

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МОДЕЛИ ТРАНСГЕНЕРАЦИОННЫХ ЭФФЕКТОВ ВЛИЯНИЯ ЭСТРОГЕНОВ НА МОРФОЛОГИЮ РЕПРОДУКТИВНЫХ ОРГАНОВ ПОТОМСТВА В ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ

Сулайманова Р.Т.

Башкирский государственный медицинский университет, Уфа, Россия, e-mail: rimma2006@bk.ru

EXPERIMENTAL MODELS OF TRANSGENERATIONAL EFFECTS OF THE INFLUENCE OF ESTROGENS ON THE MORPHOLOGY OF REPRODUCTIVE ORGANS IN POSTNATAL ONTOGENESIS

Sulaymanova RT

Bashkir State Medical University, Ufa, Russia, e-mail: rimma2006@bk.ru

Для цитирования:

Сулайманова Р.Т. Экспериментальные модели трансгенерационных эффектов влияния эстрогенов на морфологию репродуктивных органов потомства в постнатальном онтогенезе// Морфологические ведомости.- 2019.- Том 27.- № 1.- С. 36-44. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.19\(27\).01.36-44](https://doi.org/10.20340/mv-mn.19(27).01.36-44)

For the citation:

Sulaymanova RT. Experimental models of transgenerational effects of the influence of estrogens on the morphology of reproductive organs in postnatal ontogenesis. *Morfologicheskie Vedomosti – Morphological Newsletter*. 2019 March 31;27(1):36-44. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.19\(27\).01.36-44](https://doi.org/10.20340/mv-mn.19(27).01.36-44)

Резюме: В современном мире наблюдается рост использования гормонов, их аналогов и веществ с гормон-подобным действием в медицинской практике для регуляции менструального цикла, зачатия, предупреждения, поддержания и разрешения беременности. По данным официальных отчетов, за последние годы количество ежегодно проводимых циклов вспомогательных репродуктивных технологий с гормональной поддержкой возросло в стране в шесть раз. Цель обзора – обобщить современные данные о существующих моделях по изучению трансгенерационных эффектов воздействия различных доз эстрогенов и препаратов с эстрогенным эффектом в период пренатального развития на морфологию репродуктивных органов потомства в постнатальном онтогенезе. Материалами для мета-анализа данных послужили результаты соответствующих исследований отечественных и зарубежных авторов и собственные опубликованные данные. В статье обобщены современные данные, демонстрирующие трансгенерационные эффекты экспериментального воздействия различных доз эстрогенов и препаратов с эстрогенным эффектом в период пренатального развития на морфологию репродуктивных органов потомства в постнатальном онтогенезе. Обобщены данные по экспериментальным моделям трансгенерационного воздействия терапевтических, субтоксических и токсических доз эстрогеновых препаратов, вызывающих скрытые и морфологически проявляющиеся изменения в репродуктивных органах потомства.

Ключевые слова: эстрогены, трансгенерационный эффект, экспериментальные модели, морфология репродуктивных органов

Summary: In the modern clinical practice there is an increase in the use of hormones, their analogues and substances with hormone-like action in medical practice for the regulation of the menstrual cycle, conception, prevention, maintenance and resolution of pregnancy. According to official reports, in recent years, the number of annual cycles of assisted reproductive technology with hormonal support has increased six times in the country. The purpose of the review is to summarize current data on the effects of experimental and clinical effects of various doses of estrogens and drugs with estrogenic effects during the period of prenatal development on the morphology of the reproductive organs of the offspring in postnatal ontogenesis. The materials for the meta-analysis of the data were the results of relevant studies of domestic and foreign authors and their own published data. The article summarizes current data demonstrating the effects of experimental effects of various doses of estrogen and drugs with an estrogenic effect during the period of prenatal development on the morphology of the reproductive organs of the offspring in postnatal ontogenesis. The data on therapeutic, subtoxic and toxic doses of the effects of estrogen preparations in various experimental models are summarized, causing latent and morphologically manifested changes in the reproductive organs of the offspring.

Key words: estrogens, transgenerational effect, experimental models, morphology of reproductive organs

Введение. Физиологическая гиперэстрогения, или относительно высокая концентрация женских половых стероидных гормонов и их производных, как в материнской крови, так и в фетальной крови – отличительная черта пренатального периода онтогенеза человека и млекопитающих животных, она не зависит от пола развивающегося плода. Биологическая целесообразность этого явления, обуславливаемого материнской эндокринной системой и производством половых гормонов плацентой, неразрывно связана с гормональным обеспечением физиологического течения беременности [1]. Внутренние факторы системы мать-плацента-плод, равно как и внешние, способные изменить концентрацию эстрогенов в фетальной крови, могут привести в лучшем случае к модулирующим, в худшем – к провоцирующим (в том числе и программирующим) эффектам как самих гормонов, так и их метаболитов на молекулярно-генетическом уровне в эстроген-чувствительных тканях, включая закладки репродуктивных органов.

Следует особо подчеркнуть, что эти эффекты принципиально отличны от тех же самых эффектов, которые исследованы на взрослых особях животных и постнатальном человеке, что обусловлено, по меньшей мере, тремя причинами. Как было нами описано ранее, из-за критически малых размеров и небольшого числа клеток в закладках органов и небольших размеров эмбриона и плода в целом, вероятность тотального программирующего и повреждающего воздействия факторов на эти закладки намного выше, чем в постнатальной жизни [2]. Это первое отличие программирующего действия внутренних и внешних факторов в эмбриофетогенезе. Во-вторых, отдельные стадии развития эмбриона и плода с формированием структур и функций измеряются отрезками времени, не соизмеримыми с продолжительностью и скоростью течения аналогичных стадий постнатального онтогенеза. Критическая длительность воздействия до уровня патогенных или метаболически значимых в пренатальном периоде изменений укорачивается до минимальной продолжительности, не сравнимой по своим последствиям с аналогичными влияниями в постнатальном

онтогенезе. Третьей, наиболее существенной, если не самой главной, особенностью пренатального программирующего воздействия вероятных факторов модуляторов постнатального гисто- и органогенеза, включая и патологические, является наличие так называемого «окна» адаптивного ответа развивающихся эмбриональных тканей [3]. В течение такого критического периода они провоцируют не только и не столько макро-микроскопически распознаваемую патологию гормонально чувствительных органов, как это имеет место во взрослом организме, сколько запрограммированные, но не развивающиеся до определенного этапа онтогенеза молекулярно-генетические и метаболические нарушения функционирования органов и систем и их тяжелую, зачастую не излечимую патологию [3-6]. Механизмы их реализации могут быть как генетическими, так и эпигенетическими. Итак, размеры мишеней, критичность скорости и критичность времени воздействия, в смысле возможного молекулярно-генетического программирования отсроченных последствий, являются главными отличиями воздействия гормонов и их метаболитов на пренатально развивающийся организм.

В современном мире неуклонно растет использование гормонов и их аналогов для регуляции менструального цикла, предупреждения беременности и, наоборот, для зачатия, поддержания и разрешения беременности. По данным официальных отчетов, за последние годы количество ежегодно проводимых циклов вспомогательных репродуктивных технологий с гормональной поддержкой возросло в 6 раз [7]. Быстрыми темпами увеличивается потребление женщинами напитков, содержащих высокие концентрации фитоэстрогенов и гормоноподобных ксенобиотиков [8]. Повсеместное присутствие в окружающей среде широко распространенных эндокринных дизрапторов, производных дихлор-дифенил-трихлор-метил-метана или бисфенола А, обнаруживаемых в тканях животных и человека, делает даже физиологически протекающую беременность не свободной от условий их воздействия на плод [9-10].

Параллельно с этим наблюдается другое явление. Существенным образом возросла и продолжает неуклонно расти заболеваемость раком молочной железы, раком яичников и раком простаты. Ежегодно у женщин в мире выявляется свыше 1 миллиона новых случаев рака молочной железы. Россия занимает одно из лидирующих мест по заболеваемости и смертности от данной патологии. По данным официальной статистики, каждый год более 54 тысяч россиянок заболевают раком груди, что составляет около 19% от всей доли новообразований женской репродуктивной системы, а 22 тысячи пациенток погибают вследствие поздней диагностики. Аналогичная ситуация наблюдается и по раку яичников и простаты. Иными словами, рост числа детей, внутриутробно испытавших далеко не физиологическую стероидную эстрогенную (а в ряде случаев, и анти-эстрогенную) нагрузку, сопровождается параллельным ростом значительно помолодевших случаев рака молочной железы, рака яичников, рака простаты и других стероидно-зависимых органов-мишеней. Безусловно, следует отдавать себе отчет в том, что в функциональной системе мать-плод естественным посредником в сложном и неоднозначно зависимом от концентрации стероидных гормонов взаимодействии является плацента с собственными системами их продукции, метаболизма и инактивации [11]. Однако это обстоятельство лишь усложняет, но не объясняет обозначенную выше проблему сопряженного роста использования гормонов во время беременности и частоты онкологической патологии гормонально зависимых органов.

Многие авторы неоднократно указывали на растущую научно-практическую актуальность указанной выше проблемы, однако она, к сожалению, продолжает оставаться только сферой экспериментальных исследований в этой области и встречает упорное сопротивление разработчиков эстроген-поддерживаемых технологий репродукции и репродуктивного здоровья [12-13]. Из наиболее критически важных практических аспектов применения гормонов, их аналогов и веществ с гормоноподобным действием в акушерстве и гинекологии, с учетом их потенциального отсроченного в онтогенезе программирующего (в ряде случаев - проканцерогенного) воздействия на плод, являются дозы используемых препаратов. Различные дозы гормонов могут оказывать модулирующий, терапевтический, субтоксический и токсический эффекты. Отдельно при этом отдельно следует также выделять тератогенный, про-канцерогенный и канцерогенный эффекты различных доз эстрогенных препаратов. Однако, как будет показано ниже, стандартных или многократно апробированных эффективных экспериментальных моделей использования различных доз в литературе не описано. Это существенным образом затрудняет получение соответствующих надежных эффектов как в плане разработки принципов профилактики негативного воздействия и нарушений физиологического баланса эстрогенов в период беременности, так и в плане апробации новых препаратов для его регуляции.

Актуальность означенной проблемы состоит не только в возможном нарушающем фертильность у потомства и провоцирующем патологию репродуктивных органов, включая проканцерогенную, эффекте современных медицинских технологий, использующих гормональные и антигормональные препараты. Эти препараты, как показано в многочисленных экспериментах, могут провоцировать также постнатальные нарушения репродуктивного и иного поведения у потомства, косвенно влиять на мозговые функции и вызывать нейро-эндокринные нарушения и соответствующие поведенческие эффекты [14]. Аналогичными эффектами обладают и эндокриномиметики, что дополнительно подтверждает отсроченное трансгенерационное воздействие пренатального уровня гормонов на мозг [15].

Цель настоящего обзора – обобщить современные данные об эффектах экспериментального воздействия различных доз эстрогенов и препаратов с эстрогенным эффектом в период пренатального развития на морфологию репродуктивных органов потомства в постнатальном онтогенезе. **Материалами для анализа** данных послужили результаты соответствующих исследований отечественных и зарубежных авторов и собственные опубликованные данные авторов за последние 85 лет с 1932 по 2017 год.

Трансгенерационные эффекты синтетических эстрогенов в клинике и их последствия. Вопрос о влиянии стероидных гормонов заинтересовал исследователей еще в 1896 году, когда британский хирург G.T. Beatson доказал на опыте возможность регресса рака молочной железы у пациентки после экспериментальной резекции яичников, тем самым показав прямую зависимость исследуемого заболевания от продуцируемых яичниками гормонов [16]. Иными словами, было установлено, что высокий уровень эстрогенов стимулирует развитие рака молочной железы или, по крайней мере, способствует прогрессированию возникшей опухоли эстроген-зависимой ткани молочной железы. Не случайно поэтому,

определение стероидного гормонального рецепторного профиля у каждой пациентки с раком молочной железы, классификация его типов и технологий лечения сегодня являются рутинной клинической практикой.

В настоящее время достаточно много исследователей заинтересовано изучением подобного, стимулирующего рост гормонально зависимых тканей, но трансгенерационного воздействия на организм эстрогенов, эстроген-активных препаратов, фитоэстрогенов и химических веществ, обладающих эстрогеноподобным эффектом, на последующие поколения [17]. Наиболее изученным в данной области, в том числе экспериментально, является воздействие на организм диэтилстильбэстрола. Это вещество было синтезировано в 1938 году [18]. Момент его выхода на рынок – 1941 год [19], а его широкое применение для предотвращения потери плода от осложнений поздней беременности началось с 1947 года [20-21]. Анализ литературных источников начала 40-х годов двадцатого века по влиянию диэтилстильбэстрола (далее - DES), синтетического нестероидного активного эстрогена из группы стильбэстролов, показывает, что его использование и популярность первоначально явились значимым достижением медицины того времени, так как предполагалось, что DES снижает риск преждевременных родов и невынашивания беременности. Однако, позднее обнаружилось, что DES оказался своеобразной «биологической бомбой замедленного действия», оказывающей негативное влияние на организм человека в качестве эндокринного разрушителя (дизраптора), тератогена и канцерогена. Неблагоприятные исходы беременности, бесплодие, рак, ранняя менопауза, дефекты развития половых путей были выявлены у детей и у их последующего поколения (т.е. внуков), матери (бабушки) которых были подвергнуты воздействию DES в период беременности. Результаты ретроспективного исследования с 1946 по 1951 годы, проведенного в Англии в поисках факторов, провоцирующих опухоли у молодых женщин, матери которых на ранних сроках беременности принимали DES, показали, что семь из восьми матерей - пациенток с карциномой, лечились этим препаратом, резко повысившим риск развития у них отсроченной во времени влагалищной аденокарциномы спустя многие годы жизни. В 1971 году Herbst A.L. с соавторами повторно сообщили о большей частоте выявления влагалищной прозрачно-клеточной аденокарциномы в группе женщин, матери которых получали лечение DES во время беременности [22].

Последующие исследования показали влияние DES на органы генитального тракта у потомства мужского и женского пола матерей, которые участвовали в двойном слепом плацебо-контролируемом исследовании в 1951 и 1952 годах, направленном на определение влияния DES на беременность. Эпидидимальные кисты, гипотрофичные яички и капсулярная индурация были наиболее частыми генитальными поражениями у потомства мужского пола. Диспластические поражения были более распространены во влагалище и шейке матки у потомства женского пола [23]. Однако, по результатам последующих исследований в группах, сравниваемых с Регистром опухолей штата Коннектикут США за 1963-1965 годы, большей частоты случаев рака у детей мужского или женского пола не наблюдалось [24].

Было показано, что использование DES в 70-х годах прошлого века связано с развитием рака влагалища, молочных желез и репродуктивных тканей у дочерей, которые до рождения подвергались воздействию этого мощного синтетического эстрогена [25]. Проведенное рандомизированное двойное слепое контролируемое исследование показало, что использование DES во время беременности приводит к неблагоприятным исходам, связанным с раком молочной железы, доброкачественным поражением шейки матки, а также расстройствам психики, особенно часто - депрессии и тревожности [26]. Заболеваемость раком молочной железы у женщин, получавших DES, умеренно повышается, и это не исключает вероятности того, что причиной такого увеличения является до конца не выясненное сопутствующее воздействие DES [27]. Риск от пренатального воздействия DES среди мужчин и женщин был аналогичен риску применения известного тератогена талидомида, так как препарат DES вводился матерям без должного контроля и клинических испытаний. Тем не менее, в отличие от талидомида, последствия воздействия которого обнаруживались непосредственно после рождения ребенка, последствия воздействия DES обнаруживались только через 30 лет постнатальной жизни [28].

Таким образом, применение DES сегодня является одной из искусственных лекарственных катастроф в медицине, которая обязательна для решения и требует создания и продвижения программ профилактики рака, связанных с его применением в акушерстве. В ряде исследований, проведенных после воздействия DES на беременных, исследователи пришли к выводу о необходимости скорейшего устранения наследования последствий DES-терапии с целью предотвращения ее неблагоприятных воздействий на последующие поколения. DES является канцерогенным и генотоксичным для плода человека эстрогенным препаратом, поэтому потомство имеет высокий риск развития рака молочной железы, который подтвердился в виде злокачественных новообразований у DES-дочерей на четвертом десятилетии жизни, т.е. после 40 лет, в раннем предменопаузальном периоде [29].

Трансгенерационные эффекты эстрогенов на репродуктивную систему потомства: дозы и животные. Значительное количество современных исследований посвящены изучению влияния трансплацентарного трансгенерационного эффекта пренатального воздействия диэтилстильбэстрола (DES) на развитие и функции органов репродуктивной системы у самок и самцов лабораторных животных. Такие экспериментальные исследования чрезвычайно важны для понимания роли эстрогенов в морфогенезе репродуктивных органов и становлении репродуктивных функций, включая соответствующее поведение, и могут в конечном итоге предоставить эффективные модели, демонстрирующие клиническую важность проблемы трансгенерационных воздействий эстрогенов [30-34].

В экспериментальных воздействиях DES в дозах 1-2 мкг препарата на 1 г веса лабораторной мыши привели к опухолям гипофиза, новообразования которого состояли из клеток с эксцентричным ядром и базофильной цитоплазмой [36]. По данным автора, в женских репродуктивных органах, а именно в яичниках, наблюдались дефицит желтых тел и повышенное количество опухолей. Поскольку гипофиз является структурным компонентом системы гипоталамической регуляции репродуктивных органов, автор расценил эти эффекты только как опосредованное гипофизом нарушение их дифференцировки в пренатальном периоде развития, приведшее к соответствующим аномалиям. Возможность прямого отсроченного воздействия препарата непосредственно на морфогенез самих органов репродуктивной системы при этом во

внимание не принималась. То есть такие эффекты рассматривались только как побочные эффекты пренатального воздействия DES [36].

В одном из экспериментальных исследований было показано, что воздействие DES и эстрадиола валерианата в концентрации ниже 0,01 мкг на беременных самок крыс не оказало какого-либо воздействия на их потомство мужского пола. У мужского потомства, которому вводили те же эстрогенные препараты в период новорожденности уменьшилась масса и размеры половых органов (полового члена, семенников, семенных пузырьков, придатков яичек). Снижалась до полного отсутствия половая функция, наблюдалось бесплодие из-за снижения сперматогенеза во взрослом периоде развития [37]. При этом введение эстрогенных препаратов беременным самкам мышей в дозировке 2,5 мкг на животное вызывала эпителиальную гиперплазию и дисплазию в вентральной доле простаты у самцов потомства [38]. Моделирование субтоксического действия эстрогенов путем введения DES в дозе от 2,5 до 5,0 мкг на 1 мышью в день или 100-200 мкг на 1 кг веса мыши в день на 11-17 дни беременности, показало, что такие дозы оказывают тормозящее, но не канцерогенное воздействие на развитие репродуктивного тракта потомства. Это наблюдалось как у самцов, так и у самок потомства [39]. Введение DES в неонатальном периоде развития также оказывало нарушающее морфогенез репродуктивных органов воздействие [40]. Были выявлены гистопатологические изменения в матке, характеризующиеся наличием гиперплазии во внутреннем слое эндометрия, а также множество клеток в фазе апоптоза, что также способствует формированию неоплазий [40]. Эти находки были подтверждены последующими исследованиями на тканевых и клеточных структурах молочной железы [41], они явно указывают не только на важные функциональные, но и на мутагенные и канцерогенные эффекты воздействия эстрогенов. Таким образом, приведенные выше результаты экспериментальных исследований показывают высокую степень неоднородности и неоднозначности результатов трансгенерационного воздействия эстрогенов, полученных на самых разных лабораторных животных, что обусловлено сроками введения препаратов (пренатальный и/или) ранний неонатальный), их химической природой и биологической активностью, но в значительной степени - дозами препаратов. Авторы этих исследований не принимали во внимание факт развития плода в условиях физиологической гиперэстрогении, равно как и различий в дозировках воздействия эстрогенов на материнский организм, а также опосредованность этого воздействия плацентарным барьером и нивелирование эффектов препаратов их поглощением эстроген-рецепторными тканями в органах матери.

Пионерскими работами с большими дозировками эстрогенов общепризнаны эксперименты французского исследователя А. Лакассана, который в 1932 году выяснил, что на функционирование яичников влияет фолликулин (эстрогенный гормон), состоящий из комплекса гормонов, способных вызывать образование рака в эстроген-зависимых органах у экспериментальных животных. Появление рака молочной железы в линии лабораторных мышей, подвергнутых действию фолликулина, в которой этот рак очень редок, показало, что гормон играет главную роль в проявлении наследственности, а также, что опухоли под воздействием фолликулина возникают чаще и быстрее у животных с раковой наследственностью. Объектом изучения А. Лакассана являлись также проканцерогенные структурные изменения в молочной железе мышей, спровоцированные введением 0,5 мл 0,6% масляного раствора димэстрола внутримышечно 1 раз в неделю в течение 45 дней [42]. Ряд клинических, эпидемиологических и экспериментальных исследований доказывают, что пренатальная экспозиция препаратов синтетических аналогов эстрогенов в течение критического периода закладки яичников приводит к стойким морфологическим изменениям этого органа у потомства в постнатальной жизни. Эти изменения следует рассматривать как морфологические предикторы нарушений функций репродуктивной системы в целом и снижения фертильности, а также косвенно, как предикторы проканцерогенных эффектов нефизиологической гиперэстрогении матерей во время беременности на яичники потомства [43-45].

Для того, чтобы доказать токсический эффект препаратов с эстрогенной активностью в дозировке, превышающей 10 мкг на мышью, Б.В. Ключаревым (Ключарев, 1954) лабораторным животным вводился 0,5 мл 1% раствора синэстрола внутримышечно 1 раз в неделю, что составило дозу более 5000 мкг на животное. Токсичность дозировки (как и предполагалось автором) была подтверждена у грызунов снижением двигательной активности и потерей волосяного покрова [46]. В исследованиях Л. Гаччиладзе (1967) было выяснено, что кратковременное воздействие эстрогенов в дозе 50 мкг на мышью 3 раза в неделю приводит к дистрофическим изменениям яичника, структурным и гистохимическим изменениям в молочной железе, которые являются пусковым механизмом в развитии неоплазий [47]. Также известно моделирование фиброзно-кистозной болезни молочной железы в исследовании, включающем внутримышечное введение девственным самкам крыс димэстрола в дозе 0,5 мл 2% масляного раствора в комбинации с 0,5 мл 2,5% масляного раствора прогестерона. Введение осуществляли в 1, 7, 14, 21, 28 и 35 дни эксперимента [48]. Введение низких доз эстрадиола (0,25 и 0,35 мг на 1 г массы) и промежуточных доз (0,5 и 0,7 мг на 1 г массы) морским свинкам вызывает заметные неопластические изменения в яичниках этих лабораторных животных, – от двусторонних серозных кист яичника до папиллярных цистаденом [49]. В то же время экспериментальная оценка трансгенерационного эффекта синэстрола на морфологию семенников в дозировке 40 мкг на мышью внутримышечно в стадии Е 11.5 не выявила существенного влияния на структурно-функциональные показатели сперматогенного эпителия в постнатальном онтогенезе [50]. Рядом авторов показано, что воздействие в критические периоды закладки и развития вызывает необратимые изменения в тканях мишеней репродуктивных органов у потомства мышей, получавших 17-β-эстрадиол в дозе 20 мкг на 1 мышью в течение трёх дней [51]. Повторное однократное введение уменьшенной в целом до 50 мкг дозы (в данном случае - токсической), привело уже к необратимым злокачественным изменениям в репродуктивных органах потомства женского пола [52]. Трансгенерационный эффект пренатального введения токсической дозы эстрогенов 50 мкг на 1 кг массы беременным самкам мышей в критический период закладки репродуктивных органов потомства приводит к стойким необратимым морфологическим изменениям яичников потомства женского пола в зрелом возрасте. Это может быть предиктором повреждения функций репродуктивной системы в целом, об этом свидетельствует повышение активности у потомства белка-онкосупрессора P53 [53 – 55]. Наконец, неоднократно экспериментально доказано негативное воздействие

гиперэстрогении на органы мочеполовой системы в целом также и в течение взрослого периода жизни. В серии экспериментов с предварительной кастрацией, нефроэктомией и их сочетанием у золотистых хомячков на фоне ежемесячного введения им 2 мг и 20 мг синэстрола в течение 450 дней, наблюдались следующие изменения: у самцов выявлялась аденома, почечно-клеточный рак, у самок в течение этого периода времени морфологические изменения имели фоновый характер в виде расстройств кровообращения, дистрофических изменений и некроза эпителия почечных канальцев [56].

Содержание цитированных выше работ показывает отсутствие, как в отечественной, так и зарубежной научной и патентной литературе, сведений о какой-либо унифицированной, четко и ясно регламентированной по дозам, используемым методическим подходам и критериям оценки биологической модели, которая позволяла бы выявлять проканцерогенные процессы в репродуктивных органах, проявляющиеся во взрослом периоде жизни у потомства, обусловленные пренатальной гиперэстрогенией. В связи автором была предпринята попытка разработать собственную экспериментальную модель проканцерогенного и (или) канцерогенного воздействия эстрогенов на развитие органов репродуктивной системы у потомства, проявляющегося в разной степени морфологических изменений в зрелом возрасте [57]. Как известно, дозы препаратов выражаются в единицах действия, а также в единицах измерения. В указанной модели учитывалось соответствие 1 мг препарата синэстрола 10000 единицам условной эстрогенной активности, что аналогично активности препаратов, близких по химическим и биологическим свойствам [58]. Известно также, что чем меньше животное, тем выше скорость его биохимических процессов. Как правило, многие экспериментальные работы проводятся на мелких млекопитающих, в частности – мышах, доза воздействия на которых в пересчете с величины дозы воздействия препарата на человека массой 50-80 кг составляет 11,8 мг/кг, у морских свинок – 4,7 мг/кг [59]. С учетом всех этих условий в указанной модели, на которую был получен патент РФ, доза препарата масляного 2% раствора синэстрола составила 25, 40 и 50 мкг на 1 кг массы беременной самки мыши в день, эта доза вводилась на 11 сутки беременности (стадии E11.0 – E11.5) однократно в период ранней закладки яичников [57]. Существенным отличием этой модели является использование независимого индикатора, морфологически верифицирующего пренатальное воздействие стероидных половых гормонов. В качестве индикатора оценки степени гормональной феминизации или маскулинизации нами использовалось аногенитальное расстояние. Известно, что этот морфологический маркер статистически значимо коррелирует с фертильностью самцов экспериментальных животных и изменяется при пренатальном воздействии андрогенов и эстрогенов [60-61].

Основные экспериментальные модели трансгенерационных эффектов эстрогенов на морфологию репродуктивных органов потомства. Наиболее значимые результаты проведенных различными авторами экспериментов обобщены и отражены в таблице 1. Они расположены в хронологическом порядке. Средняя величина массы лабораторных животных в указанных исследованиях была следующей: мыши – 20 г, золотистые хомячки – 25 г, морская свинка – 100 г, крысы – 200 г. Как видно из табл. 1, наибольшее число экспериментальных исследований приходится на последние 40 лет. В качестве лабораторных животных использовались все указанные выше виды лабораторных животных, но наиболее часто мыши и крысы. Это обусловлено короткими сроками развития этих видов животных или, во всяком случае, достаточно короткими сроками для наблюдаемых на нескольких поколениях эффектов. Кроме того крысы и мыши быстро размножаются, а аутбридинг для них не столь значим в плане возникновения генетических нарушений, опасных для потомства. Эти преимущества позволяют в течение двух-трех месяцев получить новые поколения потомства после проведения испытаний на их родителях и (или) прародителях.

Экспериментальные исследования трансгенерационных эффектов эстрогенов на потомстве лабораторных животных мужского пола проводились реже, что связано с наличием дополнительного для их воздействия гематотестикулярного барьера, который обеспечивает высокую избирательность проникновения веществ внутрь семенных канальцев [50]. Кроме того, в мужском организме, эстрогены подвергаются метаболизму, отличному от женского организма. Органы и ткани репродуктивной системы потомства женского более чувствительны к воздействию эстрогенов и их аналогов [62]. Наиболее часто в исследованиях использовался DES [30-35, 39-40]. Препарат вводился подкожно и внутримышечно в относительно поздний период беременности животных, в частности, на 9 и 16 дни беременности у мышей, так как этот период соответствует периоду развернутого органогенеза репродуктивного тракта [33]. Большинство исследователей воздействовали препаратом DES однократно, но некоторые из исследователей, например, Vom Saal F.S. с соавт. [39], вводили препарат в течение 6 дней для определения субтоксического действия эстрогенов в дозе 2,5-5 мкг на 1 мышь в день или 100-200 мкг на 1 кг веса мыши в день на 11-17 дни беременности. Наиболее часто применялись дозы в диапазоне от 2,5 до 200 мкг. Дозировка существенно зависит от вида экспериментального животного. Суточная дозировка эстрогенов в различных экспериментах составляла от 25 до 100 мкг, суммарная – от 25 до 2220 мкг на одно животное, речь идет, прежде всего, о лабораторных мышах.

Судя по представленным в таблице 1 данным, в результате экспериментов наиболее частые изменения наблюдались в репродуктивных органах животных, при этом потомство животных женского пола подверглось более существенным изменениям, чем потомство мужского пола. В потомстве женского пола отмечались снижение фертильности, рак влагалища, рак шейки матки, рак матки и аномалии яйцевода, гистопатологические изменения в матке, в шейке матки, гиперплазия эндометрия, кистозные фолликулы в яичнике, плоскоклеточная метаплазия, аденомиоз, патологическое разрастание эндометрия матки, опухоли яичников, опухоли гипофиза.

Таблица 1
Характеристика экспериментальных моделей различных авторов по трансгенерационным эффектам препаратов эстрогенов на морфологию органов репродуктивной системы

№№ п/п	Автор(ы)	Год	Вид	Пол	Препарат	Продолжительность и частота воздействия	Суточная дозировка	Суммарная дозировка	Орган- мишень	Трансгенерационные эффекты
1	Mc Lachlan JA [30 - 34]	1979	мышь	♀	Диэтилстильбэстрол (DES)	От 9 до 16 дней беременности, подкожно, однократно	100 мкг/кг	100 мкг/кг	Влагалище Шейка матки	Снижение фертильности, рак влагалища, шейки матки, матки и аномалии яйцевода
				♂					Матка Семенные пузырьки	Кисты придатка яичка, крипторхизм, узловые образования в семенных пузырьках и предстательной железе
2	Kimura T [55]	1980	мышь	♀	Эстрадиол 17β	На 17 день жизни плода, однократно	50 мкг	50 мкг	Шейка матки Влагалище	Необратимые злокачественные изменения репродуктивных органов
3	Walker BE [35]	1993	мышь CD-1	♀	Диэтилстильбэстрол (DES)	Однократно, во время поздней беременности	40 мкг (1-2 мкг на 1 г веса)	40 мкг	Яичник Гипофиз	Плоскоклеточная метоплазия, аденомиоз, патологическое разрастание эндометрия матки. Опухоли яичников, опухоли гипофиза
4	Beckman WC [54]	1994	мышь	♂	Эстрадиол 17-β	В течение 3 дней	20 мкг на 1 животное	60 мкг	Семенные пузырьки	Необратимые изменения в тканях- мишенях репродуктивных органов
5	Vom Saal FS [39]	1997	мышь	♂	Диэтилстильбэстрол (DES)	6 дней (11-17 день беременности)	0,02 мг – 20 мкг 0,2 мг – 200 мкг 2,0 мг – 2000 мкг- на 1 г массы в день	2220 мкг	Простата	Тормозящее (не канцерогенное) воздействие на развитие репродуктивного тракта (потомства)
6	Alwis ID [40]	2011	Золотухин Тый хомячок	♀	Диэтилстильбэстрол (DES)	Однократно, в период беременности	100 мкг	100 мкг	Матка Яичник	Гистопатологические изменения в матке, шейки матки, гиперплазия эндометрия, кистозные фолликулы в яичнике
7	Хайруллин Р.М., Сулайманова Р.Т. [42]	2018	мышь	♀	Синестрол 2%	Однократно, на 11 сутки гестации, внутримышечно	25, 40, 50 мкг на 1 кг массы в день	25, 40, 50 мкг	Яичник	Трансгенерационные эффекты повышение активности маркеров проканцерогенных изменений на молекулярно-генетическом уровне, структурные изменения органа и снижение фертильности

Кроме того, наблюдалось повышение активности маркеров, которые являются сигналами о проканцерогенных изменениях на молекулярно-генетическом уровне и другие структурные изменения. У потомства животных мужского пола обнаруживались кисты придатка яичка, крипторхизм, узловые образования в семенных пузырьках и предстательной железе, тормозящее (но не канцерогенное) воздействие на развитие репродуктивного тракта (потомства) и необратимые изменения в тканях-мишенях репродуктивных органов.

Заключение. Таким образом, далеко не благоприятные, а в ряде случаев тератогенные, проканцерогенные и канцерогенные эффекты трансгенерационного отсроченного воздействия эстрогеновых препаратов, широко используемых для поддержания беременности и предотвращения ее невынашивания в клинике, на морфогенез и функциональную полноценность органов репродуктивной системы потомства многократно доказаны в различных экспериментальных исследованиях. Безусловно, неоднозначность получаемых на разных структурных уровнях эффектов, в различных экспериментальных моделях с использованием разных доз разных препаратов и разных видов животных, требуют более детального и более глубокого изучения с учетом большого клинического значения указанной проблемы. Несмотря на то, что в каждом конкретном эксперименте преследуются вполне определенные цели, большинство авторов проведенных исследований, склоняется к мысли о необходимости максимальной возможности экстраполяции их результатов на клиническую практику, на человека. Если неблагоприятное трансгенерационное воздействие гиперэстрогении в определенные критические периоды закладки и развития органов репродуктивной системы в пренатальном онтогенезе как на лабораторных животных, так и значительным числом клиническо-эпидемиологических наблюдений на человеке доказано, то еще открытым остается вопрос об ее эпигенетических эффектах не только на первое, но и на последующие поколения. Экспериментальных исследований в этом направлении пока не проводилось, в то же время клиническими наблюдениями они показаны. Совершенно не изученным остается также трансгенерационное воздействие препаратов с обратным анти-эстрогенным эффектом, получивших широкое применение для лечения преанцерогенной патологии и опухолевых процессов у матери во время беременности. Для решения такого рода проблем требуются надежные, эффективные и многократно проверенные лабораторные модели, а их разработка является актуальной задачей современной экспериментальной патоморфологии. Не следует также забывать, что полученные с использованием таких моделей результаты, могут лечь в основу реальной, научно обоснованной системы профилактики преанцерогенной патологии и онкопатологии органов репродуктивной системы у человека.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Aleshchenko I.E., Altukhova V.I., Barkhina T.G., Bol'shakova G.B., Kuznetsova L.V., Romanova L.K., Rjabchikov O.P., Khlystova Z.S., Shmeleva S.P., Adamijan L.V., Kurilo L.F., Khayrullin R.M. *Vnutritrobnoe razvitie cheloveka. Rukovodstvo dlja vrachej/ Pod. red. A.P. Milovanova i S.V. Savel'eva.* - M.: MDV, 2006.- 384s.
2. Yusupova L.R., Sulaymanova R.T., Magadeev T.R., Gafurova A.F., Zaripova R.I., Haziev A.R., Sulaymanova L.I., Kometova V.V., Khayrullin R.M. *O faktore riska razvitiya raka molochnoj zhelezy, svyazannom s prenatal'nym obmenom estrogenov. Fundamental'nye issledovaniya.* 2013;10(1):130-135.
3. Ryzhavskij B.Ja. *Sostojanie vazhnejshih sistem v embriogeneze: otvalennye posledstviya.* Habarovsk: Izd-vo Habarovskogo kraevogo centra psicheskogo zdorov'ja, 1999.- 203s.
4. Hanahan D, Weinberg RA, *The hallmarks of cancer.* Cell. 2000;100(1):57-70.
5. Morel A-P, Hinkal GW, Thomas S, Fauvet F, Courtois-Cox S, Wierinckx A, Devouassoux-Shisheboran M, Treilleux I, Tissier A, Gras, Pourchet J, Puisieux I, Browne GJ, Spicer BD, Lachuer J, Ansieau S, Puisieux A. *EMT Inducers Catalyze Malignant Transformation of Mammary Epithelial Cells and Drive Tumorigenesis towards Claudin-Low Tumors in Transgenic Mice.* PLoS Genet. 2012;8(5):e1002723.
6. Spike BT, Wahl GM. *P53, Stem Cells and Reprogramming. Tumor Suppression beyond Guarding the Genome.* Genes Cancer. 2011;2(4):404-419s.
7. Rossijskaya Associaciya Reprodukcii Cheloveka. Registr VRT: otchyot za 2010 god: Sankt-Peterburg: [ehlektronnyj resurs]; 2012. URL: http://www.rahr.ru/d_registr_otchet/otchet2010sm.pdf
8. Roshchina Ya.M. *Dinamika i struktura potrebleniya alkogolja v sovremennoj Rossii/ V kn.: Vestnik Rossijskogo monitoringa ehkonomicheskogo polozheniya i zdorov'ja naseleniya NIU VSHEH. Vypusk 2: sbornik nauchnyh statej.* - Moskva: Nac. issl. un-t «Vysshaya shkola ekonomiki», 2012.-S. 257.URL: http://www.hse.ru/data/2012/08/25/1243030112/Vestnik_RLMS-HSE_2012.pdf
9. Jorgensen EM, Alderman MH, Taylor HS. *Bisphenol-a exposure in utero alters developmental programming and estrogen responsiveness of the RET Proto-oncogene.* Reproductive sciences. 2011;18(3):154.
10. Tilghman SL. *Endocrine disruptor regulation of microRNA expression in breast carcinoma cells.* PLoS One. 2012;7(3): e32754.
11. Kvetnoj S.V. *Signal'nye molekuly-markery zrelosti placenty.* Moskva: MEDpress-inform, 2005.- 96s.
12. Nikitin A.I. *Vrednye factory sredy i reproduktivnaya sistema cheloveka [Otvetstvennost' pered budushchimi pokoleniyami]:* Al Nikitin. Sankt-Peterburg: 2-e izd., dop. - EHLBI: St.-Pb, 2008.- 240s.
13. Kuznecov SL. *Nejroendokrinologija stressa v rannem postnatal'nom ontogeneze. Ul'janovsk: ULGU, 2009.-171s.*
14. Naumenko EV. *Ontogeneticheskie i genetiko-jevoljucionnye aspekty nejroendokrinnoj reguljacji stressa.* Novosibirsk: Nauka, 1990.- 230s.
15. Quinnes KM, Harris EP, Snyder RW, Sumner SS, Rissman EF. *Direct and transgenerational effects of low doses of perinatal di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) on social behaviors in mice.* PLoS One. 2017;12(2):e0171977.

16. Beatson GT. On the treatment of inoperable cases of carcinoma of the mamma: Suggestions for a new method of treatment with illustrative cases. *Trans Med Chir Soc Edinb.* 1896;15:153-179.
17. Khayrullin R.M., Sulaymanova R.T., Sulaymanova L.I., Bakhtijarov R.I. Dizraptory kak jekologicheskij factor riska opuholej reproduktivnoj sistemy/ V kn.: Mediko-fiziologicheskie problem jekologii cheloveka. Mater. V Vseross. konf. s mezhdunar. uchast.- Ul'janovsk: UIGU, 2014.- S. 193-195.
18. Dodds EC, Goldberg L, Lawson W, Robinson R. Estrogenic activity of certain synthetic compounds. *Nature.* 1938;141:247-248.
19. Smith OW, Smith GV. Use of diethylstilbestrol to prevent fetal loss from complications of late pregnancy. *N Engl J Med.* 1949;241(15):562-568.
20. Dieckmann WJ, Davis ME, Rynkiewicz LM, Pottinger RE. Does the administration of diethylstilbestrol during pregnancy have therapeutic value? *Am J Obstet Gynecol.* 1953;66(5):1062-1081.
21. Swan SH. Intrauterine exposure to diethylstilbestrol: long-term effects in humans. *APMIS.* 2000;108(12):793-804.
22. Herbst AL, Ulfelder H, Poskanzer DC. Adenocarcinoma of the vagina. Association of maternal stilbestrol therapy with tumor appearance in young women. *N Engl J Med.* 1971;284(15):878-881.
23. Bibbo M, Gill WB, Azizi F, Blough R, Fang VS, Rosenfield RL, Schumacher GF, Sleeper K, Sonek MG, Wied GL. et al. Follow-up study of male and female offspring of DES-exposed mothers. *Obstet Gynecol.* 1977;49(1):1-8.
24. Bibbo M, Haenszel WM, Wied GL, Hubby M, Herbst AL. A twenty-five year follow-up study of women exposed to diethylstilbestrol during pregnancy. *N Engl J Med.* 1978;298(14):763-767.
25. Boylan ES, Calhoun RE. Mammary tumorigenesis in the rat following prenatal exposure to diethylstilbestrol and postnatal treatment with 7,12-dimethylbenz(a)anthracene. *J Toxicol environ Health.* 1979;5(6):1059-1071.
26. Vessey MP, Fairweather DV, Norman-Smith B, Buckley J. A randomized double-blind controlled trial of the value of stilbestrol therapy in pregnancy: long-term follow-up of mothers and their offspring. *Br J Obstet Gynecol.* 1983;90(11):1007-1017.
27. Greenberg ER, Barnes AB, Resseguie L, Barrett JA, Burnside S, Lanza LL, Neff RK, Stevens M, Young RH, Colton T. Breast cancer in mothers given diethylstilbestrol in pregnancy. *N Engl J Med.* 1984;311(22):1393-1398.
28. Dhami MSI, Vernon H, Kilgannon R, Manolis A. Risks of prenatal exposure to diethylstilbestrol amongst males and females. *J Can Chiropr Assoc.* 1984;28(4):379-383.
29. Palmer JR, Wise LA, Hatch EE, Troisi R, Titus-Ernstoff L, Strohsnitter W, Kaufman R, Herbst AL, Noller KL, Hyer M, Hoover RN. Prenatal diethylstilbestrol exposure and risk of breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2006;15(8):1509-1514.
30. McLachlan JA. Transplacental effects of diethylstilbestrol in mice. *Natl Cancer Inst Monogr.* 1979;(51):67-72.
31. McLachlan JA, Newbold RR, Bullock BC. Long-term effects on the female mouse genital tract associated with prenatal exposure to diethylstilbestrol. *Cancer Res.* 1980;40(11):3988-3999.
32. Lamb JC, Newbold RR, McLachlan JA. Visualization by light and scanning electron microscopy of reproductive tract lesions in female mice treated transplacentally with diethylstilbestrol. *Cancer Res.* 1981;41(10):4057-4062.
33. Newbold RR, MacLachlan JA. Vaginal adenosis and adenocarcinoma in mice exposed prenatally or neonatally to diethylstilbestrol. *Cancer Res.* 1982;42(5):2003-2011.
34. McLachlan JA, Newbold RR, Shah HC, Hogan MD, Dixon RL. Reduced fertility in female mice exposed transplacentally to diethylstilbestrol (DES). *Fertil Steril.* 1982;38(3):364-371.
35. Walker BE. Uterine tumors in old female mice exposed prenatally to diethylstilbestrol. *Journal of the National Cancer Institute.* 1983;70(3):477-484.
36. Walker BE, Kurth LA. Pituitary Tumors in Mice Exposed Prenatally to Diethylstilbestrol. *Cancer research.* 1993;53(7):1546-1541.
37. Goyal HO, Braden T.D, Williams CS, Dalvi P, Mansour MM, Williams JW. Permanent induction of morphological abnormalities in the penis and penile skeletal muscles in adult rats treated neonatally with diethylstilbestrol or estradiol valerate: a dose-response study. *J Androl.* 2005;26(1):32-43.
38. Pylkkänen L, Mäkelä S, Valve E, Härkönen P, Toikkanen S, Santti R. Prostatic dysplasia associated with increased expression of c-myc in neonatally estrogenized mice. *J Urol.* 1993;149(6):1593-601.
39. Vom Saal FS, Timms BG, Montano MM, Palanza P, Thayer KA, Nagel SC, Dhar MD, Ganjam VK, Parmigiani S, Welshons WV. Prostate enlargement in mice due to fetal exposure to low doses of estradiol or diethylstilbestrol and opposite effects at high doses. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1997;94(5):2056-2061.
40. Alwis ID, Maroni DM, Hendry IR, Roy SK, May JV, Leavitt WW, Hendry WJ. Neonatal diethylstilbestrol exposure disrupts female reproductive tract structure/function via both direct and indirect mechanisms in the hamster. *Reprod Toxicol.* 2011;32(4):472-483.
41. Kutanzi KR, Koturbash I, Bronson RT, Pogribny IP, Kovalchuk O. Imbalance between apoptosis and cell proliferation during early stages of mammary gland carcinogenesis in ACL rats. *Mutation Res.* 2010;694(1-2):1-6.
42. Lacassagne A. Apparition de cancer de la mamelle chez la souris male, soumise a des injections de folliculine. *Compt Rend Acad Sci.* 1932;195:630-632.
43. Yusupova L.R., Sulaymanova R.T., Magadeev T.R., Zaripova R.I., Khayrullin R.M. Osobennosti prenatal'nogo vozdeystviya steroidnykh polovykh gormonov na definitivnuyu morfologiyu yaichnikov v ehksperimente. *Morfologiya.* 2014;145(3):231.
44. Khayrullin RM, Sulaymanova RT, Yusupova LR. Effect of prenatal exposure of various doses of synestrol on ovarian morphology in adult life of offspring/ In book: 112th Annual Meeting Deutsche Anatomische Gesellschaft, September 20-22, 2017. Würzburg, Germany.- Würzburg, 2017.- P. 34.
45. Sulaymanova RT, Akhmetova ND, Islamgareeva DO. Izmeneniya morfologii i yaichnikov laboratornykh myshey pri prenatal'nom vozdeystvii jestrogenov/ V kn.: Anatomicum Latinicumque: nauch. al'm. pod. red. prof. R.M. Khayrullina.- Ulyanovsk: ULGU, 2017.-S. 186-188.

46. Klyucharev BV. Jekspierimental'nye novoobrazovanija predstatel'noj zhelezy I ih gormonoterapija. Pod red. chl.-korr. AMN SSSR prof. L.M. Shabada.-Leningrad: Medgiz, Leningr. otd-nie, 1954.- 256s.
47. Gachechiladze LF. Strukturnye i gistohimicheskie izmenenija molochnyh zhelez i jaichnikov pri vvedenii sinjestrola. Eksperimental'noe issledovanie. Avtoref. diss. Na soisk. uch. st. kand. med. nauk.- Tbilisi, 1967.- 25c.
48. Maksaev D.A., Svirina Zh. A., Anisimova S.A. Patent RF №RU 2605655 Sposob modelirovaniya fibrozno-kistoznoj bolezni molochnoj zhelezy v ehksperimente. 27.12.2016. URL: <https://patents.google.com/patent/RU2605655C1/ru>.
49. Silva EG, Tornos C, Deavers M, Kaisman K. Induction of epithelial neoplasms in the ovaries guinea pigs by estrogenic stimulation. *Gynecol Oncol.* 1998;71(2):240-246.
50. Khairullin R.M., Sulaymanova R.T., Baybulatova A.M., Migranov E.K., Sulaymanova L.I. The experimental evaluation of the transgenerational effect of the synestrol on the morphology of testicles. *Morfologija.* 2018;153(3)Suppl:60.
51. Beckman WC, Newbold RR, Teng C T, McLachlan JA. Molecular feminization of mouse seminal vesicle by prenatal exposure to diethylstilbestrol altered expression of messenger RNA. *J Urol.* 1994;151(5):1370-1378.
52. Kimura T, Kawashin S, Nishizuka Y. Effects of prenatal treatment with estrogen on mitotic activity of vaginal anlage cells in mice. *Endocrinol J.* 1980;27(6):739-745.
53. Khayrullin R.M., Sulaymanova R.T. Toxic doses of estrogen during pregnancy lead to irreversible changes in the ovaries of the offspring/ In book: XXVI International Symposium on Morphological Sciences. Book of Abstracts.- Prague: AMCA, 2018.- P. 35.
54. Khayrullin R.M., Sulaymanova R.T., Kumar Sh.P., Arslanbekova R.R., Grigorieva A.V. Characteristics of the transgenerational effect of the toxic dose of synestrol on the morphology of ovaries in the experiment. *Morfologija.* 2018;153(3)Suppl:61.
55. Khayrullin R.M., Sulaymanova R.T., Sulaymanova L.I., Gnjatullina G.A., Sharafutdinova J. R. Prokancerogennej efekty subtoksicheskikh doz sinjestrola na jaichniki potomstva u laboratornykh myshej. *Morfologija.* 2018;153(3)Suppl:289-290.
56. Kurchalidze E.D. Morfologicheskie aspekty kancerogeneza pochek, vyzvannogo eksperimental'nym vvedeniem sinestrola: Diss. na soisk. uchjon. step. kand. med. nauk.- Novosibirsk: NGMA, 2005.- 174s.
57. Sulaymanova R.T., Khayrullin R.M., Imaeva A.K., Gnjatullina G.A., Svirskaja M.V. Sposob modelirovaniya prokancerogennoego dejstva sinestrola na jaichniki potomstva zhenskogo pola u laboratornykh myshej.- Patent RF № RU 2676437 ot 09.01.2018.- URL: http://www1.fips.ru/fips_servl/fips_servlet?DB=RUPAT&DocNumber=2676437&TypeFile=html
58. Arzamashev E.V., Gus'kova T.A., Berezovskaya I.V. i dr. Metodologicheskie ukazaniya po izucheniyu obshchetoksicheskogo dejstviya farmakologicheskikh veshchestv. Pod red. R.U. Khabrieva.- Moskva: Meditsina, 2005.- S. 41-54.
59. Gus'kova T.A. Doklinicheskoe toksikologicheskoe izuchenie lekarstvennykh sredstv kak garantija bezopasnosti provedeniya ih klinicheskikh issledovanij. *Toksikologicheskij vestnik.* 2010;5:2-5.
60. Khayrullin R.M., Sulaymanova R.T., Bakhtiyarov R.I., Yusupova L.R., Fomina A.V. Comparative prenatal effects of sex steroids on anogenital distance of the offspring of laboratory mice/ In book: The 7th International Symposium of Clinical and Applied Anatomy Book of abstracts ISCAA 2015.- Bratislava: Comenius University in Bratislava, 2015.- P. 140.
61. Sulaymanova R.T., Khayrullin R.M. Ispol'zovanie anogenital'nogo rasstojanija v ocenkeprenatal'nyh feminizirujushhih j effektivov jestrogenov na potomstvo muzhskogo pola v jekspierimente/ V kn.: Fundamental'nye i prikladnye aspekty morfogeneza cheloveka. Mater. Vseross. nauch. konf. s mezhdunar. uchast.- Orenburg: OrGMU, 2017.- S. 196-198.
62. Sych LF, Belyaev VA, Safonovskaya EV, Pereverzeva YAI. Gematotestikulyarnyj bar'er: funkcii i znachenie dlya organizma. *Vestnik veterinarii.* 2012;4(63):14-15.

Авторская справка

Сулайманова Римма Тагировна, кандидат биологических наук, доцент кафедры гистологии, Башкирский государственный медицинский университет, Уфа, Россия; e-mail: rimma2006@bk.ru