

мена веществ крупного рогатого скота / Я. З. Лебенгарц // Сельскохозяйственная биология. – 1994. – № 6. – С. 66-76.

7. Romic, S. Krvna svojstva simentalka / S. Romic // Poljoprivz. Znan. Smotra Zagreb. – 1973. – Sv. 30. – S. 72-100.

8. Лабораторные методы исследования в клинике : справочник / В. В. Меньшиков [и др.] ; под ред. В. В. Меньшикова. – М. : Медицина, 1987. – 368 с.

9. Методические указания по применению унифицированных биохимических исследований крови, мочи и молока в ветеринарных лабораториях. – М. : МСХ СССР, 1981. – 42 с.

10. Практические методики исследований в животноводстве / В. С. Козырь [и др.] ; под ред. В. С. Козыря, А. И. Свеженцова. – Днепропетровск : Арт-Прес., 2002. – 354 с.

11. Карпюк, С. А. Определение белковых фракций сыворотки крови экспресс-методом / С. А. Карпюк // Лабораторное дело. – 1962. – № 7. – С. 33-36.

Поступила 11.03.2013 г.

УДК 577.175.6:591.366:606.63:604.2:661.745

Ю.И. СЛЫВЧУК, И.И. ГЕВКАН, В.Я. СЫРВАТКА,
Г.О. МИЛОВАНОВА

ПРИМЕНЕНИЕ УГЛЕВОДОВ ДЛЯ СТАБИЛИЗАЦИИ АКТИВНОСТИ ГОНАДОТРОПИНОВ

Институт биологии животных НААН Украины

Введение. К группе гонадотропинов относят хорионический гонадотропин (ХГ), фолликулостимулирующий гормон (ФСГ; фолликотропин), лютеинизирующий гормон (ЛГ; лютропин). ФСГ и ЛГ синтезируются гипофизом большинства млекопитающих, тогда как ХГ синтезируется плацентарной тканью приматов и лошадей.

Молекулы ХГ различных видов животных и человека, обладая значительной гомологией, не идентичны. Субъединица α -ХГЧ идентична α -субъединицы ЛГ, ФСГ и также ТТГ и составляет 92 аминокислотных остатка. Субъединица β -ХГЧ, полипептидная цепь которого состоит из 145 аминокислотных остатков, специфическая для данного гормона, но проявляет высокую степень структурной гомологии около 80 % из β -субъединицей лютеинизирующего гормона, отличаясь от последней удлинением С-концевого участка на 24 аминокислотных остатка. На углеводную часть, которая характеризуется значительной гетерогенностью, приходится около 30 % молекулярной массы ХГ. Углеводные компоненты ХГ необходимы для соединения субъединиц, поддержки конформации молекулы, защищают полипептидные цепи субъединиц от расщепления [1-7]. ХГ производится при беременности клетками

трофобласта (наружный слой клеток у зародышей млекопитающих) и плаценты [8]. Доказано, что ХГ и его β -субъединица продуцируются не только в хорионе трофобласта и плаценты, но и в тканях плода (даже в большей степени, чем в плаценте), во многих тканях обоих полов, то есть в течение всего онтогенеза млекопитающих, может также производиться некоторыми опухолями, родственными по происхождению клеткам трофобласта плаценты [9-12]. Синтез α -и β -субъединицы происходит независимо. В кровь поступают как димерные (интактные) молекулы гормона, так и свободные (несвязанные) субъединицы ХГ. Молекула ХГ сравнительно легко диссоциирует на субъединицы, например при действии мочевины или пропионовой кислоты. Изолированный α -ХГЧ и β -ХГ лишены биологической активности. Специфические биологические свойства ХГ обусловлены β -субъединицей. Структурное сходство имеется между β -субъединицей ХГ и лютеинизирующего гормона, проявляется близостью их биологических и иммунологических свойств.

Хорионический гормон в больших количествах синтезируется плацентой и выделяется с мочой, откуда может быть выделен и очищен. Обычно очищенные гонадотропины получают путем лиофилизации и хранят в сухом виде. Лيوфилизированные препараты являются достаточно стабильными при хранении, однако лиофилизация является дорогостоящим и трудоемким этапом в процессе получения гонадотропинов, а их растворы неустойчивы, что является недостатком в их использовании. Поэтому разработки в этом направлении имеют значительные преимущества в удешевлении препаратов, позволяющих обеспечить достаточную стабильность жидких форм гонадотропных препаратов с длительным сохранением их активности. Комплексные исследования по изучению оптимального количественного и качественного состава углеводов и специфических биологически активных веществ, необходимых для стабилизации гонадотропинов актуальны.

Цель работы – научно и теоретически обосновать методы стабилизации активности гонадотропных гормональных препаратов углеводовами.

Материал и методика исследований. Нами проведены работы по изучению влияния различных доз маннита и сахарозы на сохранение активности хорионического гормона человека (ХГЧ). Для исследования использовали ХГЧ из мочи беременных женщин (12-16 неделя) методом фильтрации и осаждения спиртом, ацетоном и ацетатом аммония. Современные методы исследования позволяют определить концентрацию интактных (димерных) молекул ХГЧ или свободной субъединицы, а также общего ХГЧ (суммарно интактного ХГЧ и свободной β -субъединицы) [13]. Электро- и иммунохемоллюминисцент-

ными методами определена концентрация общего (ХГЧ+β-ХГЧ) и свободного (β-ХГЧ) в 1 мг. Полученный гонадотропин разводили фосфатно-солевым буфером с рН 7.34 и аликвотили по 2500 мИЕ/л. В аликвоты проб вводили углеводы (маннит/сахарозу) в количестве 75, 50, и 25 мг/см³ и доводили объем до 1 см³ фосфатно-солевым буфером с рН 7.34. Пробы переносили в термостат с температурой 40 °С. В течение двух месяцев через каждые 2 недели проводили определение концентрации общего (ХГЧ+β-ХГЧ) и свободного (β-ХГЧ). Концентрацию интактного ХГЧ определяли по разнице (ХГЧ+β-ХГЧ) - (β-ХГЧ). По окончании эксперимента по изучению динамики активности гонадотропина остатки проб поместили в холодильник на 1,5 месяца, после чего половозрелым самцам крыс дважды подкожно ввели 0,25 МЕ на 1 голову [14] (расчет дозы гонадотропина проводили исходя из показателя, полученного в результате 2-месячного хранения его в термостате). В сыворотке крови крыс определяли концентрацию эстрадиола и прогестерона для подтверждения активности действия ХГЧ.

Результаты эксперимента и их обсуждение. Изменение активности ХГЧ в пробах с добавлением маннита представлены в таблице 1. На 2-4 неделю инкубации ХГЧ при 40 °С установлена высокая стабильность активности гормона в группах образцов с содержанием 50-75 мг/см³ маннита.

Таблица 1 – Динамика активности ХГЧ с добавлением маннита при длительном хранении

Срок хранения	Показатели	Пробы			
		Контроль	I опытная	II опытная	III опытная
Теоретическая начальная концентрация ХГЧ		2500,0	2500,0	2500,0	2500,0
2 недели	ХГЧ, мИЕ/л	1321,1	2061,4	1910,5	1269,5
	% до начальной концентрации	52,84	82,46	76,42	50,78
4 недели	ХГЧ, мИЕ/л	1272,0	1574,4	1782,0	658,0
	% до начальной концентрации	50,88	62,98	71,28	26,32
6 недель	ХГЧ, мИЕ/л	874,6	1091,8	893,8	509,0
	% до начальной концентрации	34,98	43,67	35,75	20,36
8 недель	ХГЧ, мИЕ/л	850,6	772,0	698,4	431,75-
	% до начальной концентрации	34,02	30,68	27,94	17,27-

Через две недели инкубации выявлено снижение концентрации

ХГЧ на 47,16 % в образце контрольной группы и на 49,22 % в образце III опытной группы, в образцах I-II опытных групп – на 17,54 и 23,58%, соответственно. На 8-й неделе инкубации проб концентрация ХГЧ в образце контрольной группы составила 34,02 % от начальной концентрации и 30,68 %, 27,94 и 17,27 %, соответственно, в образцах I-III опытных групп.

Изменения активности ХГЧ в образцах с добавлением сахарозы представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Динамика активности ХГЧ с добавлением сахарозы при длительном хранении

Срок хранения	Показатели	Пробы			
		Контроль	I опытная	II опытная	III опытная
Теоретическая начальная концентрация ХГЧ		2500,0	2500,0	2500,0	2500,0
2 недели	ХГЧ, мИЕ/Л	1321,1	1696,2	1404,1	1183,0
	% до начальной концентрации	52,84	67,85	56,16	47,32
4 недели	ХГЧ, мИЕ/Л	1272,0	1447,0	1267,0	1011,0
	% до начальной концентрации	50,88	57,88	50,68	40,44
6 недель	ХГЧ, мИЕ/Л	874,6	1284,5	1078,0	906,0
	% до начальной концентрации	34,98	51,36	43,12	36,26
8 недель	ХГЧ, мИЕ/Л	850,6	938,0	509,0	723,55
	% до начальной концентрации	34,02	37,52	20,36	28,94

Через две недели в образце с содержанием 25 мг/см³ сахарозы установили снижение активности ХГЧ на 53 % в сравнении с начальной теоретической. В образце с содержанием 75 мг/см³ сахарозы концентрация была высокой и составляла почти 68 % от начальной концентрации. Концентрация гормона во II опытной группе была на одном уровне с контролем и составляла около 51 %. Высокую активность ХГЧ было обнаружено в I опытной группе и на 4 неделю инкубирования. В течение 6-недельного инкубирования при 40 °С активность ХГЧ в образцах с содержанием 50-75 мг/см³ сахарозы была выше в сравнении с образцами контрольной и III опытной групп. Через 8 недель от начала исследований концентрация ХГЧ в образце II опытной группы

была низкой и составляла 20 % от начальной концентрации, высокой концентрация гормона была в образце I опытной группы – 37 %.

В таблице 3 представлены результаты определения уровня эстрадиола и прогестерона в сыворотке крови неполовозрелых самцов крыс. Анализируя полученные результаты можно сказать, что количество эстрадиола и прогестерона во всех группах крысят увеличилось почти в 10 раз. Соотношение эстрадиола к прогестерону составляло 10:1.

Таблица 3 – Уровень эстрадиола и прогестерона в сыворотке крови крысят

Группы		Пробы	
		Эстрадиол	Прогестерон
Контрольная		18,35	1,82
Маннит	I опытная	198,9	19,60
	II опытная	214,5	20,45
	III опытная	207,3	18,80
Сахароза	I опытная	246,2	23,68
	II опытная	221,6	20,68
	III опытная	177,4	18,76

Заключение. Добавление к разведенному фосфатным буфером ХГЧ 50-75 мг/см³ маннита обеспечивает высокий уровень активности гормона на 4-ю неделю инкубирования. В течении 8-недельного инкубирования при 40 °С высокая активность ХГЧ установлена в образцах с содержанием 75 мг/см³ сахарозы по сравнению с контролем и II и III опытными группами образцов. Исходя из теоретической конечной активности гонадотропина, его подкожного введения неполовозрелым самцам крыс и определения уровня эстрадиола и прогестерона в сыворотке крови можно утверждать, что добавление углеводов к растворам ХГЧ обеспечивает сохранение его активности на протяжении длительного хранения.

Литература

1. Howles, C. M. Expression of human FSH (Gonad-F) by recombinant DNA technology / C. M. Howles // Hum Reprod Update. – 1996. – Vol. 2. – P. 13
2. Structurefunction relationship of recombinant follicle-stimulating hormone (Puregon) / P. de Leeuw [et al.] // Mol Hum Reprod. – 1996. – Vol. 2. – P. 361
3. Dynamics of basal and gonadotropin-releasing hormone-releasable serum of follicle-stimulating hormone charge isoform distribution throughout the human menstrual cycle / E. Zambrano [et al.] // J. Clin Endocrinol Metabol. – 1995. – Vol. 8. – P. 1647
4. The evolution of ligand-receptor pairs / W. R. Moyle [et al.] // Nature. – 1994. – Vol. 368. – P. 251
5. Circulatory half-life but not interaction with the lutropin/chorionic gonadotropin receptor is modulated by sulfation of bovine lutropin oligosaccharides / J. U. Baenziger [et al.] // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 1992. – Vol. 89. – P. 334

6. Wide, L. Higher plasma disappearance rate in the mouse for pituitary follicle stimulating hormone of young women compared to that of men and elderly women / L. Wide, M. Wide // *J. Clin. Endocrinol. Metabol.* – 1984. – Vol. 58. – P. 426
7. Fiddes, J. C. The gene encoding the common alpha subunit of the four human glycoprotein hormones / J. C. Fiddes, H. M. Goodman // *J. Mol. Appl. Genet.* – 1981. – Vol. 1. – P. 3.
8. Димитров, Д. Я. Човешкият хориален гонадотропин / Д. Я. Димитров. – София : Медицина, физкултура, 1976. – 143 с.
9. Huhtaniemi, J. T. Content of chorionic gonadotropin in human fetal tissues / J. T. Huhtaniemi, C. C. Korenbrot, R. B. Jaffe // *J. Clin. Endocrinol. and Metabol.* – 1975. – Vol. 46(6). – P. 994-997.
10. Yochimoto J., Wolfien A.R., Hirose F. et al. Human chorionic gonadotropin – like material. Present in normal human tissues / J. Yochimoto [et al.] // *Amer. J. Obstet. and Gynec.* – 1979. – Vol. 134(7). – P. 729-733.
11. Widespread distribution of a chorionic gonadotropin-like substance in normal human tissues / J. D. Braunstein [et al.] // *J. Clin. Endocrinol.* – 1984. – Vol. 58(I). – P. 170-175.
12. Borkowski, A. Human corionic gonadotropin in the plasma of normal nonpregnant subjects / A. Borkowski, C. Mugarudt // *New Engl. J. Med.* – 1979. – Vol. 301(6). – P. 298-302.
13. Иммунологические методы : пер. с нем. / под ред. Г. Фриммеля. – М. : Медицина, 1987. – 215 с.
14. Houdebine, L.-M. Rabbit Biotechnology: Rabbit Genomics, Transgenesis, Cloning and Models / L.-M. Houdebine, J. Fan. – New Mexico : Springer, 2009. – 136 p.

Поступила 17.06.2012 г.

УДК 636.4.082.22

Н.В. СОКОЛОВ, Д.А. КАРМАНОВ, Н.Г. ЗЕЛКОВА

ОЦЕНКА И ОТБОР РЕМОНТНОГО МОЛОДНЯКА В ПРОЦЕССЕ ФОРМИРОВАНИЯ ЛИНИИ КРУПНОЙ БЕЛОЙ ПОРОДЫ СВИНЕЙ

ГНУ «Северо-Кавказский научно-исследовательский институт
животноводства Россельхозакадемии»

Введение. Во второй половине XX века возникла проблема перевода свиноводства на производство мясной свинины. Это было вызвано тем, что помимо увеличения спроса на эту продукцию важной задачей стало повышение доходности отрасли за счет снижения затрат корма на единицу продукции.

На контрольных станциях в Канаде конверсия корма отслеживается по группам животных, поэтому прогресс по этому показателю достигнут в большей степени посредством косвенной селекции по выходу постного мяса и скорости роста свиней. Эксперименты В.В. Kennedy