* 2008, Vol. 11, No. 2 ,101-106.

- ⁴³⁰ Matsumoto AM. Clinical use and abuse of androgens and antiandrogens. In: Becker KL, ed. Principles and Practice of Endocrinology and Metabolism, 3rd edition. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2001:1181-1200.
- ⁴³¹ Zhan-jun YANG, Wei-san YE, Lan WANG, Yan GUO, She-pu XUE, Antifertility Effects of Orally Administration of Low Dose Gossypol Acetic Acid Combined with Methyltestosterone Plus Ethinyl Estradiol on Male Rat Journal of Reproduction and Contraception. Volume 19, Issue 4, December 2008, Pages 201-210
- ⁴³² Gooren LU. A ten-year safety study of the oral androgen testosterone undecanoate. J Androl. 1994;15:212-215.
- ⁴³³ A. Morales, E. Nieschlag, M. Schubert, A. A. Yassin, M. Zitzmann and M. Oettel. Clinical experience with the new long-acting injectable testosterone undecanoate. Report on the educational symposium on the occasion of the 5th World Congress on the Aging Male, 9–12 February 2006, Salzburg, Austria The Aging Male 2006 9:4, 221-227.
- ⁴³⁴ Horst, H. -J. Höltje, W. J. Dennis, M. Coert, A. Geelen, J. Voigt, K. D. Lymphatic absorption and metabolism of orally administered testosterone undecanoate in man Journal of Molecular Medicine 1976, 54(18), 875-879
- ⁴³⁵ Christina Wang, Ronald Swerdloff, Mark Kipnes, Alvin M. Matsumoto, Adrian S. Dobs, Glenn Cunningham, Laurence Katznelson, Thomas J. Weber, Theodore C. Friedman, Peter Snyder, Howard L. Levine. New Testosterone Buccal System (Striant) Delivers Physiological Testosterone Levels: Pharmacokinetics Study in Hypogonadal Men The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism August 1, 2004 vol. 89 no. 8 3821-3829
- ⁴³⁶ Adrian S. Dobs, Donald R. Hoover, Min-Chi Chen, Richard Allen Pharmacokinetic Characteristics, Efficacy, and Safety of Buccal Testosterone in Hypogonadal Males: A Pilot Study. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism January 1, 1998 vol. 83 no. 1 33-39
- ⁴³⁷ V. L. Gay and J. T. Kerlan Serum LH and FSH following Passive Immunization Against Circulating Testosterone in the Intact Male Rat and in Orchidectomized Rats Bearing Subcutaneous Silastic Implants of Testosterone Systems Biology in Reproductive Medicine 1978 1:3, 257-266.
- ⁴³⁸ M. Brincat, J. W. W. Studd, T. O'Dowd, A. Magos, L. D. Cardozo, P. J. Wardle and D. Cooper. Subcutaneous Hormone Implants for the Control of Climacteric Symptoms: A Prospective Study. The Lancet Volume 323, Issue 8367, 7 January 1984, Pages 16-18
- ⁴³⁹ Bhasin S, Jasuja R. Selective androgen receptor modulators as function promoting therapies. Curr Opin Clin Nutr Metab Care. 2009 May;12(3):232-40.
- ⁴⁴⁰ Yarrow JF, Conover CF, McCoy SC, Lipinska JA, Santillana CA, Hance JM, CannadyDF, VanPelt TD, Sanchez J, Conrad BP, Pingel JE, Wronski TJ, Borst SE. 17 β -Hydroxyestra-4,9,11-trien-3-one (trenbolone) exhibits tissue selective anabolic activity: effects on muscle, bone, adiposity, hemoglobin, and prostate. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2011, Apr;300(4):E650-60. Epub 2011 Jan 25.
- ⁴⁴¹ Furuya K. Bone and Men's Health. Bone selective androgen receptor modulators. Clin Calcium. 2010 Feb;20(2):225-33.
- ⁴⁴² Kudwa AE, López FJ, McGivern RF, Handa RJ. A selective androgen receptor modulator enhances male-directed sexual preference, proceptive behavior, and lordosis behavior in sexually experienced, but not sexually naive, female rats. Endocrinology. 2010 Jun;151(6):2659-68. Epub 2010 Apr 14.
- ⁴⁴³ Miller CP, Bhaket P, Muthukaman N, Lyttle CR, Shomali M, Gallacher K, Slocum C, Hattersley G. Bioorg Med Chem Lett. Synthesis of potent, substituted carbazoles as

selective androgen receptor modulators (SARMs). 2010 Dec 15;20(24):7516-20. Epub 2010 Oct 7.

⁴⁴⁴ Schmidt A, Kimmel DB, Bai C, Scafonas A, Rutledge S, Vogel RL, McElwee-Witmer S, Chen F, Nantermet PV, Kasparcova V, Leu CT, Zhang HZ, Duggan ME, Gentile MA, Hodor P, Pennypacker B, Masarachia P, Opas EE, Adamski SA, Cusick TE, Wang J, Mitchell HJ, Kim Y, Prueksaritanont T, Perkins JJ, Meissner RS, Hartman GD, Freedman LP, Harada S, Ray WJ. Discovery of the selective androgen receptor modulator MK-0773 using a rational development strategy based on differential transcriptional requirements for androgenic anabolism versus reproductive physiology. *J Biol Chem.* 2010 May 28;285(22):17054-64. Epub 2010 Mar 31.

⁴⁴⁵ Cummings DE, Kumar N, Bardin CW, Sundaram K, Bremner WJ. Prostate-sparing effects in primates of the potent androgen 7 alpha-methyl-19-nortestosterone: a potential alternative to testosterone for androgen replacement and male contraception. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83:4212-4219.

⁴⁴⁶ Kumar N, Didolkar AK, Monder C, Bardin CW, Sundaram K. The biological activity of 7 alpha-methyl-19-nortestosterone is not amplified in male reproductive tract as is that of testosterone. *Endocrinology.* 1992;130:3677-3683.

⁴⁴⁷ Min L, Yanase T, Tanaka T, Fan W, Nomura M, Kawate H, Okabe T, Takayanagi R, Nawata H. A novel synthetic androgen receptor ligand, S42, works as a selective androgen receptor modulator and possesses metabolic effects with little impact on the prostate. *Endocrinology.* 2009 Dec;150(12):5606-16. Epub 2009 Oct 23

⁴⁴⁸ Anderson RA, Martin CW, Kung AW, et al. 7 Alpha-methyl-19-nortestosterone maintains sexual behavior and mood in hypogonadal men. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84:3556-3562.

⁴⁴⁹ Carter HB, Landis PK, Metter EJ, Fleisher LA, Pearson JD. Prostate specific antigen testing of older men. *J Natl Cancer Inst.* 1999;91: 1733-1737.

⁴⁵⁰ Carter HB. A PSA threshold of 4.0 ng/mL for early detection of prostate cancer: the only rational approach for men 50 years old and older. *Urology.* 2000;55:796-799

⁴⁵¹ Dulish ML. A Castration procedure for the Rabbit, Rat, Hamster and Guinea pig. *The Journal of Zoo Animal Medicine* 1976 Vol.7(1); 8-15.

⁴⁵² Olson M, Bruce J. Ovariectomy, Ovariohysterectomy and Orchiectomy in Rodents and Rabbits. *Can Vet J.* 1986: 27(12); 523-7.

⁴⁵³ Fartes G, Lorenzetti F, Salvador LB, Ortiz V, Dambros M. Antioxidant supplementation decreases the cell death rate in the prostatic stromal tissue of long-term castrated rats. *Int Braz J Urol.* 2012 May-Jun;38(3):419-25.

⁴⁵⁴ Vikram A, Kushwaha S, Jena GB. Relative influence of testosterone and insulin in the regulation of prostatic cell proliferation and growth. *Steroids.* 2011 Mar;76(4):416-23. Epub 2011 Jan 6.

⁴⁵⁵ Sosić-Jurjević B, Filipović B, Ajdzanović V. et al. Subcutaneously administered genistein and daidzein decrease serum cholesterol and increase triglyceride levels in male middle-aged rats. *Exp Biol Med (Maywood)*:2007 Oct;232(9):1222-7.

⁴⁵⁶ Gradosova I, Zivna H, Palicka V. et al. Protective effect of atorvastatin on bone tissue in orchidectomised male albino Wistar rats. *Eur J Pharmacol.* 2012 Mar 15;679(1-3):144-50. Epub 2012 Jan 28.

⁴⁵⁷ Gradosova I, Zivna H, Palicka V. et al. Protective effect of amlodipine on rat bone tissue after orchidectomy. *Pharmacology.* 2012;89(1-2):37-43. Epub 2012 Feb 1.

-
- ⁴⁵⁸ Nemeth N, Kiss F, Magyar Z. et al. Following-up hemorheological consequences of gonadectomy in male and female rats. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2012;50(4):231-43. doi: 10.3233/CH-2011-1430.
- ⁴⁵⁹ Jin P, Wang YH, Peng YG. et al. Effect of PI3K/AKT inhibitor on benign prostate hyperplasia and its mechanism: an experimental study. *Zhonghua Nan Ke Xue.* 2010 Dec;16(12):1068-75.
- ⁴⁶⁰ Fabian M, Niel T, Fishman MJ. Treatment of Paraphilia in Young Adults with Leuprolide Acetate: A Preliminary Case Report Series. *J Forensic Sci,* Nov. 2004, Vol. 49(6): 1-6.
- ⁴⁶¹ Nima S, Gulley L, William L. et al. Androgen Deprivation Therapy for Prostate Cancer. *JAMA.* 2005;294(2):238-44.
- ⁴⁶² Emir L, Dadali M, Sunay M et al. Chemical castration with intratesticular injection of 20% hypertonic saline: A minimally invasive method. *Urol.Oncol.* 2008 Jul-Aug;26(4):392-6. Epub. 2007 Dec 3.
- ⁴⁶³ Richard L. Sprott and Israel Ramirez Animal Models of Aging Research Current Inbred and Hybrid Rat and Mouse Models *ILAR Journal* 1997 Vol 38(3).
- ⁴⁶⁴ Militante, Julius Lombardini, John Age-Related Retinal Degeneration in Animal Models of Aging: Possible Involvement of Taurine Deficiency and Oxidative Stress. *Neurochemical Research* 2004, 29 (1); 151-160
- ⁴⁶⁵ Bakhshi V, Elliott M, Gentili A. Godschalk M, Mulligan T. Testosterone improves rehabilitation outcomes in ill older men. *J Am Geriatr Soc.* 2000;48:550-553.
- ⁴⁶⁶ Benkert O. Witt W, Adam W, Leitz A. Effects of testosterone undecanoate on sexual potency and the hypothalamic-pituitary-gonadal axis of impotent males. *Arch Sex Behav.* 1979;8:471-479.
- ⁴⁶⁷ Blackman MR. Christmas C, O'Connor KG, et al. Effects of growth hormone and/or sex steroid administration on body composition in healthy elderly women and men [abstract]. *Proceedings of The Endocrine Society 81st Annual Meeting; June 12-15, 1999; San Diego, CA.* Bethesda, MD: The Endocrine Society; 1999:391. Abstract P392-523.
- ⁴⁶⁸ Uyanik BS, Ari Z. Gumus B, Yigitoglu MR, Arslan T. Beneficial effects of testosterone undecanoate on the lipoprotein profiles in healthy elderly men. A placebo controlled study. *Jpn Heart J.* 1997; 38:73-82.
- ⁴⁶⁹ Tenover JS. Effects of testosterone supplementation in the aging male. *J Clin Endocrinol Metab.* 1992;75:1092-1098.
- ⁴⁷⁰ Clague JE, Wu FC, Horan MA. Difficulties in measuring the effect of testosterone replacement therapy on muscle function in older men. *Int J Androl,* 1999;22:261-265.
- ⁴⁷¹ Gentili A, Mulligan T. Godschalk M, et al. Testosterone supplementation increases growth hormone secretion in older men [abstract]. *Proceedings of The Endocrine Society 82nd Annual Meeting; June 21-24, 2000; Toronto, Canada.* Bethesda, MD: The Endocrine Society: 2000. n. 470 [Abstract 1944].
- ⁴⁷² Munzer T, Harman SM, Hees P, et al. Effects of GH and/or sex steroid administration on abdominal subcutaneous and visceral fat in healthy aged women and men. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86: 3604-3610
- ⁴⁷³ Christmas C. Harman SM, Munzer T, et al. Effects of growth hormone and/or sex steroid administration on serum lipid profiles in healthy elderly women and men [abstract]. *Proceedings of The Endocrine Society 81st Annual Meeting; June 12-15, 1999; San Diego, CA.* Bethesda, MD: The Endocrine Society; 1999:394. Abstract P392-537.
- ⁴⁷⁴ . Sigler LH, Tulgan J. Treatment of angina pectoris by testosterone propionate. *NY State J Med.* 1943;43:1424-1428.

-
- ⁴⁷⁵ Ong PJ, Patrizi G, Chong WC, Webb CM, Hayward CS, Collins P. Testosterone enhances flow-mediated brachial artery reactivity in men with coronary artery disease. *Am J Cardiol.* 2000;85:269-272.
- ⁴⁷⁶ Rosano GM, Leonardo F, Pagnotta P, et al. Acute anti-ischemic effect of testosterone in men with coronary artery disease. *Circulation.* 1999;99:1666-1670.
- ⁴⁷⁷ Edmond J, Busby-Whitehead MJ, Harman SM, et al. Effects of growth hormone and/or sex steroid administration on aerobic capacity in healthy elderly women and men [abstract]. Proceedings of The Endocrine Society 81st Annual Meeting; June 12-15, 1999; San Diego, CA. Bethesda, MD: The Endocrine Society; 1999;392. Abstract P392-P530.
- ⁴⁷⁸ Ivey FM, Harman SM, Hurley BF, et al. Effects of GH and/or sex steroid administration on thigh muscle and fat by magnetic resonance imaging (MRI) in healthy elderly men and women [abstract]. Proceedings of The Endocrine Society 81st Annual Meeting; June 12-15, 1999; San Diego, CA. Bethesda, MD: The Endocrine Society; 1999; 390. Abstract P392-520.
- ⁴⁷⁹ Kenny AM, Prestwood KM, Gruman CA, Marcello KM, Raisz LG. Effects of transdermal testosterone on bone and muscle in older men with low bioavailable testosterone levels. *J Gerontol Med Sci.* 2001; 56A:M266-M272.
- ⁴⁸⁰ Nankin HR, Lin T, Osterman J. Chronic testosterone cypionate therapy in men with secondary impotence. *Fertil Steril.* 1986;46:300307.
- ⁴⁸¹ Schiavi RC, White D, Mandeli J, Levine AC. Effect of testosterone administration on sexual behavior and mood in men with erectile dysfunction. *Arch Sex Behav.* 1997;26:231-241.
- ⁴⁸² Drinka PJ, Jochen AL, Cuisinier M, Bloom R, Rudman I, Rudman D. Polycythemia as a complication of testosterone replacement therapy in nursing home men with low testosterone levels. *JAm Geriatr Soc.* 1995;43:899-901.
- ⁴⁸³ Brill K, Wellman A, Gentili A, et al. Single and joint impact of onemonth of transdermal testosterone (T) and/or recombinant human growth hormone (rhGH) supplementation on body composition, strength, balance, function, and muscle IGF-1 and androgen gene expression in healthy older men: a prospective randomized doubleblind crossover study [abstract]. Proceedings of The Endocrine Society 82nd Annual Meeting; June 21-24, 2000; Toronto, Canada. Bethesda, MD: The Endocrine Society; 2000:389. Abstract 1647.
- ⁴⁸⁴ Cherrier MM, Asthana S, Plymate S, et al. Testosterone supplementation improves spatial and verbal memory in healthy older men. *Neurology.* 2001;57:80-88.
- ⁴⁸⁵ Janowsky JS, Chavez B, Orwoll E. Sex steroids modify working memory. *J Cogn Neurosci.* 2000; 12:407-414.
- ⁴⁸⁶ Janowsky JS, Oviatt SK, Orwoll ES. Testosterone influences spatial cognition in older men. *Behav Neurosci.* 1994; 108:325-332.
- ⁴⁸⁷ Locasciulli A, Porta F, Vossen JM, Bacigalupo A: Treatment of acquired severe aplastic anaemia (SAA) in children: An analysis of the EBMT-SAA working party (abstract). *Bone Marrow Transplant (Suppl 2)* 4:90, 1989.
- ⁴⁸⁸ Dainiak N: The role of androgens in the treatment of anemia of chronic renal failure. *Semin Nephrol* 5:147, 1985.
- ⁴⁸⁹ Chander S, Choo R, Danjoux C. et al. Effect of androgen suppression on hemoglobin in prostate cancer patients undergoing salvage radiotherapy plus 2-year buserelin acetate for rising PSA after surgery. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2005 Jul 1;62(3):719-24.

-
- ⁴⁹⁰ Eri LM, Tveter KJ. Safety, side effects and patient acceptance of the luteinizing hormone releasing hormone agonist leuprolide in treatment of benign prostatic hyperplasia. *Niger J Clin Pract* 2008 Mar;11(1):1-4.
- ⁴⁹¹ Huggins C, Stevens RE, Jr, Hodges CV: Studies on prostatic cancer: Effects of castration on advanced carcinoma of prostate gland. *Arch Surg* 1941;43:209.
- ⁴⁹² Fonseca R, Rajkumar V, White W. et al. Anemia After Orchiectomy. *Am J of Hematology* 1998;59:230-3.
- ⁴⁹³ Orwake JC, Chukwujama NO, Egbunam BE. Post-orchiectomy anemia in patients with advanced carcinoma of the prostate. *Ren Fail.* 2006;28(4) : 331-5.
- ⁴⁹⁴ Ferreira U, Leitao VA, Denardi F. et al. Intermittent androgen replacement for intense hypogonadism symptoms in castrated patients. *Prostate Cancer Prostatic Dis.* 2006;9(1):39-41.
- ⁴⁹⁵ Voegeli TA, Kurtz A, Grimm MO. et al. Anemia under androgen deprivation: influence of flutamide, cyproteroneacetate and orchiectomy on the erythropoietin system. *Horm Metab Res.* 2005 Feb;37(2):89-93.
- ⁴⁹⁶ Qian LX, Hua LX, Wu HF. et al. Anemia in patients on combined androgen block therapy for prostate cancer. *Asian J Androl.* 2004 Dec;6(4):383-4.
- ⁴⁹⁷ Ferrucci M, Maggio S, Bandinelli S et al. Low testosterone levels and the risk of anemia in older men and women. *Arch. Intern. Med.* 166 (2006):1380-8.
- ⁴⁹⁸ Rhoden EL, Morgentaler A. Risks of testosterone-replacement therapy and recommendations for monitoring. *N Engl.J.Med.* 350 (2004) : 482-92.
- ⁴⁹⁹ M. Hero, S. Wickman, R. Hanhijarvi et al. Pubertal upregulation of erythropoiesis in boys is determined primarily by androgen, *J. Pediatr.* 146 (2005) 245–52.
- ⁵⁰⁰ P.J. Snyder, H. Peachey, J.A. Berlin et al. Effects of testosterone replacement in hypogonadal men, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 85 (2000) 2670–7.
- ⁵⁰¹ E.A. Mirand, A.S. Gordon, Mechanism of estrogen action in erythropoiesis, *Endocrinol.* 78 (1965) 325–32.
- ⁵⁰² B.J. Deroo, K.S. Korach, Estrogen receptors and human disease, *J. Clin. Invest.* 116 (2006) 561–70.
- ⁵⁰³ M. Faustini-Fustini, V. Rochira, C. Carani, Oestrogen deficiency in men: where are we today? *Eur. J. Endocrinol.* 140 (1999) 111–29.
- ⁵⁰⁴ T'Sjoen GG, Beguin Y, Feyen E et al. Influence of exogenous oestrogen or (anti-) androgen administration on soluble transferrin receptor in human plasma. *J Endocrinol* 2005;186:61–67
- ⁵⁰⁵ Miller ME, Chandra M, Garcia JF Clinical applications of measurement of serum immunoreactive levels of erythropoietin. *AnnNYAcad Sci* 1985;459:375–81.
- ⁵⁰⁶ Dickerman RD, Pertusi R, Miller J, Zachariah NY Androgen-induced erythrocytosis: is it erythropoietin? *Am J Hematol* 1999; 61:154–5.
- ⁵⁰⁷ Sanchez-Medal L, Gomez-Leal A, Duarte L. et al. Anabolic androgenic steroids in the treatment of acquired aplastic anemia. *Blood* 1969 34:283–300.
- ⁵⁰⁸ Raich PC, Korst DR Plasma erythropoietin levels in patients undergoing long-term hemodialysis. *Arch Pathol Lab Med* 1978;102:73–5.
- ⁵⁰⁹ Claustres M, Sultan C Androgen and erythropoiesis: evidence for an androgen receptor in erythroblasts from human bone marrow cultures. *Horm Res* 1988;29:17–22.
- ⁵¹⁰ Naets JP, WittekM The mechanism of action of androgens on erythropoiesis. *Ann NY Acad Sci* 1968;149:366–76.
- ⁵¹¹ Bhasin S, Woodhouse L, Casaburi R. et al. Testosterone dose-response relationships in healthy young men. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2001; 281: E1172-E1181.

-
- ⁵¹² Bhasin S, Woodhouse L, Casaburi R. et al. Older men are as responsive as young men to the anabolic effects of graded doses of testosterone on the skeletal muscle. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005 Feb;90(2):678-88.
- ⁵¹³ Bhasin S, Cunningham GR, Hayes FJ. Et al. Testosterone therapy in adult men with androgen deficiency syndromes: an endocrine society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:1995–2010.
- ⁵¹⁴ Calof O, Singh AB, Lee ML. et al. Adverse events associated with testosterone supplementation of older men: a meta-analysis of randomized, placebo-controlled trials. *J Gerontol A Med Sci* 2005; 60:1451–7.
- ⁵¹⁵ Woodman R, Ferrucci L, Guralnik J. Anemia in older adults. *Curr Opin Hematol.* 2005 Mar;12(2):123-8.
- ⁵¹⁶ Carallo C, Pujia A, Irace C. et al. Whole blood viscosity and haematocrit are associated with internal carotid atherosclerosis in men. *Coron Artery Dis* 1998;9:113–7.
- ⁵¹⁷ Henderson J. On the relationship of the thymus to the sexual organs: I. The influence of castration on the thymus. *J Physiol.* 1904; 31:222–229. PubMed: 16992746]
- ⁵¹⁸ Greenstein B, Fitzpatrick F, Adcock I. et al. Reappearance of the thymus in old rats after orchidectomy: inhibition of regeneration by testosterone. *J Endocrinol.* 1986; 110:417–422. PubMed: 3760740
- ⁵¹⁹ Olsen NJ, Watson MB, Henderson GS. Et al. Kovacs WJ. Androgen deprivation induces phenotypic and functional changes in the thymus of adult male mice. *Endocrinology.* 1991 Nov;129(5):2471-6.
- ⁵²⁰ Olsen NJ, Watson MB, Kovacs WJ. Studies of immunological function in mice with defective androgen action. Distinction between alterations in immune function due to hormonal insensitivity and alterations due to other genetic factors. *Immunology.* 1991 May;73(1):52-7.
- ⁵²¹ Olsen N, Watson M, Henderson G. et al. Androgen deprivation induces phenotypic and functional changes in the thymus of adult male mice. *Endocrinology.* 1991; 129:2471–6.
- ⁵²² Sutherland J, Goldberg G, Hammett M. et al. Activation of thymic regeneration in mice and humans following androgen blockade. *J Immunol.* 2005; 175:2741–53.
- ⁵²³ Olsen NJ, Kovacs WJ. Effects of androgens on T and B lymphocyte development. *Immunol Res.* 2001;23(2-3):281-8.
- ⁵²⁴ Olsen NJ, Viselli SM, Fan J. et al. Androgens accelerate thymocyte apoptosis. *Endocrinology.* 1998 Feb;139(2):748-52.
- ⁵²⁵ Viselli SM, Reese KR, Fan J. et al. Androgens alter B cell development in normal male mice. *Cell Immunol.* 1997 Dec 15;182(2):99-104.
- ⁵²⁶ Kumar N, Shan LX, Hardy MP. et al. Mechanism of androgen-induced thymolysis in rats. *Endocrinology.* 1995 Nov;136(11):4887-93.
- ⁵²⁷ Cutolo M, Accardo S, Villaggio B. et al. *Arthritis Rheum.* 1993 Aug;36(8):1087-97. Presence of estrogen-binding sites on macrophage-like synoviocytes and CD8+, CD29+, CD45RO+ T lymphocytes in normal and rheumatoid synovium.
- ⁵²⁸ Cohen JH, Danel L, Cordier G. et al. Sex steroid receptors in peripheral T cells: absence of androgen receptors and restriction of estrogen receptors to OKT8-positive cells. *J Immunol.* 1983 Dec;131(6):2767-71.
- ⁵²⁹ Nancy J, Kovacs J. Evidence That Androgens Modulate Human Thymic T Cell Output *Investig Med.* 2011 January ; 59(1): 32–35.
- ⁵³⁰ Erben RG, Eberle J, Stangassinger M. B lymphopoiesis is upregulated after orchidectomy and is correlated with estradiol but not testosterone serum levels in aged male rats. *Horm Metab Res.* 2001 Aug;33(8):491-8.

-
- ⁵³¹ Yu M, Cao X, Xu J. et al. Effects of testosterone undecanoate as a male contraceptive candidate on rat immunological features. *Immunopharmacol Immunotoxicol.* 2003 Nov;25(4):627-43.
- ⁵³² Fijak M, Schneider E, Klug J. et al. Testosterone replacement effectively inhibits the development of experimental autoimmune orchitis in rats: evidence for a direct role of testosterone on regulatory T cell expansion. *J Immunol.* 2011 May 1;186(9):5162-72.
- ⁵³³ Shiozawa Z, Yamada H, Mabuchi C. et al. Superior sagittal sinus thrombosis associated with androgen therapy for hypoplastic anemia. *Ann Neurol* 1982;12:578–80.
- ⁵³⁴ Jaillard AS, Hommel M, Mallaret M. Venous sinus thrombosis associated with androgens in a healthy young man. *Stroke* 1994;25:212–3.
- ⁵³⁵ Li ShiJun, Li XiaoYing, Li Jian et al. Inhibition of oxidative-stress-induced platelet aggregation by androgen at physiological levels via its receptor is associated with the reduction of thromboxane A2 release from platelets. *Steroids* 72 (2007) 875–80.
- ⁵³⁶ Wattel E, Cambier N, Caulier MT. et al. Androgen therapy in myelodysplastic syndromes with thrombocytopenia: a report on 20 cases. *Br J Haematol* 1994;87:205-8.
- ⁵³⁷ Iijima M, Shigehara K, Sugimoto K. et al. Myelodysplastic syndrome treated effectively with testosterone enanthate. *Int J Urol.* 2011 Jun;18(6):469-71.
- ⁵³⁸ Li AJ, Karlan BY. Androgen Mediation of Thrombocytosis in Epithelial Ovarian Cancer Biology. *Clin Cancer Res* 2005;11:8015-8.
- ⁵³⁹ Sullivan PS, Jackson CW, McDonald TP. Castration decreases thrombocytopoiesis and testosterone restores platelet production in castrated BALB/c mice: evidence that testosterone acts on a bipotential hematopoietic precursor cell. *J Lab Clin Med* 1995; 125:326-33.
- ⁵⁴⁰ Ajayi AA, Halushka PV. Castration reduces platelet thromboxane A2 receptor density and aggregability. *Q J Med* 2005;98:349-56.
- ⁵⁴¹ Khetawat G, Faraday N, Nealen ML, et al. Human megakaryocytes and platelets contain the estrogen receptor β and androgen receptor (AR); testosterone regulates AR expression. *Blood* 2000;95:2289-96.
- ⁵⁴² Vicencio JM, Estrada M, Galvis D. et al. Anabolic androgenic steroids and intracellular calcium signaling: a mini review on mechanisms and physiological implications. *Mini Rev Med Chem.* 2011 May;11(5):390-8.
- ⁵⁴³ Kapoor D, Malkin CJ, Channer KS. et al. Androgens, insulin resistance and vascular disease in men. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2005 Sep;63(3):239-50.
- ⁵⁴⁴ Pasquali R, Casimirri F, Balestra V. et al. The relative contribution of androgens and insulin in determining abdominal body fat distribution in premenopausal women. *J Endocrinol Invest.* 1991 Nov;14(10):839-46.
- ⁵⁴⁵ Barrett-Connor E. Lower endogenous androgen levels and dyslipidemia in men with noninsulin-dependent diabetes-mellitus. *Ann Intern Med.* 1992; 117:807-11.
- ⁵⁴⁶ Vermeulen A, Kaufman JM, Goemaere S et al. Estradiol in elderly men. *Aging Male.* 2002 Jun;5(2):98-102.
- ⁵⁴⁷ Singh R, Artaza JN, Taylor WE. Androgens stimulate myogenic differentiation and inhibit adipogenesis in C3H10T1/2 pluripotent cells through an androgen receptor-mediated pathway. *Endocrinology.* 2003 Nov;144(11):5081-8. Epub 2003 Jul 24.
- ⁵⁴⁸ De Pergola G. The adipose tissue metabolism: role of testosterone and dehydroepiandrosterone. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2000 Jun;24 Suppl 2:S59-63.

- ⁵⁴⁹ Yanase T, Fan W, Kyoya K. et al. Androgens and metabolic syndrome: lessons from androgen receptor knock out (ARKO)mice. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2008 Apr;109(3-5):254-7. Epub 2008 Mar 13.
- ⁵⁵⁰ Fontbonne A, Papoz L, Eschwege E. et al. Features of insulin-resistance syndrome in men from French Caribbean Islands. The Telecom Study. *Diabetes.* 1992 Nov;41(11):1385-9.
- ⁵⁵¹ Braga-Basaria M, Dobs AS, Muller DC. et al. Metabolic syndrome in men with prostate cancer undergoing long-term androgen-deprivation therapy. *J Clin Oncol.* 2006 Aug 20;24(24):3979-83.
- ⁵⁵² Haugnes HS, Aass N, Fossa SD. et al. Components of the metabolic syndrome in long-term survivors of testicular cancer. *Ann Oncol* 2007;18:241-8.
- ⁵⁵³ Dockery F, Bulpitt CJ, Agarwal S. et al. Testosterone suppression in men with prostate cancer is associated with increased arterial stiffness. *Aging Male.* 2002 Dec;5(4):216-22.
- ⁵⁵⁴ Smith G, Ben-Shlomo Y, Beswick A. et al. Cortisol, testosterone, and coronary heart disease prospective evidence from the Caperhilly Study. *Circulation.* 2005;112:332-40.
- ⁵⁵⁵ Chen KC, Peng CC, Hsieh HM. et al. Antiandrogenic therapy can cause coronary arterial disease. *Int J Urol.* 2005;12:886-91.
- ⁵⁵⁶ Jones TH, Saad F. The effects of testosterone on risk factors for, and the mediators of, the atherosclerotic process. *Atherosclerosis* 2009;207:318-27.
- ⁵⁵⁷ Heufelder AE, Saad F, Bunck MC. et al. Fifty-two-week treatment with diet and exercise plus transdermal testosterone reverses the metabolic syndrome and improves glycemic control in men with newly diagnosed type 2 diabetes and subnormal plasma testosterone. *J Androl* 2009;30:726-33.
- ⁵⁵⁸ Wang C, Cunningham G, Dobs A, et al. Long-term testosterone gel (AndroGel) treatment maintains beneficial effects on sexual function and mood, lean and fat mass, and bone mineral density in hypogonadal men. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:2085-98.
- ⁵⁵⁹ Jones TH, Arver S, Behre HM. et al. Testosterone replacement in hypogonadal men with type 2 diabetes and/or metabolic syndrome (the TIMES2 study). *Diabetes Care.* 2011 Apr;34(4):828-37. Epub 2011 Mar 8.
- ⁵⁶⁰ Yannucci J, Manola J, Garnick MB. et al. The effect of androgen deprivation therapy on fasting serum lipid and glucose parameters. *J Urol.* 2006;176:520-5.
- ⁵⁶¹ Haidar A, Yassin A, Saad F. et al. Effects of androgen deprivation on glycaemic control and on cardiovascular biochemical risk factors in men with advanced prostate cancer with diabetes. *Aging Male.* 2007;10:189-96.
- ⁵⁶² Swerdloff RS, Wang C. Three-year follow-up of androgen treatment in hypogonadal men: preliminary report with testosterone gel. *Aging Male.* 2003;6:207-11.
- ⁵⁶³ Corona G, Monami M, Rastrelli G. et al. Testosterone and metabolic syndrome: a meta-analysis study. *J Sex Med.* 2011 Jan;8(1):272-83
- ⁵⁶⁴ Marin P. Testosterone and regional fat distribution. *Obes Res.* 1995;3(suppl 4):S609-S612.
- ⁵⁶⁵ Marin P, Lonn L, Andersson B. et al. Assimilation of triglycerides in subcutaneous and intraabdominal adipose tissues in vivo in men: effects of testosterone. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81:1018-22.
- ⁵⁶⁶ Pitteloud N, Mootha VK, Dwyer AA. et al. Relationship between testosterone levels, insulin sensitivity, and mitochondrial function in men. *Diabetes Care.* 2005 Jul;28(7):1636-42.
- ⁵⁶⁷ Heufelder AE, Saad F, Bunck MC. et al. Fifty-two-week treatment with diet and exercise plus transdermal testosterone reverses the metabolic syndrome and improves

glycemic control in men with newly diagnosed type 2 diabetes and subnormal plasma testosterone. *J Androl.* 2009 Nov-Dec;30(6):726-33.

⁵⁶⁸ Oh JY, Barrett-Connor E, Wedick NM. et al. Endogenous sex hormones and the development of type 2 diabetes in older men and women; the Rancho Bernardo study. *Diabetes Care.* 2002;25:55–60

⁵⁶⁹ Rhoden EL, Ribeiro EP, Riedner CE. et al. Glycosylated haemoglobin levels and the severity of erectile function in diabetic men. *BJU Int.* 2005b;95:615–7.

⁵⁷⁰ Rhoden EL, Ribeiro EP, Teloken C, Souto CA. Diabetes mellitus is associated with subnormal serum levels of free testosterone in men. *BJU Int.* 2005b;96:867–70.

⁵⁷¹ Shores MM, Matsumoto AM, Sloan KL. et al. Low serum testosterone and mortality in male veterans. *Arch Intern Med.* 2006;166:1660–5.

⁵⁷² Selvin E, Feinleib M, Zhang L. et al. Androgens and diabetes in men. *Diabetes Care.* 2007;30:234–8.

⁵⁷³ Ding EL, Song Y, Malik VS, Liu S. Sex differences of endogenous sex hormones and risk of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *JAMA.* 2006;295:1288–99.

⁵⁷⁴ Kapoor D, Aldred H, Clark S. et al. Clinical and biochemical assessment of hypogonadism in men with type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2007;30:911–7.

⁵⁷⁵ Lage MJ, Barber BL, Markus RA. Association between androgendeprivation therapy and incidence of diabetes among males with prostate cancer. *Urology.* 2007;70:1104–8.

⁵⁷⁶ Haidar A, Yassin A, Saad F. et al. Effects of androgen deprivation on glycaemic control and on cardiovascular biochemical risk factors in men with advanced prostate cancer with diabetes. *Aging Male.* 2007;10:189–96.

⁵⁷⁷ Yialamas MA, Dwyer AA, Hanley E. Acute sex steroid withdrawal reduces insulin sensitivity in healthy men with idiopathic hypogonadotropic hypogonadism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92:4254–9.

⁵⁷⁸ Traish AM, Saad F, Guay A. The dark side of testosterone deficiency: II. Type 2 diabetes and insulin resistance. *J Androl.* 2009 Jan-Feb;30(1):23-32. Epub 2008 Sep 4.

⁵⁷⁹ Smith JC, Bennett S, Evans LM. et al. The effects of induced hypogonadism on arterial stiffness, body composition, and metabolic parameters in males with prostate cancer. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86:4261–7.

⁵⁸⁰ Pagotto U, Gambineri A, Pelusi C. et al. Testosterone replacement therapy restores normal ghrelin in hypogonadal men. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88:4139–43.

⁵⁸¹ Boyanov MA, Boneva Z, Christov VG. Testosterone supplementation in men with type 2 diabetes, visceral obesity and partial androgen deficiency. *Aging Male.* 2003;6:1–7.

⁵⁸² Kapoor D, Goodwin E, Channer KS, Jones TH. Testosterone replacement therapy improves insulin resistance, glycaemic control, visceral adiposity and hypercholesterolaemia in hypogonadal men with type 2 diabetes. *Eur J Endocrinol.* 2006;154:899–906.

⁵⁸³ Naharci MI, Pinar M, Bolu E, Olgun A. Effect of testosterone on insulin sensitivity in men with idiopathic hypogonadotropic hypogonadism. *Endocr Pract.* 2007;13:629–635.

⁵⁸⁴ Morimoto S, Mendoza-Rodriguez CA, Hiriart M. et al. Protective effect of testosterone on early apoptotic damage induced by streptozotocin in rat pancreas. *J Endocrinol.* 2005;187:217–24.

⁵⁸⁵ Pitteloud N, Hardin M, Dwyer AA. et al. Increasing insulin resistance is associated with a decrease in Leydig cell testosterone secretion in men. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005a;90:2636–41.

⁵⁸⁶ Pitteloud N, Dwyer AA, DeCruz S. et al. Inhibition of luteinizing hormone secretion by testosterone in men requires aromatization for its pituitary but not its hypothalamic

effects: evidence from the tandem study of normal and gonadotropin-releasing hormone-deficient men. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93:784–791.

⁵⁸⁷ Holmang A, Bjorntorp P. The effects of testosterone on insulin sensitivity in male rats. *Acta Physiol Scand* 1992; 146:505-10.

⁵⁸⁸ Rajan S, Jorge N, Wayne E. et al. Androgens stimulate myogenic differentiation and inhibit adipogenesis in C3H 10T1/2 pluripotent cells through an androgen receptor-mediated pathway. *Endocrinology* 2003; 144: 5081-8.

⁵⁸⁹ Urban RJ, Bodenbun YH, Gilkison C et al. Testosterone administration to elderly men increases skeletal muscle strength and protein synthesis. *Am J Physiol.* 1995 Nov;269(5 Pt 1):E820-6.

⁵⁹⁰ Westaby D, Ogle SJ, Paradinas FJ. et al. Liver damage from long-term methyl-testosterone. *Lancet.* 1977 Aug 6;2(8032):262-3.

⁵⁹¹ Jones G, Nguyen T, Sambrook PN. et al. Symptomatic fracture incidence in elderly men and women: the Dubbo Osteoporosis Epidemiology Study (DOES). *Osteoporos Int* (1994);4:277–282

⁵⁹² Cooper C, Atkinson EJ, Jacobsen SJ. et al. Population-based study of survival after osteoporotic fractures. *Am J Epidemiol* (1993);137:1001–1005

⁵⁹³ Kelepouris N, Harper KD, Gannon F. et al. Severe osteoporosis in men. *Ann Intern Med* (1995);123:452–460

⁵⁹⁴ Pye SR, Adams KR, Halsey JP. et al. Frequency and causes of osteoporosis in men. *Rheumatology* (2003); 42:811–2

⁵⁹⁵ Stanley HL, Schmitt BP, Poses RM. et al. Does hypogonadism contribute to the occurrence of a minimal trauma hip fracture in elderly men? *J Am Geriatr Soc*(1991);39:766–71.

⁵⁹⁶ Evans SF, Davie MW Vertebral fractures and bone mineral density in idiopathic, secondary and corticosteroid associated osteoporosis in men. *Ann Rheum Dis.*(2000);59:269–75.

⁵⁹⁷ Shahinian VB, Kuo YF, Freeman JL. et al. Risk of fracture after androgen deprivation for prostate cancer. *N Engl J Med* 2005;352(2):154–64.

⁵⁹⁸ Snyder PJ, Peachey H, Hannoush P. et al. Effect of testosterone treatment on bone mineral density in men over 65 years of age. *J Clin Endocrinol Metab*(1999);84:1966–72.

⁵⁹⁹ Valimaki VV, Alftan 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 3785-9.

⁶⁰⁰ Ramlau-Hansen CH, Moeller UK, Bonde JP. et al. Are serum levels of vitamin D associated with semen quality? Results from a cross-sectional study in young healthy men. *Fertil.Steril.* 2011;95:1000-4.

⁶⁰¹ Lee DM, Tajar A, Pye SR. et al. Association of hypogonadism with vitamin D status: the European Male Ageing Study. *Eur.J.Endocrinol.* 2012;166:77-85.

⁶⁰² Blomberg -Jensen M. Vitamin D metabolism, sex hormones and male reproductive function *Reproduction* (Advance Publication first posted online on 25 May 2012).

⁶⁰³ Hsu YJ, Dimke H, Schoeber JP. et al. Testosterone increases urinary calcium excretion and inhibits expression of renal calcium transport proteins. *Kidney Int.*2011;77:601-8.

⁶⁰⁴ Fleet JC & Schoch RD 2010 Molecular mechanisms for regulation of intestinal calcium absorption by vitamin D and other factors. *Crit Rev.Clin.Lab Sci.*2008;47 :181-95.

⁶⁰⁵ Falahati-Nini A, Riggs BL, Atkinson EJ. et al. S. Relative contributions of testosterone and estrogen in regulating bone resorption and formation in normal elderly men. *J Clin Invest* 2000;106(12):1553–60.

-
- ⁶⁰⁶ Khosla S, Melton LJ 3rd, Atkinson EJ et al. Relationship of serum sex steroid levels to longitudinal changes in bone density in young versus elderly men. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001 Aug;86(8):3555-61.
- ⁶⁰⁷ Dawson-Hughes B, Harris S, Krall E, Dallal G. Effect of calcium and vitamin D supplementation on bone density in men and women 65 years of age and older. *N Engl J Med* 1997;337:670–6.
- ⁶⁰⁸ Vieira RP, França RF, Damaceno-Rodrigues NR et al. Dose-dependent hepatic response to subchronic administration of nandrolone decanoate. *Med Sci Sports Exerc.* 2008 May; 40 (5): 842-7.
- ⁶⁰⁹ Borhan-Manesh F, Farnum JB. Methyltestosterone-induced cholestasis. The importance of disproportionately low serum alkaline phosphatase level. *Arch Intern Med.* 1989 Sep; 149 (9): 2127-9.
- ⁶¹⁰ Westbay D, Ogle SJ, Paradinas FJ et al. Liver damages from long-term methyltestosterone. *Lancet.* 1977 Aug 6; 2 (8032): 262-3.
- ⁶¹¹ Haider A, Gooren LJ, Padungtod P, Saad F. Improvement of the Metabolic Syndrome and of Non-alcoholic Liver Steatosis upon Treatment of Hypogonadal Elderly Men with Parenteral Testosterone Undecanoate. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2009 May 26.
- ⁶¹² Nirmal Kumar A, Kalyankar GD Effect of steroid hormones and vitamin B6 on age dependent changes in aminotransferases in rat. *Indian J Physiol Pharmacol.* 1985 Oct-Dec;29(4):207-12.
- ⁶¹³ Loughlin KR, Richie JP. Prostate cancer after exogenous testosterone treatment for impotence. *J Urol* 1997;157:1845.
- ⁶¹⁴ Singh AB, Hsia S, Alaupovic P, et al. The effects of varying doses of T on insulin sensitivity, plasma lipids, apolipoproteins, and C-reactive protein in healthy young men. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:136-43.
- ⁶¹⁵ Morgentaler A. Testosterone and Prostate Cancer: An Historical Perspective on a Modern Myth. *European urology* 50(2006)935–9.
- ⁶¹⁶ Statin P, Lumme S, Tenkanen L, et al. High levels of circulating testosterone are not associated with increased prostate cancer risk: a pooled prospective study. *Int J Cancer* 2004;108:418–24.
- ⁶¹⁷ Cooper CS, Perry PJ, Sparks AET. et al. Effect of exogenous testosterone on prostate volume, serum and semen prostate specific antigen levels in healthy young men. *J Urol* 1998;159:441–3.
- ⁶¹⁸ Feneley MR, Carruthers M. Is Testosterone Treatment Good for the Prostate? Study of Safety during Long-Term Treatment. *J Sex Med.* 2012 Jun 6. doi: 10.1111/j.1743-6109.2012.02808.x. [Epub ahead of print]
- ⁶¹⁹ Coward RM, Simhan J, Carson CC 3rd. Prostate-specific antigen changes and prostate cancer in hypogonadal men treated with testosterone replacement therapy. *BJU Int.* 2009 May;103(9):1179-83.
- ⁶²⁰ Puchalski SS, Green JN, Rasmussen DD. Melatonin effects on metabolism independent of gonad function. *Endocrine.* 2003 Jul;21(2):169-73.
- ⁶²¹ Vanecek J, Kosar E, Vorlicek J. Daily changes in melatonin binding sites and the effect of castration. *Mol Cell Endocrinol.* 1990 Oct 22;73(2-3):165-70.
- ⁶²² Alonso SR, Abreu P, López CI. et al. Gonadal steroid modulation of neuroendocrine transduction: a transynaptic view. *Cell Mol Neurobiol.* 1996 Jun;16(3):357-82.
- ⁶²³ Reiter RJ. The pineal and its hormones in the control of reproduction in mammals. *Endocrine Reviews* 1980 1 109– 131.

-
- ⁶²⁴ Waldhauser F, Boepple PA, Schemper M, Mansfield MJ & Crowley WF Jr. Serum melatonin in central precocious puberty is lower than in age-matched prepubertal children. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1991 73 793–796.
- ⁶²⁵ Cavallo A. Plasma melatonin rhythm in normal puberty: interactions of age and pubertal stages. *Neuroendocrinology* 1992 55 372–379.
- ⁶²⁶ Waldhauser G, Weiszenbacher E, Tatzer B. et al. Alterations in nocturnal serum melatonin levels in humans with growth and aging. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1988 66 648–652.
- ⁶²⁷ Sack RL, Lewy AJ, Erb DL. Et al. Human melatonin production decreases with age. *Journal of Pineal Research* 1986 3 379–388.
- ⁶²⁸ Luboshitzky R, Lavi S, Thuma I. et al. Nocturnal secretory patterns of melatonin, luteinizing hormone, prolactin and cortisol in male patients with gonadotropin-releasing hormone deficiency. *J Pineal Res.* 1996 Aug;21(1):49-54.
- ⁶²⁹ Luboshitzky R, Lavi S, Thuma I, Lavie P. Testosterone treatment alters melatonin concentrations in male patients with gonadotropin-releasing hormone deficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996 Feb;81(2):770-4.
- ⁶³⁰ Rajmil O, Puig-Domingo M, Tortosa F. et al. Melatonin concentration before and during testosterone replacement in primary hypogonadic men. *Eur J Endocrinol.* 1997 Jul;137(1):48-52.
- ⁶³¹ Brown GM, Liu GY, Brown MC. Et al. Adrenergic mediation of estrogen effects on pineal regulation in the female rat. *Proceedings of the 6th Colloquium of the European Pineal Society, (Copenhagen) 1993, Abstract 18.*