

Niveles de testosterona en sangre periférica de machos de las especies bovina y porcina determinados por un método basado en la técnica de "fijación proteica competitiva"*

R. CASTELLANOS Y L. E. EDQVIST

Dpto. de Bioquímica, Rama Agropecuaria, C.N.I.C. Habana, Cuba. Dpto. de Bioquímica de la Escuela Real de Veterinaria, Estocolmo, Suecia.

Recibido en: Abril 1972

ABSTRACT. The method of Castellanos and Edqvist (1971) for the determination of testosterone in blood was employed to study the levels of this hormone in the peripheral blood of boars and bulls of different ages, as well as its values in the spermatic vein of the latter. The following values were detected in normal bulls of the Sweden Red and White breed: 6.2 ng/ml in animals from 1 to 30 days old; 4.9 ng/ml in animals 31 to 60 days old; 6.5 ng/ml in those from 61 to 90 days of age; 9.3 ng/ml in the group from 91 to 360 days; and 6.3 ng/ml in bulls older than 360 days. In normal boars of the Sweden Landrace breed, the value found in peripheral blood was 5.4 ng/ml. In castrated boars the value was 0.3 ng/ml which differs significantly from the normal values. The mean value of testosterone in blood from the spermatic vein of four boars was 96 ng/ml, which is also significantly different from the peripheral normal values.

RESUMEN. Empleando el método de diagnóstico para la determinación de testosterona en sangre de Castellanos y Edqvist (1971) se estudiaron los valores de esta hormona en la sangre periférica de machos de distintas edades de ganado vacuno y de machos maduros de la especie porcina, así como también sus valores en la sangre de la vena espermática de estos últimos. En los machos normales de la especie bovina de las razas suecas Roja y Blanca fueron detectadas los siguientes valores 6.2 ng/ml en animales de 1 a 30 días de nacidos; 4.9 ng/ml en animales de 31 a 60 días; 6.5 ng/ml en aquellos entre 61 y 90 días; 9.3 ng/ml en el grupo de 91 a 360 días, y 6.3 ng/ml en toros mayores de 360 días. En verracos normales, de la raza sueca Landrace, el valor encontrado para sangre periférica fue de 5.4 ng/ml, el cual es significativamente diferente de los valores normales. El valor promedio registrado de testosterona en sangre de la vena espermática de 4 puercos fue de 96 ng/ml, el cual difiere también significativamente de los valores periféricos normales.

INTRODUCCION

La testosterona, el andrógeno natural más potente que se conoce, fue aislado por primera vez en forma pura y cristalina de testículos de toros hace 36 años (David y Col., 1935). En los últimos 10 años la determinación de testosterona en sangre ha sido llevada a cabo mediante numerosos métodos, siendo hoy comunmente usados

* Presentado en el III Seminario Científico. CNIC.

aquellos basados en la técnica de Fijación Proteica Competitiva" (*ver revisión de Castellanos y Edqvist 1971*) y ultimamente han empezado a aparecer los primeros reportes de niveles de testosterona en sangre de humanos medidos por métodos radioinmunológicos (Furuyama y Col., 1970), sin embargo, el estudio de esta hormona en sangre de animales domésticos no ha seguido el mismo ritmo que en humanos. Lindner en 1959 estudió los niveles de testosterona en testículos y en sangre de la vena espermática de toros, y en 1961(b) realiza el primer intento exitoso de aislar la testosterona en sangre de la vena espermática de verracos. Anteriormente, nuestros conocimientos sobre la función endocrina de los testículos de mamíferos estaban basados en las investigaciones de la naturaleza química de los esteroides androgénicos en la gónada del macho y en los estudios realizados introduciendo esteroides por vía parenteral en los órganos receptores como la próstata y las vesículas seminales. Recientemente *Gray y col., 1971*, reportaron valores de testosterona en sangre periférica de toros, así como su relación con algunos parámetros de la fertilidad. El propósito de este trabajo es el de conocer las concentraciones de testosterona en sangre periférica de verracos, así como corroborar los valores reportados en sangre periférica de toros, con vista a la aplicación de estos conocimientos en futuras investigaciones.

MATERIALES Y METODOS

En el estudio de los niveles de testosterona en machos bovinos de diferentes edades se recogieron un total de 77 muestras de animales sanos, de los cuales 18 correspondieron a las edades entre 1 a 30 días de nacidos; 25 entre 31 y 60 días; 10 entre 61 y 90 días; 14 entre 91 y 360 días y 10 correspondieron a toros mayores de un año. Ninguno excedió los 3 años de edad. Los animales usados fueron de las razas suecas Roja y Blanca y de la Low Land.

Los verracos usados en la presente investigación fueron animales sanos de la raza sueca Landrace y de la York-Shire. Para el estudio de los valores periféricos en estos animales fueron recogidos un total de 18 muestras, Tres de estos animales de edades comprendidas entre 8 y 12 meses fueron usados para el estudio de los niveles de testosterona en sangre antes y después de castrados. La castración fue llevada a cabo con una técnica quirúrgica ordinaria bajo anestesia local (Xilocaín^R). Se chequeó la capacidad para el servicio de estos animales a partir de los 2 a 4 días después de la castración y se coleccionó el semen regularmente dos veces a la semana hasta que desapareciera la libido. Se usaron otros 4 animales en el estudio de la testosterona en plasma de la vena espermática.

Las muestras de sangre de toros fueron obtenidas mediante punción de la vena yugular; a los verracos se les extrajo de la vena de la oreja. Las muestras de sangre

de la vena espermática se obtuvieron de una pequeña incisión en la vena dentro del primer minuto después de sacrificados.

La sangre fue recogida en tubos heparinizados y centrifugada lo más rápido posible. Las muestras de plasma fueron congeladas y guardadas a -15°C .

Método de determinación de testosterona

Las determinaciones de testosterona en sangre de toros y verracos se realizaron usando el método de *Castellanos y Edqvist, (1971)*, el cual está basado en los principios de la técnica de "Fijación Proteica Competitiva".

Para la determinación de testosterona en sangre periférica se usó el método sin ninguna modificación. En el caso de muestras provenientes de la vena espermática de verracos, dado que las concentraciones de la hormona alcanzan valores muy altos, fue necesario disminuir la cantidad de muestra de plasma a analizar, alterándose como consecuencia las cantidades de los reactivos empleados. A 0.1 ml. de plasma se le añadieron 20 μ l de alcohol; para la extracción se emplearon 2 ml de éter de petróleo; determinándose la testosterona al final tal y como se describe en la técnica.

RESULTADOS

La testosterona estuvo presente en todas las muestras de sangre periférica y de sangre de vena espermática estudiadas, no pudiéndose detectar en las muestras tomadas de animales castrados.

Los valores encontrados en los estudios en sangre periférica de machos de la especie bovina de distintas edades son presentados en la *Tabla I*. Los animales han sido divididos en 5 grupos de acuerdo a sus respectivas edades y los valores de testosterona están expresados por el promedio de los valores obtenidos de cada uno de los animales del grupo. También se muestran los rangos de valores encontrados para cada grupo.

Los niveles de testosterona detectados por grupos fueron los siguientes: 6.2 ng/ml en animales de 1 a 30 días de nacidos; 4.9 en los de 31 a 60 días; 6.5 en los comprendidos entre 61 y 90 días; 9.3 en los comprendidos entre 91 y 360 días y 6.3 ng/ml en aquellos mayores de 360 días.

Los valores del segundo y cuarto grupo difieren ligeramente de los restantes aunque sin significación estadística.

TABLA 1
TESTOSTERONA EN PLASMA DE MACHOS BOVINOS
DE DIFERENTES EDADES

EDAD (días)	1-30	31-60	61-90	91-360	>360
\bar{X} (ng/ml)	6.2	4.9	6.5	9.3	6.3
RANGO	1.0-16.0	1.0-15.4	2.0-14.3	2.1-14.1	3.5-9.1
n (número)	18	25	10	14	10
D. S. (desviación "Standard")	4.3	4.2	3.8	3.8	1.7

Como valores normales de testosterona en sangre periférica de toros sexualmente maduros han sido tomados los correspondientes al último grupo: 6.3 ng/ml valores éstos comprendidos en un rango de 3.5 a 9.1 ng/ml.

Se determinaron los niveles de testosterona en sangre periférica de 18 animales machos, sanos, sexualmente maduros de la especie porcina de las razas Landrace y York-Shire. Los resultados son presentados en la *Tabla 2*. El valor de testosterona encontrado fue de 5.4 ng/ml, comprendido en un rango de 1.8 a 15 ng/ml. Estos han sido considerados como los valores normales de testosterona en sangre periférica de verracos.

Los estudios realizados en sangre de la vena espermática de 3 animales de la raza York-Shire de 10 meses de edad cada uno, y de un animal de la raza Landrace de 15 meses de edad dieron como resultado niveles de testosterona de 95 ng/ml, dentro del rango comprendido entre 74 y 125 ng/ml. Estos valores fueron calculados y resultaron significativamente diferentes de los detectados en sangre periférica ($p < 0.001$).

Se determinó testosterona en sangre periférica a un grupo de 7 muestras de animales castrados encontrándose valores por debajo del límite de detección del método (1 ng/ml), valor promedio: 0.3 ng/ml DS 0.26, rango 0-0.6 ng/ml. Estos valores difieren marcadamente de los encontrados en sangre periférica y en sangre de la vena espermática ($p < 0.001$). El estudio realizado en un verraco días antes y después de castrado se muestra en la Fig. 1. Los niveles de testosterona en sangre periférica cayeron rápidamente en los primeros 30 minutos después de la castración y continuaron disminuyendo progresivamente en las primeras horas. A partir de las

TABLA 2

TESTOSTERONA EN PLASMA DE VERRACOS (ng/ml)

	<i>Verracos normales</i>	<i>Verracos castrados</i>	<i>Verracos normales</i>
			(plasma de V. espermática)
\bar{X}	5.4	0.3***	96***
RANGO	(1.8-15.0)	(0.0-0.6)	(74-125)
D. S.	3.3	0.26	20.7
n	18	7	4

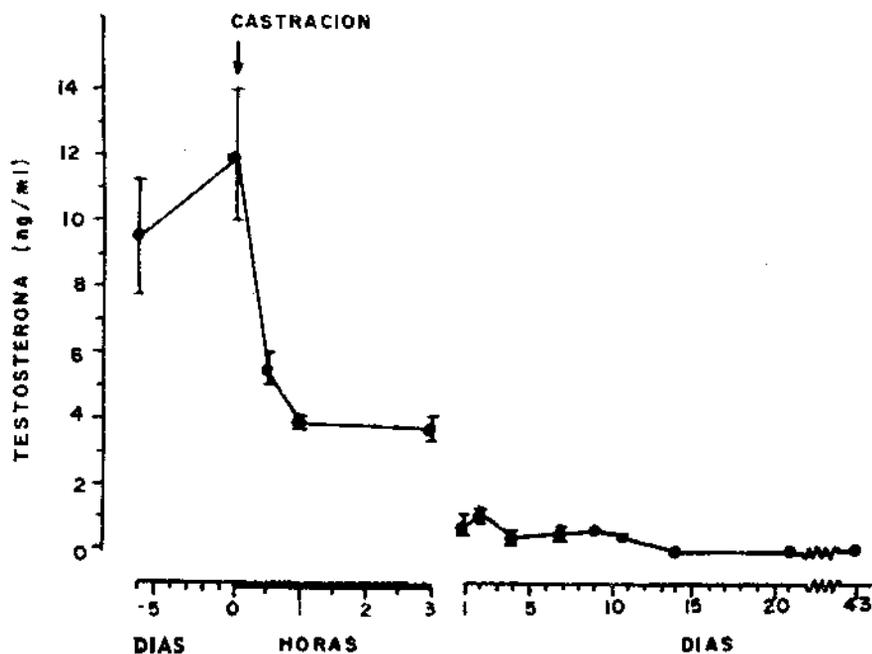
*** $P < 0.001$ 

Fig. 1. Niveles de testosterona en sangre periférica de un puercó antes y después de castrado.

primeras 24 horas se alcanzaron valores por debajo del límite de detección del método, disminución que se mantuvo en los días siguientes hasta alcanzar el valor 0, a los 14 días después de la operación. Esta experiencia se repitió con otros dos animales obteniéndose los mismos resultados. La libido fue desapareciendo gradualmente después de la operación en los tres animales estudiados, no presentándose más a partir de la 6ta. semana en el caso del primer animal (edad: 12 meses) y de la 2da. semana en los otros dos (edad: 8 meses cada uno).

En los estudios realizados no se encontraron variaciones entre las distintas razas.

DISCUSION

La concentración de testosterona en sangre periférica de toros y verracos así como en sangre de la vena espermática de verracos tiene un amplio rango de variación entre los distintos animales de la misma especie. Estas variaciones individuales han sido reportados en los trabajos realizados en humanos, p. ej. por Maeda y col. 1969; en determinaciones realizadas en testículos de toros por Lindner y Mann, 1960; y en sangre de la vena espermática de toros por Lindner en 1961 (a) y más recientemente han sido encontrados por Gray y col. 1971; en sangre de la vena espermática y de la vena cava anterior de verracos.

Los niveles de testosterona en sangre periférica de toros han sido reportados por Rouger y col., estando comprendidos dentro del rango de valores presentados en esta investigación con un valor promedio ligeramente inferior a los aquí brindados. Estos concuerdan perfectamente con los valores detectados por Velle en 1971.

No se encontraron diferencias significativas entre los distintos grupos de edades de machos de ganado bovino. Quizás podamos considerar el ligero aumento observado en el cuarto grupo en relación directa con el aumento de testosterona reportado por varios autores, en el momento de mayor madurez sexual en estos animales. (Lindner y Mann en 1960 en testículos de toros y por Lindner en 1959 y Gray y col., en 1971 en sangre de vena espermática de toros y verracos respectivamente). El que no encontremos significación en estos valores, puede ser debido a particularidades en el método utilizado o a variaciones propias de las muestras estudiadas. Estos aspectos serán considerados en investigaciones posteriores.

De acuerdo con nuestros conocimientos actuales no se han reportado con anterioridad niveles de testosterona en sangre periférica de verracos, por lo que no ha sido posible comparar los resultados obtenidos. Los valores encontrados en sangre de vena espermática están dentro del rango reportado por Gray y col.

La concentración de testosterona en sangre periférica de verracos cae bruscamente después de la castración en todos los animales que fueron estudiados, alcanzando en breve tiempo valores por debajo del límite de sensibilidad del método. Sin embargo la libido persistió durante un tiempo relativamente largo después de la castración, mostrando una actividad sexual sin la asistencia de testosterona. Este tiempo de actividad sexual sin testosterona fue mayor en el más viejo de los tres animales estudiados, experiencia que se repite en relación con la edad en trabajos realizados por Einarson (1971), este autor plantea puede ser debido a una impresión de los patrones de conducta sexual en los verracos más entrenados y que en general, la libido residual puede deberse a un aumento compensatorio de la producción de andrógenos por la glándula suprarrenal.

RECONOCIMIENTOS

Agradecemos al Fondo Monetario Sueco, que a través de S.I.D.A. (Swedish International Development Authority) ha brindado el soporte económico a esta investigación. Asimismo quisiéramos agradecer a la Real Escuela Superior de Veterinaria de Estocolmo, Suecia y a su Rector Prof. Carl Schmiterlöv, por brindarnos la posibilidad material de Equipos y Laboratorios donde realizar nuestro trabajo, también quisiéramos expresar nuestro agradecimiento al Prof. Lars Ekman y demás personal del Departamento de Bioquímica Clínica, de la Escuela Real Superior de Veterinaria de Estocolmo, por su desinteresada y valiosa ayuda.

Por último agradecemos al personal del Departamento de Matemáticas del Centro Nacional de Investigaciones Científicas por su valioso aporte en el procesamiento de la mayoría de los datos estadísticos aquí presentados.

REFERENCIAS

- CASTELLANOS R., EDQVIST L. E. Nuevo método para la determinación de testosterona en sangre usando la técnica de "Fijación Protéica Competitiva". Revista CENIC, 4; 1-2; 91; 1972.
- DAVID K., DINGEMANSE E., FREUD J. UND LAQUEUR E. Über Krystallinisches männliches Hormon aus Hodern (testosteron), wirksamer als aus harn oder aus Cholesterin heretictes androsteron. *Z. physiol Chem.* 233, 281, 1935.
- EINARSSON S. Comunicación personal, 1971.
- FURUYAMA S., MAYES D.M. AND NUGENT CH. A. A radioimmunoassay for plasma testosterone. *Steroids*, 16, 415, 1970.
- GRAY R. C., DAY B. N., LASLEY J. F. AND TRIBBLE L. F. Testosterone levels of boars at various ages. *J. Anim. Sci.* 33, 124, 1971.

- LINDNER H. R. Androgens in the bovine testis and spermatic vein blood. *Nature* (London), 183, 1605, 1959.
- LINDNER H. R. Androgens and related compounds in the spermatic vein blood of domestic animals. IV - Testicular androgens in the ram, boar and stallion *J. Endocrin*, 23 171, 1961 (a).
- LINDNER H. R. Androgens and related compounds in the spermatic vein blood of domestic animals. I. Neutral Steroids secreted by the bull testis *J. Endocrin* 23, 139, 1961 (b).
- LINDNER H. R. AND MANN T. Relationship between the content of androgenic steroids in the testes and the secretory activity of the seminal vesicles in the bull *J. Endocrin*, 21, 341, 1960.
- MAEDA R., OKAMOTO M., WEGRETIKA L. C. AND FORSHAM P. H. A clinically useful method for plasma testosterone determination. *Steroids*, 13, 83, 1969.
- ROUGER V. A., ANDRE D., TOURNEUR J. C., ORGENUß P. AND LAVENET C. Das Sexualverhalten von bullen in beziehung zum testosteron Gehalt des serums. *Dt. Tierärztl. Wschr.* 78, 124, 1971.