

## ВЛИЯНИЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ПРИЁМА АНТАГОНИСТОВ КАЛЬЦИЯ НА УРОВЕНЬ ЛУТЕИНИЗИРУЮЩЕГО ГОРМОНА И ЭСТРАДИОЛА В КРОВИ КРЫС

Афаг Улдус кызы Кязимова<sup>1\*</sup>, Кенюль Галиб кызы Гараева<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Азербайджанский медицинский университет, г. Баку,

<sup>2</sup>Научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии, г. Баку, Азербайджан

### Реферат

**Цель.** Определение влияния длительного приёма антагонистов кальция на уровень эстрадиола и лутенизирующего гормона в крови у самок крыс.

**Методы.** 82 половозрелых самки беспородных крыс разделили на семь групп. В первой (контрольной) группе внутривенно вводили 0,2 мл 0,9% раствора натрия хлорида. Животным второй и третьей опытных групп ежедневно вводили верапамил соответственно в дозах 5 и 25 мг/кг, животным четвёртой и пятой групп – нифедипин в дозах 5 и 10 мг/кг, животным шестой и седьмой групп – дилтиазем по 5 и 20 мг/кг в течение 21 дня. После выведения животных из эксперимента в плазме крови определяли уровень лутенизирующего гормона и эстрадиола иммуноферментным методом.

**Результаты.** У животных, получавших антагонисты кальция, уровень лутенизирующего гормона и эстрадиола в крови уменьшался в зависимости от дозы. В третьей группе (верапамил в высокой дозировке) уровень лутенизирующего гормона и эстрадиола в сравнении с контрольной группой уменьшился на 50%, а в седьмой группе (дилтиазем, 20 мг/кг) уменьшение составило 45,5%. Самое незначительное изменение в уровне гормонов наблюдали у животных, получавших нифедипин, даже больших дозах.

**Вывод.** Снижение уровня эстрадиола свидетельствует о влиянии антагонистов кальция непосредственно на яичники; подавление секреции лутенизирующего гормона может быть обусловлено уменьшением содержания эстрадиола в крови в результате положительной обратной связи между секрецией лутенизирующего гормона и эстрадиола.

**Ключевые слова:** репродукция, антагонисты кальция, нежелательные эффекты лекарственных средств, лутенизирующий гормон, эстрадиол.

**EFFECT OF CALCIUM CHANNEL BLOCKERS LONG-TERM USE ON BLOOD LEVEL OF LUTEINIZING HORMONE AND ESTRADIOL IN RATS** A.U. Kazimova<sup>1</sup>, K.G. Garaeva<sup>2</sup>. <sup>1</sup>Azerbaijan Medical University, Baku, Azerbaijan, <sup>2</sup>Scientific Research Institute of Obstetrics and Gynecology, Baku, Azerbaijan. **Aim.** To define the effect of calcium channel blockers long-term use on blood level of luteinizing hormone and estradiol in female rats. **Methods.** 82 mature female outbred rats were distributed to seven groups. The rats of the first (control) group were administered 0.2 ml of 0.9% saline intraperitoneally for 21 day. Instead of saline, 5 and 25 mg/kg of verapamil were used in rats of the second and third groups, 5 and 10 mg/kg of nifedipine – in rats of the 4<sup>th</sup> and 5<sup>th</sup> groups, 5 and 20 mg/kg of diltiazem – in rats of the 6<sup>th</sup> and 7<sup>th</sup> groups accordingly. Blood levels of luteinizing hormone and estradiol were determined by ELISA after animals were withdrawn from the study. **Results.** In rats treated with calcium channel blockers, a dose-dependent decrease of luteinizing hormone and estradiol blood levels were observed. High doses of verapamil (group 3) decreased the level of luteinizing hormones and estradiol by 50% compared to control group, high doses of diltiazem (group 7) – by 50%. Only minor changes were observed in rats who were administered nifedipine, even in high doses. **Conclusion.** Observed decrease of blood estradiol level indicate the influence of calcium channel blockers directly on ovarian function; decrease of blood luteinizing hormone level might be secondary due to positive feedback between the estradiol and luteinizing hormone secretion and reflect decreased estradiol blood level.

**Keywords:** reproduction, calcium channel blockers, adverse effects, luteinizing hormone, estradiol.

Среди населения земного шара сердечно-сосудистые заболевания находятся в первом ряду среди причин смертности и утраты трудоспособности. По статистическим данным 2008 г. 26% населения планеты страдают артериальной гипертензией, и 24% из них пользуются антигипертензивными средствами [14]. По данным Минздрава Азербайджанской Республики, в 2012 г. было зарегистрировано 258 870 больных, страдающих сердечно-сосудистыми заболеваниями, из них 1,5% в возрасте 14–17 лет, 7,6% – 18–29 лет, большинство пациентов (85,8%) – в возрасте 30 лет и старше. Несмотря на многосторонность фармакотерапии сердечно-сосудистых заболеваний, наиболее широко применяют антагонисты кальция (АК) [4].

В литературе вопрос влияния АК на репродуктивную функцию самцов экспериментальных животных освещён достаточно полно [6, 10, 11]. При этом влияние широко используемых в кардиологической, неврологической, гинекологической и урологической практике АК [4, 12] – верапамила, дилтиазема и нифедипина – на уровень женских половых гормонов не в полной мере освещено в доступной литературе. Омоложение возраста сердечно-сосудистых заболеваний среди женщин, как и среди мужчин, и наличие у данных препаратов антиоксидантного, антиагрегантного и токолитического действия [8] расширяют спектр их применения у женщин как репродуктивного возраста, так и беременных, и обуславливают актуальность дальнейшего изучения их репродуктивной токсичности.

Цель настоящего исследования – определе-

Содержание эстрадиола и лютеинизирующего гормона (ЛГ) в плазме крови животных, получавших антагонисты кальция в малых дозах

Группы	ЛГ, МЕ/л	$P_1$	$P_2$	Эстрадиол, пг/мл	$P_1$	$P_2$
Первая (контроль, n=10)	0,84±0,03 (0,71-1,08)	—	—	75,2±1,5 (68,0-85,2)	—	—
Вторая (верапамил, 5 мг/кг, n=12)	0,70±0,02 (0,57-0,82)	<0,001	—	51,4±1,1 (46,7-58,3)	<0,001	—
Четвёртая (нифедипин, 5 мг/кг, n=12)	0,80±0,03 (0,70-1,02)	>0,05	<0,05	72,2±1,8 (61,3-83,5)	>0,05	<0,001
Шестая (дилтиазем, 5 мг/кг, n=12)	0,71±0,02 (0,60-0,83)	<0,001	>0,05	53,1±0,9 (48,0-57,0)	<0,001	>0,05

Примечание:  $P_1$  – статистическая значимость различий по сравнению с контрольной группой;  $P_2$  – статистическая значимость различий по сравнению со второй группой (верапамил, 5 мг/кг).

ние влияния длительного приёма АК на уровень эстрадиола и лютеинизирующего гормона (ЛГ) в крови самок крыс в эксперименте.

Для исследования были отобраны 112 половозрелых самок беспородных крыс с массой тела 180–220 г. В начале исследования во избежание случайной беременности животные проходили 21-дневный карантин. По общепринятым методам в течение 2 нед у животных брали мазок из влагалища для цитологической оценки эстрального цикла. Крысы с нарушенным циклом отстранялись от исследования.

Таким образом, опыты проводили на 82 животных, которые были разделены на контрольную (первая группа, 10 животных) и шесть опытных групп (по 12 особей в каждой). Животным контрольной группы ежедневно вводили 0,2 мл 0,9% раствора натрия хлорида. Животным второй и третьей опытных групп ежедневно вводили верапамил (изоптин, «Abbott», Италия) соответственно в дозах 5 и 25 мг/кг, животным четвёртой и пятой групп – нифедипин (farmadipin, «Farmak», Украина) в дозах 5 и 10 мг/кг, животным шестой и седьмой групп – дилтиазем (diltizem-L, «MNIŞ-İstanbul») в дозах 5 и 20 мг/кг.

Все исследуемые препараты вводили внутривенно в течение 21 дня. Дозы препаратов подбирали на основании литературных данных [1]. Через 3 ч после последней инъекции животных забивали.

Группировали забиваемых животных по эстральному циклу, определяемому по ежедневно проводимым цитологическим исследованиям вагинальных мазков. Под эфирном наркозом декапитировали животных, находящихся в периоде проэструс или эструс эстрального цикла, и производили интракардиальный забор крови. Концентрацию ЛГ и эстрадиола в сыворотке крови определяли иммуоферментным методом типа «сэндвич» стандартным набором реактивов «LHElisaKitIFA», «EstradiolElisaKitIFA» и использовали «BioScreen VS 500».

Статистический анализ проведён с применением программы Microsoft Excel, непараметрических методов по критерию U (Уилкоксона-Манна-Уитни) [3].

У животных второй группы уровень эстрадиола уменьшился на 31,6% по сравнению с контролем. В четвёртой группе содержание эстрадиола уменьшилось на 3,9% ( $P_1 > 0,05$ ), что по сравнению с показателями животных второй группы оказалось выше на 40,4%. У животных шестой опытной группы содержание данного гормона уменьшилось на 29,3% ( $P_1 < 0,001$ ) по сравнению с контрольными крысами, превысив показатель второй группы на 3,3% ( $P_2 > 0,05$ ). Самое незначительное уменьшение уровня эстрадиола отмечено у самок четвёртой группы ( $P_1 > 0,05$ ) (табл. 1).

На фоне длительного введения 5 мг/кг верапамила у животных второй группы уровень ЛГ в крови уменьшился на 16,3% ( $P_1 < 0,001$ ) по сравнению с контролем. При введении 5 мг/кг нифедипина у животных четвёртой группы содержание данного гормона снизилось на 4,6% ( $P > 0,05$ ), что по сравнению с показателями животных второй группы оказалось выше на 13,9% ( $P < 0,001$ ). На фоне применения 5 мг/кг дилтиазема у животных шестой подопытной группы снижение содержания ЛГ в крови по отношению к контрольной группе составило 15,5% ( $P_1 < 0,001$ ) и было выше на 1% ( $P_2 > 0,05$ ) по сравнению со второй группой (см. табл. 1).

Увеличение дозы верапамила до 25 мг/кг статистически значимо привело к уменьшению уровня эстрадиола у самок третьей подопытной группы на 52,4% ( $P < 0,001$ ) в сравнении с животными контрольной группы. На фоне ежедневного введения нифедипина в дозе 10 мг/кг у самок пятой подопытной группы концентрация эстрадиола в крови уменьшилась на 9,8% ( $P_1 < 0,05$ ). У самок седьмой группы (дилтиазем, 20 мг/кг) содержание данного гормона было меньше показателей контрольной группы на 45,5% ( $P_1 < 0,001$ ) и на 14,6% выше показателей третьей группы ( $P_1 < 0,01$ ) (табл. 2).

По всей видимости, уменьшение уровня эстрадиола связано с нарушением созревания фолликулов, для которого ионы кальция играют существенную роль [8, 9, 13]. Растущий фол-

## Содержание эстрадиола и лютеинизирующего гормона (ЛГ) в плазме крови животных, получавших антагонисты кальция в высоких дозах

Группы	ЛГ, МЕ/л	p <sub>1</sub>	p <sub>2</sub>	Эстрадиол, пг/мл	p <sub>1</sub>	p <sub>2</sub>
Первая (контроль, n=10)	0,84±0,03 (0,71-1,08)	—	—	72,1±1,6 (64,0-82,2)	—	—
Третья (верапамил, 25 мг/кг, n=12)	0,42±0,02 (0,34-0,53)	<0,001	—	34,3±0,7 (29,3-37,6)	<0,001	—
Пятая (нифедипин, 10 мг/кг, n=12)	0,71±0,03 (0,58-0,85)	<0,005	<0,001	65,0±2,4 (53,3-76,8)	<0,05	<0,001
Седьмая (дилтиазем, 20 мг/кг, n=12)	0,50±0,01 (0,41-0,57)	<0,001	<0,001	39,3±0,7 (35,0-42,7)	<0,001	<0,01

Примечание: p<sub>1</sub> – статистическая значимость различий по сравнению с контрольной группой; p<sub>2</sub> – статистическая значимость различий по сравнению с третьей группой (верапамил, 25 мг/кг).

ликул синтезирует эстрадиол, и содержание гормона увеличивается пропорционально размеру фолликула [2, 5]. Если сравнить уровень эстрадиола в крови на фоне 21-дневного курса введения АК, наблюдается следующая последовательность: нифедипин 5 мг/кг > нифедипин 10 мг/кг > дилтиазем 5 мг/кг > верапамил 5 мг/кг > дилтиазем 20 мг/кг > верапамил 25 мг/кг.

Что касается ЛГ, то на фоне ежедневного введения верапамила в дозе 25 мг/кг в третьей группе самок произошло уменьшение содержания этого гормона на 50% (p<sub>1</sub> < 0,001). На фоне применения нифедипина в дозе 10 мг/кг (пятая группа) наблюдалось снижение уровня ЛГ на 15,1% (p<sub>1</sub> < 0,005) по сравнению контрольной группой, что оказалось выше показателя в третьей группе на 69,7% (p<sub>2</sub> < 0,001). У животных седьмой группы применение дилтиазема в дозе 20 мг/кг привело к снижению содержания ЛГ на 40,7% (p<sub>1</sub> < 0,001), что превышало показатель в третьей группе на 18,5% (p<sub>2</sub> > 0,001; см. табл. 2). Значительное изменение уровня ЛГ зарегистрировано у животных, получавших верапамил в дозе 25 мг/кг и дилтиазем по 20 мг/кг. Увеличение доз лекарственных средств привело к уменьшению концентрации ЛГ следующим образом: при введении нифедипина в дозах 5 и 10 мг/кг – снижение по сравнению с контрольной группой на 4,6 и 15,1%, верапамила по 5 и 25 мг/кг – снижение на 16,3 и 50%, дилтиазема по 5 и 20 мг/кг – снижение на 15,1 и 40,7% соответственно. Незначительное уменьшение уровня ЛГ наблюдалось у животных пятой группы: их показатели были в 1,1 раза ниже по сравнению с контрольной группой и в 1,6 и 1,4 раза выше показателей третьей и пятой групп.

Несмотря схожую фармакодинамику исследуемых антагонистов кальция, они различаются по фармакокинетическим свойствам, в частности в отличие от нифедипина верапамил и дилтиазем, обладающие высоким кумулятивным свойством, накапливаются в тканях, в том числе и в тека-клетках яичника, что может объяснить их негативное влияние на созревание фолликула и концентрацию эстрадиола.

## ВЫВОД

На фоне длительного применения антагонистов кальция происходит дозозависимое уменьшение уровня эстрадиола и лютеинизирующего гормона в крови крыс-самок.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Асметов В.Я., Гурбанов Г.Н., Ганиев М.М. Влияние верапамила на побочные эффекты галоперидола // Эксперим. и клин. мед. – 2007. – С. 45-47.
2. Быков В.Л. Топографические и временные характеристики овуляции у человека // Пробл. репродукц. – 2000. – Т. 6, №4. – С. 12-18.
3. Гублер Е.В., Генкин А.А. Применение критериев непараметрической статистики для оценки различий двух групп наблюдений в медико-биологических исследованиях. – М.: Медицина, 1969. – С. 10-15.
4. Карпов Ю.А. Роль антагонистов кальция в лечении пациентов с сочетанием артериальной гипертензии и ИБС // Артериал. гипертенз. – 2007. – №1. – С. 27-33.
5. Чайка В.К. Основы репродуктивной медицины. Практическое руководство. – Донецк: Альматео, 2001. – С. 39-40.
6. Adefule A., Adesanya O., Akpan H. et al. Toxicity effects of amlodipine on the testis histology in adult Wistar rats // Am. J. Med. and Med. Sci. – 2012. – Vol. 2, N 3. – P. 36-40.
7. Choi S.M., Seo M.J., Kang K.K. et al. Beneficial effects of the combination of amlodipine and losartan for lowering blood pressure in spontaneously hypertensive rats // Arch. Pharm. Res. – 2009. – Vol. 32, N 3. – P. 353-358.
8. Gallo A., Russo G.L., Tosti E. T-type Ca<sup>2+</sup> channel blocker current activity during the growth and maturation of oocytes in the squirt *Styela Plicata* // PLoS One – 2008. – N 1. – P. e54604. – DOI: doi:10.1371/journal.pone.0054604.
9. Leclerc G.M., Boockfor F.R. Calcium influx and dream of proteins required for the activity of GnRH gene expression pulse // Mol. Cell. Endocrinol. – 2007. – Vol. 267, N 2. – P. 70-79.
10. Onwuka F.C., Patrick K.C., Nnodu C.K. Effect of amlodipine, a calcium channel antagonist, on gonadal steroid of male wistar albino rats // J. Exp. Pharmacol. – 2010. – Vol. 2. – P. 55-58.
11. Rabia L., Ghulam M.L., Muhammad A. Effects of amlodipine on serum testosterone, testicular weight and gonado-somatic index in adult rats // J. Ayub. Med. Col. Abbottabad. – 2009. – Vol. 20, N 4. – P. 8-10.