

УДК 612.018:636.22/28: [612.664.36+612.1

**ДИНАМИКА СТЕРОИДНЫХ ГОРМОНОВ И ИХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ
С БЕЛКАМИ ПЛАЗМЫ КРОВИ, МОЛОЗИВА И МОЛОКА КОРОВ
ПРИ РАЗЛИЧНОМ ФУНКЦИОНАЛЬНОМ СОСТОЯНИИ
РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ**

Н. А. ЭПШТЕЙН, А. Г. ВОЛЧЕК, М. В. ВИНОГРАДОВА, Б. И. ШКАРИН
(Кафедра молочного и мясного скотоводства)

Широкое применение методов радиоиммунологического и конкурентного белковосвязывающего анализа (РИА- и КБСА-методы) позволило получить обширную информацию о содержании стероидных гормонов в крови и молоке коров при различных функциональных состояниях репродуктивной системы [6, 7, 10].

Хотя эти данные существенно различаются и не всегда сопоставимы (из-за различий в процедурах экстракции и очистки стероидов, использования связывающих систем и антисывороток, дающих различные неспецифические кросс-реакции), их анализ позволяет установить определенную зависимость между уровнем гормонов в крови и молоке. Показано, в частности, наличие параллельных изменений в концентрации в крови и молоке 17 β -эстрадиола и прогестерона у коров в течение стельности [8, 10]. Более сложная зависимость наблюдалась в случае гидрокортизона [14]. Можно полагать, что при различных физиологических и патологических состояниях животных (стельность, роды, стрессовые ситуации, нимфомания, кисты яичников и т. п.) характер и степень этой зависимости будут меняться, и таким образом изменения в скорости биосинтеза и поступления в кровь стероидных гормонов будут сопровождаться изменениями уровня их в молоке.

Особую актуальность приобретает в связи с этим расширяющаяся в последнее время практика применения стероидных гормонов и их синтетических аналогов для регуляции репродуктивных процессов у животных. Так, установлен переход в молоко прогестинов (хлормадина и меленгестрола), применяемых для синхронизации охоты у коров [11]. Было отмечено повышение уровня некоторых фракций эстрогенов в молоке коров, роды которых были стимулированы дексаметазоном и 17 β -эстрадиолом [9].

Повышенное содержание стероидных гормонов и их метаболитов в молоке может вызвать изменение его питательных и технологиче-

ских свойств [4], поэтому особое внимание привлекают факторы, влияющие на характер и скорость диффузии стероидов из крови в молоко.

Исходя из современных представлений о процессах биотранспорта в организме и роли в нем плазматических белков [3] можно полагать, что в механизме транскапиллярного переноса стероидов к органам-мишеням, в частности к клеткам молочной железы, определенная роль принадлежит связыванию гормонов с белковыми макромолекулами.

Данное исследование проведено с целью определить содержание основных стероидных гормонов (17 β -эстрадиола, прогестерона, тестостерона и гидрокортизона) в крови и молоке коров при различном функциональном состоянии их репродуктивной системы, характер взаимодействия этих гормонов с белками, а также изучить распределение стероидов между составными частями молока.

Материал и методика

Для опыта из числа полновозрастных коров холмогорской породы (экспериментальная ферма ТСХА) были сформированы 3 группы (по 4 гол в каждой): 1-я — нестельные (спустя 1—1,5 мес после отела), 2-я — стельные (5—7-й мес), 3-я — накануне отела (животные находились в родильном отделении). Все коровы были клинически здоровы.

Пробы крови брали однократно пункцией в. jugularis у коров 1-й и 2-й групп после ободенной дойки (между 14 и 15 ч), а у коров 3-й группы — в ходе родов (через 1 ч после изгнания плода). В качестве антикоагулянта использовали гепарин (5 ед/мл). Образцы крови центрифугировали при 2500 г в течение 20 мин, плазму декантировали и хранили до анализов (не более 24 ч) в холодильнике при 4°.

Пробы молока у коров 1-й и 2-й групп брали во время вечернего доения (между 19 и 20 ч), пробы молозива у коров 3-й группы — через 1,0—1,5 ч после рождения теленка.

В образцах плазмы определяли содержание общего белка (биуретовым методом), а также концентрацию 17 β -эстрадиола, прогестерона, тестостерона и гидрокортизона, используя наборы для радиоиммунологического определения (киты) фирмы CIS (Sea-Ire-Sorin, Франция). Радиоактивность образцов подсчитывали на жидкостном сцинтилляционном β -спектрометре Марк-2 (Searl, Nuclear Chicago) по методу внешнего стандарта. Концентрацию стероидов в образцах рассчитывали по стандартной кривой. Окончательный результат корректировали с учетом потерь стероидов при экстракции (по проценту открытия соответствующих ^3H -стероидов, добавленных в плазму перед определением).

В пробах молока и молозива определяли плотность, содержание жира (по Герберу) и общего белка (с краской Оранж Ж). В обезжиренных пробах молока и молозива устанавливали содержание тех же стероидов, что и в плазме, учитывая процент открытия стероидов и данные об их распределении между составными частями молока (см. ниже).

Изучение распределения стероидов в молоке и молозиве. Меченные ^3H -стероиды (20000 српт уд. акт. 85—110 Ки/ммоль) вносили в 3 повторностях в натрий-фосфатном буфере (БНФ, pH 7,4; 0,1 М) в образцы молока и молозива, которые инкубировали в водяной бане при 37° в течение 30 мин, после чего отбирали аликвоты (по 0,05 мл) для определения общей радиоактивности. Затем жир удаляли (центрифугированием) и вновь отбирали аликвоты для определения радиоактивности водно-белковой фракции. Осевший при центрифугировании клеточный осадок растворяли добавлением солилизатора NCS и переносили во флаконы для счета. Оставшуюся (после отбора проб) часть водно-белковой фракции подкисляли 10 %-ной уксусной кислотой до pH 4,6 (изоэлектрическая точка осаждения казеина), выпавший осадок отделяли центрифугированием и определяли радиоактивность оставшегося раствора. Все определения проводили в дноксановом сцинтилляторе (4 г ППО и 0,2 г ПОПОП на 1 л), эффективность счета по тритию 30 %.

Определенные параметры белково-стероидного взаимодействия. Меченные ^3H -стероиды в БНФ вносили в образцы плазмы, обезжиренного молока и молозива ($V=1$ мл, в двух повторностях) по схеме, представленной на рис. 1. Образцы А служили для определения общей активности. В образцы Б добавляли 0,1 мл 1 %-ной суспензии (в БНФ) активированного угля (Norit А, размер пор 3—5 мкм). В образцы В, помимо указанных компонентов, вносили по 5 мкг соответствующего немеченого стероида. Итоговое разведение образцов 30 %.

Образцы инкубировали при 37° в течение 30 мин и оставляли затем на 2 ч в ледяной бане при 4°. Затем из образцов А отбирали аликвоты для определения общей радиоактивности, а стероиды в образцах Б и В разделяли центрифугированием на свободную U и связанную с белком В фракции, причем первая оседала вместе с углем. Радиоактивность супернатантов, содержащих

связанные с белком стероиды, определяли на β -спектрометре.

В качестве показателя интенсивности белково-стероидного взаимодействия использовали процент стероидов, связанных с белком, соотношение связанной и свободной фракций гормонов (B/U), а также коэффициент сроства (C), представляющий ве-

личину указанного соотношения при унитарной концентрации белка (p):

$$C = \frac{B}{(1-B)p} \text{ л} \cdot \text{г}^{-1}. \quad (1)$$

Статистическую обработку полученных данных проводили общепринятым методом по Стьюденту (1).

Результаты и обсуждение

Динамика стероидных гормонов в плазме крови, молоке и молозиве. Животные опытных групп существенно различались по уровню стероидных гормонов в биологических жидкостях (табл. 1). Так, содержание 17 β -эстрадиола в плазме крови стельных

Т а б л и ц а 1
Содержание стероидных гормонов, белка и жира в плазме крови, молозиве и молоке коров ($\bar{x} \pm m$)

Группа коров	Плазма	Молозиво	Молоко
17 β -эстрадиол, пг/мл			
1	33,0 \pm 2,98	—	43,9 \pm 18,10
2	71,2 \pm 7,53** ⁽¹⁾	—	84,0 \pm 26,01
3	297,8 \pm 70,12*(1,2)	467,5 \pm 98,34	—
Прогестерон, нг/мл			
1	1,02 \pm 0,62	—	2,04 \pm 1,12
2	2,30 \pm 0,25	—	5,10 \pm 1,45
3	0,60 \pm 0,05** ⁽²⁾	2,31 \pm 0,61	—
Тестостерон, пг/мл			
1	58,2 \pm 17,10	—	33,8 \pm 18,52
2	92,6 \pm 19,90	—	70,1 \pm 24,30
3	115,5 \pm 11,24*(1)	85,1 \pm 26,68	—
Гидрокортизон, нг/мл			
1	3,03 \pm 1,03	—	0,20 \pm 0,11
2	3,90 \pm 2,16	—	0,53 \pm 0,05*(1)
3	9,83 \pm 1,45** ⁽¹⁾	3,52 \pm 1,21	—
Общий белок, г/100 мл			
1	7,58 \pm 0,09	—	3,38 \pm 0,22
2	7,65 \pm 0,07	—	3,71 \pm 0,10
3	7,06 \pm 0,14*(1,2)	11,14 \pm 0,12	—
Молочный жир %			
1	—	—	5,3 \pm 0,58
2	—	—	5,8 \pm 0,96
3	—	4,9 \pm 1,29	—

П р и м е ч а н и е. Одной звездочкой обозначено $P < 0,05$, двумя — $P < 0,01$. Цифра в скобках здесь и далее означает номер группы, различие с которой статистически достоверно.

коров было достоверно выше ($P < 0,05$), чем у нестельных, причем уровень этого гормона был максимальным к моменту отела. Аналогичная динамика характерна и для тестостерона. Полученные данные согласуются с результатами ранее проведенных исследований [5, 15], авторы которых также отмечали увеличение уровня эстрогенов и тестостерона в плазме крови у коров в течение стельности, особенно заметное в последние 3—4 недели перед отелом.

Содержание прогестерона в плазме было несколько выше у стельных животных, к моменту отела оно резко уменьшалось ($P < 0,01$). По существующим представлениям падение уровня прогестерона в плазме перед отелом приводит к активации секреторного комплекса молочной железы и обуславливает начало лактации [16].

По уровню гидрокортизона в плазме крови существенных различий между стельными и нестельными коровами не установлено. Аналогичное наблюдение было сделано нами ранее [2] в отношении суммы кортикостероидов (11-ОКС) при использовании флюориметрического метода определения гормонов. В период отела уровень гидрокортизона в плазме заметно возрастал, что связано, по всей вероятности, с действием родового стресса.

В молоке коров 17β -эстрадиола и прогестерона содержалось несколько больше, а тестостерона меньше, чем в плазме крови. Уровень гидрокортизона в плазме крови был значительно выше, чем в молоке (рис. 2).

Повышение (или снижение) уровня стероидных гормонов в плазме крови коров в период отела сопровождалось аналогичными изменениями содержания стероидов в секрете молочной железы. Концентрация большинства стероидов, за исключением прогестерона, в молозиве была выше, чем в молоке коров, особенно нестельных. 17β -эстрадиола и прогестерона в молозиве содержалось в 1,6—3,8 раза больше, чем в плазме крови. Это свидетельствует о способности клеток молочной железы к активному захвату стероидных гормонов, которым может принадлежать определенная роль в становлении физиологических функций у телят в первый постнатальный период.

Статистически достоверная корреляция (табл. 2) отмечена между содержанием прогестерона и тестостерона в плазме ($r = 0,697$). Близкие к достоверным коэффициенты положительной корреляции установлены между содержанием 17β -эстрадиола в плазме и всеми стероидными гормонами в молоке ($r = 0,592 - 0,595$). Относительно высокие коэффициенты корреляции наблюдались также между содержанием отдельных стероидов в плазме и молоке (0,397—0,816), причем в случае гидрокортизона эта корреляция была высокодостоверной ($P < 0,01$).

В нашем опыте не удалось обнаружить положительной связи между концентрацией половых стероидов и некоторыми инградентами молока, в частности процентом молочного жира, которая отмечалась ранее [7]. Возможно,

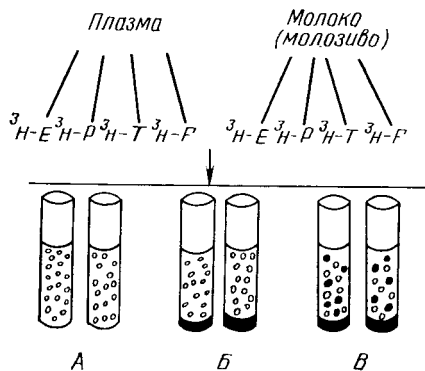


Рис. 1. Схема изучения белково-стероидного взаимодействия.

А — образец + ^3H -стероид; Б — образец + ^3H -стероид + адсорбент; В — образец + ^3H -стероид + адсорбент + немеченый стероид.

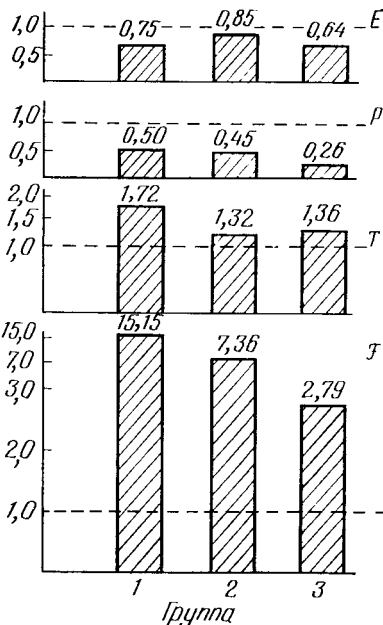


Рис. 2. Коэффициент распределения (соотношение уровней) эндогенных стероидов в плазме крови и молоке (молозиве) у подопытных животных.

E — 17β -эстрадиол; P — прогестерон; T — тестостерон; F — гидрокортизон.

Коэффициенты корреляции между содержанием стероидных гормонов, белка и жира в плазме (числитель) и молоке (знаменатель) нестельных и стельных коров (n=8)

Сопоставляемые показатели	Молочный жир, %	Молочный белок, г/100 мл	Белок плазмы, г/100	17 β -эстрадиол		Прогестерон		Тестостерон		Гидрокортизон плазмы
				плазмы	молока	плазмы	молока	плазмы	молока	
Молочный белок, г/100 мл	-0,20	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Белок плазмы, г/100 мл	-0,11	-0,19	—	—	—	—	—	—	—	—
17 β -эстрадиол	-0,24	0,32	-0,10	—	—	—	—	—	—	—
	-0,32	0,06	0,06	0,53	—	—	—	—	—	—
Прогестерон	-0,39	0,13	-0,10	0,30	0,49	—	—	—	—	—
	0,31	0,45	0,21	0,60	0,03	0,55	—	—	—	—
Тестостерон	-0,38	0,22	-0,48	0,15	0,14	0,70	0,17	—	—	—
	0,47	0,33	-0,02	0,60	0,33	0,14	0,05	0,40	—	—
Гидрокортизон	-0,15	0,27	0,15	0,40	0,35	0,21	0,15	-0,02	0,15	—
	-0,50	0,37	0,17	0,52	0,45	0,40	0,26	0,07	0,23	0,82

это связано с небольшим числом взятых под наблюдение животных.

Взаимодействие стероидных гормонов с белками плазмы крови, молока и молозива. Из данных табл. 3 видно, что в плазме крови у нестельных коров наиболее активно взаимодействуют с белком тестостерон (92,95 % связывание) и гидрокортизон (90,79 %), несколько менее активным было взаимодействие прогестерона и 17 β -эстрадиола (составило соответственно 79,01 и 79,20 %). Связывание стероидов с белками молока было значительно меньше, чем с белками плазмы (54,74—66,25 %). Эти различия более отчетливы при отнесении содержания связанных форм стероидов В к свободным U (рис. 3).¹

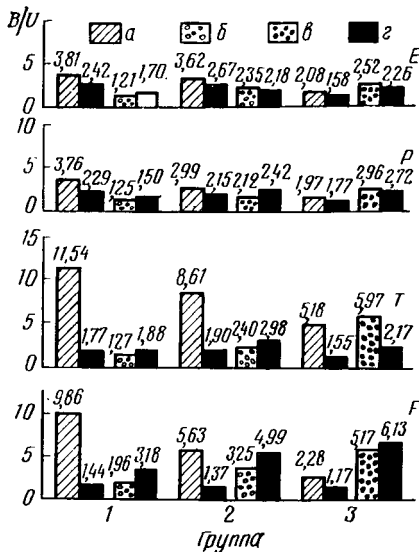


Рис. 3. Соотношение связанных с белком (В) и свободных (U) фракций стероидных гормонов в плазме крови (а), обезжиренном молоке (б) и молозиве (в), в образцах с добавками немеченых стероидов (г). Остальные обозначения те же, что на рис. 2.

Фактор стельности оказал незначительное влияние на процент связывания стероидов с белками плазмы (хотя прослеживалась тенденция к незначительному снижению этого показателя), в то время как процент связывания стероидов с белками молока существенно повышался. К моменту отела процент связывания всех

¹ Отношением В/U удобно пользоваться еще и потому, что оно часто служит для расчета таких параметров белково-стероидного взаимодействия, как $K_{асс}$ — константа ассоциации и n — суммарная молярная концентрация связей комплексообразующего белка, входящих в уравнение Скэтчарда [13], предложенного для процесса взаимодействия вещества с белком.

стероидов в плазме был наименьшим, а в молозиве — наибольшим. При этом процент связывания с белком и соотношение В/У для всех изученных стероидов в молозиве оказались выше, чем в образцах плазмы.

При интерпретации полученных результатов необходимо помнить, что в данном случае речь идет об изменении относительных показателей связывания, в то время как абсолютные количества связанных с белком и в еще большей степени свободных форм стероидов в плазме

Таблица 3

Процент стероидных гормонов, связанных с белком плазмы, молозива и молока коров ($\bar{x} \pm m$)

Группа	Плазма	Молозиво	Молоко
17 β -эстрадиол			
1	79,20 \pm 3,11	—	54,74 \pm 2,66
2	78,35 \pm 3,72	—	70,12 \pm 4,05*(1)
3	67,57 \pm 4,09	71,56 \pm 4,32	—
Прогестерон			
1	79,01 \pm 6,13	—	55,52 \pm 2,08
2	74,94 \pm 2,09	—	67,95 \pm 2,98*(1)
3	66,32 \pm 2,81*(2)	74,76 \pm 5,06*(1)	—
Тестостерон			
1	92,95 \pm 2,05	—	55,93 \pm 2,12
2	89,60 \pm 4,41	—	70,62 \pm 5,54*(1)
3	83,81 \pm 3,68	85,67 \pm 4,04	—
Гидрокортизон			
1	90,79 \pm 0,84	—	66,25 \pm 7,38
2	84,91 \pm 2,52	—	76,48 \pm 6,94
3	69,50 \pm 5,39*(1,2)	83,80 \pm 1,81	—

и молоке стельных коров, особенно в период отела (за исключением прогестерона), существенно возрастали (рис. 4).

Из рис. 5 видно, что у стельных коров происходит снижение сродства белка плазмы крови к стероидным гормонам, наиболее выраженное к моменту отела, в то время как сродство белков молока к стероидам при стельности повышается. Относительно низкие коэффициенты сродства молозивного белка к стероидам свидетельствуют о том, что увеличение связывания стероидов в молозиве обеспечивается главным образом за счет увеличения в нем содержания белка. Следует отметить, что различия в коэффициентах сродства стероид-связывающих белков между плазмой и молозивом были наименее выраженными.

Значительный интерес представляет вопрос о специфичности белково-стероидного взаимодействия. На рис. 3, г показано значение В/У при внесении в пробы немеченых стероидов. В том случае, когда связывание стероида с белком носит специфический характер, т. е. осуществляется с помощью специальных комплексообразующих белков с высокой константой ассоциации по отношению к данному стероиду (значение энергии связей ≥ 10 ккал/моль), меченый стероид вытесняется из комплекса с белком и отношение В/У становится меньше, чем в нативном образце. При неспецифическом (ненасыщаемом) связывании, которое отражает общее свойство различных белков (в первую очередь альбумина) образовывать лабильные комплексы с веществами белковой и небелковой природы, отношение В/У не сни-

жается — оно может даже несколько увеличиться, возможно, в результате включения в процесс взаимодействия добавочных (кооперативных) связей [3].

Если отношение уровня связанных с белком стероидов к свободным в нативных образцах обозначить V/U_1 , а это же отношение при внесении в пробы насыщающей добавки V/U_2 , то разность этих величин ($V/U_1 - V/U_2$) будет характеризовать емкость специфических стероид-связывающих белков, а V/U_2 — емкость неспецифического белкового связывания.

Как следует из представленных на рис. 3 данных, связывание всех стероидных гормонов в плазме крови коров в той или иной степени обусловлено присутствием в среде специфических белков — разность отношений V/U_1 и V/U_2 имеет положительное значение. И если вклад специфических комплексообразующих белков в суммарное связывание гидрокортизона и особенно тестостерона в плазме весьма значителен, то в связывании 17β -эстрадиола и прогестерона их участие невелико, и ведущая роль принадлежит в данном случае неспецифическому взаимодействию.

Из анализа данных о соотношении уровней стероидов в плазме и молоке (молозиве) видно, что стеронды, связывание которых в плазме осуществляется с высокой специфичностью (тестостерон и гидрокортизон), присутствуют в молоке и молозиве в меньшем количестве, чем в плазме (коэффициент распределения плазма/молоко > 1 , рис. 2), в то время как содержание 17β -эстрадиола и прогестерона, связывание которых в основном неспецифично, в молоке и молозиве выше, чем в плазме (коэффициент распределения < 1 , рис. 2). По этим данным можно судить о влиянии характера белково-стероидного взаимодействия на процесс диффузии стероидов из кровяного русла в молоко и молозиво.

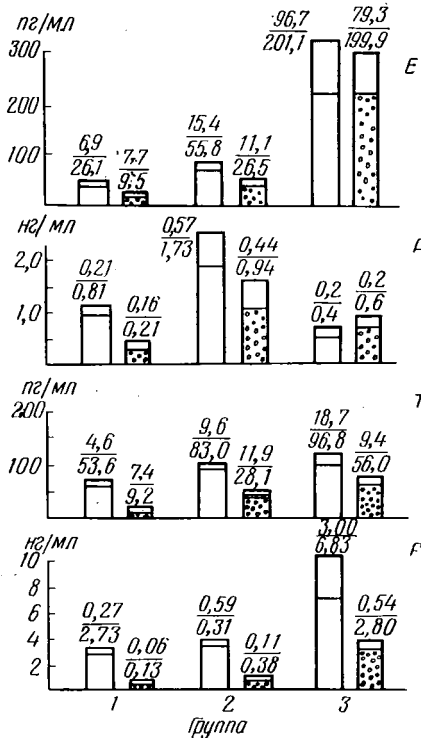


Рис. 4. Уровень свободных (верхняя часть столбиков) и связанных с белком (нижняя их часть) стероидов в плазме крови, обезжиренном молоке и молозиве

Обозначения те же, что на рис. 3.

При увеличении срока стельности коров, а также в период их отела снижение доли специфического связывания стероидов в плазме сопровождается повышением процента связывания их с неспецифическими белками, обладающими слабым сродством к гормонам. В этих условиях диссоциация белково-стероидного комплекса облегчается, вследствие чего, по-видимому, и повышает уровень стероидов в молоке и молозиве.

Связывание стероидов в молоке и молозиве, как это видно из рис. 3, в основном неспецифично. Исключением является связывание тестостерона — при добавках в молозиво немеченого гормона значительные V/U уменьшаются. Отсюда можно сделать вывод, что в молозиве коров, полученном сразу после отела, присутствует специфически связывающий тестостерон белок. Физиологическое значение этого явления остается пока неясным.

Распределение стероидных гормонов (%) между основными фракциями молока и молозива ($\bar{x} \pm m$)

Группа коров	Молочный жир	Водно-белковая фракция	Клеточный осадок
17 β -эстрадиол			
1	58,3 \pm 6,44	39,3 \pm 5,63	2,4 \pm 0,52
2	53,5 \pm 6,41	44,7 \pm 6,10	1,8 \pm 1,04
3	36,4 \pm 4,12*(1)	59,7 \pm 5,35*(1)	3,9 \pm 0,96
Прогестерон			
1	79,5 \pm 2,51	18,3 \pm 3,09	2,2 \pm 1,04
2	69,8 \pm 4,97	27,4 \pm 5,70	2,80 \pm 1,06
3	62,3 \pm 2,07**(1)	34,9 \pm 3,11**(1)	2,8 \pm 1,11
Тестостерон			
1	47,3 \pm 4,05	50,1 \pm 4,93	2,6 \pm 1,22
2	38,7 \pm 6,53	57,7 \pm 6,80	3,6 \pm 1,41
3	18,6 \pm 2,80**(1)	76,8 \pm 2,96*(2)	4,6 \pm 2,04
Гидрокортизон			
1	4,0 \pm 1,36	95,0 \pm 1,73	2,0 \pm 0,72
2	7,9 \pm 3,50	90,6 \pm 4,03	1,5 \pm 1,03
3	2,9 \pm 1,70	94,9 \pm 3,74	2,4 \pm 1,57

* P<0,05
** P<0,01

Значение V/U_2 является константой, весьма важной для характеристики емкости неспецифических связывающих белков, поскольку она не зависит от уровня эндогенных стероидов.

Таблица 5

Связывание стероидных гормонов (%) с казеином молока и молозива

Группа коров	% связывания стероидов казеином ($\bar{x} \pm m$)	
	к содержанию стероидов в составе водно-белковой фракции	к общему содержанию стероидов в молоке и молозиве
17 β -эстрадиол		
1	85,7 \pm 6,52	33,5 \pm 3,74
2	88,8 \pm 6,91	39,7 \pm 3,54
3	68,6 \pm 1,90*(1,2)	40,9 \pm 1,13
Прогестерон		
1	82,7 \pm 5,10	15,1 \pm 0,93
2	82,1 \pm 3,57	22,5 \pm 0,98**(1)
3	59,5 \pm 3,43**(1,2)	20,7 \pm 1,20*(1)
Тестостерон		
1	80,2 \pm 5,99	40,2 \pm 3,01
2	79,3 \pm 5,82	45,8 \pm 3,31
3	58,5 \pm 5,14**(1,2)	44,8 \pm 3,65
Гидрокортизон		
1	54,0 \pm 4,76	51,3 \pm 4,52
2	62,4 \pm 0,95	56,6 \pm 0,86
3	45,7 \pm 3,04**(2)	43,4 \pm 2,89**(1)

* P<0,05
** P<0,01

Емкость неспецифических белков плазмы по отношению к половым гормонам у стельных и нестельных коров различается незначительно (рис. 3), к отелу этот показатель несколько снижается (на 12,4—40,8 %). Емкость неспецифических плазменных белков по отношению к гидрокортизону значительно ниже, чем к половым стероидам (B/U_2 соответственно 1,17—1,44 и 1,60—2,76). Основная роль в неспецифическом связывании стероидов в плазме, вероятно, принадлежит альбумину [3], в этой связи полученные данные хорошо согласуются с исследованиями Сандберга и соавторов [12], показавших, что кортикостероиды, в частности гидрокортизон, взаимодействуют с молекулой альбумина значительно слабее, чем эстрогены, андрогены и прогестерон.

Емкость неспецифических белков, связывающих половые стероиды была наиболее низкой в молоке нестельных коров ($B/U_2=1,50-1,88$) и наиболее высокой в молозиве ($B/U_2=2,26-2,72$). Наибольшей емкостью характеризовались белки молока и молозива по отношению к гидрокортизону (B/U_2 соответственно 3,18—4,99 и 6,13).

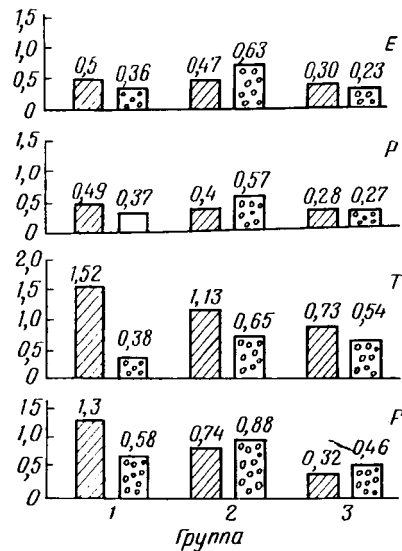


Рис. 5. Коэффициент сродства стероид-связывающих белков (отношение B/U к концентрации белка в пробе, $лг^{-1}$).

Обозначения те же, что на рис. 2.

Обращает на себя внимание тот факт, что емкость белков молозива по отношению к гидрокортизону и тестостерону, связывание которых в плазме крови происходит преимущественно в результате специфического взаимодействия, особенно значительна (B/U соответственно 5,17 и 5,97). Это можно рассматривать как компенсаторный механизм, обеспечивающий необходимый уровень указанных стероидов в молозиве. Причем в одном случае (для тестостерона) последний достигается за счет присутствия в молозиве специфических связывающих белков, а в другом (для гидрокортизона) — вследствие повышения емкости неспецифического связывания.

Распределение стероидных гормонов между составными частями молока. Как видно из данных табл. 4, большая часть прогестерона и 17β -эстрадиола в молоке стельных и нестельных коров находится в составе молочного жира (соответственно 69,8—79,5 и 53,5—58,3 %). Несколько меньше в составе жира содержится тестостерона (38,7—47,3 %). Содержание же гидрокортизона, наиболее полярного из изученных стероидов, составляет в молочном жире всего 4,0—7,9 %. Остальная часть стероидов распределяется между водно-белковой фракцией и клеточным осадком, в состав которого в основном входят клетки покровного эпителия и лейкоциты. Радиоактивность клеточного осадка обычно не превышала для различных стероидов 1,0—3,6 %. Отмечается некоторое повышение уровня стероидов, адсорбируемых клеточными элементами, у стельных коров, что, очевидно, связано с увеличением количества клеток в молоке к концу лактации.

У стельных коров процентное содержание стероидов в жире снижается, при этом возрастает относительное содержание стероидов в

водно-белковой фракции. Наибольшее количество стероидов включалось в состав водно-белковой фракции молозива, что согласуется с повышенным содержанием в нем белков, в первую очередь сывороточных, а также появлением специфических белков, обладающих повышенным родством к отдельным стероидам (тестостерону).

Большая роль в связывании стероидов в молоке принадлежит казеину (табл. 5). Он связывает 79,3—88,8 % половых стероидов и 54,0—62,4 % гидрокортизона, входящих в состав водно-белковой фракции. Роль казеина как белка, связывающего стероидные гормоны, в молоке стельных коров более значительная, чем у нестельных коров. В молозиве казеин связывает всего 58,5—68,6 % половых стероидов и 46,7 % гидрокортизона. В целом же на долю казеина приходится 15,1—45,8 % общего количества присутствующих в цельном молоке половых стероидов и 51,3—56,6 % гидрокортизона, а в молозиве — соответственно 20,7—44,8 и 43,4 %.

Выводы

1. Содержание стероидных гормонов (17 β -эстрадиола, прогестерона, тестостерона и гидрокортизона) в плазме крови, молоке и молозиве коров подвержено значительным колебаниям, что связано с функциональным состоянием репродуктивной системы животных, причем наблюдается параллелизм в изменении содержания гормонов в указанных биологических жидкостях. У стельных коров, как правило, повышается содержание стероидных гормонов в плазме крови и молоке. Значительно увеличивается содержание 17 β -эстрадиола, тестостерона и гидрокортизона в плазме крови коров в момент отела и в полученном сразу после него молозиве. Содержание прогестерона в этот период резко снижается.

2. Основная часть стероидных гормонов находится в плазме крови коров в связанном с белком состоянии, причем это связывание носит как специфический (насыщаемый), так и неспецифический (ненасыщаемый) характер. Особенно значительна роль специфических белков плазмы в связывании тестостерона и гидрокортизона. Связывание 17 β -эстрадиола и прогестерона в плазме в основном неспецифично. Взаимодействие гормонов с белками играет важную роль в регуляции их поступления из кровяного русла в молочную железу и в механизме их последующей экскреции с молоком.

3. Процент стероидных гормонов, связанных с белками молока, значительно меньше, а с белками молозива больше, чем с белками плазмы крови, при этом связывание, как правило, неспецифично. Связывание тестостерона в молозиве в значительной степени носит насыщаемый характер, что может быть обусловлено присутствием специфических комплексообразующих белков.

4. Процент связывания всех стероидных гормонов с белками плазмы крови у стельных коров ниже, чем у нестельных, а в молоке выше. Связывание стероидных гормонов с белком максимально в молозиве, полученном сразу после отела. Наиболее интенсивно взаимодействуют с белками молока и молозива тестостерон и гидрокортизон.

5. Распределение стероидных гормонов между основными фракциями молока обусловлено структурой и жирорастворимостью (полярностью) стероидов, а также их родством к связующим белкам. Значительное участие в связывании стероидов принимает казеин, на его долю приходится около 80 % общего количества связанных с белком половых стероидов и около 60 % гидрокортизона.

ЛИТЕРАТУРА

1. Плехинский Н. А. Биометрия. М.: Изд-во МГУ, 1969. — 2. Шамберев Ю. Н., Эпштейн Н. А., Волчек А. Г. Изучение взаимодействия стероидных гормонов коры надпочечников с белками плазмы крови у крупного рогатого скота. — Изв.

- ТСХА, 1969, вып. 6, с. 150—157. — 3. Чергер С. И. Транспортная функция сывороточного альбумина. Бухарест, 1975. — 4. Эпштейн Н. А., Шилова А. В., Эдель К. Е., Овчинникова И. И. Влияние молозива и молока нестельных и стельных коров на рост и морфофункциональное состояние репродуктивной системы у мышей. — Изв. ТСХА, 1980, вып. 1, с. 188—195. — 5. Эпштейн Н. А., Шилова А. В., Шкарин Б. И. Радиоиммунологическое определение уровня тестостерона в плазме периферической крови у коров в различные периоды стельности. — Изв. ТСХА, 1978, вып. 2, с. 217—219. — 6. Convey E. M. — Dairy Sci., 1974, vol. 57, N 8, p. 905—917. — 7. Erb R. E. — J. Dairy Sci., 1977, vol. 60, N 2, p. 155—169. — 8. Hoffmann B., Hamburger R. — Zuchthygiene, 1973, Bd. 8, N 4, S. 153—162. — 9. Kesler D. Y., Peterson R. C., Erb R. E., Callahan C. Y. — J. Anim. Sci., 1976, vol. 42, N 4, p. 918—926. — 10. Monk E. L., Erb R. E., Mollett T. A. — J. Dairy Sci., 1975, vol. 58, N 1, p. 34—40. — 11. Pyska H., Grega T. — Roczn. nauk. zootechn., 1976, z. 3, N 1, S. 15—24. — 12. Sandberg A. A., Slaunwhite W. R., Antoniades H. N. — Rec. Prog. Horm. Res., 1957, vol. 13, p. 209. — 13. Scatchard G. — Ann. N.-Y. Acad. Sci., 1949, vol. 51, p. 660—662. — 14. Schwalm J. W., Tucker H. A. — J. Dairy Sci., 1978, vol. 61, N 5, p. 550—556. — 15. Smith V. C., Edgerton L. A., Hafs H. D., Convey E. M. — J. Anim. Sci., 1973, vol. 36, N 2, p. 391. — 16. Stabenfeldt G. H., Osborn B. E., Ewing L. L. — Amer. J. Physiol., 1970, vol. 218, p. 571.

Статья поступила 28 октября 1979 г.

SUMMARY

The amount of steroid hormones (17 β -estradiol, progesterone, testosterone and hydrocortisone) in blood plasma, colostrum and milk of non-pregnant and pregnant cows, as well as in cows in calving was determined by radioimmunology. The interaction between steroids and proteins of plasma, colostrum and milk was studied. It is established that the amount of hormones and the nature of protein-steroid interaction depend on the functional condition of the reproductive system in animals. The data on distribution of steroid hormones among the main fractions of milk and colostrum are presented.