

ИЗУЧЕНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА ЦЕТРОТИД НА ЭСТРАЛЬНЫЙ ЦИКЛ У КРЫС

Матлакова М.А., Павлов К.И.*

Белорусский государственный медицинский университет,
лаборатория экспериментальной медицины, фармакологии и токсикологии
Научно-исследовательской части, г.Минск

Ключевые слова: аналог ГнРГ, эстральный цикл, крысы, экспериментальные исследования

Резюме: представлены результаты исследования воздействия цитрототида (антагониста гонадотропин – рилизинг гормона) на эстральный цикл крыс. Показана способность провоцировать наступление эструса в течение 1-2 суток после введения данного лекарственного средства.

Resume: the effect of citrocide (gonadotropin-releasing hormone antagonist) on the estrous cycle of rats are presented. The ability to provoke the onset of estrus within 1-2 days after the administration has been shown.

Актуальность. Одним из ведущих методов борьбы с женским бесплодием на сегодняшний день является экстракорпоральное оплодотворение. Эффективность данной репродуктивной технологии зависит от многих факторов, в том числе от используемых на этапе стимуляции овуляции лекарственных средств, исследование которых на животных позволяет составить рекомендации для клинического назначения пациенткам.

Антагонисты гонадотропин – рилизинг гормона оказывают воздействие на организм человека, угнетая производимость лютеотропина и фолликулостимулирующего гормонов. Данные препараты наиболее часто применяются в период подготовки к экстракорпоральному оплодотворению, позволяя вызвать полноценный рост и развитие фолликулов без наступления преждевременной овуляции. Применение данных лекарственных средств дает возможность индивидуально подобрать терапию лично для каждой пациентки в период подготовки к искусственному оплодотворению.

Цетротид (citrocide), являясь антагонистом ГнРГ, связывается с рецепторами мембран клеток гипофиза и конкурентно ингибирует связывание эндогенного ГнРГ с этими рецепторами. Цетротид дозозависимо ингибирует секрецию гипофизом лютеинизирующего и фолликулостимулирующего гормонов. Начало угнетения секреторной функции гипофиза наступает почти сразу после введения препарата и поддерживается при продолжении введения без начального стимулирующего эффекта.

Цель: моделирование эстрального цикла у лабораторных животных (крыс), оценка количественных характеристик с помощью цетрототида.

Материалы и методы. Исследование выполнялось согласно методическим рекомендациям, изложенным в техническом кодексе установившейся практики «Надлежащая лабораторная практика» (ТКП 125-2008) [1] и «Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [2]. Для

исследования использовались только половозрелые молодые самки крыс (таблица 1).

Таблица 1 – Характеристика используемых для исследования лабораторных животных

Вид	<i>Rattus norvegicus f. Domesticus</i>
Линия:	Wistar
Пол:	Самки
Источник:	виварий БГМУ
Возраст к введению:	6 – 8 мес.
Вес тела к введению:	200-300 г
Количество животных в группе	24

Для подкожного введения крысам использовано лекарственное средство «Цетротид (Цетрореликс 0,25 мг)», лиофилизат для приготовления раствора для подкожного введения. Активное вещество – цетрореликс (в виде цетрореликса ацетата) 0,25 мг, производства Бакстер Онкология ГмбХ (Германия), полученное в аптечной сети РУП «Белфармация».

Для определения влияния лекарственного средства на эстральный цикл исследования проводились на двух группах животных. Животные содержались в соответствии с нормативами индивидуального размещения [3]. Наблюдение за животными проводили ежедневно в течение 14 суток.

Оценка фаз эстрального цикла крыс проводилась на основе гистологического изучения влагалищных мазков, исходя из клеточной картины влагалищных выделений. Забор материала осуществлялся ежедневно с помощью ватной палочки. Для исследования материала использовался микроскоп PZO WARSZAWA (Польша).

Статистическая обработка результатов исследования выполнена с использованием программы STATISTICA 6.0 (StatSoft, США). Для сравнения двух независимых групп по качественному признаку использованы критерий χ^2 Пирсона с поправкой Йейтса и его уровень статистической значимости $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. В норме эстральный цикл у крыс длится 4-5 дней и представляет собой повторяющийся непрерывный процесс появления и исчезновения различных типов клеток, вызванный изменением уровней эстрадиола и прогестерона, которые секретируются фолликулами яичников. Весь эстральный цикл включает четыре стадии: проэструс, эструс, метаэструс и диэструс. Проэструс – короткая стадия, протекающая около 14 часов, отражающая высокий уровень эстрогенов; в мазке преобладают маленькие, круглые, ядерные эпителиальные клетки относительно однородного внешнего вида и размера с базофильной окраской.

Таблица 2 – Влияние введения лекарственного средства цетротид на частоту возникновения эструса у животных (крысы, самки)

Дата исследования	Эстральный цикл			Значение критерия хи-квадрат с	Уровень значимости
	Группа	Исход	Исхода		

		есть	нет	поправкой Йейтса	
1 введение цитроцида - доза 0,5 мг/кг	Цетротид	1 (8,3%)	11 (91,7%)	0,300	0,584
	Контроль	3 (25%)	9 (75,0%)		
1 сутки наблюдения	Цетротид	9 (75,0%)	3 (25,0%)	6,042	0,014
	Контроль	2 (16,7%)	10 (83,3%)		
2 сутки наблюдения	Цетротид	4 (33,3%)	8 (66,7%)	1,011	0,315
	Контроль	1 (8,3%)	11 (91,7%)		
3 сутки наблюдения	Цетротид	0 (0,0%)	12 (100,0%)	2,700	0,101
	Контроль	4 (33,3%)	8 (66,7%)		
6 сутки наблюдения	Цетротид	0 (0,0%)	12 (100,0%)	1,524	0,218
	Контроль	3 (25,0%)	9 (75,0%)		
7 сутки наблюдения: 2 введение цит-роцида - доза 0,5 мг/кг	Цетротид	1 (8,3%)	11 (91,7%)	0,300	0,584
	Контроль	3 (25,0%)	9 (75,0%)		
8 сутки наблюдения	Цетротид	2 (16,7%)	10 (83,3%)	0,300	0,584
	Контроль	2 (16,7%)	10 (83,3%)		
9 сутки наблю-дения	Цетротид	9 (75,0%)	3 (25,0%)	4,167	0,042
	Контроль	3 (25,0%)	9 (75,0%)		
10 сутки наблюдения	Цетротид	2 (16,7%)	10 (83,3%)	0,300	0,584
	Контроль	2 (16,7%)	10 (83,3%)		
14 сутки наблюдения	Цетротид	3 (25,0%)	9 (75,0%)	0,000	1,000
	Контроль	4 (33,3%)	8 (66,7%)		

По мере приближения следующей стадии увеличивается число ороговевших клеток, не характерных для стадии проэструса; нейтрофилы обнаруживаются редко. За пиком выброса эстрогенов следует стадия эструса, длительность которой составляет от 24 до 48 часов. Эструс характеризуется преобладанием безъядерных

ороговевших эпителиальных клеток; ядродержащие эпителиальные клетки и нейтрофилы начинают появляться ближе к концу эструса и остаются, замещая клетки чешуйчатого слоя, в течение всего метаэструса. Длительность метаэструса – 6-8 часов, данная стадия свидетельствует о снижении концентрации эстрогенов в крови. Визуально между метаэструсом и диэструсом (48-72 часа) мало различий, так как они характеризуются одинаковыми типами клеток: низкое число ороговевших клеток (но не обязательно их отсутствие), в основном в поле зрения присутствуют нейтрофилы, а также мелкие и крупные ядерные эпителиальные клетки. Диэструс является стадией покоя вагинального эпителия.

Без вмешательства эстральный цикл длится 4-5 суток: стадия проэструса – около 12 часов, стадия эструса – около 27 часов, стадия метаэструса – около 6 часов, стадия диэструса – около 2 суток. Определить стадии можно с помощью изучения влагалищных мазков.

Опираясь на эту информацию, можно провести анализ данных, полученных в результате исследования вмешательства в эстральный цикл самок крыс введением лекарственного средства цетротид.

В данном экспериментальном исследовании было выявлено, что при введении лекарственного средства цетротид стадия проэструса укорачивается, а сроки наступления эструса у животных в опытной группе уменьшаются. При однократном введении цетротид эструс наступает через одни сутки, а при двукратном (промежуток 7 дней) – через двое суток.

Однако, введение цетротид не повлияло на морфологические признаки и поведенческие реакции экспериментальных животных.

Выводы:

1. Цетротид эффективно моделирует эстральный цикл у лабораторных животных (самок крыс), не вызывая побочных реакций.

2. Повторное введение цитроцида вызывает наступление эструса в более поздние сроки.

Литература

1. Надлежащая лабораторная практика: ТКП 12-2008 (02040): утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 28.03.08, постановление № 56. – Введ. 2008-05-01. – 39 с.
2. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.
3. ГОСТ 33216-2014. Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами. Введ. 2017-05-01. – М.: ФГУП «Стандартинформ», 2016. – 10 с.