

## КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 636.22/28:615.631

### РАДИОИММУНОЛОГИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ УРОВНЯ ТЕСТОСТЕРОНА В ПЛАЗМЕ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У КОРОВ В РАЗЛИЧНЫЕ ПЕРИОДЫ СТЕЛЬНОСТИ

ЭПШТЕЙН Н. А., ШИЛОВА А. В., ШКАРИН Б. И.

(Лаборатория гормональных исследований и кафедра прикладной атомной физики  
и радиохимии)

Перестройка эндокринной системы у самок млекопитающих, в том числе сельскохозяйственных животных, вызываемая наступлением беременности, касается функционального состояния всех стероидпродуцирующих тканей. При этом, как известно, резко изменяются биосинтез и метаболизм различных групп стероидных гормонов, в первую очередь эстрогенов и гестагенов [4, 5]. Значительно меньшая информация имеется в настоящее время в отношении андрогенов. Установлено, в частности, что у стельных коров существенно меняется уринарная экскреция метаболитов андрогенов — нейтральных 17-кетостероидов [2]; увеличивается экскреция дегидроэпиандростерона ( $\Delta^5$ -андростен-3 $\beta$ -ол-17-он), в моче обнаруживаются новые, несвойственные нестельным животным стероиды — эпиандростерон (5 $\alpha$ -андростан-3 $\beta$ -ол-17-он) и этиохоланолон (5 $\beta$ -андростан-3 $\alpha$ -ол-17-он). Связь последних и андрогенов была подтверждена опытами с внутримышечным введением телкам масляного раствора тестостерона с последующим выделением и идентификацией указанных метаболитов [3]. Однако эти данные в известной мере могут рассматриваться как косвенные, поскольку не исключаются и другие пути образования указанных стероидов в организме беременных животных.

Разработанные в последнее время радиоиммунологические методы анализа гормонов, в том числе и тестостерона, в микрообъемах биологических жидкостей позволяют непосредственно определять продукцию андрогенов при беременности без риска причинить какой-либо ущерб здоровью подопытных животных.

#### Методика

Исследования были проведены в январе — апреле 1976 г. на коровах холмогорской породы в возрасте 3—11 лет, принадлежащих экспериментальной ферме Тимирязевской академии. Кровь для исследований брали дважды (в январе и апреле соответственно у 22 и 27 животных) днем до кормления (в 12—13 ч) пункцией *v. jugularis*.

В качестве антикоагулята использовали гепарин. Сразу же после взятия кровь центрифугировали (3000 об/мин, 20 мин), плазму отделяли и хранили до исследования в морозильной камере при температуре  $-23^\circ$ .

Для анализа пробы размораживали, отбирали образцы по 0,5 мл (в двух повторностях) в пробирки с притертыми пробками и экстрагировали 6 мл диэтилового эфира. Затем пробы оставляли на 18 ч в морозильной камере ( $t -23^\circ$ ), после чего эфирный слой декантировали и упаривали на водяной бане. Количество тестостерона определяли ра-

диоиммунологическим методом, используя набор реагентов (Testok) фирмы CIS (Sea-Ige-Sorin, Италия). Радиоактивность образцов определяли на жидкостно-сцинтилляционном спектрометре Марк II по методу внешнего стандарта. Концентрацию стероида (в пг/мл) рассчитывали по стандартной кривой, используя данные о связывании стероида специфическими антителами. Окончательный результат корректировался с учетом потерь при экстракции (процент открытия  $H^3$ -тестостерона, добавленного в плазму перед определением).

### Результаты и обсуждение

Полученные данные (таблица) свидетельствуют о том, что содержание тестостерона в плазме по мере увеличения срока стельности коров возрастает, особенно с 4—5 мес. Уровень гормона в плазме крови несколько снизился на 7—9-м месяце стельности. По всей вероятности, это объясняется тем, что в эту группу попали животные накануне отела; содержание тестостерона в их крови оказалось значительно ни-

Содержание тестостерона в плазме крови подопытных животных (пг/мл)

Группы животных по срокам стельности, мес	1-й опыт (27/I 1976)			2-й опыт (8/IV 1976)			В среднем по двум опытам		
	n	$\bar{x}$	$\pm m$	n	$\bar{x}$	$\pm m$	n	$\bar{x}$	$\pm m$
Нестельные ко-									
ровы	5	57,60	6,85	7	66,29	7,99	12	61,95	6,33
1—3	5	58,20	7,94	5	55,60	7,59	10	56,90	5,80
4—6	4	194,52**	25,18	4	187,75*	56,55	8	191,18**	30,08
7—9	8	178,87**	33,92	10	170,10**	24,93	18	174,49**	19,61

\* Различия достоверны при  $P < 0,05$ ; \*\* — при  $P < 0,01$ .

же, чем в среднем по группе. Так, уровень тестостерона в плазме у Лазури № 93 (кровь для анализа взята за 2 дня до отела) составил 106 пг/мл, у Уфы № 120 (за 3 дня до отела) — 120, у Перепелки № 210 (за 2 дня до отела) — 79 и у Брусники № 4 (в день отела) — 36 пг/мл. Эти данные позволяют думать об участии гормона в родовом акте.

Средний уровень тестостерона в крови коров на 7—9-м месяце стельности, принесших бычков, составил 240,67 пг/мл, у телок — 154,71 пг/мл, причем различие было близко к достоверному:  $t_{ст} = 2,116$  при  $n = 12$  (из обработки исключены животные накануне отела; корова Курага № 168, отелившаяся мертворожденным, а также корова Кета № 20, принесшая двойню — бычка и телку. Интересно отметить, что содержание тестостерона в крови у этой коровы при сроке стельности 4,5 мес составляло 360 пг/мл, т. е. было самым высоким в группе).

Следует отметить совпадение этих результатов с данными Челлиса и соавторов [6]. Определяя уровень тестостерона в сыворотке крови плодов крупного рогатого скота на протяжении 8 мес стельности, они нашли его равным у мужских особей 230—350, у женских — 65—152 пг/мл.

В настоящее время еще трудно говорить о биологической значимости увеличения уровня тестостерона в организме самок животных при беременности. До сих пор увеличение концентрации андрогенов в женском организме рассматривалось главным образом как побочное явление, связанное с изменением биосинтеза и метаболизма других групп стероидных гормонов (в первую очередь эстрогенов и гестагенов), и обсуждалось лишь в связи с возникновением каких-либо па-

тологических ситуаций [1]. Однако сейчас накапливается все больше данных, указывающих на то, что андрогены являются важным звеном в гормональной регуляции репродуктивных процессов у самок, хотя их конкретная роль в реализации таких биологических феноменов, как беременность, родовый акт и последующая лактация, остается пока неясной.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Покровский Б. В. Половые гормоны. В кн.: Биохимия гормонов и гормональной регуляции. М., «Наука», 1976, с. 246—299. — 2. Эпштейн Н. А. Динамика уринарной экскреции нейтральных 17-кетостероидов у коров в период беременности. «С.-х. биология», 1974, № 5, с. 769—773. — 3. Эпштейн Н. А., Учурова А. С. О метаболитах тестостерона в моче крупного рогатого скота. «Изв. ТСХА», 1975, вып. 2, с. 176—183. — 4. Ash R. W., Harper R. B. "J. Endocrinol.", 1975, vol. 64, N 1, p. 141—154. — 5. Chamley W. A., Buckmaster J. M. "Biol. Reprod.", 1973, vol. 9, N 1, p. 30—35. — 6. Challis J. R. G. e. a. "J. Endocrinol.", 1974, vol. 60, N 1, p. 107—115.

*Статья поступила 12 июля 1977 г.*

#### SUMMARY

The method of radio-immunologic analysis was used to determine the content of testosterone in 48 samples of blood plasma of cows at different periods of pregnancy. It has been found that in cows with longer pregnancy period the level of the hormone in blood is much higher. Several days before calving the level of testosterone in blood of the cows sharply decreased, sometimes reaching the values which are characteristic for non-pregnant animals. In cows which delivered bulls the level of testosterone in blood plasma was higher than in those that delivered heifers.