

УДК 612.018:616.69-008.6

СОДЕРЖАНИЕ ТИРЕОТРОПИН-РИЛИЗИНГ-ФАКТОРА И ИНСУЛИНОПОДОБНОГО ФАКТОРА РОСТА-1 В СЕМЕННОЙ ЖИДКОСТИ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ТИПАХ ПАТОСПЕРМИИ

Т.П. ШКУРАТ¹, К.Ю. САГАМОНОВА², К.Г. САВИКИНА², С.В. ЛОМТЕВА², Л.В. ГУТНИКОВА³,
О.В. ЛЯНГАСОВА¹, А.А. АЛЕКСАНДРОВА³

e-mail: tshkurat@sfnedu.ru

¹Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, пр. Стачки 194/1
²ООО Центр репродукции человека и ЭКО, Ростов-на-Дону, ул. Бодрая, 90 «А»
³НАО «Наука», Ростов-на-Дону, ул. Загорская 23а

Тиреотропин-рилизинг-фактор проявляет свое действие в широком диапазоне биологических реакций. Он обнаружен, помимо тканей мозга, и в других тканях организма, в том числе и в сперме млекопитающих. Показано, что, выполняя важную гомеостатическую роль, тиреотропин-рилизинг-фактор активно взаимодействует с иммунной системой.

В работе изучено содержание тиреотропин-рилизинг-фактора (TRH), инсулиноподобного фактора роста 1 (IGF1), белок-1 связывающего инсулиноподобного фактора роста (IGFBP1), тестостерона (TTST), эстрадиола (E2), антимюллерова гормона (АМН) и дигидротестостерона (DHT) в семенной плазме мужчин с различными типами патоспермии: олигозооспермией, астенозооспермией и тератозооспермией.

Ключевые слова: тиреотропин-рилизинг-фактор (TRH), инсулиноподобный фактор роста 1 (IGF1), белок-1 связывающий инсулиноподобный фактор роста (IGFBP1), тестостерон (TTST), эстрадиол (E2), антимюллеров гормон (АМН), дигидротестостерон (DHT).

THE LEVEL OF THYROTROPIN-RILISING FACTOR AND INSULIN-LIKE FACTOR OF GROWTH-1 IN THE SPERMA IN VARIOUS TYPES OF PATHSPERMIA

T.P. SHKURAT¹, K.Yu. SAGAMONOVA², K.G. SAVIKINA², S.V. LOMTEVA², L.V. GUTNIKOVA³,
O.V. LYANGASOVA¹, A.A. ALEKSANDROVA³

Southern Federal University

Thyrotropin-releasing factor exerts its effect in a wide range of biological responses. It found, in addition to brain tissue, and other body tissues, including mammalian semen. It shown that performing an important homeostatic role, thyrotropin-releasing factor actively interacts with the immune system.

In the studied content thyrotropin-releasing hormone (TRH), insulin-like growth factor 1 (IGF1), protein-1 binding insulin-like growth factor (IGFBP1), testosterone (TTST), estradiol (E2), Anti-Müllerian hormone and dihydrotestosterone (DHT) in the seminal plasma of men with different types pathospermia: oligozoospermia, asthenozoospermia and teratozoospermia.

Key words: thyrotropin-releasing factor, insulin-like growth factor 1, binding protein-1 insulin-like growth factor, testosterone, estradiol, Anti-Müllerian hormone, dihydrotestosterone.

doi:10.18522/2218-2268-2017-1-12-17

Введение

Тиреотропин-рилизинг-фактор (TRH) – трипептид (Glu-His-Pro-NH₂), который в основном синтезируется в паравентрикулярном ядре гипоталамуса и представляет собой проксимальный элемент оси гипоталамус – гипофиз – щитовид-

© Шкурат Т.П., Сагамонова К.Ю., Савикина К.Г., Ломтева С.В., Гутникова Л.В., Лянгасова О.В., Александрова А.А., 2017.

ная железа, проявляет свое действие в широком диапазоне биологических реакций [Campbell et al., 1977, Monga et al., 2008; Singh et al., 2011]. Основная функция TRH – поддержание гомеостаза тиреоидных гормонов. TRH также регулирует высвобождение других гормонов, таких как пролактин, гормон роста, вазопрессин и инсулин. В последние годы показано, что TRH присутствует и вне гипоталамуса, обнаружено его

присутствие в тканях желудочно-кишечного тракта и сердца. Рецепторы к молекулам TRH обнаружены в различных тканях организма – это клетки желудочно-кишечного тракта, островки поджелудочной железы, волосяные луковицы [Gaspar et al., 2010]. Показана гомеостатическая роль TRH во взаимодействии с несколькими биологическими системам, в том числе его важная роль во взаимодействии с иммунной системой [Mancini et al., 2016]. Экспериментальные модели подтверждают ключевую роль TRH в воспалительных процессах и его особое значение для «цитокин-индуцированного поведения болезни» [Kamath, 2012]. В 1989 г. методом масс-спектрометрии молекулы пептида TRH были обнаружены и в сперме [Cockle et al., 1989]. Позже была обнаружена и экспрессия генов рецепторов TRH-R, которая в яичках составляла приблизительно 10 % от концентрации в гипофизе [Satoh et al., 1994].

Целью данного исследования является изучение содержания тиреотропин-рилизинг-фактора (TRH), инсулиноподобного фактора роста 1 (IGF1), белок-1 связывающего инсулиноподобного фактора роста (IGFBP1), тестостерона (TTST), эстрадиола (E2), антимюллерова гормона (AMH) и дигидротестостерона (DHT) в семенной плазме мужчин с различными типами патоспермии: олигозооспермией, астенозооспермией и тератозооспермией.

Материал и методы

Обследованы 88 соматически здоровых мужчин, в возрасте от 23 до 48 лет, обратившихся в Центр репродукции человека и ЭКО города Ростов-на-Дону с проблемой бесплодия в браке и патоспермией в анамнезе. Из этого числа были исключены пациенты с азооспермией, генетическими заболеваниями, наличием воспалительных процессов различных этиологий, а также пациенты из пар с недоказанным женским бесплодием. Контрольная группа включала 20 здоровых мужчины с нормозооспермией и доказанной фертильностью.

Было сформировано пять исследуемых групп: пациенты с нормозооспермией (контроль, n=20), астенозооспермией (n=22), олигозооспермией (n=9), тератозооспермией (n=15), олигоастенозооспермией (n=22). Анализ эякулята проводили в соответствии со строгими кри-

териями Крюгера и рекомендациями ВОЗ [Руководство ВОЗ, 2012].

Спермоплазму получали центрифугированием эякулята при 2800 об/мин в течение 10 мин. В спермальной плазме определяли уровень тиреотропин-рилизинг-фактора (TRH), инсулиноподобного фактора роста 1 (IGF1), белок-1 связывающего инсулиноподобного фактора роста (IGFBP1), тестостерона (TTST), эстрадиола (E2), антимюллерова гормона (AMH) и дигидротестостерона (DHT).

Уровни гормонов определяли методом иммуноферментного анализа на автоматическом иммуноферментном анализаторе «ALISEI QS» (Италия).

Статистический анализ результатов проводили с использованием программного пакета Excel и Statistica v.6.0. Сравнение различных данных проведено с использованием критерия Манна – Уитни. Различия признаков считались достоверными при 95 % уровне значимости ($p < 0,05$). Для определения взаимосвязи явлений применялся корреляционный анализ по Спирмену с вычислением коэффициента корреляции (r).

Результаты исследований

Важнейшую роль в ответ на окислительный стресс играет гипоталамо-гипофизарно-гонадная и тиреоидная ось эндокринной регуляции [Kale, 2015]. При этом в механизмах поддержания гомеостаза организма изменения гормональной секреции представляют собой своеобразный каскад тесно взаимосвязанных реакций. Поэтому следующим этапом нашей работы было изучение содержания тиреотропин-рилизинг-фактора (TRH), инсулиноподобного фактора роста 1 (IGF1), белок-1 связывающего инсулиноподобного фактора роста (IGFBP1), антимюллерова гормона (AMH) и дигидротестостерона (DHT) в эякуляте инфертильных мужчин при различных формах патоспермии.

В ходе исследования установлено, что максимальное значение уровня TRH зафиксировано у пациентов с диагнозом *тератозооспермия*, минимальное – у пациента с диагнозом *олигоастенозооспермия* (табл. 1). Максимальное значение уровня TRH в спермальной плазме также отмечено у группы пациентов с диагнозом *тератозооспермия*. Минимальное значение уровня TRH регистрировали в группе пациентов с олигозооспермией.

Таблица 1

Содержание тиреотропин-релизинг-фактора, инсулиноподобного фактора роста 1, белок-1 связывающего инсулиноподобного фактора роста, антимюллера гормона и дигидротестостерона в эякуляте

Исследуемые группы		TRH, пг/мл	IGF1, нг/мл	IGFBP1, нг/мл	Тестост. общ. нмоль/л	Эстрадиол, пг/мл
Нормоспермия		138,4±16,49	11,5±1,35	0,3±0,16	13,3±1,78	53,3±4,21
Олигозооспермия	Среднее, отклонение от среднего	107,4±13,06	9,6±1,3	0,2±0,06	15,8±1,94	54,9±5,01
	<i>P</i>	<0,05	<0,05	>0,01	>0,01	>0,01
Астенозооспермия	Среднее, отклонение от среднего	123,7±15,47	13,6±1,97	0,3±0,08	17,2±3,44	74,9±6,38
	<i>P</i>	>0,01	<0,05	>0,01	<0,05	<0,001
Тератозооспермия	Среднее, отклонение от среднего	159,5±15,83	16,5±1,48	0,2±0,09	14,8±3,26	50,4±6,45
	<i>P</i>	<0,05	<0,001	>0,01	>0,01	>0,01

Содержание TRH в семенной жидкости у пациентов с олигозооспермией на 22,4 % меньше по сравнению с нормоспермией, а при тератозооспермии уровень гормона увеличен на 12 %. Отмечено увеличение IGF1 у пациентов с диагнозом тератозооспермия, минимальное значение отмечено у пациентов с диагнозом олигозооспермия.

В ходе исследований максимальное значение уровня тестостерона отмечено у пациентов с тератозооспермией, минимальное – у пациентов с олигозооспермией. Однако максимальное среднеарифметическое значение отмечено в группе пациентов с астенозооспермией. Минимальное среднеарифметическое значение зарегистрировано также у группы пациентов с олигозооспермией. Статистически достоверных различий в уровне общего тестостерона между различными группами пациентов не выявлено.

В соответствии с критерием Манна – Уитни, у пациентов с олигоастенозооспермией и астенозооспермией установлено достоверное повышение уровня эстрадиола в спермальной плазме по сравнению с контрольной группой (табл. 1). Статистически достоверных различий в уровне антимюллера гормона и дигидротестостерона между различными группами пациентов не выявлено.

Для анализа статистической достоверности полученных данных были построены корреляционные матрицы, отражающие изменение уровня гормонов в спермальной плазме в группах пациентов с патоспермиями и в контрольной группе. В табл. 2 представлены коэффициенты корреляции для исследуемых гормонов в группе пациентов с нормоспермией.

Как видно из табл. 2, существует достоверная корреляция между уровнями эстрадиола и обще-

Таблица 2

Коэффициенты корреляции между уровнями исследуемых гормонов в группе пациентов с нормоспермией

	Возраст	TRH	IGF1	IGFBP1	TTST	E2	AMH	DHT
Возраст	1,00							
TRH	0,01	1,00						
IGF1	-0,29	0,61	1,00					
IGFBP1	-0,09	-0,06	0,12	1,00				
TTST	-0,05	0,45	0,52	-0,06	1,00			
E2	-0,01	0,39	0,44	0,05	0,84	1,00		
AMH	0,29	0,21	0,01	-0,36	0,11	0,36	1,00	
DHT	0,12	0,04	0,04	-0,13	0,34	0,31	0,42	1,00

го тестостерона в спермальной плазме у мужчин с нормоспермией. Ранее также было показано, что в норме достоверная корреляция между уровнями эстрадиола и общего тестостерона обнаруживается и в сыворотке крови. Также в спермальной плазме у мужчин с нормоспермией

обнаруживается корреляция между уровнем TRH и IGF1.

При исследовании группы пациентов с патоспермией, независимо от ее типа, была построена корреляционная матрица (табл. 3).

Таблица 3

Коэффициенты корреляции между уровнем различных гормонов в группе пациентов с патологической спермой

	Возраст	TRH	IGF1	IGFBP1	TTST	E2	AMH	DHT
Возраст	1,00							
TRH	-0,12	1,00						
IGF1	-0,21	0,65	1,00					
IGFBP1	-0,34	0,07	0,62	1,00				
TTST	0,63	-0,35	0,01	0,29	1,00			
E2	0,48	-0,20	-0,20	-0,08	0,70	1,00		
AMH	0,27	0,71	-0,02	-0,50	-0,38	-0,07	1,00	
DHT	-0,14	0,81	0,83	0,49	-0,07	-0,32	0,31	1,00

Как видно из табл. 3, при сравнении уровней различных исследуемых гормонов у пациентов с патологической спермой обнаруживается положительная корреляция по ряду показателей. В группе пациентов с патоспермией уровень тестостерона достоверно изменяется в зависимости от возраста; уровень тиреотропин-рилизинг-фактора положительно коррелирует с уровнем IGF1, антимюллерова гормона и дигидротестостерона. В свою очередь, IGF1 у пациентов этой группы положительно коррелирует с уровнем белок-1 связывающего инсулиноподобного фактора роста и дигидротестостерона. У пациентов с патоспермией, также как и в контрольной группе, обнаруживается положительная корреляция между уровнями эстрадиола и общего тестостерона.

Далее был проведен анализ пациентов с патологической спермой в зависимости от диагноза. Группа пациентов с патоспермией была разделена на три подгруппы по классификации, основанной на строгих критериях Крюгера и рекомендациям ВОЗ: 1 – мужчины с астенозооспермией, 2 – мужчины с олигозооспермией, 3 – мужчины с тератозооспермией.

В подгруппах пациентов с олигоастенозооспермией и астенозооспермией никаких корреляционных связей выявлено не было. Корреля-

ционная матрица, построенная на основе данных пациентов с олигозооспермией, представлена в табл. 4.

Таблица 4

Коэффициенты корреляции между уровнем различных гормонов в подгруппе пациентов с олигозооспермией

Олигозооспермия	Возраст	TRH	IGF1	IGFBP1	TTST	E2
Возраст	1,00					
TRH	-0,27	1,00				
IGF1	0,09	0,39	1,00			
IGFBP1	0,06	-0,08	-0,26	1,00		
TTST	0,07	0,31	0,72	-0,08	1,00	
E2	0,04	0,74	0,81	-0,05	0,79	1,00

Как видно из табл. 4, при сравнении уровней различных исследуемых гормонов у пациентов с олигозооспермией, обнаруживается положительная корреляция по ряду показателей. В группе пациентов с олигозооспермией уровень эстрадиола положительно коррелирует с уровнем TRH, IGF1 и тестостерона. В свою очередь, IGF1 у пациентов этой подгруппы положительно коррелирует с уровнем тестостерона. У пациентов с олигозооспермией, также как и в кон-

трольной группе и в группе с патоспермией в целом, обнаруживается положительная корреляция между уровнями эстрадиола и общего тестостерона.

Корреляционная матрица, построенная на основе данных пациентов с тератозооспермией, представлена в табл. 5.

Таблица 5

Коэффициенты корреляции между уровнем различных гормонов в подгруппе пациентов с тератозооспермией

Тератозооспермия	Возраст	TRH	IGF1	IGFBP1	TTST	E2
Возраст	1,00					
TRH	-0,05	1,00				
IGF1	-0,14	0,62	1,00			
IGFBP1	-0,34	0,00	0,44	1,00		
TTST	-0,33	0,21	0,15	-0,11	1,00	
E2	-0,42	0,16	0,09	0,25	0,31	1,00

Как видно из табл. 5, в подгруппе пациентов с тератозооспермией уровень тиреотропин-рилизинг-фактора положительно коррелирует с уровнем IGF1. Интересно, что в этой подгруппе отсутствует корреляция между уровнем тестостерона и эстрадиола, которая была показана в контрольной группе, а также в целом у всех пациентов с патологической спермой.

Из представленных результатов видно, что при астенозооспермии в семенной жидкости отмечено достоверное увеличение уровня тестостерона и эстрадиола, уровень эстрадиола имел тенденцию к увеличению и при олигоастенозооспермии, связанной с нарушением подвижности сперматозоидов. Увеличение уровня гормонов в семенной жидкости при других типах патоспермии не было отмечено, однако индивидуальный уровень у некоторых пациентов был значительно выше или ниже средних значений при нормоспермии.

Эстрогены традиционно рассматриваются в основном как ключевые половые гормоны, выполняющие важнейшие функции в женском организме, однако их роль в мужском организме оказывается не менее значимой, хотя и остается недостаточно изученной. До 80 % эстрогенов в организме мужчины образуются в результате ароматизации из тестостерона. Таким образом, нарушения синтеза и метаболизма тестостеро-

на у мужчин закономерно приводят к нарушениям синтеза и метаболизма эстрогенов. Эстрогены и тестостерон обычно работают совместно, при этом их функция иногда усиливается еще и эффектами 5 α -дигидротестостерона. Эстрогены поддерживают обратную связь тестикул с гипофизом и способны понижать уровень тестостерона, но без эстрогенов тестостерон оказывает лишь ограниченное влияние на половое поведение [Цицман, 2013].

В некоторых периферических тканях небольшое количество тестостерона превращается в эстрадиол. В качестве побочных продуктов клетки Лейдига также постоянно секретируют эстрадиол и прогестерон, хотя роль этих гормонов в развитии и поддержании функций размножения и формирования полового поведения у мужчин до настоящего времени не выяснена.

Показано, что гормоны, в частности эстрадиол, изменяют транскрипционную активность генов около трех десятков микроРНК, что на посттранскрипционном уровне потенциально изменяет экспрессию более тысячи протеин-кодирующих генов [Малек, Берштейн, 2015].

В наших исследованиях при нормоспермии в спермальной плазме у мужчин обнаружена корреляция между уровнем TRH и инсулиноподобного фактора роста 1, антимюллерова гормона и дигидротестостерона. Показано, что уровень тестостерона коррелирует с интенсивностью индуцированной хемилюминесценцией, а окислительный стресс приводит к снижению выработки тестостерона. При нарушениях сперматогенеза, приводящих к нарушению подвижности сперматозоидов, в семенной жидкости отмечено достоверное увеличение уровня тестостерона, эстрадиола, уровня TRH. Существенное уменьшение содержания TRH отмечено в семенной жидкости у пациентов со значительным снижением числа сперматозоидов. Во всех случаях патоспермии инсулиноподобный фактор роста 1 положительно коррелирует с уровнем белок-1 связывающего инсулиноподобного фактора роста и дигидротестостерона.

Дальнейшие исследования будут направлены на выявление взаимодействия роли микроРНК и гормонов в регуляции сперматогенеза в норме и при различных типах патоспермии. Поскольку каждая микроРНК может быть связана с массивом однонаправленных процессов, потенциаль-

ная возможность управления подобными сигналами рассматривается как многообещающая в отношении перспективы реверсии патологического сперматогенеза.

Благодарности:

Исследования выполнены в рамках проектной части госзадания Министерства образования и науки в сфере научной деятельности №6.703.2014/К. Аналитическая работа выполнена на оборудовании ЦКП «Высокие технологии» Южного федерального университета, грант Министерства образования и науки RFMEFI59414X0002 по теме: «Развитие центра коллективного пользования научным оборудованием «Высокие технологии» ЮФУ для эффективного участия в реализации междисциплинарных проектов по исследованию механизмов управления клеточными функциями для решения фундаментальных и прикладных задач в области биологии и медицины, в том числе регенеративной медицины».

Литература

Малек АВ. МикроРНК: половые гормоны, гормональный канцерогенез, гормоночувствительность опухолевой ткани. Успехи молекулярной онкологии. 2015; 2: 1: 004–012.

Руководство ВОЗ по исследованию и обработке эякулята человека: 5-е изд. М., 2012.

Цицман М. Эстрогены у мужчин. Пленарная лекция. VII Междунар. конгр. ISSAM. М., 2013.

Campbell GA, Kurcz M, Marshall S, & Meite, J. Effects of starvation in rats on serum levels of follicle stimulating hormone, luteinizing hormone, thyrotropin, growth hormone and prolactin; response to LH-releasing hormone and thyrotropin-releasing hormone. *Endocrinology*. 1977; 100: 2: 580–587.

Cockle SM, Aitken A, Beg F, Morrell JM, & Smyth D G. The TRH-related peptide pyroglutamyl glutamyl prolinamide is present in human semen. *FEBS letters*. 1989; 252(1–2): 113–117.

Gáspár E, Hardenbicker C, Bodó E, Wenzel B, Ramot Y, Funk W, ... & Paus R. Thyrotropin releasing hormone (TRH): a new player in human hair-growth control. *The FASEB Journal*. 2010; 24: 2: 393–403.

Kale MK. Thyroid Gland in Free Radical-Induced Oxidative Stress. *Free Radicals in Human Health and Disease*. Springer India. 2015; C.159–173.

Kamath J. Cancer-related fatigue, inflammation and thyrotropin-releasing hormone // *Current aging science*. 2012; 5: 3: 195–202.

Mancini A, Di Segni C, Raimondo S, Olivier, G, Silvestrini A, Meucci E, Currò D. Thyroid Hormones, Oxidative Stress, and Inflammation. *Mediators of inflammation*. 2016; 2016.

Monga V, Meena CL, Kaur N, & Jain R. Chemistry and biology of thyrotropin-releasing hormone (TRH) and its analogs. *Current medicinal chemistry*. 2008; 15(26): 2718–2733.

Satoh T, Feng P, Kim UJ, & Wilber JF. Identification of thyrotropin-releasing hormone receptor in the rat testis. *Neuropeptides*. 1994; 27: 3: 195–202.

Singh R, Hamada AJ, Agarwal A. Thyroid hormones in male reproduction and fertility. *The Open Reproductive Science Journal*. 2011; 3: 98–104.