

## ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ КОРТИЗОЛА И ПРОГЕСТЕРОНА НА СВОЙСТВА ЭРИТРОЦИТОВ В ОРГАНИЗМЕ ЖИВОТНЫХ ГОЛШТИНСКОЙ ПОРОДЫ ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ

М. А. Дерхо, Т. В. Янич

Изучены различия в эритроцитарном составе крови беременных животных голштинской породы в сопряженности с уровнем прогестерона и кортизола, а также триместром беременности. В ходе прогрессирования беременности в эритрограмме животных уменьшается количество эритроцитов на 16,31 %, но сохраняется уровень гемоглобина в пределах  $110,60 \pm 1,10$  г/л; увеличивается уровень гематокрита на 7,78 % за счет прироста величины среднего объема эритроцитов (на 28,79 %), насыщенности клеток гемоглобином (на 21,04 %). Уровень прогестерона в крови беременных, по сравнению с небеременными, возрастает более чем в 3 раза и колеблется в среднем за беременность в пределах  $28,24 \pm 0,94$  нмоль/л. Концентрация кортизола, наоборот, при наступлении беременности уменьшается, составляя в среднем  $31,65 \pm 1,19$  нмоль/л, имея тенденцию к повышению по мере развития плода. Оценка изменчивости эритрограммы животных методом двухфакторного дисперсионного анализа выявила ее статистически значимую зависимость от триместра беременности, прогестерона и кортизола.

*Ключевые слова:* эритрограмма, беременность, триместр, кортизол; прогестерон.

Прогестерон и кортизол – это мощные нейромодуляторы, играющие важную роль в сохранении здоровья матери и плода во время беременности [1]. Они синтезируются из холестерина или других стероидных предшественников в гонадах, надпочечниках, плаценте и головном мозге [2].

Биологические свойства прогестерона в организме самок жвачных животных определяются подготовкой эндометрия для имплантации и плацентации эмбриона, а далее сохранения и развития беременности [3]. В свою очередь кортизол помимо того, что является маркером стресса [4], в ходе гестационного процесса регулирует питание развивающегося плода и развитие его органов [3], подготовку организма матери к родам [5, 6]. Во время беременности взаимодействия между данными гормонами определяются их сродством к кортикостероид-связывающему глобулину (КСГ), который транспортирует не только кортизол, но и прогестерон, особенно в условиях маточно-плацентарного круга кровообращения [7]. При этом прогестерон конкурирует с кортизолом за КСГ, что инициирует повышение концентрации последнего в пуповинной крови и в плоде, в котором высокие концентрации кортизола способствуют развитию нервной системы и со-

зреванию легких. Кроме этого, прогестерон является предшественником кортизола не только в организме матери, но и плода [8].

Транспорт прогестерона и кортизола, как в организме матери, так и между матерью и плодом, осуществляется кровью, в составе которой существенна объемная доля эритроцитов [9]. Эритроциты не только играют важную роль в транспорте дыхательных газов [10, 11, 12], но и стероидных гормонов [13]. Кроме этого, они имеют рецепторы к стероидным гормонам, посредством которых реализуются их негеномные и геномные эффекты, отражаясь на деформируемости мембран красных клеток [14]. Данные вопросы наиболее основательно изучены в гуманной медицине, как при беременности, так и при различных патологиях. В то же время у сельскохозяйственных животных по этой проблеме сведений недостаточно, что и актуализирует тему исследований.

Настоящее исследование было направлено на изучение различий в эритроцитарном составе крови беременных животных голштинской породы в зависимости от изменчивости уровня прогестерона и кортизола в крови, а также оценку влияния гормонов на изменчивость параметров эритрограммы при помощи дисперсионного анализа.

### Материалы и методы исследования

Животные, использованные в качестве объекта исследований, принадлежали ТОО «Белашан» (Республика Казахстан). Работа выполнена в 2021–2022 гг. Опытная группа была сформирована из телок, достигших живой массы осеменения, что соответствовало 15-месячному возрасту. Она включала 20 голов. Телок при появлении признаков охоты осеменяли ретроцервикальным методом. Беременность подтверждалась методом УЗИ-диагностики на 45-е сутки после осеменения. При наличии беременности их переводили в секцию беременных животных.

Технология кормления и содержания животных предусматривала беспривязное боксовое содержание и двухкратное кормление. Рационы кормления животных регламентировались нормами ВИЖ. В их состав включали корма собственного производства, которые перерабатывались, обогащались минерально-витаминными добавками и подготавливались к употреблению в собственном кормоцехе. В рационе кормления животных после 24-й недели беременности снижался уровень концентрированных кормов. При этом их обеспечивали высококачественным сеном без ограничений.

Образцы крови собирали от телок до появления признаков охоты, а после установления беременности – в конце I, II и III триместров, что соответствовало 12, 24 и 36 неделям. Кровь брали утром до кормления из подхвостовой вены, используя вакуумные системы и пробирки «VACUETTE» с фиолетовой и красной крышками. После взятия образцы крови маркировали, помещали в термоконтейнере, а затем были переданы в ТОО «Лаборатория ИВ Смолина» (г. Костанай) для исследований.

Концентрацию стероидных гормонов (прогестерона, кортизола) определяли в сыворотке крови методом твердофазного конкурентного иммуноферментного анализа с применением моноклональных антител. Для этих целей использовали готовые наборы реагентов. Анализ выполнен согласно инструкции производителя с соблюдением всех мер предосторожности. Концентрация гормонов при помощи считывающего микропланшетного ридера в каждом образце планшеты считывали при 450 нм (эталон 630 нм). Концентрации кортизола и прогестерона выражали в нмоль/л. Эритроцитогамму, включающую количество эритроцитов, гемоглобина, гематокрита и расчетные эритроци-

тарные индексы, определяли гематологическим анализатором (Sysmex, Япония), имеющим видоспецифичные настройки для крупного рогатого скота.

Статистический анализ выполнен с использованием Statistica 6.0 пакета программы Excel. Во-первых, лабораторные данные проверялись на однородность дисперсий и перед анализом подвергались логарифмическому преобразованию. Во-вторых, статистический анализ был проведен с использованием модели двухфакторного дисперсионного анализа с повторениями (ANOVA) с использованием в качестве главных факторов: триместр беременности, концентрации кортизола и прогестерона и логарифмически преобразованных показателей эритрограммы в качестве зависимых переменных. Уровень значимости для всего статистического анализа был  $p < 0,05$ .

### Результаты исследования и обсуждение

С целью мониторинга состояния здоровья организма матери в ходе беременности важно знать интервалы изменений основных гематологических показателей в соответствии с ее триместрами, что позволит своевременно использовать профилактические меры.

Частью общего анализа крови является эритрограмма, в которой наиболее важную роль играют эритроциты [15], так как посредством данных клеток обеспечивается транспорт дыхательных газов, а за счет этого – окислительно-восстановительный баланс организма [12]. Кроме этого, эритроциты регулируют сосудистый тонус, влияя на вязкость крови [16] и состояние гемостаза [17].

В организме беременных телок, по сравнению с небеременными, достоверно увеличивалась концентрация гемоглобина и, соответственно, среднее содержание гемоглобина в эритроцитах на 8,29 и 16,26%, что было результатом формирования маточно-плацентарного круга кровообращения и покрытия кислородных затрат развивающегося плода [5, 6, 10]. Это повышало вариабельность объемных свойств эритроцитов, выраженных в относительных и абсолютных числах на 7,99 и 12,18% (табл. 1). По данным [18] выявленные сдвиги в эритрограмме телок в первом триместре беременности являются результатом избыточного синтеза эритропоэтина, повышающего уровень использования железа в синтезе дыхательного белка.



В ходе развития беременности в крови животных снижалось количество эритроцитов на 16,31 %, составляя в среднем за беременность  $6,01 \pm 0,12 \cdot 10^{12}/л$  (табл. 1), что было результатом постепенного увеличения в организме матери объема крови [5, 6]. При этом уровень гемоглобина в кровотоке не зависел от триместра беременности, колеблясь в интервале  $110,60 \pm 1,10$  г/л. В то же время количество гематокрита, несмотря на уменьшение эритроцитов в ходе гестационного процесса, плавно возрастало на 7,78 % ( $p < 0,05$ ), как результат планового увеличения среднего объема эритроцитов. Значение данного параметра превышало к концу III триместра беременности уровень первого на 28,79 %, отражаясь так же, как на насыщенности эритроцитов гемоглобином (MCH), так и плотности его упаковки в клетках (MCHC). Несмотря на увеличение объема красных клеток, их вариабельность в кровеносном русле по данному параметру уменьшалась как в абсолютном (на 6,09 %,  $p < 0,05$ ), так и относительном (на 30,73 %,  $p < 0,05$ ) выражении.

Таким образом, в ходе беременности изменения в составе эритроцитарного состава крови были сопряжены с появлением дополнительного круга кровообращения и направлены на сохранение вязкости крови, способности

красных клеток оказывать сопротивление потоку крови и за счет этого мигрировать в кровеносном русле [19], обеспечивая потребности матери и плода.

Развитие и сохранение беременности в организме крупного рогатого скота связано с биологическими эффектами нескольких гормонов, включая прогестерон и кортизол. Так, наступление и развитие беременности в организме животных опытной группы протекало на фоне сохранения высокой концентрации прогестерона в крови, которая превышала уровень небеременных телок в 3 и более раз (табл. 2) и была результатом дополнительного синтеза гормона желтым телом беременности и плацентой [20]. При этом уровень прогестерона отражает функциональное состояние плодной оболочки в организме матери [21] и служит маркером физиологического протекания беременности.

При наступлении беременности концентрация кортизола, наоборот, уменьшалась в крови животных. При этом в конце I триместра, как и в среднем за весь период беременности, она отличалась от уровня небеременных телок на 43,16 и 29,35 % соответственно (табл. 2). По данным [22] это связано с адаптивным ответом организма матери, способствующим сохранению и развитию плода. Достигается данный

Таблица 1 – Изменчивость эритрограммы животных в ходе беременности ( $n = 20$ ),  $\bar{X} \pm Sx$

Показатель / Границы нормы	15-мес. телки (перед охотой)	Сроки беременности, триместр/нед.			В среднем за период беременности
		I/12	II/24	III/36	
Эритроциты, $10^{12}/л$ / 5,0–7,5	$6,98 \pm 0,18$	$6,50 \pm 0,05$	$6,08 \pm 0,24$	$5,44 \pm 0,07^*$	$6,01 \pm 0,12$
Гемоглобин (Hb), г/л / 90,0–120,0	$101,30 \pm 2,40$	$109,70 \pm 1,68^{*1}$	$111,00 \pm 1,09$	$111,10 \pm 0,53$	$110,60 \pm 1,10$
Гематокрит (Ht), % / 24,0–48,0	$28,50 \pm 0,83$	$30,30 \pm 0,43$	$31,57 \pm 0,28$	$32,66 \pm 0,48^{*2}$	$31,51 \pm 0,39$
Средний объем эритроцита (MCV), фл	$40,83 \pm 0,66$	$46,61 \pm 0,92^{*1}$	$51,92 \pm 1,43^{*2}$	$60,03 \pm 1,18^{*2}$	$52,85 \pm 1,17$
Среднее содержание Hb в эритроцитах (MCH), пг / 16,5–18,5	$14,51 \pm 0,27$	$16,87 \pm 0,36^{*1}$	$18,25 \pm 0,18^{*2}$	$20,42 \pm 0,16^{*2}$	$18,51 \pm 0,23$
Средняя концентрация Hb в эритроците, г/дл	$35,54 \pm 0,27$	$36,20 \pm 0,39$	$35,15 \pm 0,30$	$34,02 \pm 0,50^{*2}$	$35,12 \pm 0,39$
Распределение эритроцитов по MCV, фл	$32,33 \pm 0,08$	$36,27 \pm 0,30^{*1}$	$34,36 \pm 0,17^*$	$34,06 \pm 0,12^*$	$34,89 \pm 0,19$
Ширина распределения эритроцитов по MCV, %	$25,40 \pm 0,49$	$27,43 \pm 0,34^{*1}$	$21,36 \pm 0,52^{*2}$	$19,00 \pm 0,11^{*2}$	$22,59 \pm 0,32^*$

Примечание:  $^{*1} - p < 0,05$  по отношению к 15-месячным телкам (перед охотой);  $^{*2} - p < 0,05$  по отношению к 1-му триместру беременности.

эффект тем, что в организме беременных животных основным местом синтеза кортикотропин-рилизинг-гормона (КРГ) является плацента, и плацентарная «выработка» КРГ определяет его образование в гипоталамусе. Поэтому материнский организм из-за сниженной активации нейронов гипоталамуса становится менее чувствительным к действию внешних стрессоров.

В ходе беременности концентрация кортизола плавно увеличивается. Уровень гормона в конце III триместра беременности, по сравнению с первым, возрос на 49,37%, но все равно был меньше, чем у небеременных телок (табл. 2). В исследованиях [5, 6, 23] отмечено, что данная динамика кортизола в ходе беременности является типичной.

Концентрация прогестерона и кортизола в крови матери находилась в реципрокных отношениях, о чем свидетельствовала величина Прогестерон / Кортизол. По данным [Donaldson A, 1991], преобладание уровня прогестерона определяло снижение концентрации кортизола

в крови матери за счет его интенсивного использования плодом. И наоборот, в конце III триместра беременности снижение прогестерона в крови создавало основу для повышения кортизола в организме нетелей (табл. 2).

Как видно из данных таблицы 3, выбранные нами главные факторы статистически значимо влияли на изменчивость эритрограммы в организме животных при переходе из состояния «небеременные – беременные», а также в ходе ее развития по триместрам, так как для каждого фактора F-расчетное было выше, чем F-критическое. При оценке двухфакторных взаимодействий между «триместром беременности × показатели эритрограммы», «прогестерон × показатели эритрограммы» и «кортизол × показатели эритрограммы» выявлена аналогичная статистически значимая зависимость.

Следовательно, в организме животных беременность инициирует изменение функций физиологических систем, которые сопряжены с ее триместром и эндокринными сдвигами.

Таблица 2 – Изменчивость стероидных гормонов в крови животных в ходе беременности ( $n = 20$ ),  $\bar{X} \pm Sx$

Показатель	15-мес. телки (перед охотой)	Сроки беременности, триместр/нед.			В среднем за период беременности
		I/12	II/24	III/36	
Прогестерон (нмоль/л)	7,37±1,34*	27,47±0,40* <sup>1</sup>	35,63±2,02* <sup>2</sup>	21,63±0,40* <sup>2</sup>	28,24±0,94*
Кортизол (нмоль/л)	44,80±2,80	25,46±0,53* <sup>1</sup>	31,46±2,09* <sup>2</sup>	38,03±0,95* <sup>2</sup>	31,65±1,19
Прогестерон / Кортизол (усл. ед.)	0,17±0,02	1,08±0,03* <sup>1</sup>	1,13±0,08	0,57±0,06* <sup>2</sup>	0,92±0,57*

Примечание: \*<sup>1</sup> –  $p < 0,05$  по отношению к 15-месячным телкам (перед охотой); \*<sup>2</sup> –  $p < 0,05$  по отношению к 1-му триместру беременности

Таблица 3 – Результаты оценки изменчивости эритрограммы методом дисперсионного анализа

Источник вариации	Общая сумма квадратов, $SS$	Степень свободы, $df$	Ср. квадратичное отклонение, $MS$	F-расчетное	F-критическое	$P$
Главные факторы						
Триместр беременности	705,87	3	235,28	41,12	2,63	< 0,05
Прогестерон крови	2230,13	3	743,37	103,01	2,63	< 0,05
Кортизол крови	566,34	3	188,78	20,46	2,63	< 0,05
Двухфакторные взаимодействия						
Триместр беременности × эритрограмма	2558,52	21	121,83	21,29	1,59	< 0,05
Прогестерон × эритрограмма	5278,23	21	251,34	34,82	1,59	< 0,05
Кортизол × эритрограмма	4772,82	21	227,27	24,63	1,59	< 0,05





## Выводы

При наступлении и физиологическом протекании беременности в организме матери происходят разнообразные изменения, включающие и состав красной крови, и уровень стероидных гормонов. В эритрограмме беременных животных по мере развития плода и приближения родов уменьшается количество эритроцитов на 16,31% на фоне сохранения концентрации гемоглобина в пределах  $110,60 \pm 1,10$  г/л, увеличения количество гематокрита на 7,78% ( $p < 0,05$ ) за счет прироста величины среднего объема эритроцитов (на 28,79%) и соответственно насыщенности клеток гемоглобином (на 21,04%), как результат снижения плотности упаковки белка на 6,02%. При этом популяция эритроцитов становится более однородной по объемным характеристикам. Уровень прогестерона в крови беременных по сравнению с небеременными возрастает более чем 3 раза и колеблется в среднем за беременность в пределах  $28,24 \pm 0,94$  нмоль/л. В то же время концентрация кортизола, наоборот, при наступлении беременности уменьшается, составляя в среднем  $31,65 \pm 1,19$  нмоль/л, хотя и имеет тенденцию к повышению по мере развития плода и приближения родов. Изменчивость прогестерона и кортизола в крови матери имеет реципрокную взаимосвязь. Метод двухфакторного дисперсионного анализа показал, что вариабельность параметров эритрограммы животных определяется действием главных факторов (триместр беременности, прогестерон, кортизол) во взаимодействиях «триместр беременности  $\times$  показатели эритрограммы», «прогестерон  $\times$  показатели эритрограммы» и «кортизол  $\times$  показатели эритрограммы».

## Список литературы

1. Development and validation of an LC-MS/MS assay for the quantification of allopregnanolone and its progesterone-derived isomers, precursors, and cortisol/cortisone in pregnancy / G. Mayne, E. De Bloois, D. Dabelea, U. Christians // *Anal Bioanal Chem.* 2021. Vol. 413 (21). P. 5427–5438. DOI: 10.1007/s00216-021-03523-0.
2. Longitudinal proneuroactive and neuroactive steroid profiles in medication-free women with, without and at-risk for perinatal depression: A liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis / K. M. Deligiannidis [et al.] // *Psychoneuroendocrinology.* 2020. Vol. 121. P. 104827. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2020.104827.
3. Sawyer G., Webster D., Narayan E. Measuring wool cortisol and progesterone levels in breeding maiden Australian merino sheep (*Ovis aries*) // *PLoS One.* 2019. Vol. 14 (4). P. e0214734. DOI: 10.1371/journal.pone.0214734.
4. Сайфутдинова Л. Н., Дерхо М. А. Оценка биологических связей кортикостерона и кортизола в организме кур при стрессе // *Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана.* 2021. Т. 246. № 2. С. 187–193.
5. След А. Н., Дерхо М. А. Оценка дыхательной функции крови и ее взаимосвязь с кортизолом у коров при беременности // *Ученые записки Казанской ГАВМ им. Н. Э. Баумана.* 2020. Т. 241. № 1. С. 193–199.
6. Дерхо М. А., След А. Н., Дерхо А. О. Тромбоцитарный гомеостаз и его взаимосвязь с кортизолом и прогестероном у коров при беременности // *Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана.* 2021. Т. 246. № 2. С. 60–65.
7. High binding site occupancy of corticosteroid-binding globulin by progesterone increases fetal free cortisol concentrations / N. A. Hodyl [et al.] // *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2020. Vol. 251. P. 129–135. DOI: 10.1016/j.ejogrb.2020.05.034.
8. Changes in concentrations of cortisol, dehydroepiandrosterone sulphate and progesterone in fetal and maternal serum during pregnancy / A. Donaldson [et al.] // *Clin Endocrinol (Oxf).* 1991. Vol. 35 (5). P. 447–451. DOI: 10.1111/j.1365-2265.1991.tb03564.x.
9. Tamura T. Blood Count Specimen // *Rinsho Byori.* 2015. Vol. 63 (12). P. 1387–1396.
10. Sen Gupta A. Hemoglobin-based Oxygen Carriers: Current State-of-the-art and Novel Molecules // *Shock.* 2019. Vol. 52 (1). P. 70–83. DOI: 10.1097/SHK.0000000000001009.
11. Immune Functions of Erythrocytes in Osteichthyes / M. Stosik, B. Tokarz-Deptuła, J. Deptuła, W. Deptuła // *Front Immunol.* 2020. Vol. 15 (11). P. 1914. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01914.
12. Red blood cell dysfunction: a new player in cardiovascular disease / J. Pernow, A. Mahdi, J. Yang, Z. Zhou // *Cardiovasc Res.* 2019. Vol. 115 (11). P. 1596–1605. DOI: 10.1093/cvr/cvz156.
13. Янич Т. В., Дерхо М. А. Роль кортизола и прогестерона в формировании клеточного состава крови у телок голштинской породы // *Генетика и разведение животных.* 2022. № 2. С. 107–113.

14. Functional Estrogen Receptors of Red Blood Cells. Do They Influence Intracellular Signaling? / R. Vona [et al.] // *Cell Physiol Biochem*. 2019. Vol. 53 (1). P. 186–199. DOI: 10.33594/000000129.
15. Acharya V., Kumar P. Identification and red blood cell automated counting from blood smear images using computer-aided system // *Med Biol Eng Comput*. 2018. Vol. 56. № 3. P. 483–489. DOI: 10.1007/s11517-017-1708-9.
16. Michel J. B., Martin-Ventura J. L. Red Blood Cells and Hemoglobin in Human Atherosclerosis and Related Arterial Diseases // *Int J Mol Sci*. 2020. Vol. 21. № 18. P. 6756. DOI: 10.3390/ijms21186756.
17. Weisel J. W., Litvinov R. I. Red blood cells: the forgotten player in hemostasis and thrombosis // *J Thromb Haemost*. 2019. Vol. 17 (2). P. 271–282. DOI: 10.1111/jth.14360.
18. Lesesve J. F., Franczak C., Perrin J. Erythrocytes morphology in pregnancy // *Ann Biol Clin (Paris)*. 2019. Vol. 77 (1). P. 113–115. DOI: 10.1684/abc.2018.1409.
19. Reinhart W. H. The optimum hematocrit // *Clin Hemorheol Microcirc*. 2016. Vol. 64. P. 575–585. DOI: 10.3233/CH-168032.
20. Endocrine changes in late bovine pregnancy with special emphasis on fetal well-being / H. Kindahl, B. Kornmatitsuk, K. Königsson, H. Gustafsson // *Domest Anim Endocrinol*. 2002. Vol. 23 (1–2). P. 321–328. DOI: 10.1016/s0739-7240(02)00167-4.
21. Endocrine profiles, haematology and pregnancy outcomes of late pregnant Holstein dairy heifers sired by bulls giving a high or low incidence of stillbirth / B. Kornmatitsuk [et al.] // *Acta Vet Scand*. 2004. Vol. 45 (1–2). P. 47–68. DOI: 10.1186/1751-0147-45-47.
22. Seth S. Lewis A. J., Galbally M. Perinatal maternal depression and cortisol function in pregnancy and the postpartum period: a systematic literature review // *BMC Pregnancy Childbirth*. 2016. Vol. 16 (1). P. 124. DOI: 10.1186/s12884-016-0915-y.
23. Thompson L. A., Trevathan W. R. Cortisol reactivity, maternal sensitivity, and learning in 3-month-old infants // *Infant Behav Dev*. 2008. Vol. 31 (1). P. 92–106. DOI: 10.1016/j.infbeh.2007.07.007.

---

**Дерхо Марина Аркадьевна**, д-р биол. наук, профессор, зав. кафедрой естественнонаучных дисциплин, ФГБОУ ВО Южно-Уральский государственный аграрный университет.

E-mail: derkho2010@yandex.ru.

**Янич Татьяна Валерьевна**, аспирант, ФГБОУ ВО Южно-Уральский государственный аграрный университет.

E-mail: khimieugavm@inbox.ru.

\* \* \*