



Т.А. Батуашвили ,
Е.О. Чечетова ,
П.В. Шадрин ,
Н.П. Неугодова

Определение биологической активности гонадотропинов на крысах беспородных и линии Sprague Dawley. Часть 2. Определение биологической активности лютеинизирующего гормона

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2, Москва, 127051, Российская Федерация

Чечетова Екатерина Олеговна; stepanik@expmed.ru

РЕЗЮМЕ

ВВЕДЕНИЕ. Тенденция к сокращению использования лабораторных животных при оценке качества лекарственных препаратов, а также появление новых технологий получения гонадотропных препаратов обусловливают необходимость разработки новых методик определения биологической активности природных и рекомбинантных препаратов передней доли гипофиза.

ЦЕЛЬ. Выбор оптимальных условий определения биологической активности лютеинизирующего гормона в мочевых и генно-инженерных препаратах в испытаниях на крысах беспородных и линии Sprague Dawley.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Определение величины биологической активности мочевых и рекомбинантных препаратов лютеинизирующего гормона (ЛГ) проводили трехдозовым рандомизированным методом *in vivo* по схеме Steelman and Pohley путем сравнения биологической активности используемых и стандартных (СО) образцов. Для анализа были использованы результаты, полученные в течение двух лет. В качестве СО использовали стандарт ВОЗ, содержащий 183 МЕ фолликулостимулирующего гормона и 177 МЕ ЛГ/амп. Испытание проводили на неполовозрелых крысах-самцах беспородных и линии Sprague Dawley. В зависимости от статуса крыс выбирали условия проведения испытания.

РЕЗУЛЬТАТЫ. Проведен сравнительный анализ результатов определения активности ЛГ *in vivo* на крысах-самцах по интегральному показателю *s/b*, позволяющему оценить одновременно разброс ответов и дозозависимость. Было показано, что использование самцов крыс линии Sprague Dawley (*s/b*=0,82±0,44) для определения биологической активности ЛГ возможно наравне с беспородными животными (*s/b*=0,68±0,58). Значения показателей *s/b* близки, несмотря на то что количество животных линии Sprague Dawley в испытаниях было в два раза меньше.

ВЫВОДЫ. Показана возможность определения биологической активности ЛГ в препаратах менотропинов не только на беспородных, но и на линейных крысах-самцах. Проведение испытания на крысах линии Sprague Dawley позволяет подтвердить достоверность результатов, используя меньшее количество животных, что, в свою очередь, является не только гуманным, но и более выгодным экономически.

Ключевые слова: гонадотропные гормоны; менотропины; рекомбинантные гонадотропины; лютеинизирующий гормон; биологическая активность; крысы беспородные; Sprague Dawley; линейные крысы; лабораторные животные

Для цитирования: Батуашвили Т.А., Чечетова Е.О., Шадрин П.В., Неугодова Н.П. Определение биологической активности гонадотропинов на крысах беспородных и линии Sprague Dawley. Часть 2. Определение биологической активности лютеинизирующего гормона. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств. 2024;14(3):330–337. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2024-14-3-330-337>

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00026-24-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 124022300127-0).

Потенциальный конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Tamara A. Batuashvili ,
Ekaterina O. Chechetova ,
Pavel V. Shadrin ,
Natalia P. Neugodova 

Determination of Biological Activity of Gonadotrophins in Randombred and Sprague Dawley Rats. Part 2. Determination of Biological Activity of Luteinising Hormone

Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products,
8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation

 Ekaterina O. Chechetova; stepanuk@expmed.ru

ABSTRACT

INTRODUCTION. The tendency towards reducing the use of laboratory animals in pharmaceutical quality assessment, along with the development of new technologies for gonadotrophin production, necessitate the development of novel assays to determine the biological activity of natural and recombinant anterior pituitary preparations.

AIM. This study aimed to select the optimum conditions for the determination of the biological activity of luteinising hormone (LH) in urinary and genetically engineered LH preparations by tests in randombred and Sprague Dawley rats.

MATERIALS AND METHODS. The biological activity of urinary and recombinant LH preparations was determined *in vivo* in a three-dose randomised Steelman-Pohley bioassay, which compared the biological activity of the test samples to a reference standard (RS). The analysis used two years' worth of test results. The RS used was the WHO international standard containing 183 IU of follicle stimulating hormone bioactivity and 177 IU of LH bioactivity per ampoule. The bioassay was performed in immature male randombred and Sprague Dawley rats; the bioassay conditions were selected according to the rat type.

RESULTS. The results of the *in vivo* determination of LH biological activity in male rats were compared by the standard deviation to slope ratio (*s/b*), which helps estimate response variation and dose dependence at the same time. The study demonstrated the possibility of using Sprague Dawley rats (*s/b*=0.82±0.44) for the determination of LH biological activity along with randombred animals (*s/b*=0.68±0.58). The *s/b* ratios were close, although Sprague Dawley rats and randombred rats were used in the assay at a 1:2 ratio.

CONCLUSIONS. It is possible to determine the biological activity of LH from menopausal gonadotrophin preparations in both randombred and Sprague Dawley male rats. The use of Sprague Dawley rats for testing can confirm the reliability of test results using fewer animals than needed for standard tests; this is not only humane but also cost effective.

Keywords: gonadotrophic hormones; menopausal gonadotrophins; recombinant gonadotrophins; luteinising hormone; biological activity; randombred rats; Sprague Dawley; laboratory animals

For citation: Batuashvili T.A., Chechetova E.O., Shadrin P.V., Neugodova N.P. Determination of biological activity of gonadotrophins in randombred and Sprague Dawley rats. Part 2. Determination of biological activity of luteinising hormone. *Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2024;14(3):331–337. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2024-14-3-331-337>

Funding. The study reported in this publication was carried out as part of publicly funded research project No. 056-00026-24-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. 124022300127-0).

Disclosure. The authors declare no conflict of interest.

ВВЕДЕНИЕ

Для успешного фолликулогенеза наряду с фолликулостимулирующим гормоном (ФСГ) в состав мочевых и рекомбинантных гонадотропных препаратов входит лютеинизирующий гормон (ЛГ) – гликопротеин, состоящий из двух субъединиц, биологические свойства которого определяет β -субъединица. Молекулы ЛГ отличаются от ФСГ наличием сульфидных мостиков. В организме секреция гормона происходит под воздействием гонадолиберина (гонадотропин-рилизинг-гормон), который синтезируется в гипоталамусе. Помимо участия в выработке эстрогенов, прогестерона и тестостерона ЛГ способствует формированию желтого тела, процессу овуляции, а также созреванию фолликулов [1].

Как и хорионический гонадотропин человека, ЛГ обладает лютеинизирующей активностью, но имеет существенные молекулярные и функциональные отличия, которые хорошо улавливает рецептор, находящийся на гранулезных клетках и взаимодействующий с обоими гормонами. Только гетеродимерные полностью гликозилированные формы гормонов способны проявлять биологическую активность (БА). По этой причине для получения рекомбинантных гормонов пригодны только культивируемые клетки млекопитающих, в которых происходит корректное гликозилирование целевых белков [2, 3]. Учитывая особенности и технологии получения мочевых и рекомбинантных гонадотропинов, требуется обязательный контроль биологической активности препаратов данной группы.

Большинство препаратов группы менотропинов содержат ЛГ и ФСГ в соотношении 1:1 или 1:2¹. Однако рекомбинантные гонадотропные препараты выпускают как в виде монопрепаратов (содержащих либо рекомбинантный ФСГ (рФСГ), либо рекомбинантный ЛГ (рЛГ), так и в виде препаратов содержащих оба гормона (рФСГ и рЛГ).

Цель работы – выбор оптимальных условий определения биологической активности лютеинизирующего гормона в мочевых и генно-инженерных препаратах в испытаниях на крысах беспородных и линии Sprague Dawley.

Задачи исследования:

- изучение чувствительности крыс линии Sprague Dawley в сравнении с беспородными животными к ЛГ;
- оценка возможности использования крыс линии Sprague Dawley в определении биологической активности препаратов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Определение величины биологической активности ЛГ проводили биологическим трехдозовым рандомизированным методом по схеме Steelman and Pohley, сравнивая биологическую активность испытуемого образца (ИО) со стандартным образцом (СО) [4].

В качестве СО использовали стандарт ВОЗ, содержащий 183 МЕ ФСГ и 177 МЕ ЛГ/амп. (кат. №10/286)². Испытания проводили с использованием крыс-самцов беспородных³ и линии Sprague Dawley⁴. Животных содержали в стандартных условиях вивария. Доступ к воде и пище был свободным. Все манипуляции на животных проводили в соответствии с требованиями нормативных документов⁵. Масса крыс на начало опыта составляла 32–36 г. В качестве ответа принимали относительную массу органа (ОМО), в данном случае – комплекса добавочных половых желез ($m_{\text{органа}}/m_{\text{тела}}$, мг/г).

В качестве растворителя для приготовления растворов в рабочих концентрациях использовали альбумино-fosfatный буфер⁶.

В испытание брали шесть групп животных, в каждой из которых было от 5 до 10 крыс в зависимости от выбранной методики. Во время проведения опыта ежедневно в течение четырех суток крысы получали подкожные инъекции 1 раз/сут в одно и то же время. Трем группам вводили растворы СО (малая, средняя, большая дозы), а трем другим – ИО соответственно. Курсовые дозы, полученные каждым животным в течение опыта, соответствовали требованиям выбранной методики (табл. 1, 2). На пятый день проводили эвтаназию и выделяли комплекс добавочных половых желез. Очищенные и просушенные фильтровальной бумагой органы взвешивали и вычисляли ОМО. БА рассчитывали в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи Российской Федерации⁷.

¹ <https://www.rlsnet.ru/active-substance/menotropiny-757>

² https://cdn.who.int/media/docs/default-source/biologicals/blood-products/catalogue/alphabetical-list.pdf?sfvrsn=15455482_2

³ ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий» ФМБА России, Филиал «Андреевка».

⁴ НПП «Питомник лабораторных животных» ФИБХ РАН.

⁵ СП 2.2.1.3218-14 Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (бивариев). 2014.

⁶ ОФС.1.2.4.0014.18 Биологические испытания гонадотропинов. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.; 2018.

⁷ ОФС.1.1.0014.15 Статистическая обработка результатов определения специфической фармакологической активности лекарственных средств биологическими методами. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.; 2018.

Таблица 1. Реакция беспородных самцов крыс на введение стандартного образца лютеинизирующего гормона (добавочные половые железы)**Table 1.** Responses of male randombred rats to the international standard for luteinising hormone (accessory sex organs)

Курсовая доза лютеинизирующего гормона, МЕ/животное <i>Accumulated luteinising hormone dose, IU/animal</i>	Среднее значение относительной массы органов (ОМО) и полуширина доверительного интервала ($\bar{OMO} \pm \Delta OMO$) при доверительной вероятности $P=95\%$ <i>Average accessory sex organ-to-body weight ratio and confidence interval half-width ($\bar{OMO} \pm \Delta OMO$) ($P=95\%$)</i>
4,5	1,45±0,11
16,5	1,60±0,07
39,0	1,86±0,12

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

Таблица 2. Реакция самцов крыс линии Sprague Dawley на введение стандартного образца лютеинизирующего гормона (добавочные половые железы)**Table 2.** Responses of male Sprague Dawley rats to the international standard for luteinising hormone (accessory sex organs)

Курсовая доза лютеинизирующего гормона, МЕ/животное <i>Accumulated luteinising hormone dose, IU/animal</i>	Среднее значение относительной массы органов (ОМО) и полуширина доверительного интервала ($\bar{OMO} \pm \Delta OMO$) при доверительной вероятности $P=95\%$ <i>Average accessory sex organ-to-body weight ratio and confidence interval half-width ($\bar{OMO} \pm \Delta OMO$) ($P=95\%$)</i>
4,5	1,29±0,07
14,3	1,92±0,16
35,0	2,24±0,26

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

В общей сложности в течение двух лет было использовано 360 беспородных и 180 животных линии Sprague Dawley.

На первом этапе была проведена оценка собранных за весь период проведения испытания данных, характеризующих ответ животных беспородных и линии Sprague Dawley на подкожное введение СО ЛГ при определении БА менотропинов. Графики зависимости эффекта от дозы проанализировали по тангенсу угла наклона (коэффициенту регрессии b) и разбросу (дисперсии s^2). Чем больше угол наклона линии, тем выше дозозависимость; чем меньше дисперсия результатов в испытании, тем они более точны и воспроизводимы. Для крыс каждого статуса вычисляли интегральный коэффициент s/b . Чем меньше его значение, тем выше чувствительность крыс.

Вторым этапом работы стал анализ ответов, полученных при определении БА (сравнение ИО с СО) различных препаратов менотропинов на беспородных и линейных животных. Регрессионный и дисперсионный анализ данных, а также вычисление БА ЛГ проводили с помощью электронных таблиц Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При оценке данных СО ЛГ величины курсовых доз и соответствующие ответы животных, в которых значения ОМО различались

статистически незначимо, усреднили и объединили. Полученные результаты представлены в таблицах 1, 2 и на рисунке 1.

Следующим этапом исследования была оценка статистической значимости дозозависимости с помощью дисперсионного анализа и ее сравнение для крыс беспородных и линии Sprague Dawley, получавших СО ЛГ.

Для применения модели параллельных прямых дозозависимость должна быть линейна и статистически значима. Эти параметры характеризуют источники дисперсии – показатели «Нелинейность» и «Регрессия» соответственно. Наблюдаемое значение критерия Фишера для первого показателя должно быть меньше, а для второго – больше критического.

Дисперсионный анализ полученных линий регрессии показал наличие статистически значимой дозозависимости и незначимой нелинейности (табл. 3, 4) для реакции животных на введение растворов СО ЛГ [5].

На основании полученных данных (табл. 1, 2) был проведен анализ линий дозозависимости СО ЛГ беспородных и линейных крыс [6]. Сравнить коэффициенты регрессии с помощью t -критерия не представлялось возможным, так как линии характеризовались разным разбросом (рис. 1, табл. 1, 2). При этом дисперсия дозозависимости

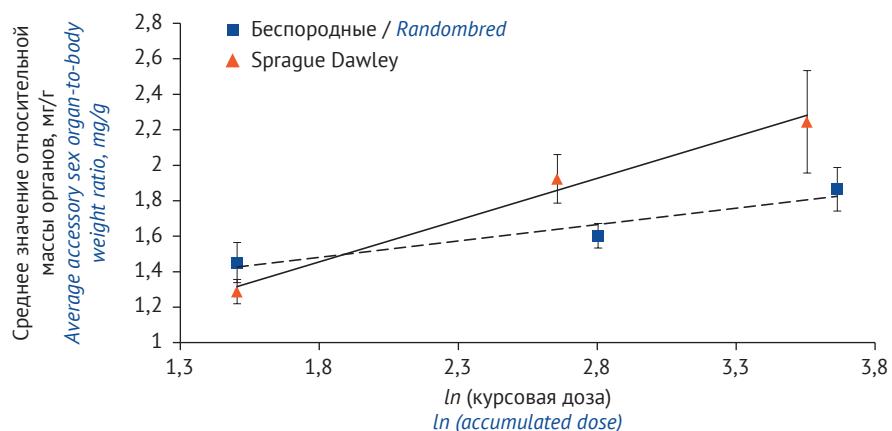


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure is prepared by the authors using their own data

Рис. 1. Объединенная реакция крыс-самцов беспородных и линии Sprague Dawley на введение стандартного образца лютеинизирующего гормона с линейной аппроксимацией

Fig. 1. Pooled responses of male randombred and Sprague Dawley rats to the international standard for luteinising hormone, with linear approximation

животных линии Sprague Dawley была значительно выше, чем у беспородных ($F_{\text{набл}} > F_{\text{критич}}$). Поэтому о непараллельности линий дозозависимости реакции крыс беспородных и линии Sprague Dawley на введение СО ЛГ судили по не-пересекающимся доверительным границам коэффициентов регрессии b : $0,16 \pm 0,07$ (беспородные животные) и $0,47 \pm 0,15$ (линейные животные) при $P=95\%$ (табл. 5) [5]. Интервалы доверительных границ не пересекаются, поэтому различие реакции животных следует считать статистически значимым (рис. 1). Следовательно, при введении СО ЛГ дозозависимость у животных линии

Sprague Dawley ($P=95\%$) значительно выше, чем у беспородных (табл. 6) [6, 7].

Таким образом, у беспородных животных меньше разброс результатов, а у крыс линии Sprague Dawley выше дозозависимость. Для сравнительной оценки чувствительности крыс разных статусов применили интегральный коэффициент s/b , который характеризует баланс разброса ответов и степени дозозависимости. Чем ниже значение данного коэффициента, тем выше чувствительность. Значение для линейных животных составило 1,25, для беспородных – 1,93

Таблица 3. Результаты оценки реакции беспородных крыс-самцов на введение стандартного образца лютеинизирующего гормона (методом дисперсионного анализа)

Table 3. Analysis of variance of pooled responses of male randombred rats to the international standard for luteinising hormone

Определяемый показатель <i>Test parameter</i>	Число степеней свободы (f) <i>Number of degrees of freedom (f)</i>	Сумма квадратов <i>Sum of squares</i>	Средний квадрат <i>Mean square</i>	Значение критерия Фишера <i>Fisher test value</i>		Доверительная вероятность (P, %) <i>Confidence probability (P, %)</i>
				$F_{\text{набл}}$ <i>F_{calculated}</i>	$F_{\text{критич}}$ <i>F_{critical}</i>	
Регрессия <i>Regression</i>	1	1,94	1,94	19,41>6,83		99
Отклонение от регрессии (нелинейность) <i>Departure from regression (non-linearity)</i>	1	0,27	0,27	2,68<3,92		95
Постановки (межгрупповая дисперсия) <i>Treatments (intergroup variance)</i>	2	2,21	1,10	11,05>3,07		95
Отклонение (внутригрупповая дисперсия) <i>Error (intragroup variance)</i>	136	13,58	0,10	–	–	–
Итого (Σ_{yy}) <i>Total (Σ_{yy})</i>	138	15,79	0,11	–	–	–

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

Примечание. «–» – не применимо.

Note. –, not applicable.

Таблица 4. Результаты оценки реакции крыс-самцов линии Sprague Dawley на введение стандартного образца лютеинизирующего гормона (методом дисперсионного анализа)**Table 4.** Analysis of variance of pooled responses of male Sprague Dawley rats to the international standard for luteinising hormone

Определяемый показатель <i>Test parameter</i>	Число степеней свободы (<i>f</i>) <i>Number of degrees of freedom (f)</i>	Сумма квадратов <i>Sum of squares</i>	Средний квадрат <i>Mean square</i>	Значение критерия Фишера <i>Fisher test value</i>		Доверительная вероятность (P, %) <i>Confidence probability (P, %)</i>
				<i>F</i> набл <i>F_{calculated}</i>	<i>F</i> критич <i>F_{critical}</i>	
Регрессия <i>Regression</i>	1	12,56	12,56	37,64>6,86		99
Отклонение от регрессии (нелинейность) <i>Departure from regression (non-linearity)</i>	1	0,14	0,14	0,43<3,93		95
Постановки (межгрупповая дисперсия) <i>Treatments (intergroup variance)</i>	2	12,7	6,35	19,03>3,08		95
Отклонение (внутригрупповая дисперсия) <i>Error (intragroup variance)</i>	122	40,7	0,33	–		–
Итого (Σ_{yy}) <i>Total (Σ_{yy})</i>	124	53,41	0,43	–		–

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

Примечание. «–» – не применимо.**Note.** –, not applicable.**Таблица 5.** Анализ линий регрессии, характеризующих реакцию крыс-самцов беспородных и линии Sprague Dawley на введение стандартного образца лютеинизирующего гормона**Table 5.** Analysis of regression lines characterising responses of male randombred and Sprague Dawley rats to the international standard for luteinising hormone

Показатель <i>Parameter</i>	Значение показателя у животных <i>Parameter value in animals</i>		Дисперсии статистически значимо различаются <i>Significant difference between variances</i>
	Беспородные <i>Randombred</i>	Sprague-Dawley	
Коэффициент линейной регрессии <i>b</i> <i>Slope, b</i>	0,16	0,47	
Дисперсия <i>s²</i> <i>Variance, s²</i>	0,10	0,34	
Среднее значение натурального логарифма курсовой дозы \bar{x} <i>Mean ln (accumulated dose) \bar{x}</i>	2,55	2,64	
Средний ответ \bar{y} <i>Mean response \bar{y}, mg/g</i>	81,59	81,87	
Сравнение дисперсий <i>s²</i> <i>Comparison of variances, ²</i>			
<i>F</i> набл (<i>F_{calculated}</i>)=3,37	<i>f</i> большой дисперсии <i>f, maximum variance</i>	<i>f</i> меньшей дисперсии <i>f, minimum variance</i>	Дисперсии статистически значимо различаются <i>Significant difference between variances</i>
<i>F</i> критич (<i>F_{critical}</i>)=1,34 (P=95%)	118	137	

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

Примечание. *F* – критерий Фишера; *f* – число степеней свободы.**Note.** *F*, Fisher's test; *f*, number of degrees of freedom.

(табл. 6), что свидетельствует о более высокой чувствительности линейных животных к СО ЛГ.

Анализ результатов определения БА (сравнение ИО с СО) показал, что различие средних значений интегрального показателя

для животных обоих статусов ($0,68 \pm 0,58$ и $0,82 \pm 0,44$ для беспородных и линейных крыс соответственно) статистически незначимо при том, что число линейных животных в каждом испытании было в два раза меньше, чем беспородных. Таким образом, можно сделать

Таблица 6. Показатели, характеризующие реакцию крыс-самцов беспородных и линии Sprague Dawley на введение стандартного образца лютеинизирующего гормона

Table 6. Parameters characterising responses of male randombred and Sprague Dawley rats to the international standard of luteinising hormone

Показатель <i>Parameter</i>	Значение показателя в группе животных <i>Parameter value in the group of animals</i>	
	Беспородные <i>Randombred</i>	Sprague Dawley
Коэффициент линейной регрессии (опорное значение \pm полуширина доверительного интервала $b \pm \Delta b$, $P=95\%$) <i>Slope (average value \pm confidence interval half-width $b \pm \Delta b$, $P=95\%$)</i>	0,16 \pm 0,07	0,47 \pm 0,15
Дисперсия (s^2) <i>Variance (s^2)</i>	0,10	0,34
Интегральный показатель s/b <i>Standard deviation/slope ratio (s/b)</i>	1,93	1,25

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

Примечание. s – среднее квадратическое отклонение; P – доверительная вероятность.

Note. s , standard deviation; P , confidence probability.

вывод, что для сокращения числа животных при определении биологической активности ЛГ в препаратах менотропина возможно использовать крыс линии Sprague Dawley.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам проведенного анализа установлено, что:

- для определения биологической активности лютеинизирующего гормона в препаратах гонадотропинов возможно использование крыс-самцов линии Sprague Dawley наряду с беспородными, указанными в методике Государственной фармакопеи Российской Федерации;
- чувствительность крыс линии Sprague Dawley выше, чем у беспородных, что подтвержда-

ется интегральным показателем, сочетающим оценку разброса и дозозависимости;

- благодаря более высокой чувствительности крыс линии Sprague Dawley возможно сокращение вдвое количества используемых особей в испытаниях для получения статистически достоверных результатов при определении биологической активности, что экономически выгодно и соответствует мировой тенденции сокращения количества лабораторных животных, используемых в исследованиях (концепция 3R).

Результаты исследования будут учтены при пересмотре общей фармакопейной статьи «Биологические испытания гонадотропинов» для следующего издания отечественной фармакопеи.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Рудакова ЕБ, Серова ОФ, Стрижкова ТВ, Федорова ЕА, Острина СЯ. Роль лютеинизирующего гормона в овариальной стимуляции в программах экстракорпорального оплодотворения (обзор литературы). *Проблемы репродукции*. 2022;28(1):129–35.
Rudakova EB, Serova OF, Strizhova TV, Fedorova EA, Ostrina SYa. The role of luteinizing hormone in ovarian stimulation of IVF programs (literature review). *Russian Journal of Human Reproduction*. 2022;28(1):129–35 (In Russ.).
<https://doi.org/10.17116/repro202228011129>
2. Орлова НА, Ковнир СВ, Ходак ЮА, Ползиков МА, Воробьев ИИ. Рекомбинантный лютеинизирующий гормон человека для лечения бесплодия: получение линий-продуцентов. *Акушерство, гинекология и репродукция*. 2017;11(3):33–42.
Orlova NA, Kovnir SV, Khodak YuA, Polzikov MA, Vorobyov II. Recombinant human luteinizing hormone for the treatment of infertility: the generation of producer cell lines. *Obstetrics, Gynecology and Reproduction*. 2017;11(3):33–42 (In Russ.).
<https://doi.org/10.17749/2313-7347.2017.11.3.033-042>
3. Mullen MP, Cooke D, Crow M. Structural and functional roles of FSH and LH as glycoproteins regulating reproduction in mammalian species. In: Vizcarra J, ed. *Gonadotropin*. Chapter 8. InTech; 2013. P. 155–80.
<https://doi.org/10.5772/48681>
4. Steelman SL, Pohley FM. Assay of the follicle-stimulating hormone based on the augmentation with human chorionic gonadotropin. *Endocrinology*. 1953;53(6):604–16.
<https://doi.org/10.1210/endo-53-6-604>
5. Burn JH, Finney DJ, Goodwin LG. *Biological standardization*. London: Oxford University Press; 1952.
6. Урбах ВЮ. *Биометрические методы. Статистическая обработка опытных данных в биологии, сельском хозяйстве и медицине*. М.: Наука; 1964.
Urbakh VYu. *Biometric methods. Statistical processing of experimental data in biology, agriculture and medicine*. Moscow: Nauka; 1964 (In Russ.).
7. Беленький МЛ. *Элементы количественной оценки фармакологического эффекта*. Л.: Медгиз; 1963.
Belenkiy ML. *Elements of quantitative assessment of pharmacological effects*. Leningrad: Medgiz; 1963 (In Russ.).

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: *Т.А. Батуашвили* – планирование исследования, выполнение эксперимента, проведение сравнительного анализа полученных результатов, сбор данных литературы; *Е.О. Чечетова* – выполнение эксперимента, анализ полученных данных, систематизация и оформление результатов исследования, редактирование текста рукописи; *П.В. Шадрин* – проведение вычислений, выполнение сравнительного анализа полученных результатов, работа с графическим материалом; *Н.П. Неугодова* – идея исследования, редактирование текста рукописи, утверждение окончательного варианта рукописи для публикации.

Соответствие принципам этики. Проведение исследования было одобрено на заседании локального этического комитета ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (протокол заседания № 3 от 16.11.2023).

Authors' contributions. All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. *Tamara A. Batuashvili* planned the study, conducted experiments, performed the comparative analysis of the results obtained, and collected literature data. *Ekaterina O. Chechetova* conducted experiments, analysed the data obtained, collated and formatted the study results, and edited the manuscript. *Pavel V. Shadrin* carried out calculations, performed the comparative analysis of the results obtained, and worked with the graphical material. *Natalia P. Neugodova* elaborated the main idea of the study, edited the manuscript, and approved the final version of the manuscript for publication.

Ethics approval. The study was approved at a meeting of the Local Ethics Committee of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Minutes of Meeting No. 3 dated 16.11.2023).

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Батуашвили Тамара Ариеловна, канд. биол. наук / **Tamara A. Batuashvili**, Cand. Sci. (Biol.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2656-8131>

Чечетова Екатерина Олеговна / **Ekaterina O. Chechetova**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6728-594X>

Шадрин Павел Валерьевич / **Pavel V. Shadrin**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7143-8227>

Неугодова Наталья Петровна, канд. биол. наук / **Natalia P. Neugodova**, Cand. Sci. (Biol.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8615-952X>

Поступила 11.03.2024

После доработки 08.04.2024

Принята к публикации 10.04.2024

Received 11 March 2024

Revised 8 April 2024

Accepted 10 April 2024