

СОДЕРЖАНИЕ ЭНДОГЕННЫХ ГОРМОНОВ У БЫКОВ-ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ С УЧЕТОМ ВОЗРАСТА, АУТОИММУННОГО СОСТОЯНИЯ И ПРОДУКТИВНОСТИ МАТЕРИНСКИХ ПРЕДКОВ**А.И. АБИЛОВ¹, О.С. МИТЯШОВА¹, С.В. МЫМРИН²,
А.А. ГУДИЛИНА², Е.А. ПЫЖОВА³, Н.А. КОМБАРОВА^{1, 4}, Г.Н. ЛЕВИНА¹**

Механизмы действия так называемых женских половых гормонов в мужском организме во многом до сих пор неясны. Для понимания их физиологической и патофизиологической функции необходимо изучение динамики сывороточных андрогенов, гестагенов и эстрогенов. Нами впервые проведен масштабный анализ содержания эндогенных гормонов (эстрадиол, тестостерон) и их предшественника холестерина у быков-производителей в зависимости от возраста, происхождения (Дания, Нидерланды, Россия, США, Франция, Германия), продуктивности материнских предков и состояния аутоантител к собственным сперматозоидам. В результате установлены взаимосвязи между гормональным фоном животных и сравниваемыми параметрами и отмечено, что синтез половых стероидных гормонов обеспечивался даже при низком содержании холестерина в крови. Исследование выполняли на базе ОАО «Уралплемцентр» в экологических условиях Свердловской области (регион с доминированием черной и цветной металлургии, рудообогажительных предприятий) в 2016-2017 годах на 56 быках-производителях в возрасте от 2 до 9 лет (49 гол. голштинской породы черно-пестрой масти, 7 гол. черно-пестрой породы). Концентрацию эндогенных гормонов в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа с помощью лабораторных реагентов (ЗАО «Иммунотех», Россия): для тестостерона — Иммуна-ФА-ТС, для эстрадиола — Иммуна-ФА-эстрадиол. Содержание холестерина оценивали на автоматическом анализаторе Chem Well 2902 («Awageness Technology, Inc.», США). Полученные результаты сравнивали с учетом происхождения (страна) и возраста производителей (24-91 мес), во всех группах подсчитывали соотношение тестостерона к эстрадиолу. Также был проведен ретроспективный анализ продуктивности женских предков: матерей быков (М), матерей матерей (ММ) и матерей отцов (МО). Титры аутоантител выявляли в реакции иммобилизации сперматозоидов в аутосыворотке крови быков-производителей в присутствии комплемента из сыворотки крови морских свинок. Максимальная концентрация тестостерона (30,7 нмоль/л) выявлена у быков-производителей датской селекции, минимальная — в группах голландской и французской селекции (соответственно 13,4 и 10,7 нмоль/л). Количество тестостерона возрастало до 5-летнего возраста (26,9 нмоль/л против 9,6 нмоль/л в группе до 2 лет). Концентрация тестостерона была обратно пропорциональна количеству эстрадиола. Соотношение тестостерона и эстрадиола менялось статистически достоверно ($P < 0,001$). При гиперэстрагенизации отмечали самую низкую концентрацию тестостерона — 15,4 нмоль/л, в группе с низким содержанием эстрогенов этот показатель составил 25,1 нмоль/л. Соотношение тестостерон:эстрадиол с возрастом увеличивалось на статистически достоверную величину, в 28 мес оно составляло 0,4, в 50 мес — возросло до 19,3 ($P < 0,01$). Достоверной связи между концентрацией эндогенных гормонов у сыновей и продуктивностью материнских предков не обнаружено. Отмечено некоторое влияние продуктивности матери отца в диапазоне 12000-16000 кг на гормональный фон внука. Показано, что с повышением титра спермальных аутоантител количество тестостерона в сыворотке крови снижалось на 37,9 %, эстрадиола — на 4,6 %. Содержание холестерина выросло на 13,7 %. Изменения укладывались в пределы нормативного диапазона. Таким образом, концентрация эндогенных гормонов (тестостерона и эстрогена) зависит от возраста и происхождения производителей. Тест на наличие антител к сперматозоидам в аутосыворотке крови при андрологической диспансеризации — важный диагностический метод, характеризующий гормонально-иммунологическое состояние производителей.

Ключевые слова: быки-производители, тестостерон, эстрадиол, холестерин, аутоантитела к сперматозоидам.

Эндогенные гормоны тестостерон и андростерон имеют химический состав, близкий к гормонам яичника эстрогенам и прогестерону (1). В мужском организме образуются как андрогены, так и эстрогены (2). Андрогены обеспечивают половую дифференциацию и определяют функцию мужских половых органов (яичников, семенников, простаты) (3). Синтез стероидных гормонов и сперматогенез в семенниках находятся под контролем гонадотропинов и тестостерона (4). В свою очередь, сперматогенез контролируется пептидными и стероидными гормонами — фолликулости-

мулирующим гормоном (ФСГ), лютеинизирующим гормоном (ЛГ), тестостероном, эстрадиолом (5). Около 2-3 % андрогенов биологически активны и циркулируют свободно, остальные находятся в плазме крови и образуют комплекс с тестостерон-эстрадиол-связывающим глобулином (ТЭСГ) (6, 7). Гиперэстрогенизация и гипертиреоз ведут к снижению функции свободного тестостерона и повышению содержания ТЭСГ (8). Уменьшение концентрации тестостерона в сыворотке крови при повышенном количестве ЛГ и ФСГ может приводить к первичной или вторичной тестикулярной недостаточности (9, 10), изменяет подвижность сперматозоидов в эякуляте. Доказано участие тестостерона в активации синтеза белков клеточного деления, образовании андроген-зависимых ферментов, в структурных изменениях хроматина в сперматозоидах, усилении синтеза ДНК и РНК (4, 11). Тестостерон влияет на либидо, выносливость, повышает работоспособность мышц и кислородную емкость крови (12).

Эстрогены в мужском организме представлены эстроном, эстриолом и 17β -эстрадиолом; 20 % эндогенных эстрогенов синтезируется непосредственно в яичках, 80 % — в периферических тканях за счет ароматизации с преимущественным образованием 17β -эстрадиола (13, 14). Наибольшая часть эстрадиола в плазме крови связана с ТЭСГ и альбуминами (7), биологически активная фракция составляет 1-2 %. Основные функции эстрогенов у мужских особей — обеспечение механизма обратной отрицательной связи через гонадотропины (ЛГ и ФСГ), регулирование синтеза тестостерона в яичках (13, 14). Чаще всего повышенное содержание эстрадиола становится следствием различных функциональных нарушений обмена эстрадиола. Эстрогеновые рецепторы (α и β , кодируются генами *ESR1* и *ESR2*) на 44 % гомологичны и содержат домены, характерные для внутриклеточных рецепторов. Эстрогеновые рецепторы α -типа находятся в аденогипофизе, яичках, печени, почках, костях и головном мозге, рецепторы β -типа — в костях, хрящах, желудочно-кишечном тракте, щитовидной железе, простате, коже и мочевом пузыре, через них проявляется эффект эстрогенов (15). ЛГ вызывает разрастанию семенных канальцев, стимулирует начальные стадии сперматогенеза (16), прогестин важен для инициации мейоза (17). Известно о воздействии эстрогенов на сперматогенез через гипоталамус (8). Установлено влияние эстрадиола на поведение, качественные и количественные характеристики спермы у быков-производителей (18). Максимальный объем эякулятов фиксировали при минимальной концентрации эстрадиола, и чем она была ниже в день взятия спермы, тем выше оказывалась результативность осеменения коров (19).

У молодой мужской особи количество тестостерона и эстрадиола, а также соотношение их свободных фракций четко коррелирует. Баланс стероидных половых гормонов нарушается при избыточной массе тела: содержание эстрогенов повышается (20), из-за чего снижается концентрации спермы (21). В процессе нормального старения мужских особей при физиологическом повышении активности фермента ароматазы (14, 22), превращающего тестостерон в эстроген (эстрадиол), количество жировой ткани увеличивается (23). При недостаточной массе тела качество спермы также ухудшается (24).

Установлено, что у голштинского скота содержание тестостерона в сыворотке крови положительно коррелирует с числом сперматозоидов, несущих Y-хромосому (25). У симментальских быков отмечена высокая положительная корреляция между концентрацией семени в эякуляте и содержанием тестостерона и отрицательная — между рН семени и сывороточным тестостероном в зависимости от сезона года (26, 27). Сообщалось,

что у быков в возрасте от 2-4 мес до 2 лет содержание сывороточного тестостерона статистически достоверно различается, а у животных старше отмечена тенденция к увеличению этого показателя (28). Нами показана зависимость содержания эндогенного тестостерона в крови быков-производителей от возраста и сезона года (29). Предполагается, что сезонные колебания тестостерона связаны с внешними факторами (пестициды, экзогенные эстрогены, физические и другие явления), которые пагубно воздействуют на жизнеспособность сперматозоидов, вызывая структурные и генетические изменения с повреждением целостности хроматина (30).

Для современных индустриальных стран характерно накопление в биосфере синтетических эндокринно-активных соединений (обладающих, прежде всего, эстрогенной и/или антиандрогенной активностью) — эко-эстрогенов (ксеноэстрогенов) и антиандрогенов, способных влиять на репродуктивную, нервную, иммунную и эндокринную системы животных и человека (15, 31-33).

Тестостерон, подобно глюкокортикоидам, оказывает иммунодепрессивное действие (34, 35). Существует взаимосвязь между содержанием эндогенных гормонов (тироксин, эстрадиол, тестостерон) и наличием спермальных аутоантител в сыворотке крови быков-производителей (36). Новые данные о содержании половых стероидов в крови (андрогенов, гестагенов, эстрогенов) и сперматогенезе на фоне развития аутоиммунных реакций позволит лучше понять физиологическую и патофизиологическую функцию так называемых женских половых гормонов в мужском организме, механизмы действия которых во много до сих пор не ясен.

При масштабном обследовании быков-производителей, впервые выполненном нами в экологических условиях Свердловской области (регион с доминированием черной и цветной металлургии, рудообогатительных предприятий), выявлена взаимосвязь титров спермальных аутоантител с концентрацией сывороточного эстрадиола и тестостерона, а также зависимости между содержанием эстрадиола, тестостерона и холестерина в крови, возрастом и происхождением животных (Дания, Нидерланды, Россия, США, Франция, Германия), молочной продуктивностью их материнских предков. Отмечено, что половые стероидные гормоны синтезировались у быков даже при низком содержании холестерина в крови.

Нашей целью была количественная оценка эндогенных сывороточных гормонов и антител к спермальным антигенам у быков в зависимости от возраста, происхождения и продуктивности материнских предков.

Методика. Выборка включала 56 быков-производителей разного происхождения в возрасте от 2 до 9 лет (49 гол. голштинской породы черно-пестрой масти, 7 гол. черно-пестрой породы) (ОАО «Уралплемцентр», Свердловская обл., 2016-2017 годы). Условия кормления и содержания животных соответствовали требованиям национальной технологии замораживания и использования семени племенных быков-производителей.

Кровь брали из яремной вены (декабрь 2016 года). После отделения сыворотки от форменных элементов определяли концентрацию эндогенных гормонов методом иммуноферментного анализа в 2-кратной повторности с помощью лабораторных реагентов (ЗАО «Иммунотех», Россия): для тестостерона — Иммуна-ФА-ТС, для эстрадиола — Иммуна-ФА-эстрадиол. Рассчитывали соотношение тестостерона и эстрадиола. Содержание холестерина оценивали на автоматическом анализаторе Chem Well 2902 («Awareness Technology, Inc.», США).

Титры аутоантител против собственных сперматозоидов оценивали в реакции иммобилизации живчиков (сперматозоидов) (РИМЖ) (36).

Полученные результаты сопоставляли с учетом страны происхождения и возраста производителей (24-91 мес), а также данных о молочной продуктивности их женских предков — матерей быков (М), матерей матерей (ММ) и матерей отцов (МО).

Статистическую обработку осуществляли в программе Microsoft Excel. В таблицах приведены средние (*M*) и ошибки средних (\pm SEM). Достоверность различий оценивали по *t*-критерию Стьюдента, считая их статистически значимыми при $P < 0,05$; $P < 0,01$; $P < 0,001$.

Результаты. Наибольшую и наименьшую концентрацию тестостерона (30,7 и 13,4 нмоль/л) при размере выборки $n > 6$ зафиксировали у производителей соответственно датской и голландской селекции (табл. 1). Концентрация тестостерона напрямую зависела от возраста, поскольку у производителей датской селекции ко времени проведения исследований средний возраст составил 3,3 года, тогда как у быков, завезенных из Голландии, только 2,0 года. Наименьшее содержание эстрадиола было характерно для быков американской селекции (3383,3 пмоль/л), у остальных животных этот показатель составлял 4052-4956 пмоль/л. По концентрации холестерина быки разного происхождения существенно не различались.

1. Содержание эндогенных гормонов и холестерина в сыворотке крови у быков-производителей разного происхождения ($M \pm m$, ОАО «Уралплемцентр», Свердловская обл., 2016-2017 годы)

Происхождение	<i>n</i> , гол.	Порода	Тестостерон, нмоль/л	Эстрадиол, пмоль/л	Холестерин, моль/л	Т/Э, ед.
Дания	11	Г	30,7±7,7*	4052,0±477,6	3,2±0,4	4,0±1,3
Нидерланды	11	Г	13,4±5,2	4786,4±341,7	3,1±0,3	2,8±1,0
Россия	13	Г	15,7±4,4	4254,3±510,1	3,5±0,1	4,4±1,4
Россия	7	ЧП	27,4±10,1	4593,4±324,2	3,2±0,6	6,9±2,8
США	6	Г	21,9±8,0	3383,3±822,7	2,9±0,2	5,4±1,7
Франция	3	Г	10,7±6,4	4166,9±1031,8	2,8±0,4	4,3±3,4
Германия	4	Г	15,7±6,6	4956,5±444,0	4,1±0,3	2,2±1,4
(Франция + Германия)	(3 + 4)	Г	13,5±4,4	4618,1±483,5	3,6±0,3	3,6±1,6
Всего	55					

Примечание. Г — голштинская порода черно-пестрой масти, ЧП — черно-пестрая порода. Т/Э — количественное соотношение тестостерона и эстрадиола.

* Различия с группой быков из России ($n = 13$) статистически значимы при $P < 0,05$.

2. Содержание эндогенных гормонов и холестерина в сыворотке крови у быков-производителей голштинской и черно-пестрой пород в зависимости от возраста ($M \pm m$, ОАО «Уралплемцентр», Свердловская обл., 2016-2017 годы)

Группа по возрасту, мес	<i>n</i> , гол.	Тестостерон, нмоль/л	Эстрадиол, пмоль/л	Холестерин, моль/л	Т/Э, ед.
До 24	13	9,6±2,9	5044,2±147,1	3,0±0,3	1,7±0,5
25-36	13	19,7±5,8	4559,5±321,6	3,4±0,3	4,8±1,6
37-60	23	26,9±4,7*	3955,4±384,2**	3,6±0,1*	5,4±1,1*
61 и старше	7	16,0±7,5	3426,5±549,2*	2,6±0,4*	5,7±2,4

Примечание. Т/Э — количественное соотношение тестостерона и эстрадиола.

*, ** Различия с группой в возрасте до 24 мес статистически значимы соответственно при $P < 0,05$ и $P < 0,01$.

Среди обследованных быков мы выделили четыре возрастные группы — до 2 лет, 2-3 года, 4-5 лет и старше 5 лет. Наиболее многочисленной группой ($n = 23$) были животные в возрасте от 3 до 5 лет. В практике племенных предприятий в основном используются производители этого возраста. Концентрация тестостерона у быков динамично росла до 5 лет (табл. 2). До 2 лет этот показатель составил 9,6 нмоль/л, к 25-36 мес он увеличился, в 37-60 мес был максимальным (26,9 нмоль/л). С 7-8 лет он снижался (до 16,0 нмоль/л), вероятнее всего, из-за наступления физиологического старения организма. Наоборот, по содержанию эстрадиола до 2 лет регистрировали самую высокую концентрацию, а у особей старше 5 лет этот показатель снижался на 32 %. Содержание холестерина во всех группах со-

ответствовало нижней границе нормы, а после 5-летнего возраста не достигало нормы. Источник холестерина — корма животного происхождения, следовательно, необходима соответствующая корректировка рациона быков-производителей: холестерин — предшественник более чем 40 гормонов, и его дефицит может приводить к дефициту половых стероидов.

У быков в возрасте до 24 мес и 37-60 мес достоверно ($P < 0,01$) различались концентрации сывороточного тестостерона и эстрадиола. Статистически значимо ($P < 0,05$) различались эти показатели у молодых (до 2 лет) быков и производителей в возрасте начала физиологического старения (старше 5 лет). По содержанию холестерина достоверно различались группы 37-60 мес и 61 мес и старше ($P < 0,05$), по соотношению тестостерона и эстрадиола ($P < 0,01$) — группы до 24 и 37-60 мес.

Мы условно разделили животных по количеству тестостерона на три группы: с низким (до 10,0 нмоль/л), средним (10,1-30,0 нмоль/л) и высоким (30,0 и выше нмоль/л) содержанием гормона. Концентрация тестостерона имела обратную связь с количеством эстрадиола в сыворотке крови. В зависимости от содержания тестостерона соотношение тестостерона и эстрадиола увеличивалось на статистически достоверную величину ($P < 0,001$). Содержание холестерина во всех группах оставалось практически одинаковым в пределах нормы (табл. 3).

3. Содержание эстрадиола и холестерина в сыворотке крови у быков-производителей голштинской и черно-пестрой пород в зависимости от концентрации тестостерона ($M \pm m$, ОАО «Уралплементр», Свердловская обл., 2016-2017 годы)

Группа по содержанию тестостерона, нмоль/л	<i>n</i> , гол.	Тестостерон (фактический), нмоль/л	Эстрадиол пмоль/л	Холестерин, моль/л	Т/Э, ед.
До 10,0	28	4,8±0,5	4688,1±207,5	3,0±0,3	1,1±0,1
10,1-30,00	15	22,2±1,5*	3837,7±470,5	3,2±0,3	6,9±0,9*
30 и выше	13	50,6±5,5*	3998,1±435,4	3,3±0,3	18,9±4,9*

Примечание. Т/Э — количественное соотношение тестостерона и эстрадиола.

* Различия с группой с содержанием тестостерона до 10,0 нмоль/л статистически значимы при $P < 0,001$.

По количеству сывороточного эстрадиола быков разделили на четыре группы — от 3000 пмоль/л с разницей 1000 пмоль/л (табл. 4). В группах с содержанием эстрадиола от 3001 до 5001 пмоль/л и выше (различия с группой с содержанием эстрадиола до 3000 пмоль/л статистически значимы при $P < 0,001$) концентрация тестостерона изменялась обратно пропорционально. В динамике холестерина существенной разницы не отмечали.

4. Содержание тестостерона и холестерина в сыворотке крови у быков-производителей голштинской и черно-пестрой пород в зависимости от концентрации эстрадиола ($M \pm m$, ОАО «Уралплементр», Свердловская обл., 2016-2017 годы)

Группа по содержанию эстрадиола, пмоль/л	<i>n</i> , гол.	Эстрадиол (фактический), пмоль/л	Тестостерон, нмоль/л	Холестерин, моль/л	Т/Э, ед.
До 3000	8	1887,3±293,0	25,1±10,0	2,8±0,4	18,8±8,8
3001-4000	9	3588,6±104,7*	30,8±7,3	3,3±0,4	8,8±2,4
4001-5000	11	4495,4±72,8*	16,9±6,6	3,7±0,3	2,8±1,0
5001 и выше	28	5401,2±45,8*	15,4±2,9	3,3±0,2	3,3±0,7

Примечание. Т/Э — количественное соотношение тестостерона и эстрадиола.

* Различия с группой с содержанием эстрадиола до 3000 пмоль/л статистически значимы при $P < 0,001$.

Для выяснения влияния соотношения тестостерона и эстрадиола и взаимосвязи этого показателя с содержанием изучаемых гормонов быков разделили на группы с разницей 5 ед. Т/Э (табл. 5). Между группами по Т/Э фактическое значение этого соотношения различалось на статистически достоверную величину ($P < 0,001$). С увеличением Т/Э повышалась концентрация тестостерона в сыворотке крови. Количество холестерина не

зависело от Т/Э и составляло 3,1-3,6 моль/л. При этом соотношение Т/Э увеличивалось в зависимости от возраста. Так, в 28 мес фактическое соотношение Т/Э составил 0,4 ед., более 50 мес — 19,3 ед.

5. Содержание эндогенных гормонов и холестерина в сыворотке крови у быков-производителей голштинской и черно-пестрой пород в зависимости от соотношения тестостерона и эстрадиола ($M \pm m$, ОАО «Уралплемцентр», Свердловская обл., 2016-2017 годы)

Группа по соотношению Т/Э, ед.	<i>n</i> , гол.	Т/Э (фактическое), ед.	Тестостерон, нмоль/л	Эстрадиол, пмоль/л	Холестерин, моль/л
До 1,0	10	0,4±0,1	2,3±0,4	4604,3±492,0	3,3±0,4
1,1-5,0	24	2,1±0,3*	9,2±1,4*	4673,3±247,0	3,1±0,2
5,1-10,0	9	6,3±0,3*	25,7±2,1*	4299,7±449,9	3,6±0,1
10,1 и выше	13	19,3±4,9*	43,3±6,8*	3069,8±493,7	3,1±0,4

Пр и м е ч а н и е. Т/Э — количественное соотношение тестостерона и эстрадиола.

* $P < 0,001$ по отношению к группе с распределением по соотношению Т/Э до 1,0 ед.

Учитывая, что холестерин служит предшественником половых гормонов в организме быков-производителей, мы проанализировали взаимосвязь содержания тестостерона и эстрадиола от его концентрации (табл. 6). У 41 животного концентрация холестерина оставалась в пределах нормы и составляла в среднем 3,8 ммоль/л, у 14 быков показатель был ниже нормы (2,5 моль/л) при среднем возрасте в обеих группах 36 мес. Концентрации тестостерона и эстрадиола находились в пределах физиологического диапазона. По-видимому, синтез половых гормонов в организме приоритетен и обеспечивается даже при низком количестве холестерина.

6. Содержание эндогенных гормонов в сыворотке крови у быков-производителей голштинской и черно-пестрой пород в зависимости от концентрации холестерина ($M \pm m$, ОАО «Уралплемцентр», Свердловская обл., 2016-2017 годы)

Группа по содержанию холестерина, моль/л	<i>n</i> , гол.	Холестерин (фактический), моль/л	Тестостерон, нмоль/л	Эстрадиол, пмоль/л	Т/Э, ед.
Норма	41	3,8±0,1	22,6±3,2	4382,3±220,6	5,3±0,8
Ниже нормы	14	2,5±0,2*	25,2±9,5	4025,3±463,4	2,7±1,1
Выше нормы	1	5,6	2,6	4780,3	0,5

Пр и м е ч а н и е. Т/Э — количественное соотношение тестостерона и эстрадиола.

* Различие с показателем в группе с нормальным содержанием холестерина статистически значимо при $P < 0,05$. В группе с достоверным уменьшением концентрации холестерина ниже нормы различия по Т/Э с группой с его нормальным количеством приближалось значимому.

Молочная продуктивность материнских предков может влиять на содержание половых гормонов у быков, поэтому мы проанализировали зависимость концентрации гормонов от продуктивности матерей быков (М), матерей матерей (ММ) и матерей отцов (МО). Молочная продуктивность М и ММ не оказывала существенного влияния на содержание эндогенных гормонов у быков-производителей, МО — достоверно влияла ($P < 0,05$ и $P < 0,01$) на этот показатель. По содержанию эстрадиола и холестерина существенной разницы между группами не выявили (табл. 7).

7. Содержание эндогенных гормонов и холестерина в сыворотке крови у быков-производителей голштинской и черно-пестрой пород в зависимости от молочной продуктивности материнских предков ($M \pm m$, ОАО «Уралплемцентр», Свердловская обл., 2016-2017 годы)

Группа по продуктивности, кг	<i>n</i> , гол.	Тестостерон, нмоль/л	Эстрадиол, пмоль/л	Холестерин, моль/л	Т/Э, ед.
Продуктивность матерей (М)					
До 12000	21	20,8±5,1	4687,2±204,0	3,6±0,2	4,6±1,2
12001-14000	22	18,9±4,2	4108,9±325,2	3,4±0,1	3,4±2,8
14001-16000	13	23,9±5,3	4537,1±381,2	3,5±0,1	8,7±3,9
Продуктивность матерей отцов (МО)					
До 12000	6	9,5±2,8	4405,4±480,1	3,2±0,3	2,3±0,8

12001-14000	27	24,8±4,0**	4580,3±230,1	3,4±0,2	7,4±2,0**
14001-16000	16	22,1±5,7*	4096,6±349,9	3,4±0,2	7,2±3,8
16001 и выше	5	28,3±11,1	4423,5±890,9	3,7±0,2	8,1±2,9
Продуктивность матерей (ММ)					
До 12000	23	17,8±4,1	4338,6±256,1	3,6±0,1	5,1±1,2
12001-14000	11	27,4±8,1	4114,7±454,1	3,5±0,2	10,3±5,4
14001-16000	5	24,8±2,8	4417,2±551,3	2,7±0,3	6,0±2,8
16001 и выше	8	18,2±5,8	4720,7±406,9	3,8±0,2	4,2±1,5

Примечание. Т/Э — количественное соотношение тестостерона и эстрадиола. М, ММ и МО — молочная продуктивность соответственно матерей быков, матерей матерей и матерей отцов.

*, ** Различия с группой по продуктивности матерей отцов 12000 кг соответственно $P < 0,05$ и $P < 0,001$.

Накоплено достаточно сведений о взаиморегуляции эндокринной и иммунной системы организма, поскольку известно, что тестостерон сдерживает иммунный ответ (34, 35). Учитывая это, мы изучили зависимость между содержанием эндогенных гормонов и аутоиммунной реакцией быков на собственные сперматозоиды (табл. 8). С повышением титра РИМЖ концентрация тестостерона в сыворотке крови снижалась на 37,9 %, эстрадиола — на 4,6 %, величина Т/Э — на 48,9 %. В то же время зафиксировали увеличение содержания холестерина на 13,7 %, но в пределах нормативных диапазонов. Сходные результаты мы получили в предыдущих исследованиях, где была выявлена связь функции иммунной системы с эндогенными гормонами (36).

8. Содержание эндогенных гормонов и холестерина в сыворотке крови у быков-производителей голштинской и черно-пестрой пород в зависимости от титра аутоиммуности в реакции иммобилизации живчиков (РИМЖ) ($M \pm m$, ОАО «Уралплемцентр», Свердловская обл., 2016-2017 годы)

Титр в РИМЖ	Тестостерон, нмоль/л	Эстрадиол, пмоль/л	Холестерин, моль/л	Т/Э, ед.	Возраст, мес
Всего по выборке ($n = 34$)	17,5±3,1	4452,2±212,3	3,5±0,1	5,217±1,6	35,1±3,1
В том числе:					
в группе с титром 0-1:2 ($n = 23$)	20,0±3,8	4528,9±242,6	3,270±0,2	6,338±2,3	38,1±4,1
в группе с титром 1:4-1:8 2 ($n = 11$)	12,4±4,9	4319,1±438,1	3,718±0,2	3,236±1,1	28,0±4,6

Примечание. Т/Э — количественное соотношение тестостерона и эстрадиола.

Полученные в настоящей работе результаты согласуются с нашими предыдущими данными и медицинскими исследованиями других авторов. Так, аутоиммунный орхит характеризуется повышенным содержанием аутоантител к стероидпродуцирующим клеткам яичек, достоверным снижением содержания общего и свободного тестостерона в крови и нарушением сперматогенеза, проявляющимся в значительном уменьшении концентрации сперматозоидов, а также доли прогрессивно подвижных и морфологически нормальных форм сперматозоидов в эякуляте (37).

Мы изучили содержание женского гормона эстрадиола в сыворотке крови у мужских особей в условиях Свердловской области и ее связь с другими показателями. В подобных работах (38, 39) производителей обследовали в возрасте 16-35 мес. На наш взгляд, данные, полученные в этом возрасте до 3 лет, недостаточны для обоснованных выводов, поскольку в этот период физиологическое развитие еще не завершено. Поэтому мы сравнили анализируемые показатели во всех возрастных группах быков — от 12- до 91-месячного возраста (от молодых до зрелых и старших). В качестве иммунного метода мы использовали специфический тест РИМЖ, тогда как в указанных публикациях авторы оценивали содержание глобулина и фагоцитарную активность нейтрофилов.

Таким образом, концентрация тестостерона в сыворотке крови у изученных быков зависела от происхождения и возраста ($P < 0,05$), содержание эстрадиола и холестерина — от возраста ($P < 0,05$). Количественное

соотношение тестостерона и эстрадиола (Т/Э) увеличивается пропорционально возрасту на достоверную величину. У 25 % животных содержание холестерина (2,5 моль/л) находилось на нижнем пороге нормы, но концентрация тестостерона и эстрадиола существенно не отличалась от таковой в группах с нормальным содержанием холестерина, что может свидетельствовать о приоритете синтеза половых стероидных гормонов в организме. Отмечено влияние молочной продуктивности матерей отцов на синтез тестостерона и величину Т/Э ($P < 0,05$, $P < 0,01$). Установлено, что при повышении титров спермальных аутоантител синтез эндогенных стероидных гормонов снижен: концентрация тестостерона уменьшалась на 37,9 %, эстрадиола — на 4,6 %, значение Т/Э — на 48,9 %. Эти данные подтверждают необходимость мониторинга на наличие спермальных аутоантител, что может служить косвенным маркером уровня эндогенных сыровоточных гормонов у быков-производителей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Dluzen D.E. Estrogen, testosterone, and gender differences. *Endocrine*, 2005, 27(3): 259-267 (doi: 10.1385/ENDO:27:3:259).
2. Hess R.A. Estrogen in the adult male reproductive tract: a review. *Reprod. Biol. Endocrinol.*, 2003, 1: 52 (doi: 10.1186/1477-7827-1-52).
3. Köhn F.M. Testosterone and body functions. *Aging Male*, 2006, 9(4): 183-188 (doi: 10.1080/13685530601060396).
4. Walker W.H. Testosterone signaling and the regulation of spermatogenesis. *Spermatogenesis*, 2011, 1(2): 116-120 (doi: 10.4161/spmg.1.2.16956).
5. Kumanov P., Nandipati K., Tomova A., Agarwal A. Inhibin B is a better marker of spermatogenesis than other hormones in the evaluation of male factor infertility. *Fertil. Steril.*, 2006, 86(2): 332-338 (doi: 10.1016/j.fertnstert.2006.01.022).
6. Hammond G.L. Diverse roles for sex hormone-binding globulin in reproduction. *Biol. Reprod.*, 2011, 85(3): 431-441 (doi: 10.1095/biolreprod.111.092593).
7. Grasa M.D., Gulló J., Camps N., Alcalá R., Monserrat L., Moreno-Navarrete J.M., Ortega F.J., Esteve M.3, Remesar X., Fernández-López J.A., Fernández-Real J.M., Alemany M. Modulation of SHBG binding to testosterone and estradiol by sex and morbid obesity. *Eur. J. Endocrinol.*, 2017, 176(4): 393-404 (doi: 10.1530/EJE-16-0834).
8. Rochira V., Madeo B., Diazzi C., Zirilli L., Daniele S., Carani C. Estrogens and male reproduction. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK278933/>. Дата обращения: 11.08.2018.
9. Nieschlag E., Nieschlag S. Testosterone deficiency: a historical perspective. *Asian J. Androl.*, 2014, 16(2): 161-168 (doi: 10.4103/1008-682X.122358).
10. McBride J.A., Carson C.C., Coward R.M. Diagnosis and management of testosterone deficiency. *Asian. J. Androl.*, 2015, 17(2): 177-186 (doi: 10.4103/1008-682X.143317).
11. Okuda Y., Fujisawa M., Matsumoto O., Kamidono S. Testosterone dependent regulation of the enzymes involved in DNA synthesis in the rat ventral prostate. *The Journal of Urology*, 1991, 145(1): 188-191 (doi: 10.1016/S0022-5347(17)38288-5).
12. Bain J. The many faces of testosterone. *Clin. Interv. Aging*, 2007, 2(4): 567-576.
13. Калинин С.Ю., Тюзиков И.А. *Практическая андрология*. М., 2009.
14. Тюзиков И.А., Калинин С.Ю., Ворслов Л.О., Тишова Ю.А. Роль эстрогенов в мужском организме. Часть 1. Общая и возрастная эндокринология, физиология и патофизиология эстрогенов у мужчин. *Андрология и генитальная хирургия*, 2014, 4: 8-12.
15. McLachlan J.A. Environment signaling: what embryos and evolution teach us about endocrine disrupting chemicals. *Endocr. Rev.*, 2001, 22(3): 319-341 (doi: 10.1210/edrv.22.3.0432).
16. Araujo A.B., Wittert G.A. Endocrinology of the aging male. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2011, 25(2): 303-319 (doi: 10.1016/j.beem.2010.11.004).
17. Miura T., Higuchi M., Ozaki Y., Ohta T., Miura C. Progesterin is an essential factor for the initiation of the meiosis in spermatogenic cells of the eel. *PNAS*, 2006, 103(19): 7333-7338 (doi: 10.1073/pnas.0508419103).
18. Brockett C.C., Presicce G.A., Foote R.H., Kaproth M.T., Rycroft H.E. Semen quality and behavior of Holstein bulls exposed to estradiol-treated bulls for mounts. *J. Dairy Sci.*, 1994, 77(1): 124-131.
19. Абилов А.И., Ескин Г.В., Комбарова Н.А. Концентрация эстрадиола в крови быков и его влияние на спермопродукцию и результативность осеменения. *Сельскохозяйственная биология*, 2016, 51(6): 830-836 (doi: 10.15389/agrobiology.2016.6.830rus).
20. Gates M.A., Mekary R.A., Chiu G.R. Ding E.L., Wittert G.A., Araujo A.B. Sex steroid hor-

- mone levels and body composition in men. *J. Clin. Endocr. Metab.*, 2013, 98(6): 2442-2450 (doi: 10.1210/jc.2012-2582).
21. Fejes I., Koloszar S., Zavaczki Z., Daru J., Szollösi J., Pál A. Effect of body weight on testosterone/estradiol ratio in oligozoospermic patients. *Arch. Andrology*, 2006, 52(2): 97-102 (doi: 10.1080/01485010500315479).
 22. Kadioglu P., Oral G., Sayitoglu M., Erensoy N., Senel B., Gazioglu N., Sav A., Cetin G., Ozbek U. Aromatase cytochrome P450 enzyme expression in human pituitary. *Pituitary*, 2008, 11(1): 29-35 (doi: 10.1007/s11102-007-0065-3).
 23. Braunstein G.D. Gynecomastia. *New Engl. J. Med.*, 2007, 357(12): 1229-1237 (doi: 10.1056/NEJMcp070677).
 24. Qin D.-D., Yuan W., Zhou W.-J., Cui Y.-Q., Wu J.-Q., Gao E.-S. Do reproductive hormones explain the association between body mass index and semen quality? *Asian J. Androl.*, 2007, 9(6): 827-834 (doi: 10.1111/j.1745-7262.2007.00268.x).
 25. Heidary F., Kholghi M., Rostam Zade Y. Analysis of the effect of blood testosterone on sex chromosome ratio in Holstein cattle. Reproduction in domestic animals. *Proc. 18 Annual Conference of the European Society for Domestic animal reproduction (ESDAR)*. Helsinki, Finland, 2014, V. 49, Supplement 3: 71.
 26. Chacur M.G.M., Mizusaki K.T., Gabriel Filho L.R.A., Oba E., Ramos A.A. Seasonal effects on semen and testosterone in Zebu and Taurine bulls. *Acta Scientiae Veterinariae*, 2013, 41: pub. 1110.
 27. Javed M.T., Abrar K., Mumtaz A. Influence of season on seminal plasma testosterone and oestrogen in healthy and abnormal bulls and their relationship with other semen parameters. *Veterinary Archive*, 2000, 70(3): 141-149.
 28. Kozumplik J. The level of plasma testosterone during the prenatal and postnatal period of development in bulls. *Acta Vet. Brno*, 1981, 50: 27-32 (doi: 10.2754/avb198150010027).
 29. Амерханов Х.А., Абилов А.И., Ескин Г.В., Комбарова Н.А., Турбина И.С., Федорова Е.В., Вареников М.В., Гусев И.В. Содержание тестостерона и холестерина в сыворотке крови у быков-производителей в зависимости от типа продуктивности, возраста и сезона года. *Сельскохозяйственная биология*, 2014, 2: 59-66 (doi: 10.15389/agrobiology.2014.2.59rus).
 30. Delbes G., Hales B.F., Robaire B. Toxicant and human sperm chromatin integrity. *Mol. Hum. Reprod.*, 2010, 16(1): 14-22.
 31. Амстиславский С.Я., Ерошенко В.П. Влияние экоэстрогенов на развитие репродуктивной системы млекопитающих. *Онтогенез*, 2000, 31: 165-177.
 32. Sharpe R.M., Skakkebaek N.E. Are oestrogens involved in falling sperm counts and disorders of the male reproductive tract? *Lancet*, 1993, 341(8857): 1392-1395 (doi: 10.1016/0140-6736(93)90953-E).
 33. Davis D.L., Cottlieb M.B., Stampnitzky J.R. Reduced ratio of male to female births in several industrialised countries. A sentinel health indicator? *JAMA*, 1998, 279(13): 1018-1023 (doi: 10.1001/jama.279.13.1018).
 34. Roberts M., Peters A. Is testosterone immunosuppressive in a condition-dependent manner? An experimental test in blue tits. *J. Exp. Biol.*, 2009, 212(Pt 12):1811-1818 (doi: 10.1242/jeb.031047).
 35. Roberts M.L., Buchanan K.L., Evans M.R., Marin R.H., Satterlee D.G. The effects of testosterone on immune function in quail selected for divergent plasma corticosterone response. *J. Exp. Biol.*, 2009, 212(19): 3125-3131 (doi: 10.1242/jeb.030726).
 36. Абилов А.И., Амерханов Х.А., Ескин Г.В., Федорова Е.В., Жаворонкова Н.В., Комбарова Н.А., Вареников М.В. Эндогенные гормоны у быков-производителей в новой генерации и их связь с титром аутоиммунитетности. *Зоотехния*, 2013, 9: 25-28.
 37. Гзгзян А.М. *Аутоиммунный гипогонадизм (патогенез, диагностика, принципы лечения)*. Автореф. докт. дис. СПб, 2008.
 38. Мымрин В.С., Халтурина Л.В., Шкуратова И.А., Ряпосова М.В. Состояние гормонального фона быков-производителей ОАО «Уралплемцентр». *Молочное и мясное скотоводство*, 2012, 4: 7-9.
 39. Халтурина Л.В. Гормонально-иммунологический профиль быков-производителей в зависимости от их возраста. *Аграрный вестник Урала*, 2012, 9(101): 22-21.

¹ФГБНУ Федеральный научный центр
животноводства — ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста,
142132 Россия, Московская обл., г.о. Подольск, пос. Дубровицы, 60,
e-mail: ahmed.abilov@mail.ru ☒, mityashova_o@mail.ru, gnlevina@yandex.ru;

²ОАО «Уралплемцентр»,
620913 Россия, г. Екатеринбург, Сибирский тракт, 21 км,
e-mail: uralplem@mail.ru;

³ФГБОУ Российская академия менеджмента
в животноводстве,
142143 Россия, Московская обл., г.о. Подольск, пос. Быково,
ул. Академическая, 9,
e-mail: elena@ramj.ru

Поступила в редакцию
11 апреля 2018 года

ENDOGENOUS HORMONE LEVEL IN BULL SIRES IN RELATION TO AGE, AUTOIMMUNE STATUS, AND PRODUCTION PERFORMANCE OF MATERNAL ANCESTORS

A.I. Abilov¹, O.S. Mityashova¹, S.V. Mymrin², A.A. Gudilina², E.A. Pyzhova³,
N.A. Kombarova^{1, 4}, G.N. Levina¹

¹*Ernst Federal Science Center for Animal Husbandry*, Federal Agency of Scientific Organizations, 60, pos. Dubrovitsy, Podolsk District, Moscow Province, 142132 Russia, e-mail ahmed.abilov@mail.ru (✉ corresponding author), mityashova_o@mail.ru, gnlevina@yandex.ru;

²*UralPlemcentr OAO*, 21 km, Siberian tract, Ekaterinburg, 620913 Russia, e-mail uralplem@mail.ru;

³*Russian Academy of Livestock Management*, 9, ul. Akademicheskaya, pos. Bykovo, Podolsk Region, Moscow Province, 142143 Russia, e-mail elena@ramj.ru;

⁴*Head Center for Reproduction of Farm Animals AO*, 3, ul. Tsentralnaya, pos. Bykovo, Podolsk Region, Moscow Province, 142143 Russia, e-mail komnina@list.ru

ORCID:

Abilov A.I. orcid.org/0000-0001-6236-8634

Mityashova O.S. orcid.org/0000-0002-0401-5088

Mymrin S.V. orcid.org/0000-0001-5173-984X

Gudilina A.A. orcid.org/0000-0002-7962-5315

The authors declare no conflict of interests

Received April 11, 2018

Pyzhova E.A. orcid.org/0000-0001-5719-3075

Kombarova N.A. orcid.org/0000-0003-3861-4465

Levina G.N. orcid.org/0000-0002-7978-6696

doi: 10.15389/agrobiol.2018.4.743eng

Abstract

The role of sex steroid hormones, their physiological functions in the bull sires, and mechanism of action are not still completely elucidated. This paper is the first report of a large-scale survey that we carried out among bull sires under the ecological conditions of Ural region to estimate production of endogenous hormones estradiol and testosterone, and their precursor cholesterol, as depending on the bull age, origin (Denmark, Netherlands, Russia, the USA, France, and Germany), the milk performance of their maternal ancestors, and the titers of anti-sperm antibodies. The relationship between the endogenous hormones and the studied parameters is ascertained, and it is found that the synthesis of steroid sex hormones is sustainable even at low level of blood cholesterol. Our objective was to assay concentration of blood hormones and the titers of anti-sperm antibodies in 56 bull sires including 49 Black-and-White Holsteins and 7 Black-and-White animals of different origin aged from 24 to 91 months which are exploited in the Ural Regional Information and Breeding Center (UralPlemCenter, Sverdlovsk Province, 2016-2017). The blood serum hormones were measured by ELISA with testosterone Immuna-FA-TC and Immuna-FA-Estradiol kits (Immunotech, Russia). The ratios of testosterone to estradiol were calculated. The cholesterol level was assayed with a ChemWell 2902 automated analyzer (Awareness Technology, Inc., USA). The autoantibody titers were detected in the sperm immobilization test with blood auto serum of the bull sires and guinea pig serum complement. The obtained results were processed depending on the country of origin, the bull age, and the retrospective data on milk productivity of the bulls' mothers (M), the mothers' mothers (MM), and the fathers' mothers (FM). The highest (30.7 nmol/l) and the lowest (13.4 nmol/l and 10.7 nmol/l) concentrations of testosterone had the Danish, Holland and French bull sires, respectively. It is found that the testosterone level was rising to five-year age and eventually reached 26.9 nmol/l vs. 9.6 nmol/l in two-year old animals. The blood concentrations of testosterone and estradiol inversely correlated. The testosterone to estradiol ratio significantly varied ($P < 0.001$). The lowest testosterone concentration (15.4 nmol/l) was in hyperestrogenization, and the indicator value reached 25.1 nmol/l in the animals with low estrogens. The testosterone to estradiol ratio (T/E) increased with the age, from 0.4 at 28 months of age up to 19.3 at 50 months, by a statistically significant value ($P < 0.001$). No significant relationship was revealed between the endogenous hormone concentrations in the bulls and the milk performance of their maternal ancestors, except some effect of the father's mothers with milk yield of 12000 to 16000 kg. An increase in the sperm autoantibody titer was accompanied by the decreases in the serum testosterone and estradiol levels by 37.9 % and 4.6 %, respectively. The cholesterol level increased by 13.7 %. Changes between the groups were within the normative range. Therefore, the concentration of the endogenous hormones (testosterone and estradiol) depends on the sire age and origin. The test for anti-sperm antibodies during clinical andrological examination is diagnostically important to indirectly characterize the hormonal status of sires.

Keywords: bull sires, testosterone, estradiol, cholesterol, anti-sperm antibodies.