

ЧАСТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «УНИВЕРСИТЕТ «РЕАВИЗ»»

На правах рукописи



Сулайманова Римма Тагировна

**Морфологические изменения гонад
млекопитающих при экспериментальном
воздействии препаратов эстрогенового
ряда в пренатальном периоде**

4.2.1. Патология животных, морфология, физиология, фармакология и
токсикология

ДИССЕРТАЦИЯ
на соискание ученой степени доктора
биологических наук

Научный консультант:
доктор биологических наук,
профессор КВОЧКО А.Н.

Санкт-Петербург – 2023

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	16
1.1. Воздействие гормонов, синтетических эстрогенов и их аналогов в период внутриутробного развития плода.....	16
1.2. Соматометрические показатели потомства в постнатальном онтогенезе при воздействии эстрогенов на материнский организм	26
1.3. Характеристика вредных факторов среды, влияющих на деятельность репродуктивной системы	30
1.4. Воздействие эстрогенов на репродуктивную систему потомства	38
1.5. Строение женских половых желёз	54
1.6. Строение мужских половых желёз.....	58
2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	66
2.1. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	66
2.1.1. Метод влагалищных мазков (определение стадий эстрального цикла самок белых беспородных лабораторных мышей).....	69
2.1.2. Соматометрические методы	73
2.1.3. Изготовление гистологических препаратов и светооптические исследования.....	77
2.1.4. Иммуногистохимические исследования	80
2.1.5. Статистический анализ	81
2.2. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ АНАЛИЗ.....	82
2.2.1. Биологические параметры потомства белых беспородных лабораторных мышей.....	84
2.2.2. Соматометрические промеры потомства белых беспородных лабораторных мышей на фоне пренатального однократного внутримышечного введения синэстрола и фулвестранта.....	88
2.2.2.1. Динамика изменений соматометрических данных потомства белых беспородных лабораторных мышей на фоне пренатального однократного внутримышечного воздействия синэстрола	94
2.2.2.2. Динамика изменений соматометрических данных потомства белых беспородных лабораторных мышей на фоне пренатального однократного внутримышечного воздействия фулвестранта.....	98
2.2.2.3. Сравнительный анализ динамики изменения массы тела, аногенитального расстояния потомства мужского и женского пола белых беспородных лабораторных мышей.....	102
2.2.3. Микроморфологические показатели яичников потомства белых беспородных лабораторных мышей при пренатальном однократном внутримышечном введении синэстрола	105

2.2.4. Микроморфологические показатели яичников потомства белых беспородных лабораторных мышей при пренатальном однократном внутримышечном введении фулвестранта	131
2.2.5. Иммуногистохимические исследования в яичниках потомства белых беспородных лабораторных мышей при пренатальном однократном внутримышечном введении синэстрола и фулвестранта	149
2.2.5.1. Исследование иммуногистохимического маркера Vcl-2	149
2.2.5.2. Исследование иммуногистохимического маркера Ki-67.....	155
2.2.5.3. Сравнительный анализ иммуногистохимических маркеров Vcl-2 и Ki-67.....	161
2.2.5.4. Исследование иммуногистохимического маркера p53	176
2.2.6. Микроморфологические изменения в семенниках потомства белых беспородных лабораторных мышей при пренатальном однократном внутримышечном введении синэстрола	186
2.2.7. Иммуногистохимические исследования семенников потомства белых беспородных лабораторных мышей при пренатальном однократном внутримышечном введении синэстрола	197
3. ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	208
4. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	212

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- АГР — аногенитальное расстояние
- АГИ — аногенитальный индекс
- ВРТ — вспомогательных репродуктивных технологий
- ДДД — дихлордифенилдихлорэтилен
- ДДТ — дихлордифенилтрихлорэтан
- ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота
- ИГХ — иммуногистохимия, иммуногистохимический
- ИСК — извитые семенные канальца
- ПХДД — 75-полихлорированные дибензо-п-диоксины
- ПХДФ — 135-полихлорированные дибензофураны
- РМЖ — рак молочный железы
- СОЗ — стойкие органические загрязнители
- ФСГ — фолликулостимулирующий гормон
- Bcl-2 — маркер ингибитор апоптоза
- CD — кластер дифференцировки (cluster of differentiation)
- DES — диэтилстильбэстрола
- Ki-67 — маркер пролиферирующих клеток
- p53 — ядерный маркер апоптоза
- TRIVF — three parent in vitro fertilization

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность избранной темы и степень ее разработанности

Интенсификация производства и сложившиеся экономические проблемы в аграрном секторе и, в частности, в промышленном животноводстве требуют изыскания новых подходов к прогнозированию, изучению и нивелированию возможных отклонений в животном организме с целью повышения их продуктивных качеств, особенно у особей с высоким генетическим потенциалом.

В зоотехнической практике и ветеринарной медицине при воспроизводстве генетически устойчивого потомства высокопродуктивных животных к внешним отрицательным факторам среды обитания и при родоразрешении достаточно широко применяются стероидные гормоны, (Окутин А. С., Куликова Н. И., Заманов Х. З., Попов Д. В., Очиров Б. В., Косовский Г. Ю., 2019; Павленко О. Б., Остриков Д. А., Острикова Э. Е., Засемчук И. В., 2023).

Установлено, что пренатальное применение эстрогенов является одной из причин гормонально зависимых нарушений и может способствовать развитию патологических нарушений репродуктивных органов потомства (Liu J. et al., 2018; Karzi V. et al., 2021).

Физиологическая гиперэстрогения в материнской и фетальной крови является отличительной чертой в пренатальный период развития млекопитающих. Биологическая целесообразность этого явления, обуславливаемого материнской эндокринной системой и производством половых гормонов плацентой, неразрывно связана с гормональным обеспечением физиологического течения беременности (Милованов А. П., Савельева С. В., 2006; Domonkos E., Borbélyová V. et al., 2017).

Внутренние факторы системы «мать – плацента - плод», равно как и внешние, способны изменить концентрацию эстрогенов в фетальной крови и привести не только к моделирующим, но и к провоцирующим эффектам как самих гормонов (Рыжавский Б. Я., 1999; Савченков Ю. И., 1980), так и их

метаболитов на молекулярно-генетическом уровне в эстроген-чувствительных тканях (Chappell N. R., Zhou B. et al., 2020; Rosenfield R. L., 2020). Кроме этого, воздействие на материнский организм отрицательных факторов во время беременности дает основания для изучения возможных отклонений в развитии потомства в пренатальный период, поскольку именно в это время формируются и закладываются основы репродуктивного здоровья млекопитающих (Сеин О. Б., Ершов Р. А., Субботина Н. Н., 2022; Потапова С. Н., Кадиков И. Р., Корчемкин А. А. и др., 2021; Abdel-Wahab A., Hassanin K. M. A., Ibrahim S. S. et al., 2021; Jorgensen E. M., Alderman M. H., Taylor H. S., 2011; Wei Y., Han C., Li S. et al., 2020).

Одним из подходов повышения эффективности использования генетических ресурсов, сохранения генофонда высокопродуктивных и исчезающих видов животных является применение вспомогательных репродуктивных биотехнологий, сопровождающихся применением гормональной стимуляции и терапии функциональных нарушений (Айбазов А. М. М., Мамонтова Т. В., Сердюков И. Г., Губаханов М. А., 2022; Findlay J. K., Holland M. K., Wong B. V. M., 2019). Однако изменения уровня гормонов могут привести к необратимым морфологическим нарушениям и дальнейшему девиантному развитию органов и систем в постнатальном онтогенезе (Barker D. J., 1998).

Важным аспектом применения эстрогенов и антиэстрогенов в акушерстве и гинекологии животных, с учетом их потенциального отсроченного в онтогенезе воздействия на плод, являются используемые дозы препаратов (Сулайманова Р. Т., 2019; Сулайманова Р. Т., 2020; Квочко, А. Н., Сулайманова Р. Т., 2023). Они могут оказывать моделирующие и терапевтические эффекты. Однако стандартные или многократно апробированные эффективные экспериментальные модели использования различных доз эстрогенов противоречивы (Сулайманова Р. Т., Квочко А. Н., Аширкаева Е. С., 2023).

В связи вышеизложенным, исследование морфологии гонад потомства в условиях воздействия различных доз препаратов эстрогенового и антиэстрогенового рядов в период их пренатальной закладки и формирования, является актуальной научной проблемой, имеющей важное научно-практическое значение для разработки вспомогательных репродуктивных технологий с целью повышения эффективности использования генетических ресурсов, сохранения генофонда высокопродуктивных и исчезающих видов животных.

Цель исследования

Изучить морфологические изменения гонад млекопитающих при экспериментальном воздействии препаратов эстрогенового ряда в пренатальном периоде.

Задачи исследования

1. Разработать экспериментальные модели и определить влияние доз препаратов с эстрогеноподобным и антиэстрогенным воздействием, вводимым в период беременности самкам на структурно-функциональную организацию яичников и семенников потомства белых беспородных лабораторных мышей.

2. Определить соматометрические показатели потомства белых беспородных лабораторных мышей при воздействии разных доз препаратов эстрогенового и антиэстрогенового рядов на материнский организм.

3. Изучить в эксперименте морфологические изменения в яичниках потомства белых беспородных лабораторных мышей при воздействии на материнский организм разных доз препаратов эстрогенового и антиэстрогенового рядов.

4. Выявить морфологические изменения в семенниках потомства белых беспородных лабораторных мышей при воздействии на материнский организм разных доз препаратов эстрогенового и антиэстрогенового рядов.

5. Оценить изменения маркера пролиферации (Ki-67), ингибитора апоптоза (Bcl-2) и индуктора апоптоза (p53) в яичниках и семенниках

потомства при пренатальном воздействии препаратов эстрогенового и антиэстрогенового рядов в эксперименте.

Объект исследований. Яичники и семенники белых беспородных лабораторных мышей, рожденных от матерей, подвергшихся экспериментальной гормональной нагрузке во время беременности.

Предмет исследований. Морфофункциональные и иммуногистохимические показатели яичников и семенников потомства самок белых беспородных лабораторных мышей, подвергшихся воздействию разных доз препаратов эстрогенового (синэстрол) и антиэстрогенового (фулвестрант) рядов во время беременности.

Научная новизна. Впервые разработаны и запатентованы 2 способа моделирования в эксперименте возможных отдаленных последствий на гонады потомства при введении в материнский организм препаратов эстрогенового и антиэстрогенового рядов («Патент (изобретение) № RU2676437 С1 Российская Федерация, МПК G09В 23/28 (2006.01). Способ моделирования проканцерогенного действия синэстрола на яичники потомства женского пола у лабораторных мышей: № 2018100495 : заявл. 09.01.2018: опубл.: 28.12.2018 – 16 с.», «Патент (изобретение) № RU2722988 С1 Российская Федерация, МПК А61М 5/32 (2006.01), А61К 31/565 (2006.01), А61Р 43/00 (2006.01), G09В 23/28 (2006.01). Способ моделирования проканцерогенного действия фулвестранта на яичники потомства женского пола у лабораторных мышей : № 2019137152 : заявл. 19.11.2019: опубл. : 05.06.2020 – 16 с.»).

Дано научное обоснование возникновения возможных повреждений в яичниках и семенниках потомства при применении препаратов эстрогенового и антиэстрогенового рядов матерям в период беременности с целью получения высокопродуктивного потомства и исчезающих видов животных методом экстракорпорального оплодотворения.

Получены новые сведения о разной степени соматометрических изменений в общих размерах тела и его частей у рожденного потомства на фоне применения матерям препаратов синестрол и фулвестрант.

Впервые установлено, что введение веществ с эстрогенной и антиэстрогенной активностью приводит к различным патологическим нарушениям в структурной организации яичников и семенников.

В эксперименте доказано, что органы репродуктивной системы потомства мужского пола на структурном уровне подвержены изменениям в меньшей степени, чем у особей женского пола.

Впервые на клеточном и субклеточном уровнях, с использованием иммуногистохимического метода, в яичниках и семенниках потомства на фоне применения различных доз синестрола и фулвестранта беременным матерям установлены экспрессии маркеров пролиферации (Ki-67), ингибитора апоптоза (Bcl-2) и индуктора апоптоза (p53). Исследование экспрессии маркеров в тканях яичников и семенников потомства выявило пролиферативные изменения, апоптотическую гибель клеток и повреждения в эндокринном аппарате, которые можно рассматривать как морфофункциональные предикторы нарушений их функции.

Теоретическая и практическая значимость работы

Научно-теоретическая значимость полученных результатов заключается в том, что разработаны и запатентованы модели развития возможных отклонений при воздействии стероидных гормонов на материнский организм во время беременности, приводящие к структурным изменениям в яичниках и семенниках потомства, которые вызывают нарушения репродуктивной функции. Выявлена нелинейная дозозависимость стероидных гормонов, приводящая к различной степени структурных изменений на макроскопическом и микроскопическом уровне.

В результате исследований расширены сведения о влиянии препаратов эстрогенового и антиэстрогенового рядов на соматометрические показатели

потомства белых беспородных лабораторных мышей, а также на микроструктуру их гонад.

Научно-практическое значение результатов исследования состоит в определении доз препаратов как эстрогенной, так и антиэстрогенной направленности, которые приводят к структурным нарушениям на макро- и микроскопическом уровнях в яичниках и семенниках потомства. Их применение должно быть обоснованным и осуществляться с учетом индивидуального гормонального фона матери.

Полученные научно-практические результаты могут использоваться зооветеринарными специалистами при разработке и совершенствовании методических подходов в выполнении экстракорпорального оплодотворения у высокопродуктивных животных и при воспроизводстве исчезающих видов, а также для подготовки справочных, научно-практических и учебных пособий по биологии, морфологии, физиологии, патофизиологии, ветеринарному акушерству, гинекологии и биотехнике размножения животных, чтении лекций и проведении лабораторно-практических занятий в учебных заведениях биологического профиля.

Методология и методы исследования

Методология базировалась на анализе российских и иностранных научных трудов в области исследования проблемы пренатального программирования репродуктивного здоровья потомства при воздействии эстрогенов и антиэстрогенов. Она включала комплексный подход и системный анализ результатов с использованием соматометрических, микроморфологических параметров и их сопоставления с данными морфометрического и иммуногистохимического исследования. Примененные в работе методы экспериментального исследования включали: соматометрические, морфологические (компьютерная морфометрия исследуемых препаратов, световая микроскопия и иммуногистохимия с количественной оценкой результатов) и статистический анализ полученных результатов.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Введение различных доз препаратов эстрогенового и антиэстрогенового рядов беременным самкам на стадии E11.5 отражает нелинейность структурных изменений яичников и семенников у потомства на макроскопическом и микроскопическом уровнях.

2. Характер изменений в структурно-функциональной организации яичников и семенников потомства в постнатальном онтогенезе при однократном введении препаратов эстрогенового и антиэстрогенового рядов беременным самкам лабораторных мышей зависит от дозы вводимых препаратов.

3. У потомства женского пола, полученного от беременных самок лабораторных мышей при однократном применении препаратов эстрогенового и антиэстрогенового рядов, морфологические нарушения в постнатальном периоде развития гонад по степени и уровням проявления более выражены по сравнению с потомством мужского пола.

4. Экспрессия маркера пролиферации (Ki-67), ингибитора апоптоза (Bcl-2) и индуктора апоптоза (p53) в гонадах потомства на субклеточном уровне отражает степень повреждений при применении препаратов эстрогенового и антиэстрогенового рядов, вводимых беременным самкам на стадии E11.5.

Степень достоверности и апробация результатов

Степень достоверности результатов диссертационного исследования и обоснованность выводов подтверждаются достаточным количеством наблюдений, современными методами исследования, которые соответствуют поставленной цели и задачам в работе. Подготовка, статистический анализ и интерпретация полученных результатов проведены с использованием современных методов обработки информации.

Основные положения работы представлены и обсуждены на XII объединенном конгрессе международной ассоциации морфологов и VII съезде Научного медицинского общества анатомов, гистологов и

эмбриологов (Тюмень, 2014); The 6th International Symposium of Clinical and Applied Anatomy (Rijeka, Croatia, 2014); 7th International symposium of clinical and applied anatomy (Bratislava, Slovakia, 2015); 112th Annual meeting/32. Arbeitstagung der Anatomischen Gesellschaft (Würzburg, Germany, 2017); Всероссийской научной конференции с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты морфогенеза человека» (Оренбург, 2017); The 10th International Symposium on Clinical and Applied Anatomy (ISCAA; Санкт-Петербург, 2018); Всероссийской научной конференции «Гистогенез, реактивность и регенерация тканей» (Санкт-Петербург, 2018); XXVI International Symposium of Morphological Sciences (Prague, Czech, 2018); XX Congreso de Anatomía del Cono Sur XVI Simposio Ibero-latinoamericano de Terminología anatómica, histológica y embriológica XII Jornadas Chilenas de anatomía — IV Encuentro regional de morfología (Pucon, Chile, 2018); VIII съезде научного медицинского общества анатомов, гистологов и эмбриологов (Воронеж, 2019); Всероссийской научной конференции «Клиническая анатомия и экспериментальная хирургия: итоги и перспективы» (Оренбург, 2019); 27th International Symposium of Morphological Sciences — ISMS 2021 (Aktobe, Kazakhstan, 2020); Конференции «Современные проблемы морфологии» (Москва, 2020); Расширенном Пленуме НМОАГЭ России «Инновационные образовательные технологии при преподавании морфологических дисциплин в условиях пандемии COVID-19» (Москва, 2020); Всероссийской научной конференции «Гистогенез, реактивность и регенерация тканей» (Санкт-Петербург, 2021); III Международная научно-практическая конференция «Бородинские чтения» (г. Новосибирск, 2022 г.); Симпозиум по морфологии ребенка «Здоровые дети – будущее страны» (Санкт-Петербург, 2022).

Материалы диссертационной работы вошли в методические рекомендации: «Морфологическая и иммуногистохимическая оценка яичников при введении эстрогенов в пренатальном периоде» и «Морфология и иммуногистохимия семенников животных при введении эстрогенов в

пренатальном периоде», рассмотрены и утверждены на заседании учебно-методической комиссии факультета ветеринарной медицины и биотехнологического факультета ФГБОУ ВО Ставропольский ГАУ, (протокол № 6 от 15 мая 2023 г.) и Научно-методического совета при Федеральном учебно-методическом объединении по укрупненной группе специальностей и направлению подготовки высшего образования «Ветеринария и зоотехния» (протокол № 37 от 16 мая 2023 г.).

Материалы диссертационной работы внедрены в учебный процесс и научные исследования в 18 вузах РФ: в ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет», «Частное учреждение образовательная организация высшего образования «Университет РЕАВИЗ»», ФГБОУ ВО «Воронежский государственный аграрный университет имени Императора Петра I», ФГБОУ ВО «Красноярский государственный аграрный университет», ФГБОУ ВО «Алтайский государственный аграрный университет», ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный аграрный университет», ФГБОУ ВО «Хакасский государственный аграрный университет им. Н.Ф. Катанова», ФГБОУ ВО «Белгородский государственный аграрный университет им. В.Я. Горина», ФГБОУ ВО «Брянский государственный аграрный университет», ФГБОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского», ФГБОУ ВО «Верхневолжский государственный агробиотехнологический университет», ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии — МВА» им. К.И. Скрябина, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный аграрный университет им. А.А. Ежевского», ФГБОУ ВО «Костромская государственная сельскохозяйственная академия», ФГБОУ ВО «Донской государственный технический университет», ФГАОУ ВО РУДН «Аграрно-технологический институт», ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», ФГБОУ ВО «Башкирский государственный аграрный университет».

Результаты исследований внедрены и используются как справочный материал в практической деятельности ветеринарных специалистов ветеринарной клиники «ВетЭксперт» (г. Ставрополь).

Личный вклад автора. Заключается в непосредственном участии соискателя во всех этапах работы над диссертационным исследованием. Автором представлена степень изученности предстоящего исследования в научной литературе, определена научная проблема, цель, задачи и модель исследования. Автором лично планировались, организовывались и проводились все экспериментальные работы, с использованием соматометрических, гистологических, иммуногистохимических и морфометрических методов на современном сертифицированном оборудовании в течение 10 лет. Автор осуществлял статистическую обработку, анализ, обобщение полученных результатов и формулировку выводов, практических рекомендаций и перспектив дальнейшей разработки темы. Доля участия соискателя при выполнении диссертационной работы составляет 85 %.

Публикация. По материалам исследований опубликовано 56 научных работ, в которых отражены основные положения и выводы по теме диссертации, в том числе 15 работ в изданиях, включенных в Перечень Российских рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендованных ВАК РФ для опубликования основных научных результатов диссертаций («Ветеринарный фармакологический вестник», «Вестник КрасГАУ», «Вестник АПК Ставрополья», «Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Агрономия и животноводство», «Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии», «Известия Оренбургского государственного аграрного университета», «Известия Самарской государственной сельскохозяйственной академии», «Вестник Марийского государственного университета. Серия «Сельскохозяйственные науки. Экономические науки», «Морфология») и 3 статьи в научных изданиях, индексируемых в международных базах Web of Science и Scopus.

Получены 2 патента РФ: «Патент (изобретение) № RU2676437 С1 Российская Федерация, МПК G09В 23/28 (2006.01). Способ моделирования проканцерогенного действия синэстрола на яичники потомства женского пола у лабораторных мышей: № 2018100495 : заявл. 09.01.2018: опубл.: 28.12.2018 – 16 с.», «Патент (изобретение) № RU2722988 С1 Российская Федерация, МПК А61М 5/32 (2006.01), А61К 31/565 (2006.01), А61Р 43/00 (2006.01), G09В 23/28 (2006.01). Способ моделирования проканцерогенного действия фулвестранта на яичники потомства женского пола у лабораторных мышей : № 2019137152 : заявл. 19.11.2019: опубл. : 05.06.2020 – 16 с.». Изданы – 1 монография и 2 учебно-методические рекомендации с грифом учебно-методической комиссии факультета ветеринарной медицины и биотехнологического факультета ФГБОУ ВО Ставропольский ГАУ, (протокол № 6 от 15 мая 2023 г.) и Научно-методического совета при Федеральном учебно-методическом объединении по укрупненной группе специальностей и направлению подготовки высшего образования «Ветеринария и зоотехния» (протокол № 37 от 16 мая 2023 г.).

Объем и структура работы

Диссертационная работа изложена на 257 страницах машинописного текста и состоит из введения, трех глав, заключения, выводов и списка литературы. Работа сопровождается 122 рисунками и 37 таблицами. Список литературы включает 408 наименований (196 отечественных и 212 иностранных).

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. ВОЗДЕЙСТВИЕ ГОРМОНОВ, СИНТЕТИЧЕСКИХ ЭСТРОГЕНОВ И ИХ АНАЛОГОВ В ПЕРИОД ВНУТРИУТРОБНОГО РАЗВИТИЯ ПЛОДА

В современном мире неуклонно растет использование гормонов для искусственного осеменения, оплодотворения, поддержания и родоразрешения (Окутин А. С., Куликова Н. И., Заманов Х. З. и др., 2019; Павленко О. Б., Остриков Д. А., Острикова Э. Е., Засемчук И. В., 2023). По данным официальных отчетов, за последние годы количество ежегодно проводимых циклов вспомогательных репродуктивных технологий с гормональной поддержкой возросло в 6 раз (Корсак В. С., Смирнова А. А., Шурыгина О. В., 2019).

В ветеринарной практике для повышения оплодотворяемости животных, стимуляции и коррекции воспроизводительной функции применяют разные гормональные программы, которые являются важным экономическим приемом с целью увеличения производства сельхозпродукции (Павленко О. Б., Остриков Д. А., Острикова Э. Е., Засемчук И. В., 2023).

По данным сельхозтоваропроизводителей в последние годы активно применяют вспомогательные репродуктивные биотехнологии для повышения эффективности использования генетических ресурсов и сохранения генофонда животных (Айбазов А. М. М., Мамонтова Т. В., Сердюков И. Г., Губаханов М. А., 2022).

В современную ветеринарную практику вводят применение эстрогенов для гормональной поддержки беременности и искусственного осеменения, что вызвано усиленным развитием вспомогательной репродуктивной технологии (Мамонтова Т. В., Селионова М. И., Айбазов А. М. М., 2021; Айбазов А. М. М., 2022; Айбазов А. М. М., 2023), позволивших восстанавливать фертильность особей женского пола с глубоким

эстрогенным дефицитом. Гормональный уровень беременных особей женского пола должен поддерживаться путем введения экзогенных гормонов до формирования плаценты (Амельхина И. В., 2007; Liu L., Li A., Matthews S. G., 2001).

По данным А. Н. Григоряна (2017): «даже сейчас, когда гормональные препараты назначают беременным, не прекращаются исследования возможности влияния синтетических аналогов стероидных гормонов на состояние здоровья потомства, физическое и психическое развитие» (Григорян А. Н., 2017).

В акушерско-гинекологической практике женщинам, страдающим невынашиванием беременности, назначают гормоны, которые позволяют сохранять плод до родоразрешения (Миронов А. В., 2008; Радзинский В. Е., Кипяткова Н. Г., Мухтарова А. В., 2009), а также в комплексной терапии невынашивании беременности широко используются синтетические аналоги стероидных гормонов (Григорян А. Н., 2017; Davis E. P., Sandman C. A., 2010; Smith R., Smith J. I., Shen X., et al., 2009).

Синтетические эстрогены и их аналоги в современных реалиях используются везде и сопровождают на протяжении всей жизни, начиная с периода внутриутробного развития. Благополучие постнатального индивидуального развития и репродуктивная адаптивность во взрослой жизни непосредственно зависят от внутриутробных условий. Все факторы, в том числе уровень материнских, плацентарных и экзогенных гормонов в период становления жизненно важных органов, являются ключевыми регуляторами репродуктивного здоровья потомства (Сулайманова Р. Т., Хайруллин Р. М., Имаева А. К., 2018; Сулайманова Р. Т., Ахметова Н. Д., Исламгареева Д. О., 2017; Сулайманова Р. Т., Скрипкин В. С., Квочко А. Н., Хайруллин Р. М., 2023; Скрипкин В. С., Сулайманова Р. Т., Квочко А. Н., Хайруллин Р. М., 2023; Lau C., Rogers J.M., 2004).

Кроме этого, микроэлементы, нутриенты, кислород и ксенобиотики, поступающие от матери к плоду, определяют условия его жизни.

Особенность пренатального развития плода млекопитающих зависит от воздействий перечисленных выше факторов и условий, необратимо программирующих метаболических и структурно-функциональных особенностей будущего организма на генетическом уровне. Эти процессы воплощаются в жестко детерминируемых индивидуальных уровнях чувствительности рецепторов к гормонам в органах-мишенях (Savarese T. M., Strohsnitter W. C., Low H. P., et al., 2007; Davidovich S., Ben-Izhak O., Shapira M., et al., 2008; Chander H., Halpern M., Resnick-Silverman L., et al., 2011). Рецепторы к эстрогенам играют важную роль в регуляции клеточных и тканевых процессов в молочной железе, в том числе ее закладке, росте и морфогенезе после рождения (Hatsumi T., Yamamuro Y., 2006; Liang, Chia-Pei Charlotte, et al., 2021).

Согласно ряду исследований в железистых структурах молочной железы существует два вида рецепторов — ER- α и ER- β . Активность каждого вида рецептора зависит от уровня эстрогенов в организме особей женского пола (Choi J., Donehower L. A., 1999). Развитие неопластических изменений в молочной железе провоцируется избыточной экспрессией рецепторов. Другие авторы утверждают, что кроме самих эстрогенов, продукты их распада вызывают расплетение и увеличение числа разрывов цепочек нуклеиновых кислот (Morel A. P., Hinkal G. W., Clémence T., et al., 2012).

В ходе биохимической трансформации эстрогенов образуются агрессивные свободные радикалы. Они способны оказывать повреждающее и мутагенное действие на ДНК. Все вышеперечисленные факты в конечном счете приводят к новообразованиям (Liao D. Z. J., Pantazis C. G., Hou X., et al., 1998).

Такие патологические изменения прослеживаются в молочной железе (Kovalchuk O., Tryndyak V.P., Montgomery B. et al., 2007; Kutanzi K. R., Koturbash I., Bronson R. T. et al., 2010). Формирующиеся в период внутриутробного развития органы плода являются уязвимыми из-за общих малых размеров и малого количества клеток, развивающихся в будущем в

определенных тканях или органах. По этой причине воздействия различных негативных факторов накладывают свой необратимый отпечаток на небольшую группу клеток в эмбриогенезе, и впоследствии приводят к развитию патологии во взрослой жизни. Воздействие таких потенциальных преканцерогенов, таких как высокий уровень материнских гормонов, синтетических гормонов, используемых для предотвращения невынашивания беременности, а также ксенобиотиков с эстрогеноподобным действием и тропностью к эстрогеновым рецепторам, оказывает существенное влияние на структуры и метаболизм фетальных клеток. Характерной чертой эмбрионального развития является исключительно высокая скорость митозов клеток с коротким митотическим циклом, а также повышенная скорость формирования структур и построения обменных процессов. В развитии эмбриона и плода периоды закладки жизненно важных структур и функций измеряются часами или сутками, в отличие от постнатального онтогенеза, продолжающегося десятки лет. Соответственно, эффективная длительность воздействия токсического агента для провоцирования патологии или изменения метаболизма в пренатальный период укорачивается до минимальной, не сравнимой по своим последствиям с аналогичными параметрами в постнатальном онтогенезе (Хайруллин Р. М., Сулайманова Р. Т., Кометова В. В., Юсупова Л. Р., 2014; Сулайманова Р. Т., Квочко А. Н., 2023; Godfrey K. M., Barker D. J., 2001).

Согласно исследованию Б. Я. Рыжавского: «еще одной существенной особенностью развития эмбриональных тканей плода является наличие критических периодов, «окна адаптивного ответа» на агрессивное воздействие различных агентов» (Рыжавский Б. Я., 1999).

Воздействие неблагоприятных факторов в эмбриональный период могут не только спровоцировать видимые на макро- и микроскопическом уровне патологические изменения чувствительных органов-мишеней, но и непосредственно повлиять на метаболизм и вызвать нарушения и изменения в функционировании систем до и после рождения плода, оказать

существенное влияние на здоровье и продолжительность жизни (Сеин О. Б., Ершов Р. А., Субботина Н. Н., 2021; Ушакова Г. А., 2010; Lau C., Rogers J. M., 2004; Delbès G, Levacher C, Habert R., 2006; Stewart M. K., Mattiske D. M., Pask A. J., 2020).

Рост числа потомства, внутриутробно подвергнувших не физиологической стероидной нагрузке, сопровождается параллельным ростом значительно помолодевших случаев рака молочной железы (Хайруллин Р. М., Сулайманова Р. Т., Кометова В. В., Юсупова Л. Р., 2014; Charlier C., Foidart F. M., Pitance F., 2004), рака яичников, рака простаты и других стероидозависимых органов-мишеней, а также гиперстимуляция яичников снижает интеллектуальные способности у потомства (Xu G.-F., Zhou C.-L., Xiong Y.-M. et al., 2017).

Длительная персистенция избыточного гормонального фона и экзогенных соединений стероидной природы, нефизиологический прессинг гормонов, вводимых для сохранения беременности, могут оказать неявный, отсроченный канцерогенный и тератогенный эффект на уязвимые ткани, находящиеся в состоянии активного роста и пролиферации, либо привести к модификации их развития (Charlier C., Foidart F. M., Pitance F., 2004; Choi J., Donehower L.A., 1999; Faroon O., Harris M., 2002; Lau C., Rogers J. M., 2004).

Доказано, что для канцерогенной индукции развития патологических процессов вполне достаточен уровень гормонов на верхней границе нормы или выше (Джер Ф. Штраус III, Роберт Л. Барбьери, Антонио Р. Гарджуло, 2022; Choi J., Donehower L. A., 1999). Данные последних лет по эпидемиологии РМЖ и экспериментальному исследованию постнатальных эффектов пренатального воздействия синтетических эстрогенов убедительно свидетельствуют, что предиктором высокого риска РМЖ является гиперэстрогения, представляющая неотъемлемую часть современных репродуктивных технологий (Юсупова Л. Р., Сулайманова Р. Т., Магадеев Т. Р., 2013; Квочко А. Н., Сулайманова Р. Т., 2023).

В развитых странах около одного процента новорожденных рождается с помощью репродуктивных технологий, в результате их многолетних усовершенствований появилось на свет более пяти миллионов новорожденных (E. Groene-veld, et al., 2013). (McLachlan J. A., Newbold R. R., Shah H. C. et al., 1982). На ежегодном собрании ESHRE (European Society of Human Reproduction and Embryology) в 2013 г. были представлены данные ретроспективных исследований женщин, ставших матерями с помощью репродуктивных технологий с 1983 по 1995 г. Основные статистические данные, полученные в ходе опроса, указывали на то, что «в 44% случаях на высокий риск РМЖ» (E. Groene-veld, et al., 2013). Исходя из результатов исследования прослеживалась взаимосвязь между высоким уровнем стероидных гормонов, а именно синтетических эстрогенов, используемых в репродуктивных технологиях, и ростом риска развития неопластических изменений молочной железы (Хайруллин Р. М., Сулайманова Р. Т., Кометова В. В., Юсупова Л. Р., 2014; Groeneveld E., Krul I., Spaan M., et al., 2013). Данные зафиксированы у матерей без возможности прослеживания динамики и взаимосвязи здоровья и развития канцерогенных рисков, связанных с пренатальным гиперстероидным состоянием потомства, рожденного с помощью репродуктивных технологий.

Вспомогательные репродуктивные биотехнологии значительно усовершенствовали методы получения и трансплантации эмбрионов сельскохозяйственных животных. Биотехнологические методы воспроизводства потомства поголовья животных являются ключевыми инструментами во многих направлениях практического животноводства (Попов Д. В., Максудов Г. Ю., Шипова С. П. Косовский Г. Ю., 2018; Косовский Г. Ю., Попов Д. В., 2021).

Для исследования эффективности и надежности репродуктивной биотехнологии нуждается как в надёжном и эффективном источнике ооцитов, сперматозоидов и эмбрионов, так и в биологической модели, виде экспериментального животного, удобной для отработки технологических

приёмов и процедур (Попов Д. В., Максудов Г. Ю., Шипова С. П., Косовский Г. Ю., 2018; Попов Д. В., Колесник Е. С., Кашапова И. С., Косовский Г. Ю., 2020).

Мутагенные эффекты синтетических эстрогенов начинают проявляться при пороговых дозах препаратов (Хайруллин Р. М., Сулайманова Р. Т., Кометова В. В., Юсупова Л. Р., 2014; Hond E. D., Schoeters G., 2006). Их воздействие и влияние продуктов метаболического распада из-за связывания с митохондриальной ДНК способствуют нестабильности генома митохондрий. В естественных условиях образование комплексов «эстрогены — митохондриальная ДНК» приводит к аномальным девиациям процессов репликации и транскрипции генов. Таким образом, объясняются генотоксические свойства синтетических эстрогенов и большая вероятность наследования генетической нестабильности по мужской линии при отсутствии отсроченного канцерогенного эффекта в последующих поколениях особей мужского пола (Godfrey K. M., Barker D. J., 2001). Развитие технологии экстракорпорального оплодотворения привело к появлению ее новых разновидностей. Ключевой разработкой стала Three Parent In Vitro Fertilization (TPIVF), в которой для предотвращения передачи заболеваний, связанных с митохондриальной ДНК, используют цитоплазму с митохондриями третьего лица. Но при этом предотвращение риска митохондриальных болезней не означает предотвращение риска передачи с митохондриальным геномом преканцерогенных факторов РМЖ и других видов опухолей (Хайруллин Р. М., Сулайманова Р. Т., Кометова В. В., Юсупова Л. Р., 2014). «Митохондриальная ДНК является наиболее чувствительной к мутагенному действию синтетических эстрогенов по сравнению с ядерной. Мужская митохондриальная ДНК демонстрирует к этому большую чувствительность» (Umekita Y., Souda M., Hatanaka K. et al., 2011). Отсюда следует, что ряд генетических факторов риска РМЖ передается по мужской линии с митохондриальной ДНК. Таким образом, если в стандартной технологии TPIVF ее третьим компонентом в цитоплазме

оплодотворенного яйца станут явно мужские митохондрии, то в геном будущего потомства женского пола добавится дополнительный комплект митохондрий с мутагенной ДНК, а сумма потенциальных предикторов канцерогенеза удвоится. Следовательно, новые технологии еще более увеличивают риск РМЖ, суммируя генотоксические эффекты эстрогенов на ядерную и митохондриальную ДНК.

Потенциально наиболее уязвимой группой по риску развития РМЖ являются потомство женского пола, рожденные с помощью репродуктивных технологий. При разработке и использовании новых технологий репродукции гормональное сопровождение каждого этапа должно быть тщательно обосновано на предмет доз и концентрации эстрогенов с учетом возможных преканцерогенных эффектов фактора пренатальной гиперэстрогении и риска развития РМЖ (Хайруллин Р. М., Сулайманова Р. Т., Кометова В. В., Юсупова Л. Р., 2014).

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 млекопитающих, и не зависит от пола развивающегося плода (Милованов А. П., Савельев С. В., 2006; Сулайманова Р. Т., 2019). Биологическая целесообразность этого явления, обусловливаемого материнской эндокринной системой и производством половых гормонов плацентой, неразрывно связана с гормональным обеспечением физиологического течения беременности (Милованов А. П., Савельев С. В., 2006; Сулайманова Р. Т., 2019).

Внешние и внутренние факторы системы «мать — плацента — плод», способны изменить концентрацию эстрогенов в фетальной крови, могут привести в лучшем случае к моделирующим, в худшем — к провоцирующим (в том числе и программирующим) эффектам как самих гормонов (Рыжавский Б. Я., 1999; Савченков Ю. И., 1980), так и их метаболитов на молекулярно-генетическом уровне в эстроген-чувствительных тканях,

включая закладки репродуктивных органов (Chappell N. R., Zhou B., et al., 2020; Rosenfield R. L., 2020). Эти эффекты принципиально отличны от тех же самых эффектов, которые исследованы на взрослых особях животных и постнатальном развитии млекопитающего.

Из-за небольшого числа клеток, участвующих в закладке органов, вероятность тотального программирующего и повреждающего воздействия факторов намного выше, чем в постнатальной жизни (Юсупова Л. Р., Сулайманова Р. Т., Магадеев Т. Р. и др., 2013), это является первым отличием программирующего действия внутренних и внешних факторов в эмбриофетогенезе.

Вторым отличием является то, что отдельные стадии развития эмбриона и плода с формированием структур и функций измеряются временными отрезками, 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.

Третьим и самым главным отличием пренатального программирующего воздействия вероятных факторов-модуляторов постнатального гисто- и органогенеза, включая и патологические, является наличие так называемого «окна» адаптивного ответа развивающихся эмбриональных тканей (Рыжавский Б. Я., 1999).

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 неизлечимую патологию эмбриональных тканей

(Ковальский Г. Б., Китаев Э. М., Рыжавский Б. Я., Мельникова Л. М., 1996; Рыжавский Б. Я., 1999; Morel A. P., Hinkal G. W., Clémence T., et al., 2012; Hanahan D., 2000; Spike B. T., Wahl G. M., 2011).

В функциональной системе «мать — плацента — плод» важным посредником в сложном и неоднозначно зависимом от концентрации стероидных гормонов взаимодействии является плацента со своей системой продукции, метаболизма и инактивации (Кветной И. М., 2005; Кенешбаев Б. К., Тулекеев Т. М., Сулайманова Р. Т., Хайруллин Р. М., 2023). Этот факт усложняет, но, к сожалению, не объясняет обозначенную выше проблему роста использования гормонов во время беременности и частоты онкологической патологии гормонально зависимых органов (Юсупова Л. Р., Сулайманова Р. Т., Магадеев Т. Р. и др., 2013).

Механизмы их реализации могут быть как генетическими, так и эпигенетическими. Соответственно, 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 (Сулайманова Р. Т., 2019).

Физиологическая стероидная эстрогенная и антиэстрогенная нагрузка сопровождается параллельным ростом значительно помолодевших случаев рака молочной железы, яичников, простаты и других стероидозависимых органов-мишеней. Подводя итог, можно сделать вывод, 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 (Савченков Ю. И., 1980; Кветной И. М., 2005). Однако это обстоятельство лишь усложняет, но не объясняет обозначенную выше проблему сопряженного роста использования гормонов во время беременности и частоты разнообразных патологии.

1.2. СОМАТОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПОТОМСТВА В ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ЭСТРОГЕНОВ НА МАТЕРИНСКИЙ ОРГАНИЗМ

Роль эндокринной системы среди других факторов, оказывающих влияние на формирование и дальнейший рост развивающегося организма в пренатальный период, становится все более очевидной. Высокая концентрация женских половых гормонов и их производных как в материнской, так и фетальной крови — отличительная черта пренатального периода онтогенеза млекопитающих, она не зависит от пола развивающегося плода. Система «мать — плацента — плод» способна изменить концентрацию эстрогенов фетальной крови и может привести к модулирующим, провоцирующим и программирующим эффектам как самих гормонов, так их метаболитов на молекулярно-генетическом уровне в эстроген-чувствительных тканях, включая закладки репродуктивных органов. Очевидность этого прослеживается в многочисленных работах, посвященных данной проблеме и получает все бóльший размах в исследованиях как за рубежом, так и в нашей стране (Сулайманова Р. Т., 2020; Сулайманова Р. Т., 2023; Schwartz C. L., Christiansen S., Vinggaard A. M. et al., 2019; Mandrup K. R., Jacobsen P. R., Isling L. K., et al., 2013).

При продолжительных патогенных влияний различной природы характерна фазность изменения в деятельности любой физиологической системы, которая испытывает функциональные нарушения (Милованов А. П., Савельев С. В., 2006; Зимин Ю. И., 1979; Петрова И. В., Кузьмин С. Н., Куршакова Т. С. и др., 1985). Активация, адаптация, истощение – эти фазы изменений физиологической системы являются выражением универсальной закономерности нарушения реактивности при длительных патогенных воздействиях, усилении функциональной нагрузки или иных воздействиях экзо- или эндогенной природы (Корнева Е. А., Шхинек Э. К., 1985; Крыжановский Г. Н., 1985), протекающих на разных уровнях организации:

клеточном, субклеточном, тканевом, системном, организменном. При продолжающейся усиленной функциональной нагрузке и патогенном влиянии веществ различной природы истощаются компенсаторно-приспособительные возможности и происходит невосполнимый распад субклеточных структур, который приводит к нарушению функций, дистрофическому процессу и гибели клеток (Сизоненко М. Л., 2015; Stevens С.Е., 1987).

По данным А. Г. Резникова с соавторами (2004), «пренатальный стресс вызывает комплекс разнообразных морфологических (микро- и ультраструктурных), нейрохимических, эндокринных, метаболических изменений, закрепляющихся в постнатальной жизни» (Резников А. Г., Пишак В. П., Носенко Н. Д. и др., 2004). Пренатальный стресс оказывает влияние на систему «гипоталамус — гипофиз — гонады», что позволяет рассматривать синдром как результат нарушения гормонально-нейромедиаторного импринтинга развивающихся органов (Резников О. Г., 1998; Reznikov A. G., 1994). В современных источниках состояние стресса рассматривают не только с позиции его значения для адаптации организма при нарушениях гомеостаза и повышения неспецифической резистентности к болезнетворным агентам, а также стресс является модифицирующим фактором и элементом эволюционного отбора (Пишак В. П., Носенко Н. Д. и др., 2004; Сизоненко М. Л., 2015).

Влияние химических веществ в пренатальном периоде эмбриогенеза вызывает особую обеспокоенность, поскольку именно в это время формируются и закладываются основы репродуктивного здоровья во взрослом организме мужского и женского пола (Фомина А. В., Тихонов Д. А., Зеркалова Ю. Ф., Хайруллин Р. М., 2012; Johansson H. K. L., Svingen T., Fowler P. A., et al., 2017; Skakkebaek N. E., De Meys E. R., Buck Louis G. M., et al., 2016).

Депрессивность, тревожность и гиперактивность у потомства обоих полов отмечалось достаточно большим количеством исследований,

подтверждающих эти явления от уровня и дозы фетальных гормонов (Сулайманова Р. Т., 2021; Gioiosa L., Fissore E., Ghirardelli G., et al., 2007; Gandelman R., Rosenthal C., 1981). Фенотипическими показателями воздействия пренатального уровня стероидных гормонов является масса тела потомства, длина тела потомства, аногенитальное расстояние (АГР) и ряд других анатометрических показателей (Мельник С. А., 2010; Mira-Escolano M. P., Mendiola J., Mínguez-Alarcón L. et al., 2014; Fabregues F., González-Foruria I., Peñarrubia J., Carmona F., 2018).

В последнее время в репродуктологии пристальное внимание многих ученых обращено на аногенитальное расстояние. Аногенитальное расстояние имеет несколько привлекательных свойств с точки зрения его потенциальной клинической пользы, поскольку является легко доступным и неинвазивным методом исследования, в том числе для оценки репродуктивного статуса. Данный термин используется для обозначения расстояния от ануса до мочеполювого отверстия (Роговин К. А., Шекарова О. Н., Хрущова А. М., 2011; Сулайманова Р. Т., 2021; Huang L., Huang S., Luo X., et al., 2020; Khayrullin R. M., Sulaymanova R. T., Bakhtiyarov R. I., et al., 2015; Wu Y., Zhong G., Chen S., et al., 2017; Oñate-Celdrán J., Samper-Mateo P., García-Escudero D., et al., 2019).

Аногенитальное расстояние — это универсальный биомаркер, индикатор, который определяется в целом пренатальными эффектами гормонов, оказывающими морфогенетические эффекты на развитие и формирование репродуктивной системы.

Исследование аногенитального расстояния как биомаркера для измерения фертильности мужчин было проведено на основе корреляции АГР с некоторыми параметрами репродуктивной системы, в частности, определялось соотношение между АГР, статусом отцовства и параметрами спермы. Исследования показали, что у бесплодных мужчин аногенитальное расстояние было значительно короче среднего значения по сравнению с мужчинами с нормально функционирующей репродуктивной системой.

Также было установлено, что с увеличением аногенитального расстояния увеличивается общая концентрация спермы и возрастает подвижность сперматозоидов (Eisenberg M. L., Lipshultz L. I., 2015; Pan Z., Zhu F., Zhou K., 2021; Kutluhan M. A., Şahin A., Ürkmez A. et al., 2020).

Размеры мужских половых гамет в пре- и в постнатальном периодах развития зависят от уровня андрогенов в организме. L. C. Drickemer и соавторами (1995) установили корреляцию между величиной аногенитального расстояния и статусом доминирования для самцов домово́й мыши. Они связали это соответствие с уровнем продукции половых гормонов в организме самца в пренатальный период (Мельник С. А., 2010; Morová M., Senko T., Olexová L., et al., 2020; Drickemer L. C., 1995).

Аногенитальное расстояние считается биомаркером с высоким потенциалом, способным как ретроспективно определять нарушение андрогенов в раннем возрасте, так и предсказывать поздние репродуктивные нарушения у мужского потомства (H. von Stedingk, Vikström A. C., Rydberg P., et al., 2011; Dean A., Sharpe R. M., 2013).

У потомства женского пола аногенитальное расстояние отражает фолликулярный резерв яичников при пренатальном действии половых стероидных гормонов (Fouqueray T. D., Blumstein D. T., Monclús R. et al., 2014; Sánchez-Ferrer M. L., Hernández-Peñalver A. I., Corbalán-Biyang S., et al., 2017).

В исследованиях пренатального воздействия токсических веществ на грызунов аногенитальное расстояние используется в качестве полезного индикатора маскулинизации и феминизации, направленного на тестирование соединений эндокринной активности и антиандрогенных свойств, а также в эпидемиологических исследованиях для определения корреляции воздействия разрушающих химических веществ на плод (Huang L., Huang S., Luo X, et al., 2020).

Таким образом, исследование пренатального влияния эстрогенов оказывает как стимулирующее, так и ингибирующее воздействие гормонов

на величину анатомометрические показатели потомства. Исследование зависимости анатомометрических показателей от пренатального эффекта эстрогенов позволяет спрогнозировать патологические изменения репродуктивной системы потомства.

1.3. ХАРАКТЕРИСТИКА ВРЕДНЫХ ФАКТОРОВ СРЕДЫ, ВЛИЯЮЩИХ НА ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ

Все больше появляется доказательств того, что воздействие химических соединений окружающей среды, а именно эндокринных дизрапторов, влияющих на функцию эндокринной системы, может отрицательно сказаться на репродуктивном здоровье млекопитающих. Эти вещества нарушают или усиливают известные регуляторные функции эндокринной системы и функционируют через некоторые механизмы, в том числе путем изменения функции гормональных рецепторов. К эндокринным дизрапторам относят пестициды (ДДТ и его метаболиты), диоксины, полихлорированные бифенилы (Boas M., Feldt-Rasmussen U., Skakkebaek N. E., Main K. M., 2006), бисфенол-А, фталаты (Khan M. A., Davis C. A., Foley G. L., et al., 1999) и др. В то время как механизмы, с помощью которых эти эффекты возникают, и уровень их риска для млекопитающего до сих пор не выяснены, была установлена закономерность между увеличением распространенности эстроген-активных эндокринных дизрапторов в окружающей среде и ростом заболеваемости гормонально зависимыми формами рака.

В настоящее время широкий круг научных исследований посвящены изучению последствий пренатального воздействия эндокринных дизрапторов на органы репродуктивной системы в плане риска развития опухолей в постнатальном периоде (Diamanti-Kandarakis E., Bourguignon J-P., Giudice L., et al., 2009).

ДДТ является синтетическим химическим веществом, которое включает в себя дихлордифенилтрихлорэтан (ДДТ) и дихлордифенилдихлорэтилен (ДДД), являющийся органическим загрязнителем окружающей среды. После обнаружения инсектицидных свойств ДДТ, его широко использовали в борьбе с переносчиками малярии и некоторыми сельскохозяйственными вредителями по всему миру. Хотя в большинстве цивилизованных стран в середине прошлого столетия применение ДДТ было запрещено, но он по сей день используется в некоторых развивающихся странах, таких как Индия, Индонезия и Мексика, в качестве средства против комаров, которые являются переносчиками возбудителей малярии (Faroon O., Harris M., 2002; Turusov V., Rakitsky V., Tomatis L., 2002).

ДДТ, обладая высокой липофильностью и устойчивостью к биодеградации, биоаккумулируется в липидных компонентах биологических систем, что обуславливает возможность его передачи по пищевой цепи. Поэтому, несмотря на его запрет во многих странах, ДДТ все еще присутствует в окружающей среде. ДДД, в частности, по сравнению с ДДТ, имеет более длительный период полураспада и имеет выраженное токсикологическое воздействие. Периоды полураспада ДДТ и ДДД в организме человека, по разным оценкам, составляют от 6 до 10 лет (Jaga K., Dharmani S., 2003; Wolff M. S., 1999). Описан широкий спектр изменений в репродуктивной сфере, связанный с воздействием ДДТ (Eskenazi B., Chevrier J., Rosaset L. G., et al., 2009). Интересным фактом стало то, что воздействие ДДТ в критические периоды развития индивидуума приводит к формированию РМЖ (Charlier C., Foidart F.M., Pitance F., 2004; Liao D. Z. J., Pantazis C. G., Hou X., et al., 1998; Lu S., Becker K. A., Hagen M. J., et al., 2008). Также было выдвинуто предположение, что чрезмерная эстрогенизация предстательной железы во время ее развития может способствовать росту заболеваемости доброкачественной гиперплазией и раком предстательной железы у стареющих мужчин (Rajfer J., Coffey D. S.,

1978; Platz E. A., Giovannucci E., 2004; Henderson B. E., Bernstein L., Ross R. K., et al., 1988).

Стокгольмская конвенция о стойких органических загрязнителях (СОЗ) была ратифицирована 179 странами, которая была направлена на ограничение глобального применения ДДТ для борьбы с переносчиками заболеваний в соответствии с указаниями ВОЗ (Цомартова Д. А., 2020; Gore A., Chappell V. A., Fenton S. E. et al., 2015; Van den Berg H., Zaim M., Yadav R. S. et al., 2012). К сожалению, по данным мониторинга исследователей, даже после ограничения применений ДДТ в странах третьего мира до сих пор используют ДДТ в сельском хозяйстве (Амоако Р. К., Kumah P., Appiah F., 2012; Sharma B. M., Bharat G. K., Tayal S. et al., 2014; Gebremichael S., Birhanu T., Tessema D. A., 2013; Mekonen S., Ambelu A., Spanoghe P., 2014).

Через продукты питания большинство людей и млекопитающих во всем мире по сей день подвергаются экспозиции ДДТ, которое остается широко распространенным загрязнителем продуктов питания (Kreiss K., Zack M. M., Kimbrough R. D. et al., 1981; Eskenazi B., Chevrier J., Rosaset L. G. et al., 2009; World Health Organization, 2016). Максимально допустимые уровни ДДТ регламентируются санитарными правилами и нормами (Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 21 апреля 2008 г. № 26 г. «Об утверждении СанПиН 2.3.2.2354-08»), затем они были заменены Техническим регламентом Таможенного союза (Цомартова Д. А., 2020). В период внутриутробного развития (передача через плаценту) или с грудным молоком начинается экспозиция ДДТ (Bouwman H., Becker P. J., Coorpan R. M., Reinecke A. J., 1992; World Health Organization, 2012; Huen K., Yousefi P., Bradman A. et al., 2013; Kreiss K., Zack M. M., Kimbrough R. D. et al., 1981). Для того чтобы концентрация ДДТ в организме млекопитающего сократилась вдвое, требуется более четырех лет (Ritter R., Scheringer M., MacLeod M., Hungerbuhler K., 2011; Longnecker M. P., 2005; Blais J. M., Schindler D. W., Muiret D. C. et al., 2001; Macdonald R. W., Harner T., Fyfe J., 2005; Rogers D. J., Randolph S. E., 2000; Eskenazi B., Chevrier J., Rosaset L. G. et al., 2009).

Суммируя имеющиеся факты и данные лабораторных исследований о пренатальном воздействии дизрапторов-эндокриномиметиков, следует сделать заключение об их прямых корреляциях с развитием рака яичников, семенников, молочной железы, других органов репродуктивной системы у потомства млекопитающих в постнатальном периоде. Изучение последствий воздействия дизрапторов-эндокриномиметиков должно носить методологически обоснованный, системный характер, что позволит понять динамику их воздействия на организм (Хайруллин Р. М., Сулайманова Р. Т., Сулайманова Л. И., Бахтияров Р. И., 2014; Cook M. V., Akre O., Forman D. et al., 2010).

Молекулярные и эпидемиологические исследования предоставили доказательства того, что злокачественная трансформация зародышевых клеток яичка происходит на ранних стадиях развития. Было высказано предположение, что предпосылки к возникновению рака яичка закладываются еще в период развития плода, а субнормальное воздействие андрогенов и/или усиление воздействия эстрогенов — потенциально важные факторы риска рака яичка. Кроме того, имеется гипотеза, что нарушение в программировании развития гонад плода, в результате внутриутробного гормонального дисбаланса, может задержать дифференциацию половых клеток и делает их более восприимчивыми к злокачественной трансформации. Известная гипотеза постулирует, что увеличение эстрогенного воздействия во внутриутробном периоде связано с риском заболевания раком яичка.

Широкое внедрение ДДТ в 1945 г. коррелирует с увеличением заболеваемости раком яичка (U.S. Environmental Protection Agency, 1975). Персистенция ДДД, как мощного антиандрогенного метаболита ДДТ, представляет собой специфический канцероген (Ouies S. M., Ahmed S. R., Bassit A. S., 2021; Kelce W. R., Stone C. R., Laws S. C. et al., 1995).

«Диоксины — широко распространенные, высокотоксичные и устойчивые загрязнители окружающей среды. Они образуются в процессе

производства гербицидов хлорфенольного рядов» (Яглова Н. В., Яглов В. В., 2012), причем так же, «...как примеси, в результате различных химических реакций при высоких температурах сгорания веществ, содержащих хлор, сжигания отходов производства и мусора, содержащего поливинилхлорид и другие полимеры. Другим источником поступления диоксина в окружающую среду является процесс отбеливания целлюлозной пульпы в целлюлозно-бумажной промышленности» (Яглова Н. В., Яглов В. В., 2012; Rosińczuk J., Dymarek R., Sałkosiński I., 2018). Агентство США по охране окружающей среды и Международное агентство по изучению рака отнесли полихлорированные дибензо-*p*-диоксины к разряду человеческих канцерогенов (US Environmental Protection Agency Office of Health and Environmental Assessment, Office of Research and Development, 1994; International Agency for Research on Cancer, 1994).

Диоксины устойчивы в окружающей среде и к биodeградации. Период полураспада 2,3,7,8-тетрахлордибензо-*p*-диоксина составляет от 5,8 до 11,3 лет в организме человека (Olson J. R., 1994), от 9 до 15 лет в поверхностном слое почвы и от 25 до 100 лет в глубоких слоях почвы (Paustenbach D. J., Wenning R. J., Lau V. et al., 1994). Люди подвергаются воздействию диоксинов при вдыхании, проглатывании и контакте с кожей (Goovaerts P., Trinh H. T., Demond A. et al., 2008). Воздействие 2,3,7,8-тетрахлорбензо-*p*-диоксина может оказывать неблагоприятный эффект на человека, в частности в развитии гормонально зависимых опухолей, таких как РМЖ (S.H. Safe, 1995). Исследования показали, что внутриутробное воздействие 2,3,7,8-тетрахлорбензо-*p*-диоксина сопровождается ростом заболеваемости РМЖ в женском потомстве (Brown N. M., Manzollillo P. A., Zhang J. X. et al., 1998).

Дизрапторные эффекты на органы репродуктивной системы оказывают и другие химические соединения, к их числу относят бисфенол-А. Бисфенол-А является мономером, обычно используемым в производстве поликарбонатных пластиков и эпоксидных смол. Он присутствует во многих

пластмассах, практически повсеместно воздействуя на человека (Krishnan A. V., Stathis P., Permuth S. F., 1993; International Agency for Research on Cancer, 1994; Wei Y., Han C., Li S. et al., 2020; Saal Vom F. S., Vandenberg L. N., 2021).

Плод подвергается воздействию материнского бисфенола-А трансплацентарно (Khayrullin R. M., Sulaymanova R. T., Bakhtiyarov R. I. et al., 2015; Schonfelder G., Wittfoht W., Hopp H. et al., 2002). Пренатальное воздействие бисфенола-А препятствует развитию яичников у потомства (Wei Y., Han C., Li S. et al., 2020).

В исследованиях на животных было показано, что воздействие на плод бисфенола-А в экологически значимых дозах приводит к ускорению наступления половой зрелости (Howdeshell K. L., Hotchkiss A. K., Thayer K. A. et al., 1999), увеличению роста простаты (Kovalchuk O., Tryndyak V. P., Montgomery B. et al., 2007), изменению развития молочной железы в пубертатном периоде (Munoz-de-Toro M., Markey C. M., Wadia P.R. et al., 2005) и необратимым изменениям в морфологии и функции женских репродуктивных органах у мышей (Markey C. M., Wadia P. R., Rubin B. S. et al., 2005).

У мышей, пренатально подвергнутых воздействию бисфенола-А, наблюдались измененная морфологическая картина тканей молочных желез, их повышенная чувствительность к эстрадиолу, увеличение пролиферации клеток, снижение интенсивности апоптоза, а также изменение времени их развития (Munoz-de-Toro M., Markey C. M., Wadia P. R. et al., 2005). В аналогичном эксперименте на крысах наблюдается увеличение случаев РМЖ у взрослых особей (Murray T. J., Maffini M. V., Ucci A. A. et al., 2007). В 2002 г. исследователи из Стокгольмского университета сообщили, что высокие уровни акриламидов образуются во время приготовления многих потребляемых продуктов, готовящихся при высокой температуре (Tareke E., Rydberg P., Karlsson P. et al., 2002).

Это исследование было подтверждено другими исследованиями. Таким образом, акриламиды в настоящее время обнаружены в разнообразных

пищевых продуктах, включая хлеб, крупы, жареный картофель и кофе (Svensson K., Abramsson L., Becker W. et al., 2003; Dybing E., Farmer P. B., Andersen M. et al., 2005). В самом деле, более чем 30% потребляемых калорий содержат значительное количество акриламидов (Petersen B. J., Tran N., 2005).

Поскольку акриламиды классифицируют как вероятный канцероген для млекопитающих, данное открытие вызвало тревогу по поводу того, что воздействие акриламидов через пищу может быть важным фактором риска развития раковых заболеваний. Данные, устанавливающие акриламиды как вероятные канцерогены, основаны на исследованиях на животных и *in vitro*. Результаты наблюдений за крысами, получавшими акриламиды с водой, указывали на увеличение опухолевого роста в суточных дозах приблизительно от 1 мг/кг массы тела (Johnson K. A., Gorzinski S. J., Bodner K. M. et al., 1986; Friedman M. A., Dulak L. H., Stedham M. A., 1995).

У млекопитающего возможно внутриутробное воздействие акриламидов на плод. Так, было обнаружено, что акриламиды проникают через плацентарный барьер *in vitro* (Sörgel F., Weissenbacher R., Kinzig-Schippers M. et al., 2002; Annola K., Karttunen V., Keski-Rahkonen P. et al., 2008), а также *in vivo* (Stedingk H. von, Vikström A. C., Rydberg P. et al., 2011; Schettgen T., Kütting B., Hornig M. et al., 2004). Кроме того, гликамид, первичный метаболит акриламидов, является мутагенным соединением (Manjanatha M. G., Aidoo A., Shelton S. D. et al., 2006; Rice J. M., 2005). Недавнее проспективное исследование, проведенное среди голландских женщин, показало повышенный риск развития рака яичников и рака эндометрия среди некурящих женщин и потребляющих акриламиды в повышенных количествах с пищей (Hogervorst J. G., Schouten L. J., Konings E. J. et al., 2005), что свидетельствует о том, что акриламиды могут действовать через гормональные пути.

Фталаты представляют собой алкилированные сложные эфиры фталевой кислоты и используются для придания эластичности пластмассам

или в качестве основы в косметических средствах. Фталаты нековалентно связаны с пластмассой и, таким образом, попадают в окружающую среду, в которой распространяются как загрязняющие вещества.

Экологические источники воздействия фталатами включают в себя также пыль и воду. Тем не менее, основными источниками воздействия на млекопитающих являются продукты питания (Wittassek M., Koch H. M., Angerer J., Bruning T., 2011), и поэтому, можно сделать вывод о том, что воздействие фталатов на млекопитающих повсеместно (Calafat A. M., McKee R. H., 2006; Blount B. C., Silva M. J., Caudill S. P. et al., 2000). Фталаты, как эндокринные дизрапторы, влияют на развитие нарушений в репродуктивных органах потомства мужского и женского пола (National Academies Press, 2008; Barakat R., Lin P.-C. P., Rattan S. et al., 2017; Zhou C., Gao L., Flaws J. A., 2017; Reddy B. S., Rozati R., Reddy B. V., Raman N. V., 2006; Reddy L., Latini G., De Felice et al., 2003; Reddy B. S., Rozati R., Reddy S. et al., 2006), а так же приводят к изменению уровня гормонов щитовидной железы (Reddy B. S., Rozati R., Reddy B. V., Raman N. V., 2006).

Возможная связь между воздействием фталатов и РМЖ была изучена в ряде исследований, дающих неоднозначные результаты. Так, в эпидемиологическом исследовании с участием млекопитающих была обнаружена отрицательная связь между концентрациями монобензилфталата (метаболит бутилбензилфталата) в моче и заболеваемостью РМЖ; другое же исследование не выявило никакой связи между профессиональным воздействием бутилбензилфталата и РМЖ (Lopez-Carrillo L., Hernandez-Ramirez R. U., Calafat A. M. et al., 2010; Aschengrau A., Coogan P. F., Quinn M., Cashins L. J., 1998).

Отсутствие связи между воздействием фталатов и риском РМЖ было неожиданным, так как фталаты, как считается, обладают эстрогенными свойствами и, таким образом, играют роль в патобиологии РМЖ. Проведенные исследования свидетельствуют о том, что фталаты обладают

слабыми эстрогенными свойствами и могут действовать как частичные агонисты (Jobling S., Reynolds T., White R. et al., 1995).

Фталаты по эстрогенным свойствам значительно менее активны, чем эстрадиол (Harris C. A., Henttu P., Parker M. G., Sumpter J. P., 1997). Результаты исследований *in vitro* трудно согласовать с защитным эффектом, который наблюдали L. Lopez-Carrillo с соавторами (Lopez-Carrillo L., Hernandez-Ramirez R. U., Calafat A. M. et al., 2010). Существует гипотеза, что фталаты могут конкурировать с эстрадиолом за рецептор эстрогена, уменьшая тем самым эффект эстрогена в развитии РМЖ (Jobling S., Reynolds T., White R. et al., 1995; Xu G.-F., Zhou C.-L., Xiong Y.-M. et al., 2017).

Таким образом, мы приходим к выводу, что в современной литературе активно исследуются проблемы влияния химических веществ с гормональной природой, подтверждающих роль их воздействия на развития и прогрессирования канцерогенеза.

1.4 ВОЗДЕЙСТВИЕ ЭСТРОГЕНОВ НА РЕПРОДУКТИВНУЮ СИСТЕМУ ПОТОМСТВА

Для повышения естественных потенциалов и увеличения показателей репродуктивности в сельскохозяйственной промышленности широко используют различные биотехнологические приемы и методы. Для стимуляции репродуктивной функции у животных часто применяют гормональные, гонадотропины, простагландины, эстрогены и натуральные половые феромоны (Сеин О. Б., Бабаева Н. В., Субботина Н. Н., 2019; Сеин О. Б., Мамаев А. В., Ярован Н. И., Субботина Н. Н., 2022; Сеин О. Б., Субботина Н. Н., 2023).

Вопрос о влиянии стероидных гормонов заинтересовал исследователей еще в 1896 г., когда британский хирург G. T. Beatson доказал «..на опыте возможность регресса РМЖ у пациентки после экспериментальной резекции яичников, тем самым показав прямую зависимость исследуемого

заболевания от продуцируемых яичниками гормонов..» (Beatson G. T., 1896). Иными словами, было установлено, что высокий уровень эстрогенов стимулирует развитие РМЖ или, по крайней мере, способствует прогрессированию возникшей опухоли эстрогензависимой ткани молочной железы. Не случайно поэтому определение стероидного гормонального рецепторного профиля у каждой пациентки с РМЖ, классификация его типов и технологий лечения сегодня являются рутинной клинической практикой.

В настоящее время многие исследователи заинтересованы изучением подобного, стимулирующего рост гормонально зависимых тканей трансгенерационного воздействия на организм эстрогенов, эстроген-активных препаратов, фитоэстрогенов и химических веществ, обладающих эстрогеноподобным эффектом, на последующие поколения (Хайруллин Р. М., Сулайманова Р. Т., Сулайманова Л. И., Бахтияров Р. И., 2014; Кенешбаев Б. К., Тулекеев Т. М., Сулайманова Р. Т., Хайруллин Р. М., 2023). Наиболее изученным в данной области, в том числе экспериментально, является воздействие на организм диэтилстильбэстрола. Это вещество было синтезировано в 1938 году (Dodds E. C., Goldberg L., Lawson W., Robinson R., 1938). Момент его выхода на рынок — 1941 год (Smith O. W., Smith G. V., 1949), а его широкое применение для предотвращения потери плода от осложнений поздней беременности началось с 1947 года (Dieckmann W. J., Davis M. E., Rynkiewicz L. M., Pottinger R. E., 1953; Swan S. H., 2000). Анализ литературных источников начала 40-х годов XX века по влиянию диэтилстильбэстрола (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 последующего поколения (то есть внуков), матери (бабушки) которых были подвергнуты воздействию DES в период беременности. Результаты ретроспективного исследования с 1946 по 1951 г., 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 г. A.L. Herbst и соавт. повторно сообщили о большей частоте выявления влагалищной прозрачноклеточной аденокарциномы в группе женщин, матери которых получали лечение DES во время беременности (Herbst A. L., Ulfelder H., Poskanzer D. C., 1971).

Последующие исследования показали влияние DES на органы генитального тракта у потомства мужского и женского пола матерей, которые участвовали в двойном слепом плацебоконтролируемом исследовании в 1951 и 1952 гг., 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 (Bibbo M., Gill W. B., Azizi F. et al., 1977). Однако по результатам последующих исследований в группах, сравниваемых с Регистром опухолей штата Коннектикут (США) за 1963–1965 гг., большей частоты случаев рака у детей мужского или женского пола не наблюдалось (Bibbo M., Haenszel W. M. et al., 1978).

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 (Boylan E. S., Calhoon R. E., 1979). Проведенное рандомизированное двойное слепое контролируемое исследование показало, что использование DES во время беременности приводит к неблагоприятным исходам, связанным с РМЖ, доброкачественным поражением шейки матки, а также расстройствам психики, особенно часто — депрессии и тревожности (Vessey M. P., Fairweather D. V., Norman-Smith B., Buckley J., 1983). 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 (Greenberg E. R., Barnes A. B., Resseguie L. et al., 1984). 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 (Rogers D. J., Randolph S. E., 2000).

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 РМЖ, который подтвердился в виде злокачественных новообразований у DES-дочерей на четвертом десятилетии

жизни, т. е. после 40 лет, в раннем предменопаузальном периоде (Palmer J. R., Wise L. A., Hatch E. E. et al., 2006).

Значительное количество современных исследований посвящено изучению влияния трансплацентарного эффекта пренатального воздействия 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 счете предоставить эффективные модели, демонстрирующие клиническую важность проблемы воздействий эстрогенов (Lamb J. C., Newbold R. R., McLachlan J. A., 1981; McLachlan J. A., Newbold R. R., Bullock B. C., 1980; McLachlan J. A., 1979; McLachlan J. A., Newbold R. R., Shah H. C. et al., 1982).

В экспериментальных воздействиях DES в дозах 1–2 мкг/кг препарата лабораторной мыши привели к опухолям гипофиза, новообразования которого состояли из клеток с эксцентричным ядром и базофильной цитоплазмой (Walker B. E., 1983). 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 (Walker B. E., Kurth L. A., 1993).

В одном из экспериментальных исследований было показано, что воздействие DES и эстрадиола валерианата в концентрации ниже 0,01 мкг/кг

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, уменьшились масса тела 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 (Goyal H. O., Braden T. D., Williams C. S. et al., 2005). При этом введение эстрогенных препаратов беременным самкам мышей в дозе 2,5 мкг/кг на животное вызывало эпителиальную гиперплазию и дисплазию в вентральной доле простаты у самцов потомства (Pylkkänen L., Mäkelä S., Valve E. et al., 1993). Моделирование субтоксического действия эстрогенов путем введения DES в дозе от 2,5 до 5,0 мкг/сут на 1 мышь или 100–200 мкг/сут на 1 кг массы мыши на 11–17-й 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 (Vom Saal F. S., Timms B. G., Montano M. M. et al., 1997). Введение DES в неонатальном периоде развития также оказывало нарушающее морфогенез репродуктивных органов воздействие (Alwis I. D., Maroni D. M., Hendry I. R. et al., 2011). Были выявлены гистопатологические изменения в матке, характеризующиеся наличием гиперплазии во внутреннем слое эндометрия, а также множество клеток в фазе апоптоза, что тоже способствует формированию неоплазий (Alwis I. D., Maroni D. M., Hendry I. R. et al., 2011). «Эти находки были подтверждены последующими исследованиями на тканевых и клеточных структурах молочной железы, они явно указывают не только на важные функциональные, но и на мутагенные и канцерогенные эффекты воздействия эстрогенов» (Kutanzi K. R., Koturbash I., Bronson R. T. et al., 2010).

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 период), 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 дозами эстрогенов общепризнаны эксперименты французского исследователя А. Lacassagne, который в 1932 г. выяснил, что на функционирование яичников влияет фолликулин (эстрогенный гормон), состоящий из комплекса гормонов, способных вызывать образование рака в эстрогензависимых органах у экспериментальных животных. Появление РМЖ 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. Lacassagne 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 (Lacassagne A., 1932).

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 (Юсупова Л. Р., Сулайманова Р. Т., Магадеев Т. Р. и др., 2013; Сулайманова Р. Т., Ахметова Н. Д., Исламгареева Д. О., 2017; Khayrullin R. M., Sulaymanova R. T., Yusupova L. R., 2017).

Для того чтобы доказать токсический эффект препаратов с эстрогенной активностью в дозе, превышающей 10 мкг/кг на мышь, Б. В. Ключарев (1954) лабораторным животным вводил 0,5 мл 1% раствора синэстрола внутримышечно 1 раз в неделю, что составило дозу более 5000 мкг/кг на животное. Токсичность дозы (как и предполагалось автором) была подтверждена у грызунов снижением двигательной активности и потерей волосяного покрова (Ключарев Б. В., 1954).

В исследованиях Л. Гаччиладзе (1967) было выяснено, что кратковременное воздействие эстрогенов в дозе 50 мкг/кг на мышь 3 раза в неделю приводит к дистрофическим изменениям яичника, структурным и гистохимическим изменениям в молочной железе, которые являются пусковым механизмом в развитии неоплазий (Гаччиладзе Л. Ф., 1967).

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 (Максаев Д. А., Свирина Ж. А., Анисимова С. А., 2016). 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 (Silva E. G., Tornos C., Deavers M., Kaisman K., 1998).

В то же время экспериментальная оценка трансгенерационного эффекта синэстрола на морфологию семенников в дозе 40 мкг/кг на мышь

внутримышечно в стадии E11.5 не выявила существенного влияния на структурно-функциональные показатели сперматогенного эпителия в постнатальном онтогенезе (Khairullin R. M., Sulaymanova R. T., Baybulatova A. M. et al., 2018). Рядом авторов показано, что воздействие в критические периоды закладки и развития вызывает необратимые изменения в тканях-мишенях репродуктивных органов у потомства мышей, получавших 17 β -эстрадиол в дозе 20 мкг/кг на 1 мышью в течение 3 дней (Beckman W. C., Newbold R. R., Teng C. T., McLachlan J. A., 1994). Повторное однократное введение уменьшенной в целом до 50 мкг/кг дозы (в данном случае — токсической) привело уже к необратимым злокачественным изменениям в репродуктивных органах потомства женского пола (Kimura T., Kawashin S., Nishizuka Y., 1980).

Эффект пренатального введения токсической дозы эстрогенов 50 мкг/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 (Хайруллин Р. М., Сулайманова Р. Т., Сулайманова Л. И. и др., 2018; Khayrullin R. M., Sulaymanova R. T., 2018).

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, нефрэктомией и их сочетанием у золотистых хомячков на фоне ежемесячного введения им 2 и 20 мкг/кг синэстрола в течение 450 дней наблюдались следующие изменения: у самцов выявлялись 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 (Курцхалидзе Е. Д., 2005).

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 изменения в репродуктивных органах, проявляющиеся во взрослом периоде жизни у потомства, обусловленные пренатальной гиперэстрогенией. В связи с этим была предпринята попытка разработать экспериментальную модель воздействия эстрогенов на развитие гонад у потомства, проявляющуюся в разной степени морфологических изменений в зрелом возрасте (Сулайманова Р. Т., Хайруллин Р. М., Имаева А. К. и др., 2018; Сулайманова Р. Т., Мурзабаев Х. Х., Рахматуллина И. Р. и др., 2019).

Как известно, дозы препаратов выражаются в единицах действия, а также в единицах измерения. В указанной модели учитывалось соответствие 1 мкг/кг препарата синэстрола к 10000 единицам условной эстрогенной активности, что аналогично активности препаратов, близких по химическим и биологическим свойствам (Арзамасцев Е. В., Гуськова Т. А., Березовская И. В., 2005). Экспериментальная модель, на которую был получен патент РФ, доза препарата масляного 2 % раствора синэстрола составила 25, 40 и 50 мкг/кг массы беременной самки мыши в день, эта доза вводилась на 11 сутки беременности (стадии E11.0–E11.5 (Курило Л. Ф., 2011)) однократно в период дифференцировки заложенных яичников и семенников.

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 (Сулайманова Р. Т., Хайруллин Р. М., 2017; Khayrullin R. M., Sulaymanova R. T., Bakhtiyarov R. I. et al., 2015).

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 свинки — 100 г, крысы — 200 г. Как видно из таблицы 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 краткими 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 2–3 месяцев получить новые поколения потомства после проведения испытаний на их родителях и/или прародителях.

Экспериментальные исследования воздействия 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 (Kutluhan M. A., Şahin A., Ürkmez A. et al., 2020).

Кроме того, в мужском организме эстрогены подвергаются метаболизму, отличному от женского организма. Органы и ткани репродуктивной системы потомства женского пола более чувствительны к воздействию эстрогенов и их аналогов (Сыч Л. Ф., Беляев В. А., Сафоновская

Е. В., Переверзева Я. И., 2012; Khayrullin R. M., Sulaymanova R. T., Kumar Sh. P. et al., 2018).

Наиболее часто в исследованиях использовался DES (Lamb J. C., Newbold R. R., McLachlan J. A., 1981; McLachlan J. A., Newbold R. R., Bullock B. C., 1980; McLachlan J. A., 1979; Alwis I. D., Maroni D. M., Hendry I. R. et al., 2011; Vom Saal F. S., Timms B. G., Montano M. M. et al., 1997; McLachlan J. A., Newbold R. R., Shah H. C. et al., 1982; Walker B. E., 1983). Препарат вводился подкожно и внутримышечно в относительно поздний период беременности животных, в частности, на 9 и 16 дни беременности у мышей, так как этот временной интервал соответствует периоду развернутого органогенеза репродуктивного тракта (Newbold R. R., MacLachlan J. A., 1982).

Большинство исследователей воздействовали препаратом DES однократно, но некоторые, например F.S. Vom Saal и соавторы (Vom Saal F. S., Timms B. G., Montano M. M. et al., 1997), вводили препарат в течение 6 дней для определения субтоксического действия эстрогенов в дозе 2,5 – 5 мкг/сут на 1 мышью или 100–200 мкг/сут на 1 кг массы мыши на 11–17 дни беременности. Наиболее часто применялись дозы в диапазоне от 2,5 до 200 мкг/кг. Дозировка существенно зависит от вида экспериментального животного. Суточная доза эстрогенов в различных экспериментах составляла от 25 до 100 мкг/кг, суммарная — от 25 до 2220 мкг/кг 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. Кроме того, наблюдалось повышение

активности маркеров, которые являются сигналами о проканцерогенных изменениях на молекулярно-генетическом уровне, а также 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.

Таким образом, далеко неблагоприятные, а в ряде случаев тератогенные эффекты трансгенерационного отсроченного воздействия эстрогеновых препаратов, широко используемых для поддержания беременности и предотвращения ее невынашивания, на морфогенез и функциональную полноценность органов репродуктивной системы потомства многократно доказаны в различных экспериментальных исследованиях.

Безусловно, неоднозначность эффектов, получаемых на разных структурных уровнях, в различных экспериментальных моделях с использованием индивидуальных доз разных препаратов и разных видов животных, требует 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 склоняются к мысли о необходимости максимальной возможности экстраполяции полученных результатов на клиническую практику, на млекопитающего.

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 млекопитающем доказано, то еще

открытым остается вопрос о ее эпигенетических эффектах не только на первое, но и на последующие поколения.

Экспериментальные исследования в этом направлении пока не проводились, в то же время клиническими наблюдениями они показаны. Совершенно не изученным остается трансгенерационное воздействие препаратов с обратным антиэстрогенным эффектом, широко применяемых для лечения 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 патологии и онкопатологии органов репродуктивной системы у человека.

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

Автор, год	Вид	Пол	Препарат	Продолжительность и частота	Суточная доза	Суммарная доза	Орган-мишень	Эффекты
McLachlan J.A. (1979)	Мышь	ж	Диэтил-стильбэстрол (DES)	От 9 до 16 дней беременности, подкожно, однократно	100 мкг/кг	100 мкг/кг	Влагалище. Шейка матки. Матка	Снижение способности фертильности, рак влагалища, шейки матки, матки и аномалии яйцевода
		м					Семенные пузырьки	Кисты придатка яичка, крипторхизм, узловые образования в семенных пузырьках и предстательной железе
Kimura T. (1980)	Мышь	ж	17 β -Эстрадиол	На 17 день жизни плода, однократно	50 мкг/кг	50 мкг/кг	Шейка матки. Влагалище	Необратимые злокачественные изменения репродуктивных органов
Walker B.E. (1993)	Мышь CD-1	ж	Диэтил-стильбэстрол (DES)	Однократно, во время поздней беременности	40 мкг/кг (1–2 мкг на 1 г массы)	40 мкг/кг	Яичник. Гипофиз	Опухоли яичников, опухоли гипофиза
Beckman W.C. (1994)	Мышь	м	17 β -Эстрадиол	В течение 3 дней	20 мкг/кг на 1 животное	60 мкг/кг	Семенные пузырьки	Необратимые изменения в тканях-мишенях репродуктивных органов

Продолжение таблицы 1

Автор, год	Вид	Пол	Препарат	Продолжительность и частота	Суточная доза	Суммарная доза	Орган-мишень	Эффекты
Vom Saal F.S. (1997)	Мышь	м	Диэтил- стильбэстрол (DES)	6 дней (11–17 день жизни плода)	0,02 мг — 20 мкг/кг, 0,2 мг — 200 мкг/кг, 2,0 мг — 2000 мкг на 1 кг массы в сутки	2220 мкг/кг	Предстательн ая железа	Тормозящее (неканцерогенное) воздействие на развитие репродуктивного тракта (потомства)
Alwis I.D. (2011)	Хомяк	ж	Диэтил- стильбэстрол (DES)	Однократно, в период беременности	100 мкг	100 мкг/кг	Матка, яичник	Гистопатологические изменения в матке, шейке матки, гиперплазия эндометрия, кистозные фолликулы в яичнике
Хайруллин Р.М., Сулайманова Р.Т. (2018)	Мышь	ж	Синэстрол 2%	Однократно, на 11 сутки беременности, внутримышечно	25, 40, 50 мкг/сут на 1 кг массы	25, 40, 50 мкг/кг	Яичник	Повышение активности маркеров, которые являются сигналами о проканцерогенных изменениях на молекулярно-генетическом уровне, структурные изменения и снижение фертильности

1.5 СТРОЕНИЕ ЖЕНСКИХ ПОЛОВЫХ ЖЕЛЁЗ

«Яичники — половые железы, входящие в состав органов женской половой системы, выполняющие важные функции: генеративную (развитие половых клеток) и эндокринную (выработка женских половых гормонов). Эндокринная функция начинает проявляться по достижении половой зрелости организма» (Афанасьев Ю. И., Юрина Н. А., 2019).

«Яичники являются парными органами и анатомически расположены в полости малого таза асимметрично на заднем листке широкой связки матки, прикреплены нижним краем к короткой части брыжейки (*mesovarium*)» (Обухова Ю. Д., 2016). «В своем составе яичники имеют две связки: первая — собственная связка, связывающая яичник с маткой, заканчивающаяся сзади, ниже маточной трубы; вторая — воронко-тазовая связка, которая направлена к боковой стенке таза от верхнего полюса яичника» (Сапин М. Р., Никитюк Д. Б., Николенко В. Н., Клочкова С. В., 2021).

«В органе различают два конца: верхний обращен к маточной трубе, *extremitas tubaria*; противоположный нижний, *extremitas uterina*, соединен с маткой особой связкой (*lig. ovarii proprium*). В яичниках различают две поверхности, *facies lateralis et medialis*, которые отделены друг от друга краями: задним краем, *margo liber*, передним, краем, брыжеечным, *margo mesovaricus*. В ворота яичника, *hilum ovarii*, входят сосуды и нервы» (Манских В. Н., 2016; Привес М. Г., Лысенков Н. К., Бушкович В. И., 2022).

Строма яичников представлена покровным эпителием, представляющим собой видоизмененный мезотелий. «... она регулярно разрывается при овуляции, после чего быстро пролиферирует, замещая дефект. Часто служит источником развития опухолей (до 60% всех новообразований яичника)...» (Диндяев С. В., Виноградов С. Ю., 2020). Строма яичника представлена белочной оболочкой, которая состоит из плотной волокнистой соединительной ткани.

В паренхиме органа выделяют корковое вещество, которое состоит из «фолликулов разной степени зрелости (лат. *folliculus* — уменьшительное от

follis — мех, кошель), содержащих овоцит первого порядка, и структур, являющихся производными фолликулов — желтого тела, белого тела, атретического тела и мозгового вещества, содержащего интерстициальные (гилусные) клетки, эпителиальные тяжи (рудиментарные каналы), нервные ганглии» (Диндяев С. В., Виноградов С. Ю., 2020).

Снаружи яичники покрыты однослойным покровным, герминальным эпителием, под которым находится белочная оболочка (*tunica albuginea*), представленная плотной волокнистой соединительной тканью из коллагеновых волокон и клеток фибробластического ряда. При овуляции слоистая белочная оболочка способна преобразовываться несмотря на кажущуюся ригидность и плотность (Данилов Р. К., Боровая Т. Г., 2018; Манских В. Н., 2016).

«Покровный эпителий яичника обладает полипотентным свойством, в следствии чего его называют зачатковым, зародышевым» (Афанасьев Ю.И., Юрина Н. А., 2019). «Поверхностный эпителий яичника расположен на базальной мембране, которая отделяет его от подлежащей стромы и играет важную роль в трактовке гистогенеза рядов опухолей этого органа» (Нейштадт Э. Л., Ожиганова И. Н., 2017).

«На срезе органа под белочной оболочкой различимы корковое (*cortex ovarii*) и, глубже, мозговое вещество (*medulla ovarii*)» (Кузнецов С. Л., Мушкамбаров Н. Н., 2005), это классическое строение яичников млекопитающих. Однако существуют особенности в морфологии яичников других млекопитающих, например, у кобыл. Свободный край яичника кобыл вогнут, на нем находится четко выраженная яичниковая, или овуляционная ямка (*fossa ovulationis*) представленная корой яичника, выстлана зачатковым эпителием, где происходит овуляция. Брыжеечный край выпуклый и имеет значительную длину, в нем сосредоточена сосудистая зона яичника, образующая мозговое вещество (Камфарин Д. П., Колодий И. В., 2013; Ginther O. J., 1995).

Образованная из разрастающейся мезенхимы соединительная строма яичника (*stroma ovarii*) представлена рыхлой соединительной тканью самого «простого варианта», состоящей из разнонаправленных эластических и

коллагеновых волокон, между которыми находятся клеточные элементы, предшественники разных клеточных линий дифференцировки, в том числе полигональной формы эндокриноцитов (стероидопродуцирующие), веретенообразные клетки схожи с фибробластами и фиброцитами, тучные, гладкомышечные, а также разные формы лейкоцитов (Боровая Т. Г., 1993; Боярский К. Ю., 2002; Гуськова Т. А., 2010).

Строма коркового вещества гонад представлена соединительной тканью, в состав которой входят клетки веретеновидной формы, проявляющиеся как набухшие фибробласты, тесно расположенные в межклеточном веществе, мелкие кровеносные сосуды, нервы, а также большое количество фолликулов, являющихся основной структурно-функциональной единицей яичника. Тяжи клеток и волокон проходят в разных направлениях (Брюхин Г. В., Вторушина Е. В., 2004; Хэм А., Кормак Д., 1982).

«Морфогистологическая картина коркового вещества представлена большим количеством клеток по отношению к межклеточному веществу, и поэтому на срезах видно множество ядер. Корковое вещество состоит из тесно расположенных веретеновидных клеток, межклеточного вещества в нем мало, а в тонкой внешней зоне этого вещества прослеживается рыхлая волокнистая соединительная ткань с мелкими сосудами и нервами» (Хэм А., Кормак Д., 1982).

Мозговое вещество яичников содержит большое количество кровеносных сосудов, распадающихся на более мелкие и проходящие в корковое вещество органа, среди которых выделяются спиралевидные артерии, венозные сплетения и нервы (Терехова М. Н., 1994; Дуденкова Н. А., 2015; Broekmans F. J., Visser J. A., Laven J. S. et al., 2008; Fortune J. E., Rivera G. M., Yang M. Y., 2004). В яичниках с наступлением половой зрелости происходит циклическое созревание фолликулов и половых клеток — фолликулогенез. В женских половых гонадах обнаруживаются фолликулы на разных стадиях развития. Фолликулы яичников классифицируются согласно международной номенклатуре (2009, 2014) на примордиальный, первичный (однослойный, или униламинарный, многослойный, или мультиламинарный), вторичный (с небольшими полостями в гранулезе),

третичный (антральный, везикулярный). Для каждой стадии развития фолликулов характерны разные размеры и особенности морфологического строения оболочек (Данилов Р. К., Боровая Т. Г., 2018; Иванов Ю. Н., Клочков Д. В., Позняков М. А., 2011; Клочков Д. В., Алехина Т. А., Прокудина О. И., 2011; Лебедева Т. С., Храмова Ю. В., 2014; Karaca T., Uslu S., 2007; Lima F. B., Szawka R. E., Anselmo-Franci J. A., Franci C. R., 2007).

С наступлением половой зрелости репродуктивные органы женской половой системы подвержены циклическим изменениям, которые протекают в организме при участии нейроэндокринных стимулов и находятся под влиянием факторов внешней и внутренней среды (Кустаров В. Н., Линде В. А., Ильяшевич В. И., 2008; Торгун П. М., Лободин К. А., Нежданов А. Г., Мозговая Е. И., 2019; Павленко О. Б., 2020; Нежданов А. Г., Сафонов В. А., Ермолова Т. Г. и др., 2020).

В яичнике в течении жизни происходит «постоянная перестройка микроциркуляторного русла, формирование и рост различных функциональных структур: фолликулов на разных стадиях развития, атретических фолликулов, желтых тел» (Данилов Р. К., Боровая Т. Г., 2018). «Атретические фолликулы содержат сморщенную, утолщенную, блестящую оболочку, состоят из текоцитов и интерстициальных клеток» (Душкина Е. А., 2014).

Производным фолликулов является «желтое тело — орган с обильной васкуляризацией и интенсивным стероидогенезом. Оно формируются в яичниках после овуляции зрелого фолликула из лютеинизированных клеток внутренней теки и периферических клеток зернистого слоя» (Вихляева Е. М., 2006). Желтое тело состоит из клеток двух типов: гранулезолютеиновых — располагаются в центре, синтезируют прогестерон, и текалютеиновых — располагаются по периферии, продуцируют эстрогены (Вихляева Е. М., 2006; Волкова О. В., 1989; Волкова О. В., 1983; Emperaire J.-C., 1999).

Желтые тела формируются после овуляции зрелого фолликула из лютеинизированных клеток внутренней теки и периферических клеток зернистого слоя. Подобно доминантному фолликулу, желтое тело доминирует, угнетая рост фолликулов в обоих яичниках (Боярский К. Ю., 2002; Сафонов В. А., Нежданов А. Г., Михалев В. И. и др., 2020).

Таким образом, углубленное изучение морфологических изменений в экспериментальных моделях яичников потомства могут добавить новые сведения к пониманию причин бесплодия у потомства женского пола, патоморфологических нарушений в органе, репродуктивных рисков возникающих под воздействием гормоноподобных веществ с эстрогенной активностью.

1.6. СТРОЕНИЕ МУЖСКИХ ПОЛОВЫХ ЖЕЛЁЗ

«Мужская половая система и мужская половая железа — семенник — являются одной из самых сложных, тесно взаимосвязанных систем в организме человека и млекопитающих» (Сизоненко М. Л., 2015).

Семенник снаружи покрыт брюшиной оболочкой, под ней находится оболочка из плотной соединительной ткани (белочная оболочка), которая состоит из большого количества волокнистой ткани, внутренний слой называют сосудистой оболочкой из-за обилия кровеносных сосудов (Артифексов С. Б., Артюхин А. А., 2007; Бойчук Н. В., Исламов Р. Р., Улумбеков Э. Г., Челышев Ю. А., 1995).

Задний край органа утолщен и образует капсулу, которая ведет вглубь железы и образует соединительно-тканые прослойки. В центральной части железы находятся неполные перегородки, от которой они отходят, такое образование называют тестикулярным средостением (Самусев Р. П., Зубарева Е. В., 2011; Russell L. D., Ettlín R. A., Hikim A. P., Clegg E. D., 1990).

«Средостение каждого яичка пронизано протоками, выстланными эпителием. Эти протоки образуют сеть яичка. Все семенные каналы яичка открываются в полость протоков сети яичка» (Бойчук Н. В., Исламов Р. Р., Улумбеков Э. Г., Челышев Ю. А., 1995).

«От средостения внутрь семенника отходят перегородки, которые разделяют семенник на дольки конической формы» (Кузнецова Т. Е., Манеева О.

А., Рыжковская Е. Л., 2006). «Каждая долька конической формы содержит от одного до четырех извитых семенных канальцев» (Малишкіш І. Н., 2000).

«Между канальцами в семеннике расположена рыхлая соединительная ткань стромы. В ней содержатся клетки Лейдига, осуществляющие эндокринную регуляцию. Генеративная функция (сперматогенез) осуществляется в извитых семенных канальцах, их стенка представлена специализированным однослойным эпителием, часто называемым сперматогенным. Эпителий состоит из двух популяций клеток: сперматогенных клеток (сперматогонии типа А и В, сперматоциты первого и второго порядков, сперматиды и сперматозоиды) и эпителиальных поддерживающих клеток (суспендоциты, клетки Сертоли)» (Данилов Р. К., Боровая Т. Г., 2016; Данилов Р. К., Боровая Т. Г., 2018).

«Семенник состоит из множества извитых семенных канальцев, в которых происходит созревание сперматозоидов после наступления половой зрелости. У многих животных этот процесс имеет сезонный характер, а у других видов, в том числе и человека, происходит постоянно» (Нишлаг Э. и др., 2005).

«Извитые семенные канальцы переходят в прямые, по которым сперматозоиды попадают в сеть семенника» (Данилов Р. К., Боровая Т. Г., 2016). «Сеть семенника — это система анастомозирующих тонкостенных трубочек, продолжающаяся в выносящие канальцы придатка семенника, в котором накапливаются сперматозоиды» (Хэм А., Кормак Д., 1982).

«Семенные канальцы образуют свою оболочку из базального, миоидного и фиброзного слоев. Внутренняя выстилка канальца содержит сперматогенный эпителий, расположенный на базальной мембране. Базальный слой (внутренний фиброзный слой), расположенный между двумя базальными мембранами (сперматогенным эпителием и миоидными клетками), состоит из сети коллагеновых волокон» (Сизоненко М. Л., 2015).

«Миоидные клетки хорошо развиты и обладают сократимостью, благодаря чему семенным канальцам присущи небольшие ритмические сокращения» (Т.Н. Харченко, 1988). Наружную часть базальной мембраны покрывает непрерывный слой миоидных клеток в форме чешуек, у млекопитающих они напоминают

гладкомышечные клетки и содержат актиновые микрофиламенты (Мирский В. Е., Михайличенко В. В., Заезжалкин В. В., 2003; Пальцев М. А., Аничков Н. М., 2001).

«Эпителиосперматогенный слой имеет две основные популяции клеток, они находятся в тесной морфофункциональной связи — это гаметы с их предшественниками на различных стадиях дифференцировки (сперматогонии, сперматоциты первого порядка, сперматоциты второго порядка, сперматиды, сперматозоиды) и поддерживающие клетки Сертоли, или сустентоциты» (Топка Э. Г., Горпинченко И. И., Малышкин И. Н., 1993).

«Сустентоциты располагаются на базальной мембране, по форме напоминают пирамиду, своей вершиной достигают просвета извитого семенного канальца» (Афанасьев Ю. И., Юрина Н. А., 2019).

Между соседними клетками Сертоли образуются зоны плотных контактов, которые подразделяют сперматогенный эпителий на наружное базальное и внутреннее адлюминальное пространства. В базальном пространстве находятся только сперматогонии. В адлюминальном пространстве располагаются сперматоциты первого и второго порядков, сперматиды и сперматозоиды (Афанасьев Ю. И., Юрина Н. А., 2019; Улумбеков Э. Г., Чельшев Ю. А., 2001).

Поддерживающие клетки создают микросреду, необходимую для дифференцирующихся половых клеток, препятствуют развитию иммунных реакций и обособляют формирующихся половые клетки от токсических веществ и различных антигенов. Клетки Сертоли обеспечивают питательными веществами, фагоцитируют остатки цитоплазмы формирующихся сперматозоидов, а также секретируют жидкость для транспорта сперматозоидов в семенных канальцах. Морфофункционально различают два вида поддерживающих клеток — светлые (продуцируют ингибин — фактор, тормозящий секрецию ФСГ аденогипофизом) и темные (продуцируют фактор, стимулирующий деление половых клеток) (Афанасьев Ю. И., Юрина Н. А., 2019; Држевецкая И. А., 2000; Сизоненко М. Л., 2015).

«Половая система реализует фундаментальную биологическую функцию сохранения и поддержания процесса жизни. Репродукция является основным и сложным свойством жизни. Репродукция выполняет две основные функции — генеративную и эндокринную, они обеспечивают процессы жизнедеятельности организма с самых начальных этапов его развития» (Устинкина Т. И., 2007).

Сперматогенез — компонент репродукции, который относится к сложной динамической системе развития мужских половых клеток, генетически строго детерминированная, упорядоченная, устойчивая, жестко подчиняющаяся пространственно-временным закономерностям (Сизоненко М. Л., 2015; Торгун П. М., Воронцова З. А., Ульянов И. А., 2020; Торгун П. М., Никитюк Д. Б., Ключкова С. В и др., 2020). Образование мужских половых гамет включает в себя такие процессы, как самообновление и коммитация стволовых клеток, пролиферация и клеточная гибель, репарация и регенерация, мейоз и дифференцировка (Захидов С. Т., Гопко А. В., Маршак Т.Л. и др., 2007; Ульянов И. А., Воронцова З. А., Торгун П. М. и др., 2022).

По мнению М. Л. Сизоненко (2015): «детальное и всестороннее изучение этих фундаментальных биологических явлений на экспериментальных моделях может дать новые ключи к раскрытию регуляторных механизмов, лежащих в основе образования, репродукции, роста и созревания сперматогенных клеток, и к пониманию причин мужского бесплодия, генетических и репродуктивных рисков, возникающих при влиянии тех или иных воздействий» (Сизоненко М. Л., 2015).

Изучения проблем гаметогенеза как в норме, так и в условиях, не соответствующих оптимальным, всегда актуальна. Ведь именно половые клетки связывают поколения, противостоят беспорядку, гарантируют непрерывность жизненного процесса и бессмертие генов (Захидов С. Т., Гопко А. В., Маршак Т. Л. и др., 2007; Болтнев Е. А., Торгун П. М., Болтнев А. И., 2019; Котарев В. И., Ульянов А. Г., Торгун П. М., 2019).

Как указывает Э. И. Валькович (2003): «...формирование мужской половой системы человека — длительный процесс, не заканчивающийся в эмбриональном

периоде, а продолжающийся после рождения, до достижения организмом половой зрелости» (Валькович Э. И., 2003).

«Клетки сперматогенного эпителия в семенниках половозрелых млекопитающих включаются в процесс сперматогенеза, который представляет собой длинную цепь цитологических превращений, приводящих к образованию из относительно недифференцированного сперматогония высокоспециализированной клетки — сперматозоида» (Thankamony A., Pasterski V., Ong K. K. et al., 2016).

Образование мужских половых гамет протекает в четыре периода: размножения; роста; созревания, включая мейоз; период формирования, завершается появлением сперматозоидов (Молнар Е., 1969; Соколов И. И., 1966). «Пространство, в котором происходят все клеточные изменения в стенках канальца, можно разделить на две широкие зоны: базальную, прилежащую к мембране, ограничивающей каналец, и адлюминальную, то есть расположенную ближе к просвету канальца» (Евдокимов В. В., Селиванов Т. О., 2006).

«Среди сперматогонии можно выделить два типа клеток: стволовые сперматогонии, которые подразделяются на две субпопуляции: долгоживущие, резервные стволовые клетки и быстро обновляющиеся полустволовые клетки, которые делятся один раз в течение цикла сперматогенного эпителия; дифференцирующиеся сперматогонии» (Волошин Н. А., Тополенко Т. А., 2009).

«Сперматиды представляют собой небольшие округлые клетки со сравнительно крупными ядрами. Скапливаясь около вершечек поддерживающих клеток, сперматиды частично погружаются в их цитоплазму, что создает условия для формирования сперматозоидов из спарматид» (Афанасьев Ю. И., Юрина Н. А., 2019).

Вблизи просвета канальца сперматиды подвергаются метаморфозу, превращаясь в сперматозоиды. В ходе такого превращения сперматиды отделяются друг от друга и становятся «свободноживущими» клетками (Молнар Е., 1969; Плехова Е. И., Хижняк О. О., Левчук Л. П., 2000; Топка Э. Г., Горпинченко И. И., Малышкин И. Н., 1993).

«После превращения сперматиды в сперматозоид неиспользованный при таком метаморфозе избыток цитоплазмы отбрасывается клеткой в виде остаточного тельца, которое фагоцитируется поддерживающей клеткой» (Дроздов А. Л., Иванков В. Н., 2000).

В сперматозоиде наблюдается тонкий слой, покрывающий ядро, среднюю часть жгутика и хвост (кроме его конечной части) (Боголюбов С. В., Поздняков О. Б., Артамонов А. А., Алисенов А. М., 2014; Morteza K., Mansoureh M., Seyed J. M., Namid G., 2012).

Иногда сперматогенез у некоторых объектах в научной литературе принято подразделять на три этапа, так как рост мужских половых клеток в ходе сперматогенеза выражен слабо (Реунов А. А., 2005; Bloom W., Fawcett D. W., 1975).

Трехэтапная схема сперматогенеза считается традиционной и характерна для всех животных с модифицированными сперматозоидами, включая позвоночных (Scheltinga D. M., Jamieson B. G., Espinoza R. E., Orrell K. S., 2001; Fawcett D. W., 1975).

«Первым этапом сперматогенеза является сперматоцитогенез, в котором происходит размножение сперматогониев» (Bloom W., Fawcett D. W., 1975). «Размножение сперматогониев сопровождается образованием рядов поколений, причем каждое последующее поколение становится более дифференцированным, чем предыдущее» (Джером Ф. Штраус III, Роберт Л. Барбьери, Антонио Р. Гарджуло, 2022).

Сперматогонии располагаются на базальной мембране извитых семенных канальцев. С морфологической точки зрения сперматогонии представляют собой округлые или овальные клетки с эндоплазматической сетью, аппаратом Гольджи, помимо большого количества рибосом и полисом. Особенностью сперматогониев является наличие детерминант пола (зародышевой плазмы). Некоторые исследователи указывают на то, что в образовании этого вещества участвует митохондриальный матрикс (Долгов В. В., Луговская С. А., Фанченко Н. Д. и др., 2006; Реунов А. А., 2005).

«Для млекопитающих существует четкая классификация сперматогониев в зависимости от морфологии ядер, у различных групп млекопитающих количество групп, на которые можно поделить всю популяцию сперматогониев, будет отличаться. Так, у грызунов сперматогоний делят на 3 популяции: А — незрелые, В — зрелые и сперматогоний промежуточного типа» (Данилова Л. В., 1982).

«Следующим этапом сперматогенеза является мейоз, в результате которого образуются сперматиды с гаплоидным набором хромосом. Первичные сперматоциты имеют тот же набор органелл, что и сперматогонии, а также сходные размеры» (Реунов А. А., 2005).

«Отростки sustentocytov проникают между базальной мембраной и сперматоцитами и смещают клетки, в результате чего сперматоциты перемещаются к просвету. В конце интерфазы количество ДНК в сперматоцитах первого порядка удваивается» (Дум М., 1994).

Очень чувствителен к повреждающим действиям эпителиосперматогенный слой извитого семенного канальца (Малишкіш І. Н., 2000; Сизоненко М. Л., 2015; Arbuckle T. E., Scharader S. M., Cole D. et al., 1999; Hess R. A., Franca R. L., 2008).

При таких экспериментальных исследованиях, как интоксикация, авитаминозах, гипотрофии и других состояниях, особенно при воздействии ионизирующего излучения на гонады мужской половой системы наблюдались изменения в виде атрофии сперматогенного эпителия, ослабление, прекращение сперматогенеза (Мамина В. П., Шейко Л. Д., 2001; Нарбутова Т. Е., 2011; Камилов Ф. Х., Галимов Ш. Н., Акметдинов Э. Ф. и др., 2002).

Временной цикл развития сперматогенеза стабилен и отличается видовой специфичностью, продолжительность всего процесса сперматогенеза составляет у человека 74,4 дня, у крыс и мышей этот срок равен 48 дням (Джером Ф. Штраус III, Роберт Л. Барбьери, Антонио Р. Гарджуло, 2022; Chang C., Chen Y. T., Yen S. D. et al., 2004; Baker H. W. G., Brindle J., Irvine D. S., Aitken R. J., 1996).

«В семенниках имеются интерстициальные эндокриноциты (клетки Лейдига), которые располагаются скоплениями между семенными канальцами в

рыхлой соединительной ткани (интерстиции). Они вырабатывают мужской половой гормон тестостерон» (Демченко В. Н., 1983).

«Зрелые клетки Лейдига семенников млекопитающих характеризуются хорошо развитым гладким эндоплазматическим ретикулулом тубулярного, тубуло-везикулярного или везикулярного типа, а также развитым комплексом Гольджи» (Шевлюк Н. Н., Блинова Е. В., Боков Д. А., Рыскулов М. Ф., 2014).

«Зернистая эндоплазматической сеть, как правило, развита слабо. Цитоплазма этих клеток содержит многочисленные митохондрии с электронно-прозрачным матриксом и кристами тубуловезикулярного типа, а также липидные капли различного размера и электронной плотности. Для клеток Лейдига характерны тесные взаимодействия структур гладкой эндоплазматической сетью, митохондрий и липидных капель. В цитоплазме этих клеток нередко отмечается высокое содержание фибриллярных структур (как правило, в условиях сниженной секреторной активности)» (Волков В. П., 2015).

Таким образом, детальное и углубленное изучение морфологических изменений в экспериментальных моделях семенников потомства могут добавить новые сведения к пониманию причин мужского бесплодия, патоморфологических нарушений в органе, репродуктивных рисков возникающих под воздействием веществ с эстрогенной активностью.

Наиболее чувствительными к повреждающим воздействиям веществ с эстрогенной активностью в пренатальный период являются клетки и ткани семенников потомства. Образование мужских половых клеток связано с процессами, как самообновление, пролиферация и апоптоз, репарация и регенерация, мейоз и дифференцировка. Репродуктивные органы обеспечивают процессы жизнедеятельности с самых начальных этапов его развития, выполняя эндокринную и генеративную функцию. Проблема репродуктивного здоровья является приоритетной и актуальной в отечественной науке, которая затрагивает рождение будущего здорового поколения.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В настоящей главе научной работы излагаются методы проведения пренатальных экспериментальных исследований на белых беспородных лабораторных мышах, а также применение методов исследований в постнатальном онтогенезе: соматометрических, гистологических, иммуногистохимических (ИГХ), морфометрических и статистических — на полученном потомстве экспериментальных животных.

Экспериментальные исследования выполнялись на 267 белых беспородных лабораторных мышах. При работе с экспериментальными животными руководствовались с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета европейского союза по охране животных, используемых в научных целях. Одобрено Экспертным советом по биомедицинской этике ГБОУ ВПО «БГМУ» Минздравсоцразвития России (протокол № 3 от 17.03.2014). Все экспериментальные манипуляции выполнены в соответствии с Женевской конвенцией «International Guiding Principles for Biomedical Involving Animals» (Geneva, 1990), а также Хельсинской декларацией Всемирной медицинской ассоциации о гуманном отношении к животным (редакция 2000 г.).

Настоящее исследование было выполнено в соответствии с темой научно-исследовательской работы «Морфологические особенности репродуктивной функции млекопитающих в условиях воздействия экологических факторов» (регистрационный номер НИОКТР 01201463136, дата регистрации — 19.05.2014).

Выбор данной модели лабораторных животных связан с широким использованием их в биомедицинских исследованиях (около 59% общего числа используемых животных), они сохраняют почти 99% человеческих генов и физиологически напоминают человека, беременность мышей длится довольно короткий срок (19–21 дней), что позволяет получить потомство в сжатые сроки (Dutta S., Sengupta P., 2016).

Экспериментальные животные получены из питомника ГУП ДП ПСХ «Питомник лабораторных животных», расположенный по адресу: Республика Башкортостан, Чишминский район, с. Горный. Экспериментальные животные содержались на сбалансированном пищевом рационе при свободном доступе к воде и пище. Условия вивария и содержания животных соответствуют РД-АПК 3.10.07.02-09 «Методические рекомендации по содержанию лабораторных животных в вивариях научно-исследовательских институтов и учебных заведений», другим санитарным нормам и требованиям ветеринарного контроля и надзора работ с лабораторными и экспериментальными животными (лицензия № 99-04-000097 от 25.01.2005 Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения и социального развития (справка представлена от филиала ФГУП «НПО «Микроген» Минздрава России в г. Уфа НПО «Иммунопрепарат» от 11.03.2014).

Белые беспородные лабораторные мыши были разделены на 9 экспериментальных групп в каждой по 3 самки в эструсе и 1 самец. Для увеличения количества животных (потомства) эксперимент был проведен в три этапа (таблица 2).

Все самки экспериментальных групп были репродуктивного возраста с нормальным течением эстрального цикла. Определение стадий цикла проводилось по соотношению клеточных элементов в вагинальном мазке на основе характеристики эстрального цикла (Cora M. C., Kooistra L., Travlos G., 2015). Классификация периодов жизни мышей: период новорожденности (1–5 дни), подсосный период (6–21 дни), период полового созревания (22–50 дни), период половой зрелости (после 60-го дня) (Западнюк И. П., Западнюк В. И., Захария Е. А., Западнюк, Б. В. 1983).

Таблица 2 — Наименование групп и количество животных в различных сериях экспериментального исследования

Наименование группы	Эксперимент № 1			Эксперимент № 2			Эксперимент № 3			Всего животных
	родители		потомство	родители		потомство	родители		потомство	
	♂	♀		♂	♀		♂	♀		
Интактная	1	3	22	0	0	0	0	0	0	26
Контрольная (МО)	1	3	14	1	3	5	0	0	0	27
Экспериментальная С-25 мкг/кг	1	3	17	1	3	6	0	0	0	31
Экспериментальная С-40 мкг/кг	1	3	11	1	3	11	0	0	0	30
Экспериментальная С-50 мкг/кг	1	3	4	1	3	9	1	3	7	32
Контрольная (МК)	1	3	15	1	3	7	0	0	0	30
Экспериментальная Ф-20 мкг/кг	1	3	20	1	3	6	0	0	0	34
Экспериментальная Ф-100 мкг/кг	1	3	3	1	3	3	1	3	10	28
Экспериментальная Ф-200 мкг/кг	1	3	1	1	3	9	1	3	7	29
Итого	9	27	107	8	24	56	3	9	24	267

Примечание: МО — масло оливковое; С — синэстрол; МК — масло касторовое; Ф — фулвестрант.

2.1.1. МЕТОД ВЛАГАЛИЩНЫХ МАЗКОВ (ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТАДИЙ ЭСТРАЛЬНОГО ЦИКЛА САМОК БЕЛЫХ БЕСПОРОДНЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ)

Самок мышей в эструсе подсаживали на одни сутки к половозрелым самцам для инициации беременности. Фиксацию начала беременности считали с 12 часов предыдущего дня до 12 часов последующего. Первый день подсадки считался нулевым днем, второй день считался первым днем беременности.

Процедура эстрального цикла в потомстве белых беспородных лабораторных мышей в экспериментальных и контрольных группах прослеживалась с соблюдением правила «одного часа» с составлением анализа продолжительности эстрального цикла, равномерности их чередования и периодов отдельных фаз.

Беременные самки белых беспородных лабораторных мышей выявлялись на 2–5-е дни экспериментального исследования методикой, которая основана на влагалищном содержимом по наличию «влагалищной пробки», состоящей из секрета добавочных половых клеток самца.

Экспериментальные исследования подтвердили, что «каждая стадии изучаемого полового цикла характеризуется определенным клеточным составом влагалищного мазка» (Leng Z., Moore D. E., Mueller B. A. et al., 1998).

Анализ влагалищных мазков изучался при использовании инвертированного биологического микроскопа для лабораторных исследований Axioobserver со штативом D1 компании-производителя Carl Zeiss Microscopy GmbH (Германия), со специализированным программным обеспечением ZEN 2018 при увеличении 100x10.

По данным В. Н. Бабичева: «половое созревание у мышей наступает на 60-й день, периодом половой зрелости считается 90-й день» (Бабичев В. Н., 1981).

«Эстральный цикл у экспериментальных животных разбивается на следующие друг за другом стадии: стадия покоя — диэструс; стадия подготовки к

течке (предтечка) — проэструс; течка — эструс; «послетечка» — метаэструс» (Захидов С. Т., Гопко А. В., Маршак Т. Л. и др., 2007).

Учитывая, что стадии проэструса и метаэструса (6 и 12 часов, соответственно) являются короткими, эстральную цикличность исследовали по более продолжительным фазам (эструс, диэструс). Исследование фазы «эструс» показало, что мазок состоит из ороговевших безъядерных эпителиальных клеток (>90%); в стадии диэструс в мазке наблюдаются в основном лейкоцитарные клетки (>60 %) и редкие эпителиальные клетки (Клочков Д. В., Алехина Т. А., Прокудина О. И., 2011).

Следующим этапом явилось введение экспериментальной дозы исследуемых препаратов, при выборе которых учитывались высокий уровень основного обмена мелких экспериментальных животных, проницаемость препарата через плаценту и метаболизм. Принимая во внимание физиологическую экспрессию гормонов мышей, каждой самке в отдельности на 11 сутки (стадия эмбрионального развития E11.5) пренатального периода в одно и то же вечернее время суток вводили исследуемый препарат (Болтовская М. Н. и др., 2014; Flurkey K., Curren J. M., Harrison D. E. et al., 2007).

Максимальная суточная доза препарата синэстрол составляет 100 мг (рекомендовано в два приема), по коэффициенту перерасчета (Хабриев Р. У., 2005) максимальная суточная доза синэстрола для экспериментальных животных (мышей) массой 24 г составила 18 мг/кг.

Максимальная суточная доза препарата фулвестрант для человека составляет 500 мг, по коэффициенту перерасчета (Хабриев Р. У., 2005) максимальная разрешенная доза фулвестранта для экспериментальных животных (мыши) массой 24 г составила 87,05 мг/кг. Торговое название — Фазлодекс, производство «Астра-Зенека».

Запатентованы способы моделирования доз действия синэстрола и фулвестранта на яичники потомства женского пола у лабораторных мышей.

Кормление и уход за беременными экспериментальными белыми лабораторными мышами производились в соответствии с рекомендациями

(Западнюк И. П., Западнюк В. И., Захария Е. А., Западнюк Б. В., 1983; Каркищенко Н. Н., Грачев С. В., 2010).

В зависимости от дозы вводимого препарата экспериментальные животные были разделены на 9 групп (таблица 3).

Таблица 3 — Введение экспериментальных доз препаратов

Наименование группы	Наименование препарата	Краткое описание	Число измерений (манипуляций)
Интактная	–	Интактная группа без воздействия	–
Контрольная МО	Масло оливковое	Пренатально однократно внутримышечно в дозе 0,2 мкг/кг	6
Экспериментальная С-25	синэстрол 25 мкг/кг	Пренатально однократно внутримышечно 2% раствор синэстрол в дозе 25 мкг/кг	6
Экспериментальная С-40	синэстрол 40 мкг/кг	Пренатально однократно внутримышечно 2% раствор синэстрол в дозе 40 мкг/кг	6
Экспериментальная С-50	синэстрол 50 мкг/кг	Пренатально однократно внутримышечно 2% раствор синэстрол в дозе 50 мкг/кг	9
Контрольная МК	Масло касторовое	Пренатально однократно внутримышечно в дозе 0,8 мкг/кг	6
Экспериментальная Ф-20	Фулвестрант 20 мкг/кг	Пренатально однократно внутримышечно фулвестрант 0,08 мл 0,0005% в дозе 20 мкг/кг	6
Экспериментальная Ф-100	Фулвестрант 100 мкг/кг	Пренатально однократно внутримышечно фулвестрант 0,4 мл 0,0005% в дозе 100 мкг/кг	9
Экспериментальная Ф-200	Фулвестрант 200 мкг/кг	Пренатально однократно внутримышечно фулвестрант 0,8 мл 0,0005% в дозе 200 мкг/кг	9

Суточный рацион питания на одну мышь состоял из следующих ингредиентов: зелень, морковь (4 г), сухой корм (8 г), крупа (2 г), хлеб с небольшим количеством сливочного масла (кусочки 1x1 см; 2 г), молоко (7 г), сено (2 г), соль (0,1 г), мел (0,3 г), вода *ad libitum*.

Подстилкой служила мелкая стружка, в качестве гнездового материала использовали техническую вату.

Общее число полученного потомства мужского и женского пола составило 187 всех экспериментальных животных, выживших — 134 (рисунок 1, 2),

выбывших из эксперимента — 53. Данные по общему количеству полученного потомства представлены в таблице 1.



Рисунок 1 – Внешний вид потомства самцов белых беспородных лабораторных мышей на 5-й день после рождения.



Рисунок 2 – Внешний вид потомства самок белых беспородных лабораторных мышей на 5-й день после рождения.

Полученное потомство в возрасте 1 месяца отделяли и подращивали выводками, самцов отдельно от самок до момента половой зрелости потомства

(Котеров А. Н., Ушенкова Л. Н., Зубенкова Е. С. и др., 2018; S. Dutta, Sengupta P., 2016). Группы помещали в отдельные клетки с соответственной маркировкой вводимого препарата. Самок, родивших потомство, выводили из эксперимента. С целью отбора материала для гистологических и гистохимических исследований убой экспериментальных мышей проводили в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и совета европейского союза по охране животных, используемых в научных целях. У полученного потомства после их полового созревания на 90-й день проводились описанные далее исследования.

2.1.2. СОМАТОМЕТРИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

Измерение соматометрических показателей потомства представлены следующими параметрами (таблица 4):

- 1) масса тела (г), (рисунок 3);
- 2) длина тела (мм) — расстояние от кончика носа до основания хвоста или анального отверстия (рисунок 4);
- 3) длина «нос — ухо» (мм) — расстояние от носа до основания ушной раковины (рисунок 4);
- 4) длина «ухо — ухо» (мм) — расстояние между основаниями ушной раковины;
- 5) длина хвоста (мм) — расстояние от анального отверстия до кончика стержня хвоста без учета длины концевых волос (рисунок 4);
- 6) длина стопы правой тазовой конечности (мм) — расстояние от заднего края пятки до конца самого длинного пальца без учета когтя (рисунок 4);
- 7) аногенитальное расстояние (АГР; мм) — расстояние между анальным отверстием и мочеполовым сосочком (рисунок 5);
- 8) аногенитальный индекс (АГИ), рассчитывался по формуле:

$$\text{АГИ} = (\text{АГР}/\text{масса}) \times 100,$$

где АГР — аногенитальное расстояние, мм; масса — масса тела экспериментального животного, г (Drickemer L. C., 1995; Vandenberg J. G., Nuggett C. L., 1995).

Объектом морфологических исследований служили яичники и семенники белых лабораторных мышей, рожденных от животных, подвергшихся экспериментальной гормональной нагрузке во время беременности.

Таблица 4 — Измерение соматометрических показателей потомства белых беспородных лабораторных мышей

Наименование параметра	Краткое описание	Единицы измерения	Число измерений (манипуляций)
Масса тела	На электронных весах с точностью измерения 0,1 г	г	126
Длина тела	С использованием стандартной измерительной линейки с точностью до 0,01 мм	мм	126
Длина «нос — ухо»			126
Длина «ухо — ухо»			126
Длина хвоста			126
Длина стопы правой тазовой конечности			126
Измерение аногенитального расстояния	С использованием штангенциркуля с точностью до 0,01 мм	мм	126
Измерение АГИ	$АГИ = (АГР/масса) \times 100$		126
Итого измерений (манипуляций)			1008



Рисунок 3 — Измерение массы тела белых беспородных лабораторных мышей в возрасте 90 дней.



Рисунок 4 — Измерение параметров белых беспородных лабораторных мышей в возрасте 90 дней.



Рисунок 5 — Измерение аногенитального расстояния беспородных лабораторных мышей в возрасте 90 дней, штангенциркулем с точностью до 0,01 мм

Анатомометрические показатели потомства экспериментальных животных исследовали при помощи перечисленных далее приборов: массу тела измеряли с помощью электронных весов марки BW-500 с точностью измерения 0,1 г; автоматическая калибровка; единицы измерений — граммы, унции, караты; габариты — 120×80×25 мм; производитель — Южная Корея; аногенитальное расстояние измеряли при помощи электронного штангенциркуля Digital Caliper со встроенным жидко-кристаллическим дисплеем; диапазон — 0–150 мм; точность — 0,01 мм; производитель — Южная Корея.

Экспериментальное животное фиксировали, удерживая одной рукой за кожу на холке, спине и крестце, стягивая ее в ладонь. При таком способе фиксации кожа в аногенитальной области оказывается плотно натянутой. При помощи электронного штангенциркуля измеряли расстояния от ануса до мочеполювого отверстия. Аногенитальное расстояние имеет несколько привлекательных свойств с точки зрения его потенциальной клинической пользы, поскольку является легко доступным и неинвазивным методом исследования, а также используется для оценки репродуктивного статуса.

2.1.3. ИЗГОТОВЛЕНИЕ ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ И СВЕТООПТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Зафиксированные яичники были разрезаны вдоль коркового и мозгового слоя, семенники были разрезаны поперечно для исследования извитых семенных канальцев (ИСК), морфометрия структур яичников и семенников подсчитывались на стандартной площади среза органов (Автандилов Г. Г., 1990; Семченко В. В., 2006). Гонады прошли стандартную гистологическую проводку с помощью гистопроцессора Tissue-Tek VIP 5 Jr (Hygesc, Франция) и были залиты в парафин. Экспериментальные срезы изготавливали с помощью микротомы Microm HM 340E (Microm GmbH, Германия), после депарафинирования окрашивали гематоксилином и эозином (Biovitrum, Россия).

Исследование, визуализацию и морфометрию гистологических препаратов яичников и семенников потомства производили с использованием инвертированного биологического микроскопа для лабораторных исследований Axioobserver со штативом D1 компании-производителя Carl Zeiss Microscopy GmbH (Германия), со специализированным программным обеспечением ZEN 2018 (микроскоп был предоставлен Лабораторией клеточных культур Центральной научной исследовательской лаборатории Башкирского государственного медицинского университета (ЛКК ЦНИЛ БГМУ). Для подсчета структурных тканевых элементов в гонадах потомства, использовался иммерсионный объектив 90x, на стандартных полях зрения (Автандилов Г. Г., 1990; Семченко В. В., 2006). Фотосъемку гистологических препаратов производили цифровой камерой AxioCam MRc5 (ZEISS, Япония).

Определяли следующие морфометрические параметры яичника (морфометрические измерения исследованных структур проводились на всей площади среза яичника) (Автандилов Г. Г., 1990):

- 1) среднюю толщину покровного эпителия среза яичников по центру органа (мкм);
- 2) среднюю площадь поперечного среза яичников по центру органа (мкм²);

- 3) среднюю площадь коркового вещества среза яичников по центру органа (мкм²);
- 4) среднюю толщину коркового вещества среза яичников по центру органа (мкм);
- 5) среднюю площадь мозгового вещества среза яичников по центру органа (мкм²);
- 6) среднюю толщину мозгового вещества среза яичников по центру органа (мкм);
- 7) средний диаметр сосудов микроциркуляторного русла на стандартной площади среза яичников (мкм);
- 8) среднее количество примордиальных фолликулов на стандартной площади среза яичников;
- 9) среднее количество первичных фолликулов на стандартной площади среза яичников;
- 10) среднюю площадь первичных фолликулов;
- 11) среднее количество вторичных фолликулов на стандартной площади среза яичников;
- 12) среднюю площадь вторичных фолликулов;
- 13) среднюю толщину теки, окружающей вторичные фолликулы;
- 14) среднее количество третичных фолликулов на стандартной площади среза яичников;
- 15) среднюю площадь третичных фолликулов;
- 16) среднюю толщину теки, окружающей третичные фолликулы;
- 17) среднее количество атретических фолликулов на стандартной площади среза яичников;
- 18) среднее количество желтых тел и среднюю площадь желтых тел;
- 20) среднее количество лютеиновых клеток в желтом теле на стандартной площади.

Определяли следующие морфометрические параметры семенников (морфометрические измерения исследованных структур проводились на всей площади среза семенника) (Автандилов Г. Г., 1990):

- 1) среднее количество извитых семенных канальцев в одном поле зрения;
- 2) среднюю площадь поперечного сечения извитого семенного канальца;
- 3) средний диаметр извитых семенных канальцев;
- 4) среднюю толщину сперматогенного эпителия (без различия клеточного состава);
- 5) среднее количество клеток сустентоцитов в сперматогенном эпителии извитых семенных канальцев;
- 6) среднее количество сперматогониев в сперматогенном эпителии извитых семенных канальцев;
- 7) среднее количество сперматоцитов в сперматогенном эпителии извитых семенных канальцев;
- 8) среднее количество сперматид в сперматогенном эпителии извитых семенных канальцев;
- 9) среднее количество сперматозоидов в просвете извитых семенных канальцев;
- 10) среднюю площадь ядер интерстициальных (эндокринных) клеток.

2.1.4. ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

ИГХ-анализ проводили на срезах с парафиновых блоков яичников и семенников потомства, предназначенных для стандартного морфологического исследования. Парафиновые срезы депарафинировали и регидратировали по стандартной методике. Исследования выполняли на стандартных срезах толщиной 4 мкм. Окрашивание срезов осуществляли с помощью иммуногистостейнера Leica Microsystems Bond™ (Германия) по рекомендованным производителями протоколам Santa Cruz Biotechnology (США). В работе в качестве первичных антител использовали моноклональные мышиные антитела, характеристика которых представлена в таблице 5. В качестве вторичных антител применяли непрямую стрептавидин-биотиновую систему детекции Leica BOND (Novocastra™, Германия).

Таблица 5 — Характеристика первичных антител, использованных в работе

Антитела	Клон, разведение	Специфичность и характеристика
Белки — маркеры жизненного цикла клетки		
Mouse Monoclonal Antibody Bcl-2 Oncoprotein	Клон N-19; 1:300	Цитоплазматический антиген; белок внутренней митохондриальной мембраны, который действует в качестве ингибитора апоптоза
Mouse Monoclonal Antibody Ki-67 Antigen	Клон MIB-1; 1:300	Ядерный антиген; выявляется во всех пролиферирующих клетках в G1 (поздней), S, M и G2 фазах клеточного цикла
Mouse Monoclonal Antibody p53 Protein	Клон fl-393-G; 1:300	Ядерный антиген; определяется при остановке клеточного цикла после повреждения генома в точке G1 — клетка восстанавливает целостность поврежденной ДНК до деления клетки, или p53 запускает в клетке механизм апоптоза

Оценку окрашенных препаратов оценивали визуально под световым микроскопом Leica. Для идентификации клеток применяли морфологические критерии: для маркеров Ki-67 — положительную реакцию оценивали по коричневому окрашиванию ядра; для маркера белка p53 — ядра и цитоплазмы; для Bcl-2 — положительную реакцию оценивали по окрашиванию цитоплазмы. Подсчет иммунопозитивных клеток проводили в 10 полях зрения каждого

образца при увеличении $\times 100$ и $\times 400$ (Шарафутдинова Л. А., 2019; Ruifrok A. C., Johnston D. A., 2001). В расчет брали 100 клеток для каждого случая. Количество Ki-67, p53 и Vcl-2-иммунопозитивных клеток выражали в виде среднего \pm стандартное отклонения.

При исследовании ИГХ-маркеров определяли следующие параметры яичника: первичный фолликул; вторичный фолликул; третичный фолликул; желтое тело; строму органа.

При исследовании ИГХ-маркеров определяли следующие параметры семенника:

- 1) клетки сперматогониев в эпителии извитого семенного канальца;
- 2) клетки сперматоцитов в эпителии извитого семенного канальца;
- 3) клетки сперматидов в эпителии извитого семенного канальца;
- 4) клетки сперматозоидов в просвете извитого семенного канальца;
- 5) интерстициальные (эндокринные) клетки.

2.1.5. СТАТИСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

Статистические данные анализировали в пакете прикладных программ STATISTICA V.7.0 (StatSoftInc, США). Вид распределения признаков в группах оценивали с помощью критерия Шапиро — Уилка (Гланц С., 1999; Ланг Т. А., Сесик М., 2011; Реброва О. Ю., 2003). Сравнение данных, подчиняющихся закону нормального распределения, проводили с помощью параметрического однофакторного дисперсионного анализа ANOVA; с последующим сравнением групп с помощью критерия Стьюдента с поправкой Бонферрони. Для групп не подчиняющихся нормальному распределению применяли непараметрический критерий Краскела-Уоллиса с последующим сравнением групп с помощью критерия Данна. Для статистической обработки данных вычисляли среднее арифметическое значение параметра и его стандартную ошибку ($M \pm m$). Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

2.2. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Анализ морфофункционального состояния гонад потомства белых беспородных лабораторных мышей проведен гистологическими, иммуногистохимическими, морфометрическими и статистическими методами исследования.

В данном разделе изложены результаты научных исследований, опубликованные в научных статьях: Сулайманова Р. Т., Мурзабаев Х. Х., Заречнова Н. Н., Алиев Х. М. (2008), Сулайманова Р. Т., Мурзабаев Х. Х., Заречнова Н. Н. (2009), Юсупова Л. Р., Сулайманова Р. Т., Магадеев Т. Р., Гафурова А. Ф., Зарипова Р. И., Хазиев А. Р., Сулайманова Л. И., Кометова В. В., Хайруллин Р. М. (2013), Khayrullin R. M., Fomina A. V., Sulaymanova R. T., Aynullova N. K. (2013), Гафурова А. Ф., Сулайманова Р. Т., Хазиев А. Р., Айнуллова Н. К., Сулайманова Л. И. (2014), Хайруллин Р. М., Сулайманова Р. Т., Кометова В. В., Юсупова Л. Р. (2014), Sulaymanova R. T., Khaziev A. R., Magadeev T. R., Yusupova L. R., Khayrullin R. M. (2014), Gafurova A. F., Yusupova L. R., Zaripova R. I., Sulaymanova R. T., Bakhtiyarov R. I., Khayrullin R. M. (2014), Юсупова Л. Р., Сулайманова Р. Т., Магадеев Т. Р., Зарипова Р. И., Хайруллин Р. М. (2014), Yusupova L. R., Sulaymanova R. T., Khayrullin R. M., Sulaymanova L. I. (2014), Хайруллин Р. М., Сулайманова Р. Т., Сулайманова Л. И., Бахтияров Р. И. (2014), Khayrullin R. M., Sulaymanova R. T., Bakhtiyarov R. I., Yusupova L. R., Fomina A. V. (2015), Сулайманова Р. Т., Юсупова Л. Р., Бахтияров Р. И., Нугуманова А. Х. (2016), Сулайманова Р. Т., Хайруллин Р. М. (2017), Сулайманова Р. Т., Ахметова Н. Д., Исламгареева Д. О. (2017), Khayrullin R. M., Sulaymanova R. T., Yusupova L. R. (2017); Khayrullin R., Sulaymanova R. (2018), Khayrullin R. M., Sulaymanova R. T., Baybulatova A. M., Migranov E. K., Sulaymanova L. I. (2018), Khayrullin R. M., Sulaymanova R. T., Sharma P. K., Arslanbekova R. R., Grigorieva A. V. (2018), Хайруллин Р. М., Сулайманова Р. Т., Сулайманова Л. И., Гниятуллина Г. А., Шарафутдинова Э. Р. (2018), Хайруллин Р. М., Сулайманова Р. Т., Сулайманова Л. И., Шарафутдинова К. И., Аширкаева Е. С. (2019), Сулайманова Р. Т. (2019), Сулайманова Р. Т. (2019), Sulaymanova R. T.,

Khayrullin R. M., Izmailov A. A., Sharafutdinova L. A., Sylaymanova L. I. (2020), Sulaymanova R. T., Khayrullin R. M., Sulaymanova L. I. (2020), Sulaymanova R. T., Khayrullin R. M., Gazdalieva L. M., Sulaymanova L. I. (2020), Сулайманова Р. Т. (2020), Сулайманова Р. Т., Хайруллин Р. М., Злобина С. Ю., Выродов А. С., Сулайманова Л. И., Хасанова С. Р. (2020), Сулайманова Р. Т., Хайруллин Р. М., Выродов А. С., Сулайманова Л. И., Хасанова С. Р. (2020), Сулайманова Р. Т., Хайруллин Р. М., Злобина С. Ю., Медведева М. А., Сулайманова Л. И. (2020), Сулайманова Р. Т., Хайруллин Р. М., Злобина С. Ю., Сулайманова Л. И., Лебедева А. И. (2020), Сулайманова Р. Т. (2020), Сулайманова Р. Т. (2020), Идрисова З. И., Акрамова Э. Р., Выродов А. С., Рухлов А. М., Сулайманова Р. Т. (2021), Sulaymanova R. T. (2021), Сулайманова Р. Т. (2021), Сулайманова Р. Т., Хайруллин Р. М., Лебедева А. И., Сулайманова Л. И., Асхабова Э. Д. (2021), Сулайманова Р. Т., Рязанцева М. Р., Гаспарян К. М., Обухович В. Д., Липина В. Ю., Кузнецова В. Ю. (2022), Сулайманова Р. Т. (2022), Литвинова Д. Д., Сулайманова Р. Т., Асхабова Э. Д. (2022), Сулайманова Р. Т., Выродов А. С., Литвинова Д. Д., Вахитова Д. И., Ахметова Н. Д., Акрамова Э.Р. (2022), Квочко А. Н., Сулайманова Р. Т. (2023), Сулайманова Р. Т., Квочко А. Н., Аширкаева Е.С. (2023), Сулайманова Р. Т., Квочко А. Н. (2023), Сулайманова Р. Т. (2023), Сулайманова Р. Т., Квочко А. Н. (2023), Сулайманова Р. Т. (2023), Сулайманова Р. Т. (2023), Сулайманова Р. Т., Квочко А.Н. (2023), Квочко А. Н., Сулайманова Р. Т. (2023), Квочко А. Н., Сулайманова Р. Т. (2023); в патентах: Сулайманова Р. Т., Хайруллин Р. М. Имаева Р. К., Гниятуллина Г. А., Свирская М.В. (2018), Сулайманова Р. Т., Мурзабаев Х. Х., Рахматуллина И. Р., Хайруллин Р. М., Сулайманова Л. И., Шарафутдинова К. И., Арсланбекова Р. Р. (2020); в монографиях и методических рекомендациях: Сулайманова Р. Т., Скрипкин В. С., Квочко А. Н., Хайруллин Р. М. (2023), Скрипкин В. С., Сулайманова Р. Т., Квочко А. Н., Хайруллин Р. М. (2023), Кенешбаев Б. К., Тулекеев Т. М., Сулайманова Р. Т., Хайруллин Р. М. (2023) содержат уточненные, расширенные и новые сведения.

2.2.1. БИОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ПОТОМСТВА БЕЛЫХ БЕСПОРОДНЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ

Для оценки выживаемости животных первой серии после однократного внутримышечного введения экспериментальных доз препаратов с эстрогенной активностью проводили наблюдение в течение 25 дней, после производили разделение животных по половому признаку (потомство самцов отделяли от потомства самок). Результаты выживаемости животных представлены в таблице 6.

Таблица 6 — Действие исследуемых доз на выживаемость потомства исследуемых животных в эксперименте №1

Наименование группы	Эксперимент № 1			Всего потомства			
	родители		потомство	выбывшие	выжившие		ИТОГО ПО ВЫЖИВШИМ
	♂	♀			♂	♀	
Интактная	1	3	22	5	8	9	17
Контрольная (МО)	1	3	14	3	5	6	11
Контрольная (МК)	1	3	15	4	4	7	11
Экспериментальная С-25 мкг/кг	1	3	17	6	5	6	11
Экспериментальная С-40 мкг/кг	1	3	11	6	2	3	5
Экспериментальная С-50 мкг/кг	1	3	4	1	2	1	3
Экспериментальная Ф-20 мкг/кг	1	3	20	6	6	8	14
Экспериментальная Ф-100 мкг/кг	1	3	3	2	1	0	1
Экспериментальная Ф-200 мкг/кг	1	3	1	1	0	0	0
Итого №1	9	27	107	34	33	40	73

При однократном внутримышечном введении различных доз препарата с эстрогенной активностью синестрола в первом этапе эксперимента в группе С-25 мкг/кг выжившего потомства осталось 11 из 17, в группе С-40 мкг/кг выжившего потомства осталось 6 из 11, в группе С-50 мкг/кг из четырех родившихся выбыл только один. При однократном внутримышечном введении различных доз препарата с антиэстрогенной активностью препарата фулвестранта в экспериментальной группе Ф-20 мкг/кг из выжившего потомства осталось 14 из

20 голов помета, в группе Ф-100 мкг/кг выжило только одна голова помета, Ф-200 мкг/кг выжившего потомства не было.

Во время первого этапа эксперимента наблюдалось рождение мертвого потомства при введении препарата фулвестранта в дозе 100 мкг/кг. В клетке, где содержались экспериментальные животные группы Ф-200 мкг/кг, были обнаружены останки части органов новорожденного потомства. В целом по первой серии наблюдалось нежизнеспособное потомство, которое даже при надлежащем уходе, согласно требованиям методическим указаниям по содержанию лабораторных животных, не смогло выжить.

Для достоверного проведения статистической обработки результатов исследования необходимо было провести вторую серию эксперимента, таблица 7.

Таблица 7 – Действие исследуемых доз на выживаемость потомства исследуемых животных в эксперименте №2

Наименование группы	Эксперимент № 2			Всего потомства			
	родители		потомство	выбывшие	выжившие		Итого по выжившим
	♂	♀			♂	♀	
Контрольная (МО)	1	3	5	1	2	2	4
Контрольная (МК)	1	3	7	2	4	1	5
Экспериментальная С-25 мкг/кг	1	3	6	2	3	1	4
Экспериментальная С-40 мкг/кг	1	3	11	2	5	4	9
Экспериментальная С-50 мкг/кг	1	3	9	4	2	3	5
Экспериментальная Ф-20 мкг/кг	1	3	6	5	1	0	1
Экспериментальная Ф-100 мкг/кг	1	3	3	0	2	1	3
Экспериментальная Ф-200 мкг/кг	1	3	9	1	4	4	8
Итого №2	8	24	56	17	23	16	39

При однократном внутримышечном введении различных доз препарата с эстрогенной активностью синестрола во втором этапе эксперимента в группе С-25 мкг/кг выжившего потомства осталось 4 из 6, в группе С-40 мкг/кг выжившего потомства осталось 9 из 11, в группе С-50 мкг/кг выжившего потомства осталось 5 из 9. При однократном внутримышечном введении различных доз препарата с антиэстрогенной активностью препарата фулвестранта в экспериментальной

группе Ф-20 мкг/кг из выжившего потомства осталось 1 из 6, наблюдался резкий падеж потомства. В группе Ф-100 мкг/кг было 2 головы помета мужского пола и одна голова женского пола. В Ф-200 мкг/кг выжившего потомства осталось 8 из 9.

Из-за гибели потомства женского и мужского пола в экспериментальных группах С-50 мкг/кг, Ф-100 мкг/кг, Ф-200 мкг/кг провели третий эксперимент (таблица 8).

Таблица 8 – Действие исследуемых доз на выживаемость потомства исследуемых животных в эксперименте №3

Наименование группы	Эксперимент № 3			Всего потомства			
	родители		потомство	выбывшие	выжившие		итого по выжившим
	♂	♀			♂	♀	
Экспериментальная С-50 мкг/кг	1	3	7	1	3	3	6
Экспериментальная Ф-100 мкг/кг	1	3	10	0	4	6	10
Экспериментальная Ф-200 мкг/кг	1	3	7	1	3	3	6
Итого №3	3	9	24	2	10	12	22

При однократном внутримышечном введении различных доз исследуемых препаратов в третьем этапе эксперимента в группе С-50 мкг/кг выжившего потомства осталось 6 из 7, а в группе Ф-200 мкг/кг осталось 6 из 7.

Одна из причин репродуктивной патологии — введение во время беременности эстрогенов. Для оценки физиологической зрелости потомства животных интактной, контрольной и экспериментальных групп использовали следующие показатели: число живых родившихся плодов, число случаев фетальной смерти, численность помета, пол.

У потомства самок белых беспородных лабораторных мышей значительно снижалось число новорожденных в группах С-40 мкг/кг, С-50 мкг/кг, Ф-100 мкг/кг. Вместе с тем сравнительный анализ 134 пометов по полу позволил выявить у подопытных животных преобладание женских особей, количество которых составило 68, и уменьшение числа особей мужского пола в количестве 66 животных.

Таблица 9 – Общее количество выжившего потомства

Наименование группы	родители		потомство	Всего потомства			
	♂	♀		выбывшие	выжившие		итого по выжившим
					♂	♀	
Интактная	1	3	22	5	8	9	17
Контрольная (МО)	2	6	19	4	7	8	15
Контрольная (МК)	2	6	22	6	8	8	16
Экспериментальная С-25 мкг/кг	2	6	23	8	8	7	15
Экспериментальная С-40 мкг/кг	2	6	22	8	7	7	14
Экспериментальная С-50 мкг/кг	3	9	20	6	7	7	14
Экспериментальная Ф-20 мкг/кг	2	6	26	11	7	8	15
Экспериментальная Ф-100 мкг/кг	3	9	16	2	7	7	14
Экспериментальная Ф-200 мкг/кг	3	9	17	3	7	7	14
Итого	20	60	187	53	66	68	134

Среди причин изменения числа и соотношения животных по полу в помете может быть нарушение процессов инактивации половых гормонов и повышение концентрации эстрогенов (таблица 9). У самок белых беспородных лабораторных мышей при пренатальном воздействии эстрогенов рождается физиологически незрелое потомство.

Число выживших мышат в помете в первом и втором экспериментах резко снижается в экспериментальных группах С-50 мкг/кг и Ф-100 мкг/кг в сравнении с интактной группой. Аналогичные данные получены в результате экспериментальных исследований на животных Ю. И. Савченковым и К. С. Лобынцевым (Савченков Ю. И., Лобынцев К. С., 1980).

Исходя из всего вышеизложенного можно констатировать, что введение эстрогенов и стресс материнского организма вызывает комплекс нейрогормональных сдвигов в организме плода, который можно квалифицировать как стрессовое состояние плода (Резников А. Г., Пишак В. П., Носенко Н. Д. и др., 2004; Самусев Р. П., Зубарева Е. В., 2011). В этой связи можно считать правомочным использование словосочетаний «пренатальный стресс» (Ward I. L., 1969) и «синдром пренатального стресса» (Ward I. L., 1984).

2.2.2. СОМАТОМЕТРИЧЕСКИЕ ПРОМЕРЫ ПОТОМСТВА БЕЛЫХ БЕСПОРОДНЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ НА ФОНЕ ПРЕНАТАЛЬНОГО ОДНОКРАТНОГО ВНУТРИМЫШЕЧНОГО ВВЕДЕНИЯ СИНЭСТРОЛА И ФУЛВЕСТРАНТА

Данные результатов соматометрических промеров потомства женского пола белых беспородных лабораторных мышей на фоне пренатального однократного внутримышечного введения синтетического препарата синэстрол представлены в таблице 10.

Сравнительный анализ соматометрических показателей потомства женского пола белых беспородных лабораторных мышей при однократном воздействии синтетического препарата синэстрол с интактной группой показал, что в показателе «масса» во всех исследуемых группах значительных изменений не было. Длина тела (мм) незначительно увеличивается в группе контроля (МО) по сравнению с интактной группой на 3,4 %, в других исследуемых группах значимых различий не было. Длина «нос — ухо» (мм) уменьшается в экспериментальных группах С-25 мкг/кг и С-50 мкг/кг, по сравнению с интактной группой, на 12,6 % ($p \leq 0,05$) и 18,1 % ($p \leq 0,05$), соответственно. Длина «ухо — ухо» (мм) увеличивается во всех экспериментальных группах С-25 мкг/кг на 41,6% ($p \leq 0,05$), в С-40 мкг/кг на 42,5 % ($p \leq 0,05$) и в С-50 мкг/кг на 38,3 % ($p \leq 0,05$) по сравнению с интактной группой.

Таблица 10 — Соматометрические показатели потомства женского пола белых беспородных лабораторных мышей при однократном воздействии синтетического препарата синэстрол, $M \pm m$

Показатели (среднего значения)	Интактная, n = 7	Контроль (МО), n = 7	С-25 мкг/кг, n = 7	С-40 мкг/кг, n = 7	С-50 мкг/кг, n = 7
Масса, г	20,50±2,14	20,48±0,95	21,83±2,66	19,26±1,05	20,11±2,36
Длина тела, мм	88,00±1,41	91,00±2,35	85,60±6,69	86,60±6,39	81,60±2,70
Длина «нос — ухо», мм	22,20±0,45	22,00±0,71	19,40±1,10*	21,00±0,71	18,20±0,83*
Длина «ухо — ухо», мм	12,00±0,01	11,80±0,45	17,00±0,61*	17,10±0,55*	16,60±0,65*
Длина хвоста, мм	91,60±2,88	87,00±4,30	82,60±4,16*	83,40±4,39*	78,40±2,41*
Длина стопы правой тазовой конечности, мм	17,22±0,41	17,30±0,84	21,40±0,55*	21,40±0,55*	21,60±0,55*
Аногенитальное расстояние, мм	0,67±0,12	0,69±0,10	0,48±0,06*	0,46±0,04*	0,52±0,08*

Примечание: * — в сравнении с интактной группой выявлены различия со статистической значимостью $p \leq 0,05$, по критерию Стюдента с поправкой Бонферрони.

Длина хвоста (мм) уменьшается во всех исследуемых группах по сравнению с интактной: в группе контроля (МО) на 5,0 %, С-25 мкг/кг на 9,8 % ($p \leq 0,05$), С-40 мкг/кг на 8,9 % ($p \leq 0,05$) и С-50 мкг/кг на 14,4 % ($p \leq 0,05$). Длина стопы правой тазовой конечности (мм) увеличивается во всех экспериментальных группах по сравнению с интактной группой: С-25 мкг/кг на 24,4 % ($p \leq 0,05$), С-40 мкг/кг на 24,4 % ($p \leq 0,05$) и С-50 мкг/кг на 25,6 % ($p \leq 0,05$) (таблица 10). Величина аногенитального расстояния (мм) потомства женского пола лабораторных мышей при однократном воздействии синтетического препарата синэстрол во всех экспериментальных группах уменьшается по сравнению с интактной группой: С-25 мкг/кг на 28,4 % ($p \leq 0,05$), С-40 мкг/кг на 31,3 % ($p \leq 0,05$) и С-50 мкг/кг на 22,4% ($p \leq 0,05$).

Данные результатов соматометрических показателей потомства женского пола лабораторных мышей на фоне пренатального однократного внутримышечного введения препарата фулвестрант представлены в таблице 11.

Таблица 11 — Соматометрические показатели потомства женского пола белых беспородных лабораторных мышей при однократном воздействии фулвестранта, $M \pm m$

Показатели (среднего значения)	Интактная, n = 7	Контроль (МО), n = 7	Ф-20 мкг/кг, n = 7	Ф-100 мкг/кг, n = 7	Ф-200 мкг/кг, n = 7
Масса, г	20,50±2,14	22,00±1,01	25,44±1,15*	16,12±2,49*	24,28±1,17*
Длина тела, мм	88,00±1,41	83,60±3,65	90,30±3,62	83,00±5,83	94,12±4,13
Длина «нос — ухо», мм	22,20±0,45	21,80±0,45	19,80±4,38	21,20±1,04	19,00±1,58*
Длина «ухо — ухо», мм	12,00±0,01	11,80±0,45	13,50±2,69*	11,66±0,47	18,28±0,57*
Длина хвоста, мм	91,60±2,88	82,40±5,81*	88,70±4,92	82,80±7,05	92,20±6,67
Длина стопы правой тазовой конечности, мм	17,22±0,41	17,16±0,71	18,84±1,88	17,00±0,61	22,90±1,67*
Аногенитальное расстояние, мм	0,67±0,12	0,54±0,06*	0,62±0,08*	0,58±0,08*	0,46±0,09*

Примечание: * — в сравнении с интактной группой выявлены различия со статистической значимостью $p \leq 0,05$, по критерию Стюдента с поправкой Бонферрони.

Сравнительный анализа соматометрических показателей потомства женского пола белых беспородных лабораторных мышей при однократном воздействии препарата фулвестрант с интактной группой показал, что масса увеличивается в таких группах, как Ф-20 мкг/кг на 24,1 % ($p \leq 0,05$) и Ф-200 мкг/кг на 18,4 % ($p \leq 0,05$), снижение данного показателя произошло в группе Ф-100 мкг/кг на 21,4 % ($p \leq 0,05$). Длина тела (мм) уменьшается в группе контроля (МК) на 5,0 % и в группе Ф-100 мкг/кг на 5,7 % по сравнению с интактной группой. Длина тела (мм) увеличивается в экспериментальных группах Ф-20 мкг/кг на 2,6% и Ф-200 мкг/кг на 6,9 % по сравнению с интактной группой. Длина «нос — ухо» (мм) уменьшается во всех исследуемых группах, но достоверно значимое различие произошло в группе Ф-200 мкг/кг на 14,4 % ($p \leq 0,05$) по сравнению с интактной группой. Длина «ухо — ухо» (мм) увеличивается в экспериментальных группах Ф-20 мкг/кг на 12,5 % ($p \leq 0,05$) и Ф-200 мкг/кг на 52,3 % ($p \leq 0,05$) по сравнению с интактной группой. Длина хвоста (мм) уменьшается в таких группах, как группа контроля (МК) на 10,0 % ($p \leq 0,05$), Ф-20 мкг/кг на 3,2 % и Ф-100

мкг/кг на 9,6 % по сравнению с интактной. Длина стопы правой тазовой конечности (мм) увеличивается экспериментальных группах Ф-20 мкг/кг на 9,4 % и Ф-200 мкг/кг на 32,9 % ($p \leq 0,05$) по сравнению с интактной группой. Величина аногенитального расстояния (мм) потомства женского пола лабораторных мышей при однократном воздействии препарата фулвестрант во всех исследуемых группах уменьшается по сравнению с интактной группой: в группе контроля (МК) на 19,4 % ($p \leq 0,05$), Ф-20 мкг/кг на 7,5 % ($p \leq 0,05$), Ф-100 мкг/кг на 13,4 % ($p \leq 0,05$) и Ф-200 мкг/кг на 31,3 % ($p \leq 0,05$).

Данные результатов соматометрических показателей потомства мужского пола белых беспородных лабораторных мышей на фоне пренатального однократного внутримышечного введения синтетического препарата синэстрол представлены в таблице 12.

Таблица 12 — Соматометрические показатели потомства мужского пола белых беспородных лабораторных мышей при однократном воздействии синэстрола, $M \pm m$

Показатели (среднего значения)	Интактная, n = 7	Контроль (МО), n = 7	С-25 мкг/кг, n = 7	С-40 мкг/кг, n = 7	С-50 мкг/кг, n = 7
Масса, г	27,09±3,59	22,78±2,94*	25,41±0,64	22,27±3,28	22,34±0,98*
Длина тела, мм	97,20±1,79	92,00±2,74	83,00±2,92*	82,20±3,42*	85,60±6,54*
Длина «нос — ухо», мм	22,86±0,31	22,00±0,01	20,96±0,63*	20,76±0,72*	20,80±0,84*
Длина «ухо — ухо», мм	12,00±0,01	12,00±0,01	11,40±0,84	11,00±0,71	16,90±0,75*
Длина хвоста, мм	95,60±2,61	90,20±3,11	84,00±5,52*	82,40±6,27*	83,20±4,32*
Длина стопы правой тазовой конечности, мм	17,50±0,50	17,44±0,49	16,90±0,55	16,90±0,55	21,60±0,55*
Аногенитальное расстояние, мм	1,44±0,09	1,36±0,04*	1,40±0,01*	1,49±0,07	1,22±0,15*

Примечание: * — в сравнении с интактной группой выявлены различия со статистической значимостью $p \leq 0,05$, по критерию Стюдента с поправкой Бонферрони.

Сравнительный анализа соматометрических показателей потомства мужского пола белых беспородных лабораторных мышей при однократном воздействии синтетического препарата синэстрол с интактной группой показал,

что масса снижается в группе контроля (МО) на 15,9 % ($p \leq 0,05$), С-25 мкг/кг на 6,2 %, С-40 мкг/кг на 17,8 %, С-50 мкг/кг на 17,5 % ($p \leq 0,05$). Длина тела (мм) уменьшается в группе контроля (МО) на 5,3 %, С-25 мкг/кг на 14,6 % ($p \leq 0,05$), С-40 мкг/кг на 15,4 % ($p \leq 0,05$), С-50 мкг/кг на 11,9 % ($p \leq 0,05$) по сравнению с интактной группой. Длина «нос — ухо» (мм) уменьшается в экспериментальных группах С-25 мкг/кг на 8,3 % ($p \leq 0,05$), С-40 мкг/кг на 9,2 % ($p \leq 0,05$) и С-50 мкг/кг на 9,0 % ($p \leq 0,05$) по сравнению с интактной группой. Длина «ухо — ухо» (мм) увеличивается в экспериментальной группе С-50 мкг/кг на 40,8 % ($p \leq 0,05$) по сравнению с интактной группой. Длина хвоста (мм) уменьшается во всех исследуемых группах по сравнению с интактной: в группе контроля (МО) на 5,6%, С-25 мкг/кг на 12,1 % ($p \leq 0,05$), С-40 мкг/кг на 13,8 % ($p \leq 0,05$) и С-50 мкг/кг на 12,9 % ($p \leq 0,05$). Длина стопы правой тазовой конечности (мм) увеличивается в группе С-50 мкг/кг на 23,4 % ($p \leq 0,05$) по сравнению с интактной группой. Величина АГР (мм) потомства мужского пола лабораторных мышей при однократном воздействии синтетического препарата синэстрол уменьшается в группе контроля (МО) на 5,5 % ($p \leq 0,05$), С-25 мкг/кг на 2,7 % ($p \leq 0,05$) и С-50 мкг/кг на 15,2 % ($p \leq 0,05$) по сравнению с интактной группой.

Данные результатов соматометрических промеров потомства мужского пола белых беспородных лабораторных мышей на фоне пренатального однократного внутримышечного введения препарата фулвестрант представлены в таблице 13.

Сравнительный анализ соматометрических показателей потомства мужского пола белых беспородных лабораторных мышей при однократном воздействии препарата фулвестранта с интактной группой показал, что масса уменьшается во всех исследуемых группах по сравнению с интактной группой: в контрольной группе (МК) на 20,9 %, Ф-20 мкг/кг на 9,4 %, Ф-100 мкг/кг на 21,5 % ($p \leq 0,05$) и Ф-200 мкг/кг на 12,2 %. Длина тела (мм) уменьшается в группе контроля (МК) на 9,9 % ($p \leq 0,05$), Ф-20 мкг/кг на 4,9 %, Ф-100 мкг/кг на % ($p \leq 0,05$), Ф-200 мкг/кг на 8,4 % по сравнению с интактной группой. Длина «нос — ухо» (мм) уменьшается во всех исследуемых группах по сравнению с интактной

группой: в контрольной группе (МК) на 7,4 %, Ф-20 мкг/кг на 2,0 %, Ф-100 мкг/кг на 8,1 % ($p \leq 0,05$) и Ф-200 мкг/кг на 5,5 %.

Таблица 13 — Соматометрические показатели потомства мужского пола белых беспородных лабораторных мышей при однократном воздействии фулвестранта, $M \pm m$

Показатели (среднего значения)	Интактная, n=7	Контроль (МО), n=7	Ф-20 мкг/кг, n=7	Ф-100 мкг/кг, n=7	Ф-200 мкг/кг, n=7
Масса, г	27,09±3,59	22,08±3,51	24,54±1,03	21,24±1,69*	23,78±1,29
Длина тела, мм	97,20±1,79	87,60±3,05*	92,40±2,96	84,50±2,35*	89,00±5,65
Длина «нос — ухо», мм	22,86±0,31	21,16±0,74	22,40±0,55	21,00±0,71*	21,60±0,89
Длина «ухо — ухо», мм	12,00±0,01	12,00±0,01	12,00±0,01	12,00±0,01	11,80±0,45
Длина хвоста, мм	95,60±2,61	88,00±4,53*	90,40±4,04	88,40±4,02*	94,70±3,42
Длина стопы правой тазовой конечности, мм	17,50±0,50	17,50±0,50	17,36±0,61	17,00±0,71	17,00±0,35
Аногенитальное расстояние, мм	1,44±0,09	1,53±0,12	1,95±0,11*	1,70±0,08*	1,60±0,22*

Примечание: * — в сравнении с интактной группой выявлены различия со статистической значимостью $p \leq 0,05$, по критерию Стюдента с поправкой Бонферрони.

В значениях длины «ухо — ухо» (мм) нет значимых различий. Длина хвоста (мм) статистически значимо уменьшается в группе контроля (МК) на 7,9 % ($p \leq 0,05$) и в экспериментальной группе Ф-100 мкг/кг на 7,5 % ($p \leq 0,05$) по сравнению с интактной группой. В показателе «длина ступни задней правой лапки (мм)» значимых различий не выявлено (таблица 13). Величина аногенитального расстояния (мм) потомства мужского пола лабораторных мышей при однократном воздействии препарата фулвестрант во всех исследуемых группах увеличивается по сравнению с интактной группой: Ф-20 мкг/кг на 35,4 % ($p \leq 0,05$), Ф-100 мкг/кг на 18,1 % ($p \leq 0,05$) и Ф-200 мкг/кг на 11,1 % ($p \leq 0,05$).

Исследование аногенитального расстояния при пренатальном влиянии эстрогенов на потомство белых беспородных лабораторных мышей мужского

пола и женского пола показало следующие результаты. У потомства мужского пола в интактной группе масса тела составила $27,09 \pm 3,59$ г, в то время как в экспериментальной группе Ф-100 мкг/кг $21,23 \pm 1,69$ г и С-50 мкг/кг $22,34 \pm 0,98$ г, разница между средними величинами интактной группы и экспериментальными группами составляет 5,86 и 4,75 г, соответственно. У потомства женского пола в интактной группе масса тела $20,50 \pm 2,14$ г, в то время как в экспериментальной группе Ф-100 мкг/кг составила $16,11 \pm 2,49$ г, разница между средними величинами равна 4,39 г. Незначительное уменьшение массы тела также наблюдается в экспериментальной группе С-50 мкг/кг по сравнению с интактной группой.

Воздействие синэстрола в дозе 50 мкг/кг у потомства белых беспородных лабораторных мышей мужского пола приводит к уменьшению аногенитального расстояния ($1,22 \pm 0,14$ мм) по сравнению с интактной группой ($1,44 \pm 0,09$ мм).

При воздействии высоких доз эстрогенов экспрессия к рецепторам эстрогенов теряется и демонстрируются «антиандрогенные эффекты». Эти эффекты можно считать онтогенетически отсроченными, феминизирующими. В экспериментальной группе Ф-100 наблюдается незначительное увеличение аногенитального расстояния ($1,70 \pm 0,07$ мм) по сравнению с интактной группой ($1,44 \pm 0,09$ мм). Фулвестрант в дозе 100 мкг/кг блокирует эстрогеновые рецепторы, в результате работают только андрогеновые, приводящие к повышению маскулинизирующего эффекта у потомства мужского пола.

2.2.2.1. Динамика изменений соматометрических данных потомства белых беспородных лабораторных мышей на фоне пренатального однократного внутримышечного воздействия синэстрола

Масса тела потомства мужского и женского пола уменьшается по сравнению с интактной и контрольной группами во всех сериях вводимого препарата, изменения в сторону увеличения наблюдаются у потомства женского пола при введении препарата в дозе 25 мкг/кг по сравнению с интактной и контрольной группами (рисунок 6).

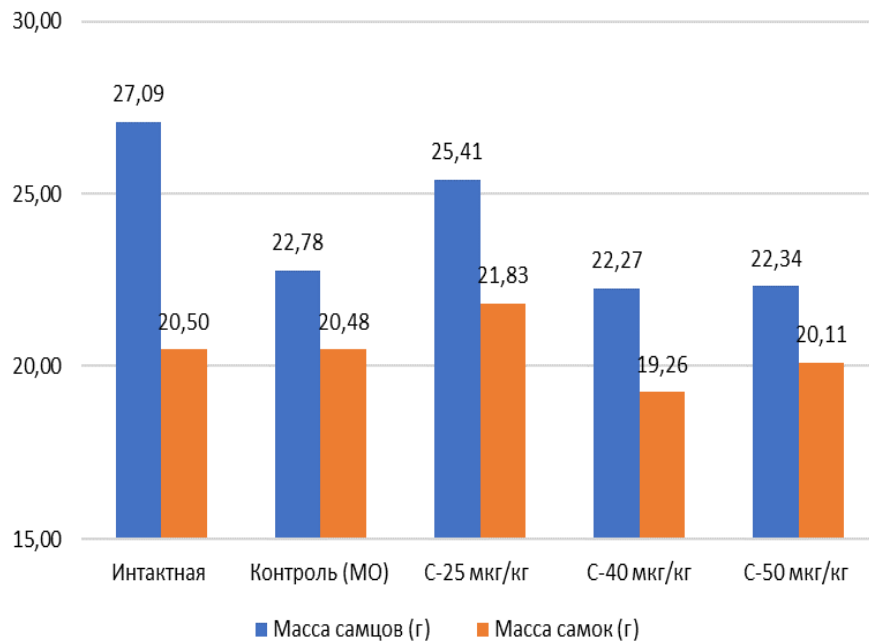


Рисунок 6 — Динамика массы тела потомства на 90-й день мужского и женского пола в зависимости от вводимой дозы синэстрола.

При всех введенных дозах синэстрола в потомствах мужского и женского пола наблюдалась тенденция к уменьшению длины тела по сравнению с интактной и контрольной группами (рисунок 7).

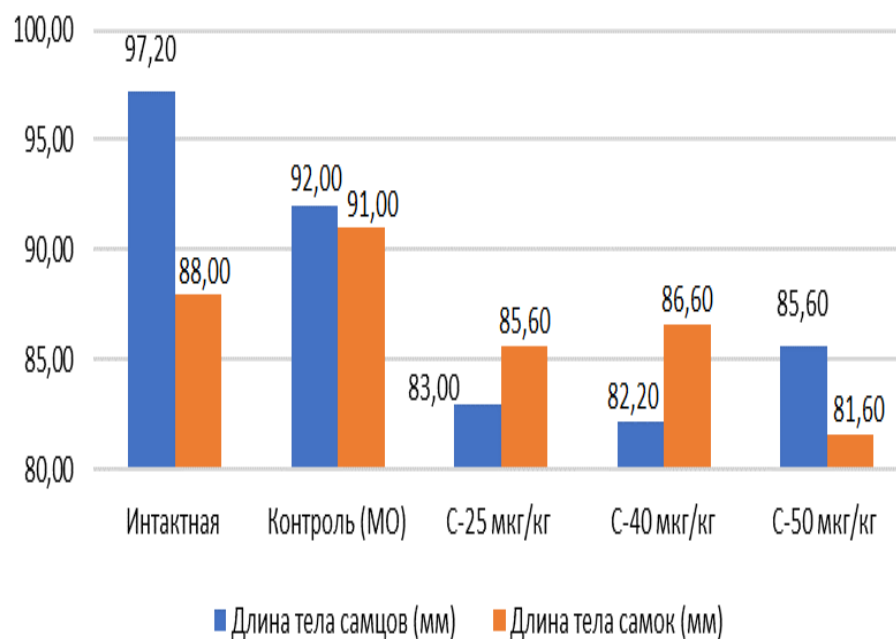


Рисунок 7 — Динамика длины тела потомства на 90-й день мужского и женского пола в зависимости от вводимой дозы синэстрола.

Было отмечено уменьшение длины «нос — ухо» в потомстве как мужского, так и женского пола при введении всех экспериментальных доз синэстрола по сравнению с интактной и контрольной группами исследования (рисунок 8).

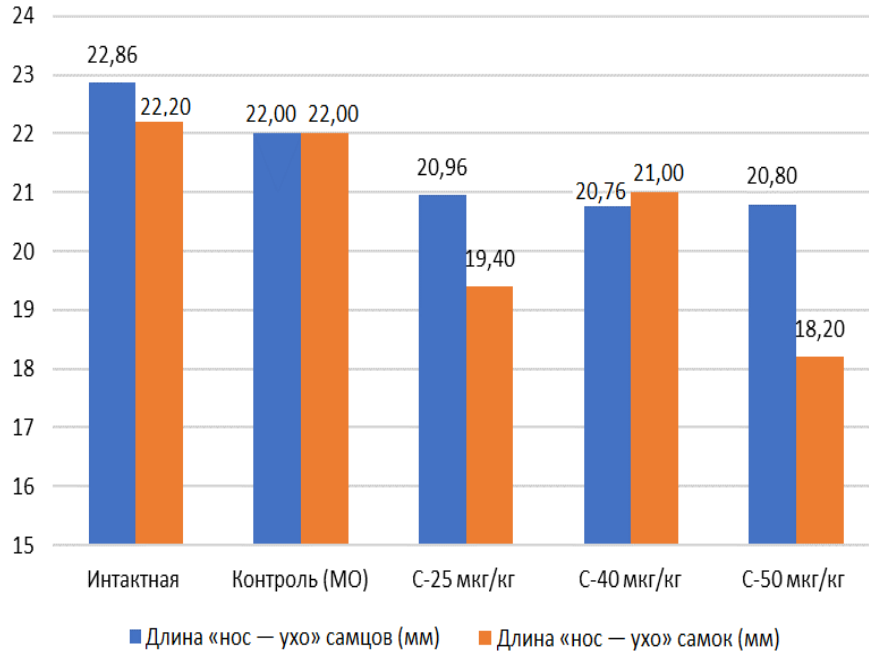


Рисунок 8 — Динамика длины «нос — ухо» потомства на 90-й день мужского и женского пола в зависимости от вводимой дозы синэстрола.

При введении синэстрола в дозах 25, 40 и 50 мкг/кг у потомства женского пола наблюдается достоверное увеличение длины «ухо — ухо», у потомства мужского пола наблюдается увеличение в дозе 50 мкг/кг, по сравнению с интактной и контрольной группами исследования (рисунок 9).

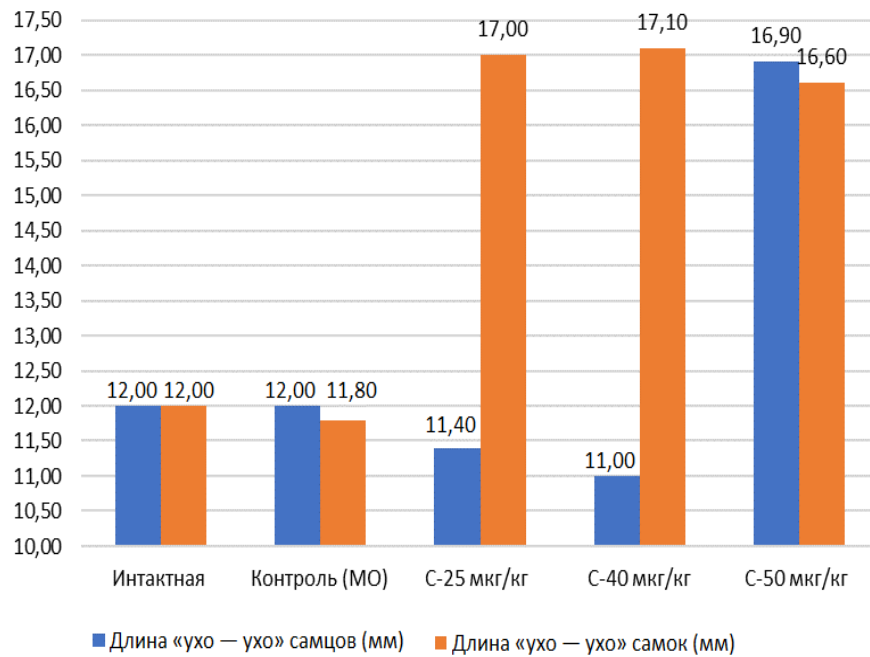


Рисунок 9 — Динамика длины «ухо — ухо» потомства на 90-й день мужского и женского пола в зависимости от вводимой дозы синэстрола.

При введении синэстрола всех исследуемых доз, по сравнению с интактной и контрольной группой, отмечается уменьшение в параметре длины хвоста обоих полов (рисунок 10).

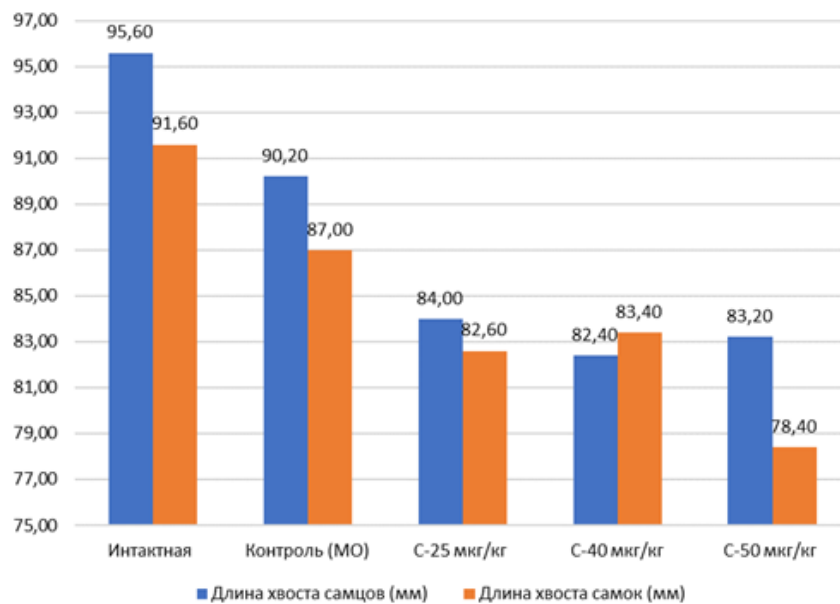


Рисунок 10 — Динамика длины хвоста потомства на 90-й день мужского и женского пола в зависимости от вводимой дозы синэстрола.

Сравнительная динамика длины стопы правой тазовой конечности потомства мужского пола показала увеличение при воздействии синэстрола в дозе 50 мкг/кг, в потомстве женского пола наблюдается увеличение данного показателя во всех введенных дозах, по сравнению с интактной и контрольной группами (рисунок 11).

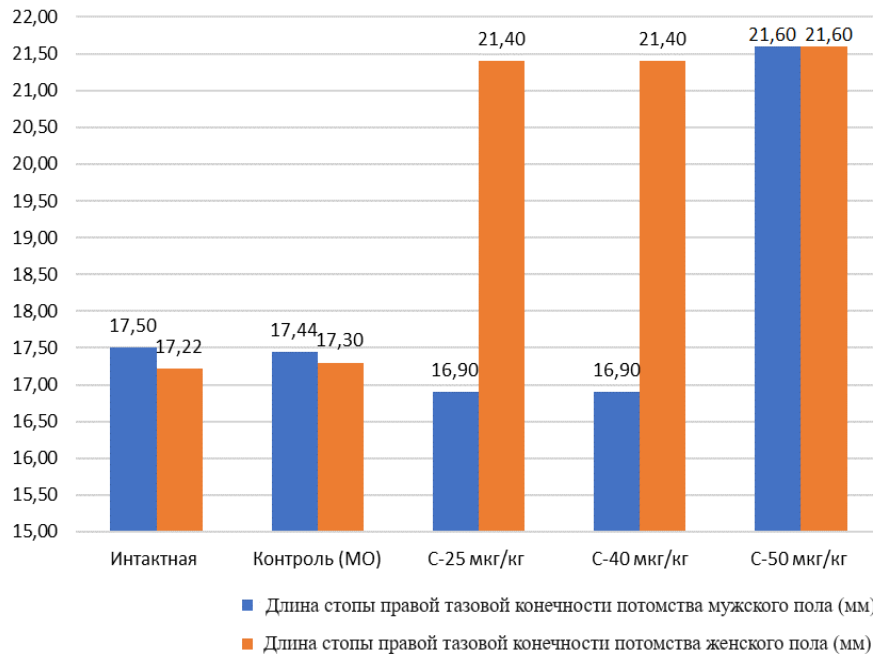


Рисунок 11 — Динамика длины стопы правой тазовой конечности потомства на 90-й день мужского и женского пола в зависимости от вводимой дозы синэстрола.

2.2.2.2. Динамика изменений соматометрических данных потомства белых беспородных лабораторных мышей на фоне пренатального однократного внутримышечного воздействия фулвестранта

У потомства мужского пола при введении фулвестранта в дозах 20, 100 и 200 мкг/кг наблюдается уменьшение массы тела, у потомства женского пола отмечается уменьшение массы тела в дозе 100 мкг/кг, а в дозах 20 и 200 мкг/кг увеличение по сравнению с интактной и контрольной группами (рисунок 12).

Введение фулвестранта во всех исследуемых дозах в потомстве мужского пола привело к уменьшению длины тела, в потомстве женского пола — к уменьшению при введении дозы 100 мкг/кг, в дозах 20 и 200 мкг/кг наблюдается

увеличение длины тела, по сравнению с интактной и контрольной группами (рисунок 13).

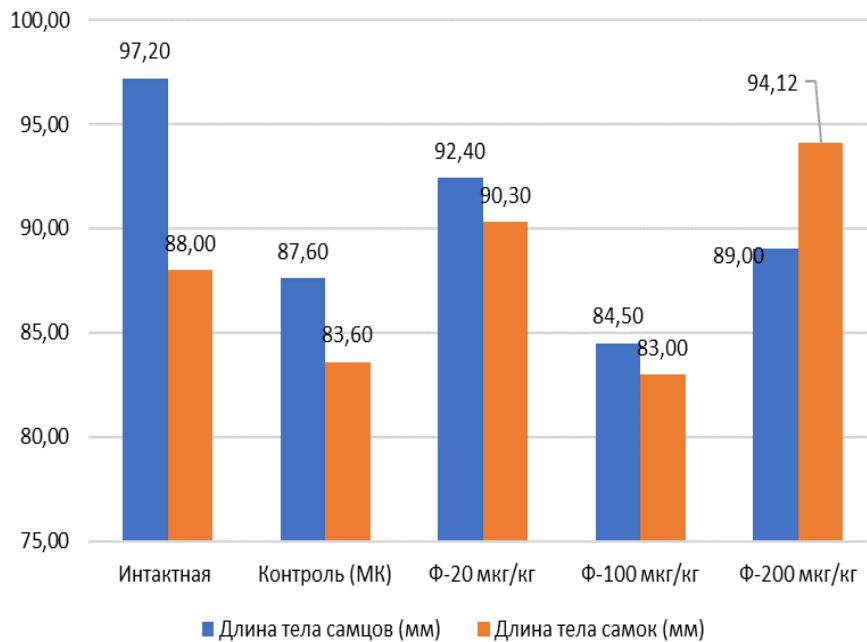


Рисунок 12 — Динамика массы тела потомства на 90-й день мужского и женского пола в зависимости от вводимой дозы фулвестранта.

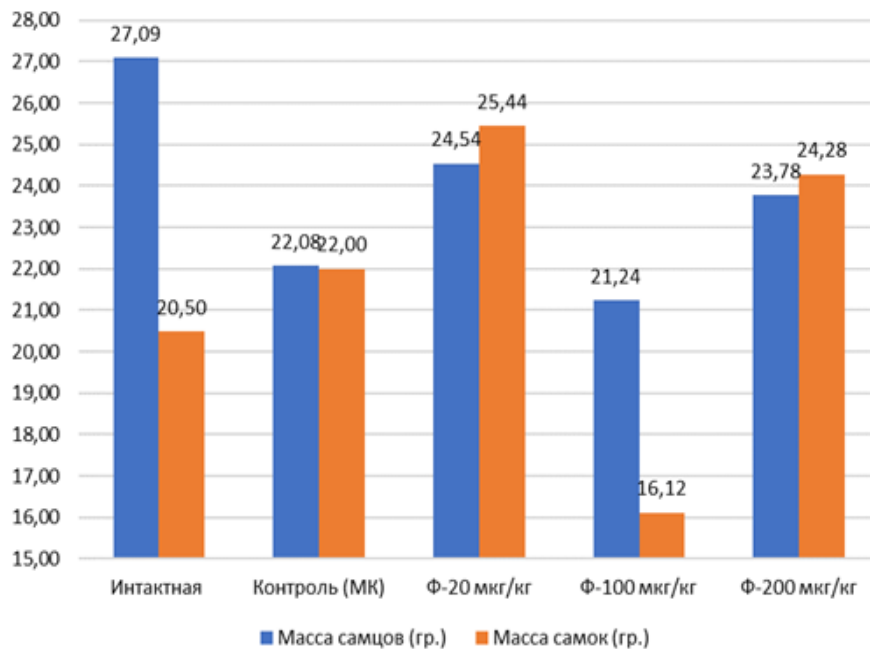


Рисунок 13 — Динамика длины тела потомства на 90-й день мужского и женского пола в зависимости от вводимой дозы фулвестранта.

При воздействии фулвестранта во всех экспериментальных дозах, по сравнению с интактной и контрольной группами, рассматриваемая динамика длины «нос — ухо» у потомства мужского и женского пола прослеживается уменьшение исследуемого параметра (рисунок 14).

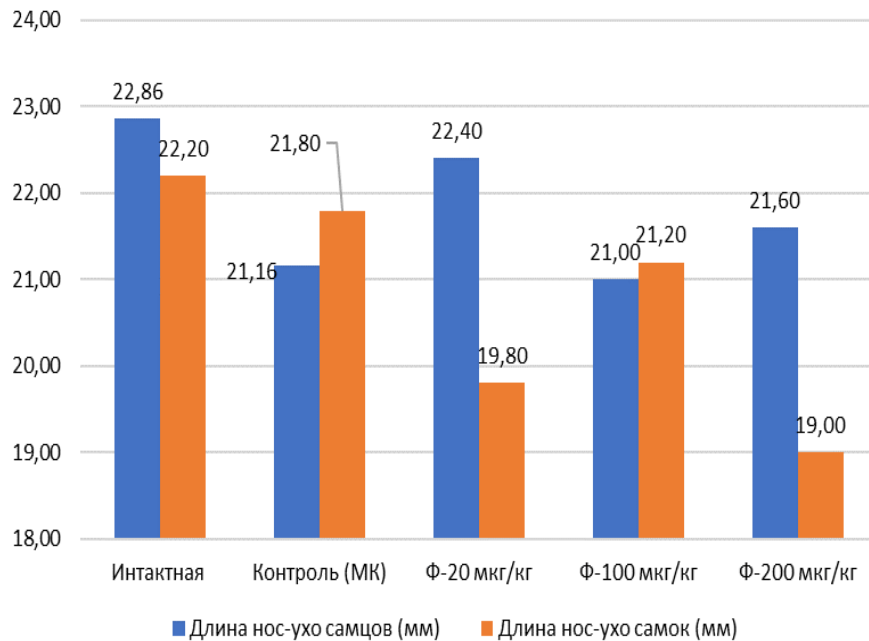


Рисунок 14 — Динамика длины «нос — ухо» потомства на 90-й день мужского и женского пола в зависимости от вводимой дозы фулвестранта.

В параметре «ухо — ухо» при воздействии фулвестранта наблюдаются изменения в сторону увеличения у потомства женского пола, у потомства мужского пола статистически значимых изменений не наблюдалось, по сравнению с интактной и контрольной группами (рисунок 15).

При воздействии фулвестранта в дозах 20 и 100 мкг/кг у потомства мужского и женского пола отслеживается уменьшение параметра длины хвоста, в дозе 200 мкг/кг препарата наблюдается тенденция к нормализации длины хвоста (рисунок 16).

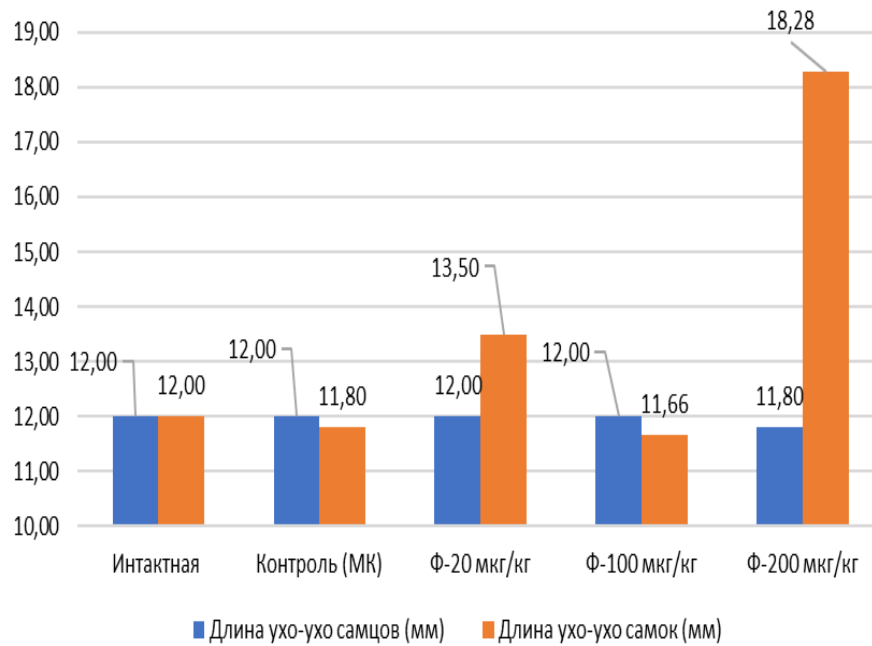


Рисунок 15 — Динамика длины «ухо — ухо» потомства на 90-й день мужского и женского пола в зависимости от вводимой дозы фулвестранта.

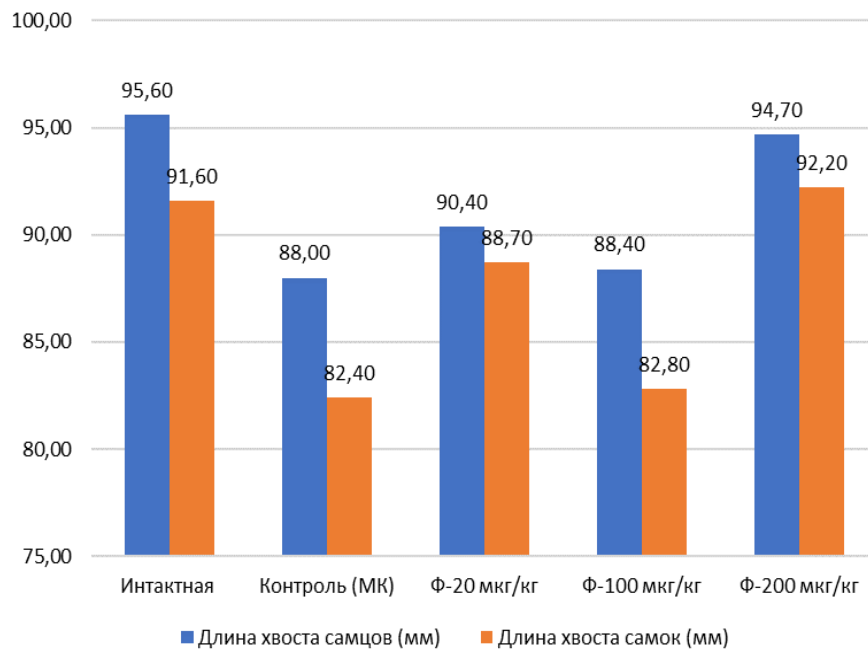


Рисунок 16 — Динамика длины хвоста потомства на 90-й день мужского и женского пола в зависимости от вводимой дозы фулвестранта.

При анализе динамики длины стопы правой тазовой конечности у потомства женского пола наблюдается увеличение при воздействии фулвестранта в дозе 200 мкг/кг, у потомства мужского пола статистически значимых изменений

не наблюдалось, по сравнению с интактной и контрольной группами (рисунок 17).

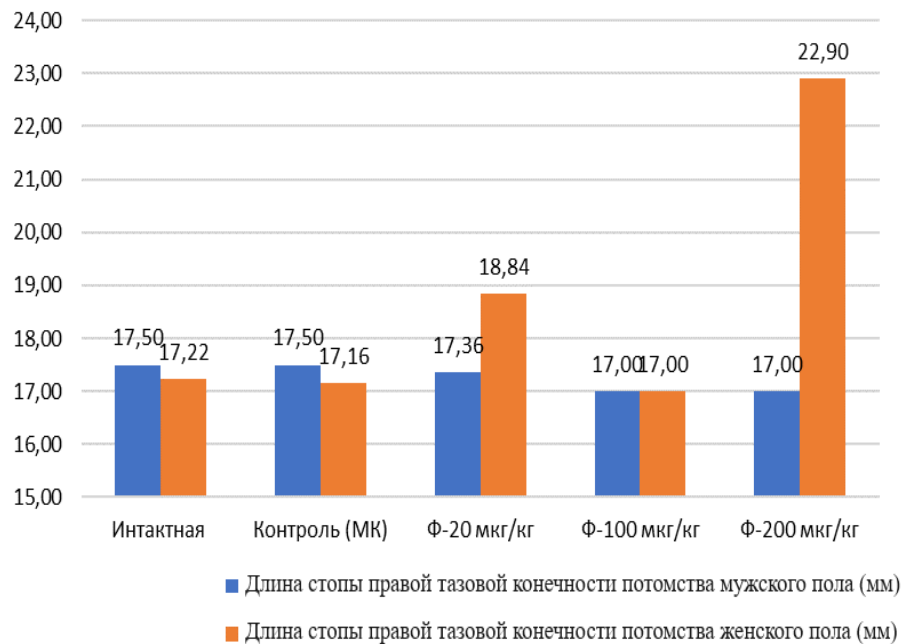


Рисунок 17 — Динамика длины стопы правой тазовой конечности потомства на 90-й день мужского и женского пола в зависимости от вводимой дозы фулвестранта.

2.2.2.3. Сравнительный анализ динамики массы тела и аногенитального расстояния потомства мужского и женского пола белых беспородных лабораторных мышей

Величина аногенитального расстояния у самок в группе С-50 мкг/кг уменьшилась ($0,52 \pm 0,08$ мм) по сравнению с интактной группой ($0,67 \pm 0,12$ мм), этот показатель можно считать феминизирующим отсроченным эффектом. В экспериментальной группе Ф-100 мкг/кг также произошло уменьшение величины аногенитального расстояния по сравнению с интактной группой на 0,09 мм.

Данные результатов анализа соматометрических параметров массы тела и аногенитального расстояния самцов потомства лабораторных мышей представлены в таблицах 14 и 15.

Анализ «Индекса аногенитального расстояния» у потомства мужского и женского пола статистически значимых изменений не показал.

Таблица 14 — Соматометрические параметры массы тела и аногенитального расстояния самцов потомства на 90-й день белых беспородных лабораторных мышей, $M \pm m$

Параметры	Интактная, n=7	Контрольная МО, n=7	С-50 мкг/кг, n=7	Контрольная МК, n=7	Ф-100 мкг/кг, n=7
Масса тела, г	27,09±3,59	22,78±2,94	22,34±0,98	22,08±3,51	21,23±1,69
Аногенитальное расстояние, мм	1,44±0,09	1,36±0,04	1,22±0,14*	1,53±0,12	1,70±0,07*
Аногенитальный индекс	5,30±2,51	6,07±0,69	5,46±0,67	6,99±0,58	8,02±0,28

Примечание: * — достоверно значимы различия по сравнению с показателем интактной группы, $p \leq 0,05$.

Таблица 15 — Параметры массы тела и аногенитального расстояния у самок потомства на 90-й день белых беспородных лабораторных мышей, $M \pm m$

Показатели	Интактная, n=7	Контрольная МО, n=7	С-50 мкг/кг, n=7	Контрольная МК, n=7	Ф-100 мкг/кг, n=7
Масса тела, г	20,50±2,14	20,48±0,94	20,11±2,36	22,00±1,00	16,11±2,49
Аногенитальное расстояние, мм	0,67±0,12	0,69±0,10	0,52±0,08*	0,54±0,06	0,58±0,08
Аногенитальный индекс	3,30±5,6	3,35±0,35	2,57±0,20	2,46±0,18	3,61±0,15

Примечание: * — достоверно значимые различия по сравнению с показателем интактной группы, $p \leq 0,05$.

Изучение аногенитального расстояния белых беспородных лабораторных мышей при пренатальном воздействии эстрогенов с низкой и высокой дозами эстрогенов в пренатальный период плода продемонстрировало изменение этого полезного индикатора маскулинизации и феминизации потомства в половозрелом возрасте.

У потомства эффект укорочения или удлинения тканей промежности в репродуктивном возрасте формируется за счет уровня половых гормонов матери в период эмбрионального развития. Пренатальное воздействие эстрогенов на материнский организм не влияет на массу тела потомства, но с высокой долей вероятности влияет на изменение аногенитального расстояния, независимо от половой принадлежности потомства (масса самцов интактной группы 27,09±3,59 г и экспериментальной группы С-50 мкг/кг 22,34±0,98 г, масса самок интактной группы 20,50±2,14 г и экспериментальной группы С-50 мкг/кг 20,11±2,36 г).

Воздействие синэстрола в дозе 50 мкг/кг у потомства белых беспородных лабораторных мышей мужского пола приводит к уменьшению аногенитального расстояния ($1,22 \pm 0,14$ мм) по сравнению с интактной группой ($1,44 \pm 0,09$ мм). Результаты нашего исследования согласуются с результатами К. R. Mandrup с соавт. (2013), С. L. Schwartz и соавт. (2019) (Mandrup K. R., Jacobsen P. R., Isling L. K. et al., 2013; Schwartz C. L., Christiansen S., Vinggaard A. M. et al., 2019), в исследованиях которых отмечается уменьшение аногенитального расстояния в мужском потомстве, вызванное снижением выработки тестостерона. При воздействии высоких доз эстрогенов экспрессия к рецепторам эстрогенов теряется и демонстрируются «антиандрогенные эффекты». Эти эффекты можно считать онтогенетически отсроченными, феминизирующими. В экспериментальной группе Ф-100 мкг/кг наблюдается незначительно увеличение аногенитального расстояния ($1,70 \pm 0,07$ мм) по сравнению с интактной группой ($1,44 \pm 0,09$ мм), так как фулвестрант в дозе 100 мкг/кг блокирует эстрогеновые рецепторы, в результате работают только андрогеновые, приводящие к повышению маскулинизирующего эффекта у потомства мужского пола.

У потомства самок при введении синэстрола в дозе 50 мкг/кг ожидалось увеличение величины аногенитального расстояния, в соответствии с исследованиями Т. D. Fouquieray с соавт. (2014) (Fouquieray T. D., Blumstein D. T., Monclús R. et al., 2014), однако полученные нами результаты отличались от предполагаемых. Величина аногенитального расстояния у самок в группе С-50 мкг/кг уменьшилась ($0,52 \pm 0,08$ мм) по сравнению с интактной группой ($0,67 \pm 0,12$ мм), этот показатель можно считать феминизирующим отсроченным эффектом. В экспериментальной группе Ф-100 мкг/кг также произошло уменьшение величины аногенитального расстояния, по сравнению с интактной группой, на 0,09 мм.

Таким образом, исследование дозозависимых эффектов пренатального влияния эстрогенов оказывает как стимулирующее, так и депрессивное воздействие на величину аногенитального расстояния потомства. Исследование зависимости аногенитального расстояния от пренатального эффекта эстрогенов позволяет вовремя обратить внимание на патологию репродуктивной системы потомства мужского и женского пола.

2.2.3. МИКРОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЯИЧНИКОВ ПОТОМСТВА БЕЛЫХ БЕСПОРОДНЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ ПРИ ПРЕНАТАЛЬНОМ ОДНОКРАТНОМ ВНУТРИМЫШЕЧНОМ ВВЕДЕНИИ СИНЭСТРОЛА

Яичники млекопитающих — парные паренхиматозные зональные и весьма динамичные органы, совмещающие в себе эндокринную и герминативная функции (рисунок 18-20).

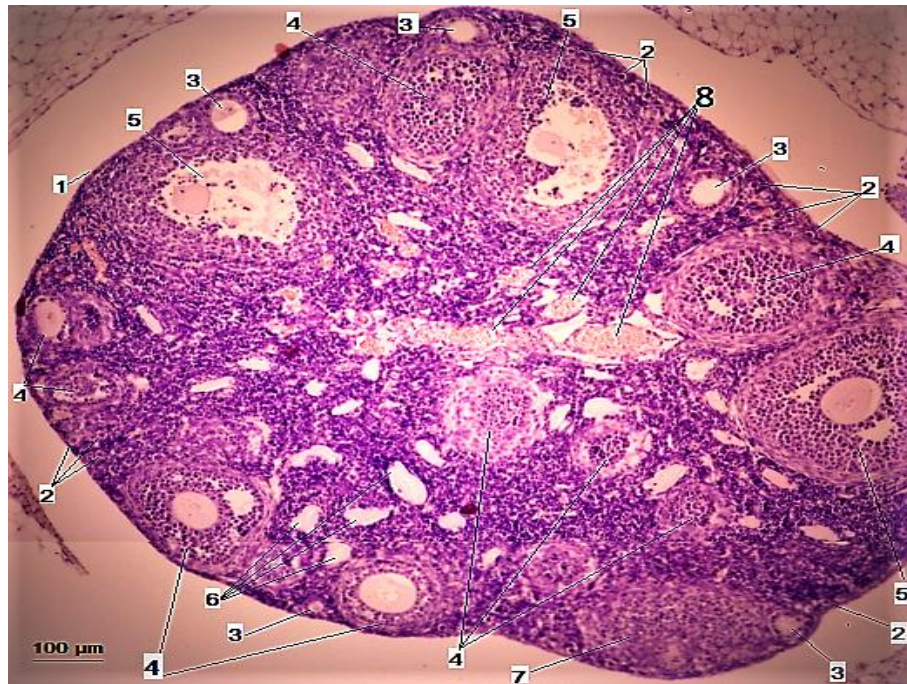


Рисунок 18 — Яичник потомства белой беспородной лабораторной мыши в норме на 90-й день: 1 — однослойный кубический эпителий; 2 — примордиальный фолликул; 3 — первичный фолликул; 4 — вторичный фолликул; 5 — третичный фолликул; 6 — атретические тела; 7 — желтое тело; 8 — кровеносные сосуды. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 100$.

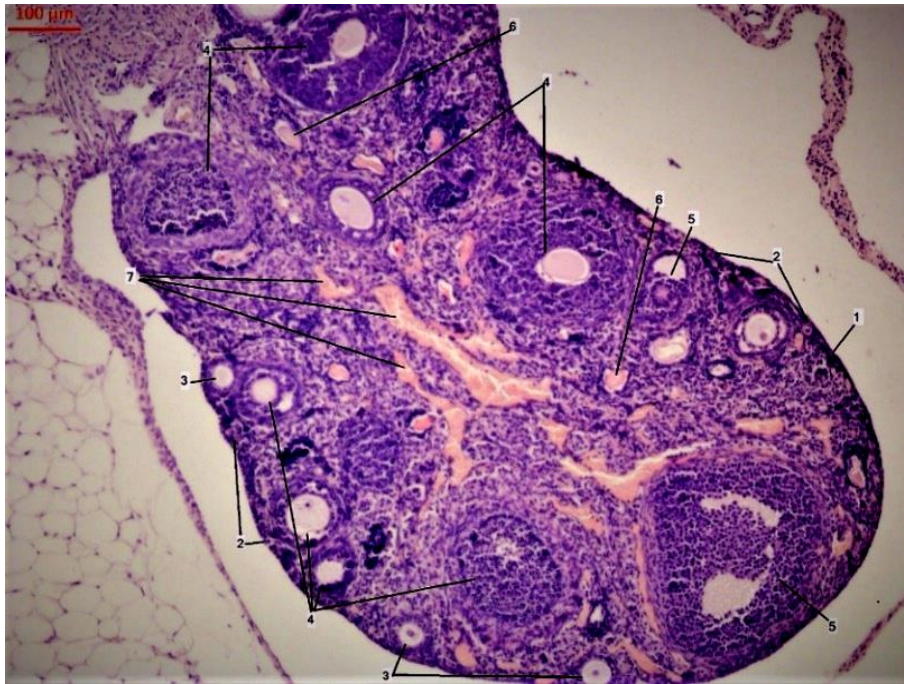


Рисунок 19 — Яичник потомства белой беспородной лабораторной мыши, получившей во время беременности масло оливковое в дозе 20 мкг/кг на 90-й день: 1 — однослойный кубический эпителий; 2 — примордиальный фолликул; 3 — первичный фолликул; 4 — вторичный фолликул; 5 — третичный фолликул; 6 — атретические тела; 7 — кровеносные сосуды. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 100$.

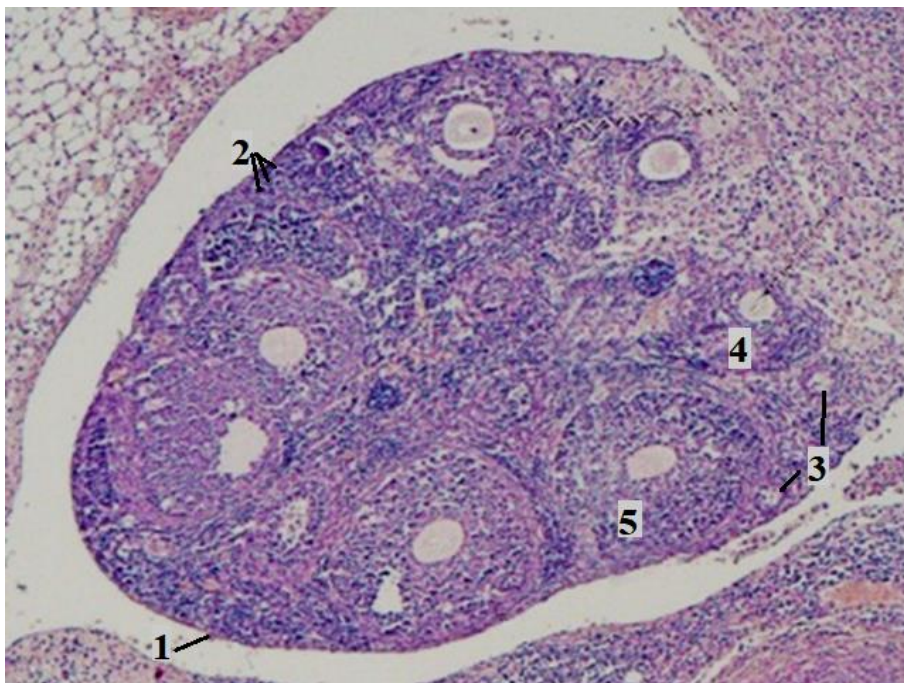


Рисунок 20 — Яичник потомства белой беспородной лабораторной мыши экспериментальной группы С-25 мкг/кг на 90-й день: 1 — однослойный кубический эпителий; 2 — примордиальные фолликулы; 3 — первичные фолликулы; 4 — вторичный фолликул; 5 — третичный фолликул. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 100$.

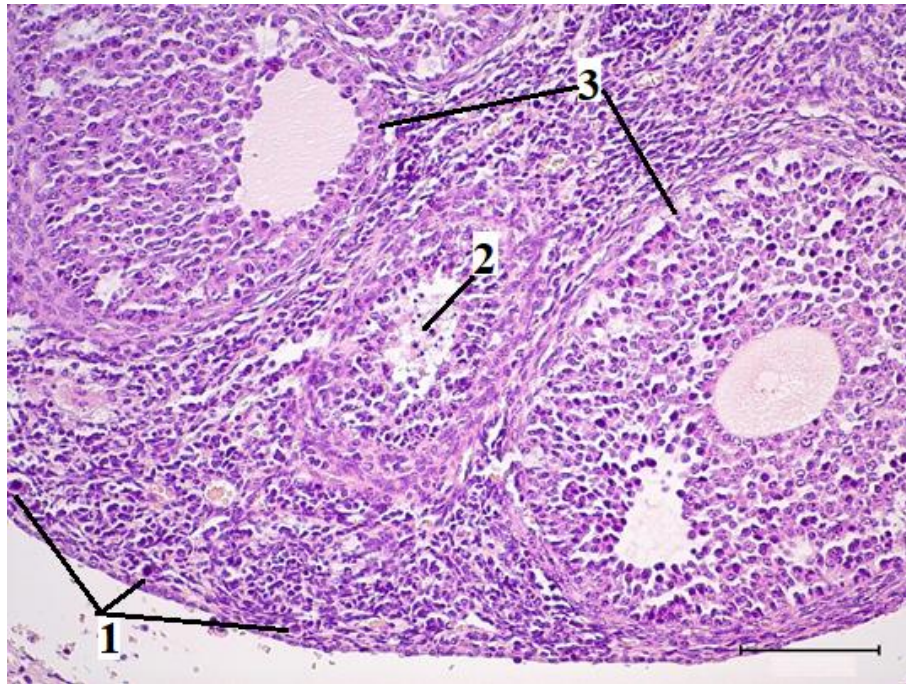


Рисунок 21 — Яичник потомства белой беспородной лабораторной мыши экспериментальной группы С-25 мкг/кг на 90-й день: 1 — примордиальные фолликулы; 2 — вторичный фолликул; 3 — третичные фолликулы. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 400$.

Анализ результатов морфометрии яичников потомства белых беспородных лабораторных мышей при пренатальном однократном внутримышечном введении синтетического препарата синэстрол в дозе 25 мкг/кг показал, что яичник покрыт покровным, однослойным, кубическим эпителием.

Во внутренней зоне коркового вещества яичников представлены фолликулы- примордиальные, первичные, вторичные, третичные расположенные в прослойках рыхлой соединительной ткани с сосудами.(рисунок 20, 21).

На срезе яичников потомства примордиальные фолликулы располагаются в корковом веществе в виде компактных групп (рисунок 20).

На срезе яичников потомства первичные фолликулы состоят из овоцитов и одного-двух слоев низкопризматических фолликулярных клеток. Вторичные фолликулы характеризуются следующим строением: фолликулярный эпителий переходит в многослойный, появляются одна или несколько мелких полостей, заполненных жидкостью.

На срезе третичные фолликулы (преовуляторные, грааффовы), достигшие максимальной зрелости, — крупные среди всех фолликулов яичников потомства и готовые к овуляции, объем фолликулов занят полостью с жидкостью.

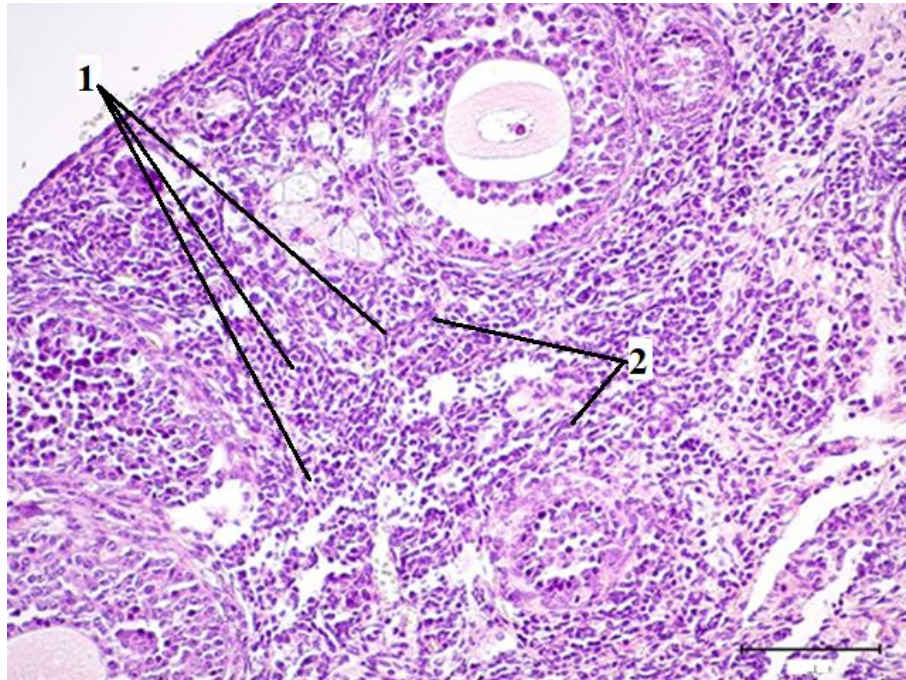


Рисунок 22 — Яичник потомства белой беспородной лабораторной мыши экспериментальной группы С-25 мкг/кг на 90-й день: 1 — рыхлая волокнистая соединительная ткань, 2 — кровеносные сосуды. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 400$.

Мозговое вещество яичника по размеру меньше коркового, представлено соединительной тканью с кровеносными сосудами, идущими далее в корковое вещество органа. (рисунок 22, 23).

Результаты исследования морфометрических показателей яичников потомства лабораторных мышей при пренатальном однократном внутримышечном введении синэстрола в дозе С-25 мкг/кг представлены в таблице 16.

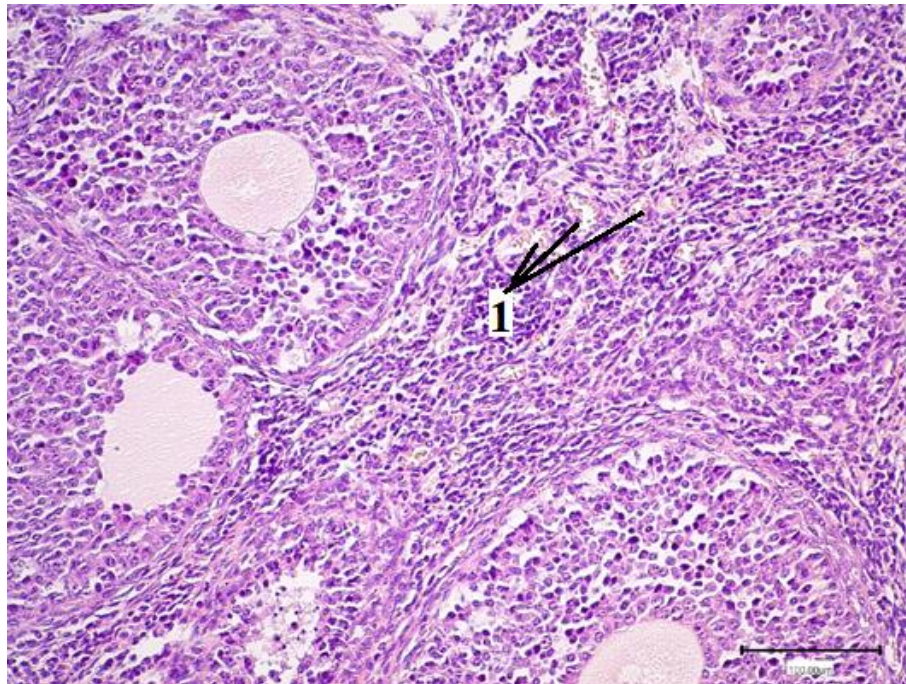


Рисунок 23 — Яичник потомства белой беспородной лабораторной мыши экспериментальной группы С-25 мкг/кг на 90-й день: 1 — рыхлая волокнистая соединительная ткань с кровеносными сосудами. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 400$.

Таким образом, яичник млекопитающего является чувствительной и адекватной моделью для исследования повреждающего влияния эстрогенов в пренатальный период. Анализ воздействия повреждающего фактора на структуры гонад потомства сводится к более глубокому изучению состава фолликулов на разных стадиях развития, а также их производных – желтые и атретические тела, которые в целом определяют возможность осуществления репродуктивной и эндокринной функции органа в постнатальном онтогенезе.

Анализ морфометрических показателей среза яичников по центру органа потомства белых беспородных лабораторных мышей при пренатальном однократном внутримышечном воздействии синэстрола в контрольной группе (МО), по сравнению с интактной группой, показал (таблица 16):

- 1) уменьшение средней толщины покровного эпителия среза яичников по центру органа на 33,0 % ($p \leq 0,05$);
- 2) уменьшение средней площади поперечного среза яичников на 13,0 % ($p \leq 0,05$);

- 3) уменьшение средней площади коркового вещества среза яичников на 59,0 % ($p \leq 0,05$);
- 4) уменьшение средней толщины коркового вещества среза яичников на 29,0%;
- 5) уменьшение средней площади мозгового вещества среза яичников на 8,0%;
- 6) незначительное увеличение средней толщины мозгового вещества среза яичников на 0,4 %;
- 7) увеличение среднего диаметра сосудов микроциркуляторного русла на стандартной площади среза яичников на 38,0 % ($p \leq 0,05$).

Таблица 16 — Морфометрические показатели среза яичников на стандартной площади потомства белых беспородных лабораторных мышей при воздействии синэстрола, $M \pm m$

Показатели	Интактная, n=7	Контроль (МО), n=7	C-25 мкг/кг, n=7
Средняя толщина покровного эпителия среза яичников по центру органа, мкм	9,0±2	6,0±1,4*	5,0±1,2*
Средняя площадь поперечного среза яичников по центру органа, мкм ²	1443,1±106,9	1249,2±81,4*	1171,3±0,8*
Средняя площадь коркового вещества среза яичников по центру органа, мкм ²	2637,6±466,6	1076,6±82,0*	1000,4±2,1*
Средняя толщина коркового вещества среза яичников по центру органа, мкм	425,0±189,0	301,0±66,4	267,0±59,8*
Средняя площадь мозгового вещества среза яичников по центру органа, мкм ²	188,2±93,3	172,6±2,5	170,8±2,2
Средняя толщина мозгового вещества среза яичников по центру органа, мкм	227,0±73,0	228±46,6	227,0±35,2
Средний диаметр сосудов микроциркуляторного русла на стандартной площади среза яичников, мкм	16,0±2,0	22,0±3,7*	24,0±9,9*

Примечание: * — в сравнении с интактной группой выявлены различия со статистической значимостью $p \leq 0,05$.

Морфометрические данные среза яичников потомства белых беспородных лабораторных мышей при пренатальном однократном внутримышечном воздействии синэстрола в экспериментальной группе C-25 мкг/кг, по сравнению с интактной группой, показали (таблица 16, рисунок 24):

- 1) уменьшение средней толщины покровного эпителия среза яичников по центру органа на 44,0 % ($p \leq 0,05$);

- 2) уменьшение средней площади поперечного среза яичников на 18,0 % ($p \leq 0,05$);
- 3) уменьшение средней площади коркового вещества среза яичников на 62,0 % ($p \leq 0,05$);
- 4) уменьшение средней толщины коркового вещества среза яичников на 37,0 % ($p \leq 0,05$);
- 5) уменьшение средней площади мозгового вещества среза яичников на 9,0%;
- 6) увеличение среднего диаметра кровеносных сосудов на стандартной площади среза яичников на 50,0 % ($p \leq 0,05$).

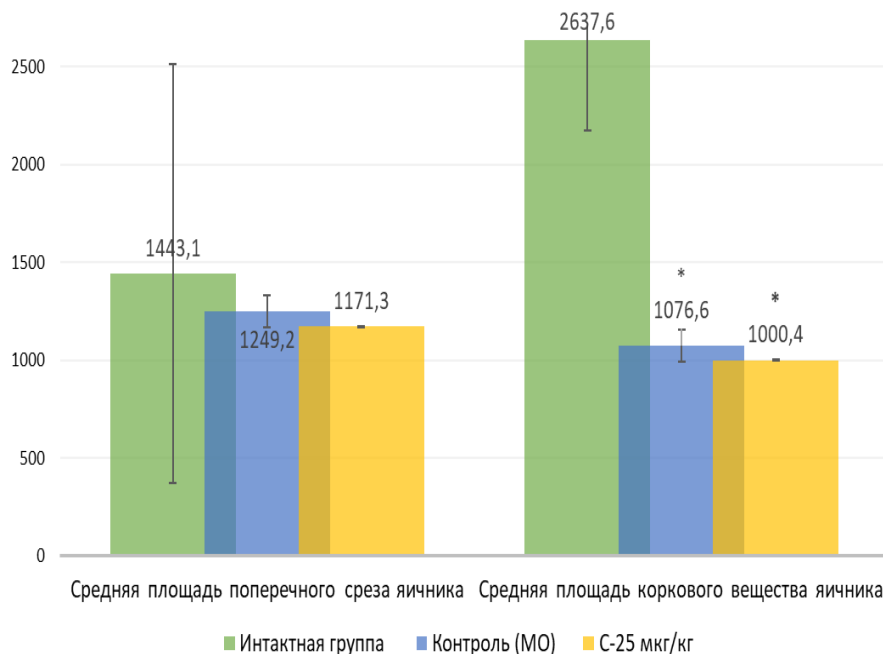


Рисунок 24 — Показатели среза яичников потомства на 90-й день при пренатальном однократном внутримышечном воздействии синэстрола в интактной, контрольной группах и группе С-25 мкг/кг.

Сравнительный анализ фолликулярного аппарата среза яичников на стандартной площади контрольной (МО) и интактной группы, показал (таблица 17, рисунок 25, 26):

- 1) снижение среднего количества примордиальных фолликулов на стандартной площади среза яичников на 79,0 % ($p \leq 0,05$);

- 2) снижение среднего количества первичных фолликулов на стандартной площади среза яичников на 45,0 % ($p \leq 0,05$);
- 3) уменьшение средней площади первичных фолликулов на стандартной площади среза яичников на 26,0 %;
- 4) снижение среднего количества вторичных фолликулов на стандартной площади среза яичников на 21,0 %;
- 5) уменьшение средней площади вторичных фолликулов на стандартной площади среза яичников на 27,0 % ($p \leq 0,05$);
- 6) средняя толщина теки, окружающей вторичные фолликулы изменений не показало;
- 7) снижение среднего количества третичных фолликулов на стандартной площади среза яичников на 26,0 %;
- 8) уменьшение средней площади третичных фолликулов на стандартной площади среза яичников на 30,0 %;
- 9) уменьшение теки, окружающей третичные фолликулы на стандартной площади среза яичников на 11,0 %;
- 10) снижение среднего количества атретических фолликулов на стандартной площади среза яичников на 24,0 %.

Анализ фолликулярного аппарата среза яичников на стандартной площади интактной и экспериментальной группы С-25 мкг/кг показал (таблица 17):

- 1) снижение среднего количества примордиальных фолликулов на стандартной площади среза яичников на 72,0 % ($p \leq 0,05$);
- 2) снижение среднего количества первичных фолликулов на стандартной площади среза яичников на 54,0 % ($p \leq 0,05$);
- 3) уменьшение средней площади первичных фолликулов на стандартной площади среза яичников на 17,0 %;
- 4) снижение среднего количества вторичных на стандартной площади среза яичников на 39,0 % ($p \leq 0,05$);
- 5) уменьшение средней площади вторичных фолликулов на стандартной площади среза яичников на 37,0 % ($p \leq 0,05$);

- б) уменьшение средней толщины теки, окружающей вторичные фолликулы на 15,0 %;
- 7) снижение среднего количества третичных фолликулов на стандартной площади среза яичников на 17,0 %;
- 8) увеличение средней площади третичных фолликулов на 48,0 % ($p \leq 0,05$);
- 9) уменьшение средней теки, окружающей третичные фолликулы на 20,0% ($p \leq 0,05$);
- 10) снижение среднего количества атретических фолликулов на стандартной площади среза яичников на 62,0 % ($p \leq 0,05$).

Таблица 17 — Фолликулометрические показатели среза яичников на стандартной площади потомства белых беспородных лабораторных мышей при воздействии синэстрола, $M \pm m$

Показатели	Интактная, n=7	Контроль (МО), n=7	C-25 мкг/кг, n=7
Среднее количество примордиальных фолликулов	37,8±3,5	8,0±1,6*	10,4±1,1*
Среднее количество первичных фолликулов	6,2±1,6	3,4±0,5*	2,8±0,8*
Средняя площадь первичных фолликулов, мкм ²	3,5±2,2	2,6±0,4	2,9±0,4
Среднее количество вторичных фолликулов	6,6±1,5	5,2±2,9	4,0±1,2*
Средняя площадь вторичных фолликулов, мкм ²	15,8±15,5	11,6±4,6*	9,9±4,9*
Средняя толщина теки, окружающей вторичные фолликулы, мкм	26,0±7,0	26,0±15,4	22,0±2,9
Среднее количество третичных фолликулов	4,6±1,1	3,4±0,9	3,8±0,8
Средняя площадь третичных фолликулов, мкм ²	46,7±20,7	32,5±17,5	69,3±3,5*
Средняя толщина теки, окружающей третичные фолликулы, мкм	35,0±8,0	31,0±3,1	28,0±4,6*
Среднее количество атретических фолликулов	4,2±1,3	3,2±0,8	1,6±0,9*

Примечание: * — в сравнении с интактной группой выявлены различия со статистической значимостью $p \leq 0,05$.

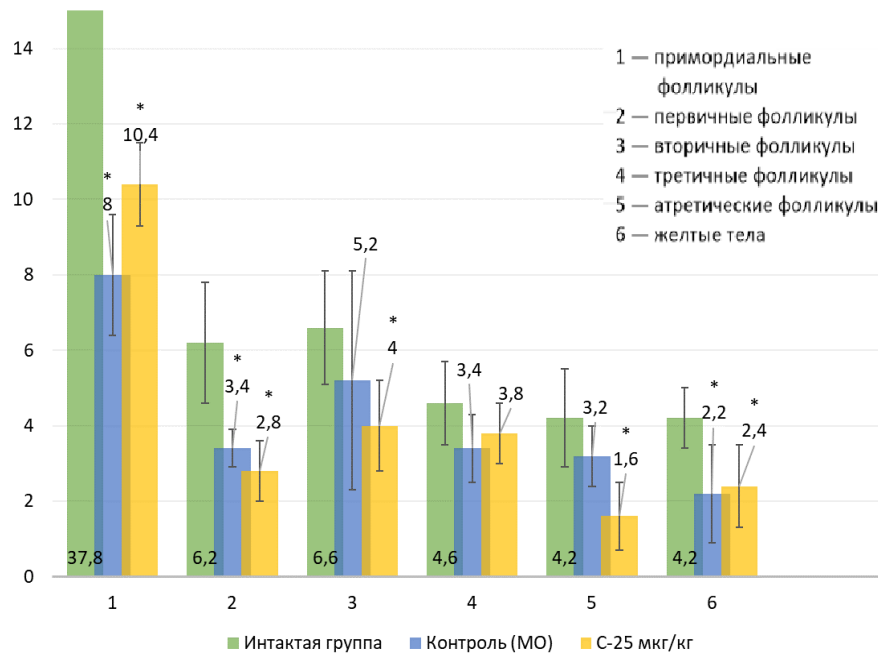


Рисунок 25 — Количественные показатели (средние) структурных компонентов коркового вещества среза яичников потомства на 90-й день при пренатальном однократном внутримышечном воздействии синэстрола в интактной, контрольной группах и группе C-25 мкг/кг.

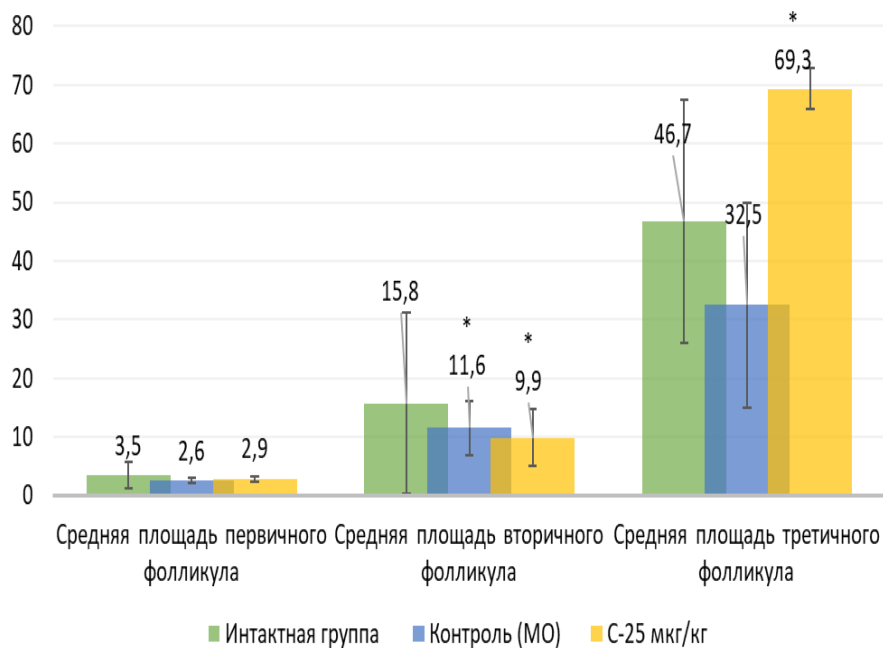


Рисунок 26 — Параметры средней площади фолликулов на срезе яичников потомства на 90-й день лабораторных мышей при пренатальном однократном внутримышечном введении синэстрола в интактной, контрольной группах и группе C-25 мкг/кг.

Сравнительные морфометрические исследования среза яичников на стандартной площади интактной и контрольной группы (МО) показали (таблица 18):

- 1) уменьшение среднего количества желтых тел на 48,0 % ($p \leq 0,05$);
- 2) уменьшение средней площади желтых тел на 12,0 %;
- 3) снижение среднего количества лютеиновых клеток в желтом теле на стандартной площади на 46,0 % ($p \leq 0,05$).

Сравнительные морфометрические исследования среза яичников на стандартной площади интактной и экспериментальной группы С-25 мкг/кг показали (таблица 18):

- 1) уменьшение среднего количества желтых тел на 48,0 % ($p \leq 0,05$);
- 2) увеличение средней площади желтых тел на 9,0 %;
- 3) снижение среднего количества лютеиновых клеток в желтом теле на стандартной площади на 46,0 % ($p \leq 0,05$).

Таблица 18 — Морфометрические показатели желтых тел среза яичников на стандартной площади потомства при воздействии синэстрола, $M \pm m$

Показатели	Интактная, n=7	Контроль (МО), n=7	С-25 мкг/кг, n=7
Среднее количество желтых тел	4,2±0,8	2,2±1,3*	2,4±1,1*
Средняя площадь желтых тел, мкм ²	114,1±55,9	100,5±15,6	124,9±18,6
Среднее количество лютеиновых клеток в желтом теле на стандартной площади	836,0±352,0	448,0±91,0*	421,0±161,4*

Примечание: * — в сравнении с интактной группой выявлены различия со статистической значимостью $p \leq 0,05$.

Анализ проведенного морфологического исследования яичников потомства белых беспородных лабораторных мышей при пренатальном однократном внутримышечном введении синтетического препарата синэстрол в дозе 40 мкг/кг выявило, что снаружи яичник покрыт однослойным кубическим, местами плоским эпителием.

В составе паренхимы яичников потомства наблюдается два слоя — корковый и мозговой. Периферическую часть занимает корковый слой яичников, характеризующийся наличием овариальных фолликулов разной степени зрелости:

примордиальные, первичные, вторичные и третичные, атретических и желтых тел. (рисунок 27).

Находящиеся в корковом веществе яичников потомства атретические фолликулы подвергающиеся обратному развитию, при исследовании представлены в виде сморщенной блестящей оболочки.(рисунок 27).

Обнаруженные желтые тела на срезе яичников потомства располагаются равномерно, имеют округлую или овальную форму, находятся в стадии образования или зрелости. В составе прослеживается соединительнотканная прослойка с кровеносными сосудами (рисунок 30).

Рыхлая соединительная ткань с обилием кровеносных сосудов, образует строму мозгового вещества, занимающего центральное место органа (рисунок 29).



Рисунок 27 — Яичник потомства на 90-й день белой беспородной лабораторной мыши экспериментальной группы С-40 мкг/кг: 1 — однослойный кубический местами плоский эпителий; 2 — примордиальный фолликул; 3 — первичный фолликул; 4 — вторичный фолликул; 5 — третичный фолликул; 6 — атретические тела; 7 — желтое тело. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 100$.

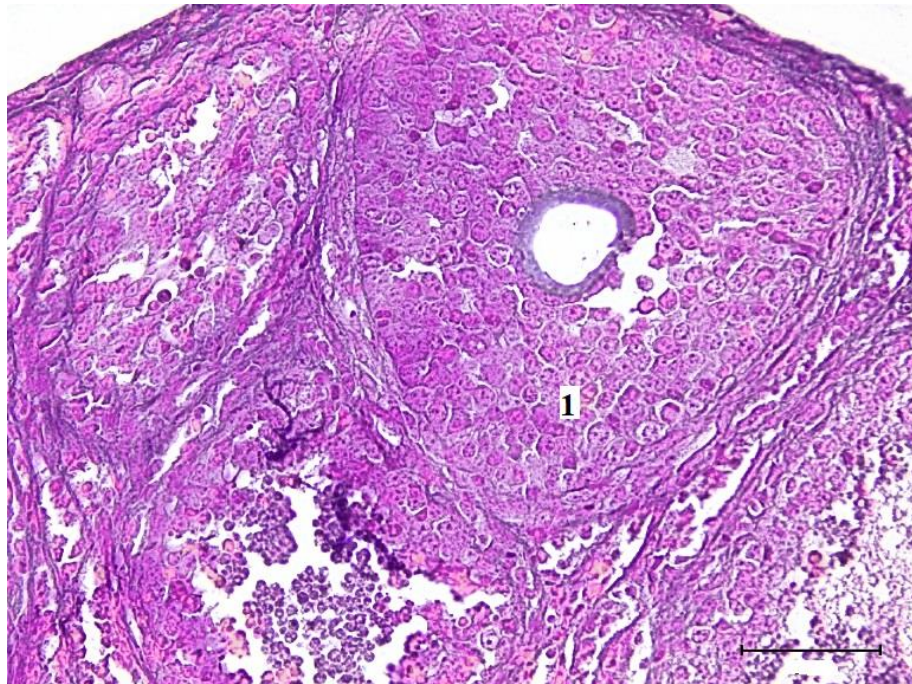


Рисунок 28 — Яичник потомства на 90-й день белой беспородной лабораторной мыши экспериментальной группы С-40 мкг/кг: 1 — третичный фолликул. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 400$.

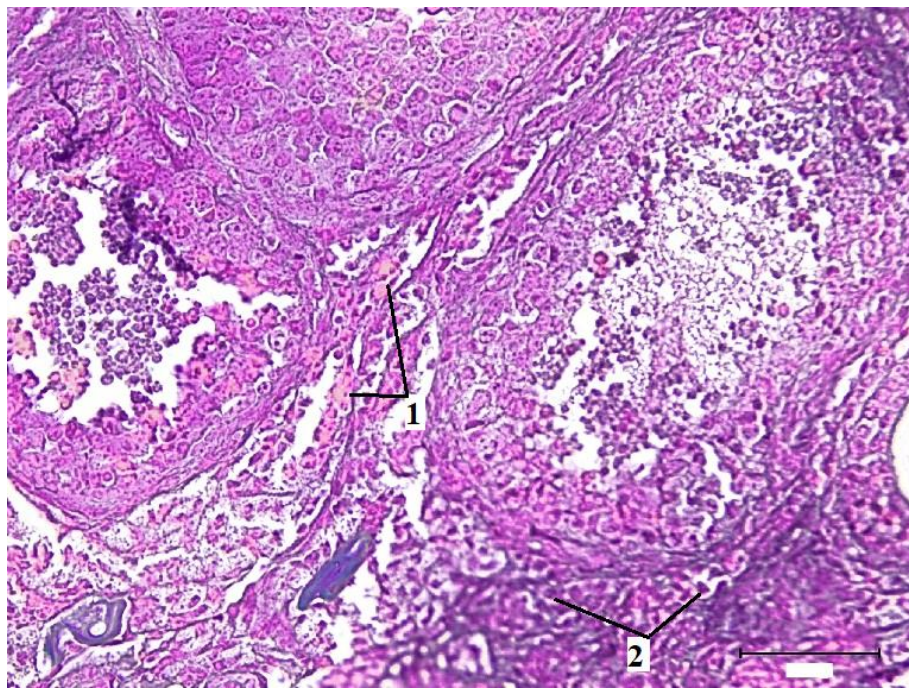


Рисунок 29 — Яичник потомства на 90-й день белой беспородной лабораторной мыши экспериментальной группы С-40 мкг/кг: 1 — кровеносные сосуды мозгового вещества; 2 —рыхлая волокнистая соединительная ткань. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 400$.

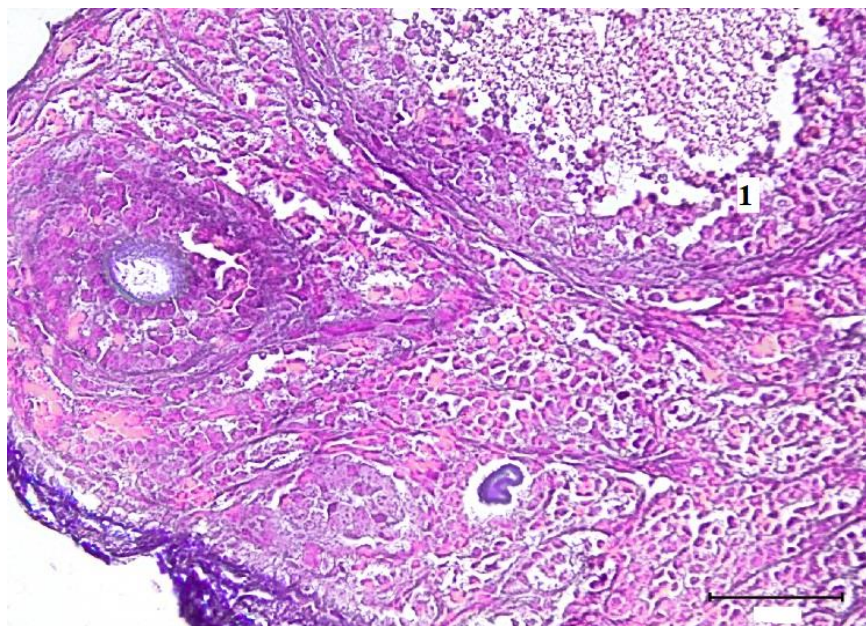


Рисунок 30 — Яичник потомства на 90-й день белой беспородной лабораторной мыши экспериментальной группы С-40 мкг/кг: 1 — желтое тело. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 400$.

Результаты исследования морфометрических показателей яичников потомства лабораторных мышей при пренатальном однократном внутримышечном введении синтетического препарата синэстрол в дозе С-40 мкг/кг представлены в таблице 19.

Таблица 19 — Морфометрические показатели среза яичников на стандартной площади потомства белых беспородных лабораторных мышей при воздействии синэстрола, $M \pm m$

Показатели	Интактная, n=7	Контроль (МО), n=7	С-40 мкг/кг, n=7
Средняя толщина покровного эпителия среза яичников по центру органа, мкм	9,0 \pm 2	6,0 \pm 1,4*	5,3 \pm 1,3*
Средняя площадь поперечного среза яичников по центру органа, мкм ²	1443,1 \pm 1069,1	1249,2 \pm 81,4	736,4 \pm 36,9*
Средняя площадь коркового вещества среза яичников по центру органа, мкм ²	2637,6 \pm 466,6	1076,6 \pm 82,0*	687,6 \pm 16,5*
Средняя толщина коркового вещества среза яичников по центру органа, мкм	425,0 \pm 189,0	301,0 \pm 66,4	521,4 \pm 107,5*
Средняя площадь мозгового вещества среза яичников по центру органа, мкм ²	188,2 \pm 93,3	172,6 \pm 2,5	48,8 \pm 20,6*
Средняя толщина мозгового вещества среза яичников по центру органа, мкм	227,0 \pm 73,0	228 \pm 46,6	118,5 \pm 42,4*
Средний диаметр сосудов микроциркуляторного русла на стандартной площади среза яичников, мкм	16,0 \pm 2,0	22,0 \pm 3,7*	22,1 \pm 2,9*

Примечание: * — в сравнении с интактной группой выявлены различия со статистической значимостью $p \leq 0,05$.

Анализ морфометрических показателей среза яичников по центру органа потомства лабораторных мышей при пренатальном однократном внутримышечном воздействии синэстрола в экспериментальной группе С-40 мкг/кг, по сравнению с интактной группой, показал (таблица 19, рисунок 31):

- 1) уменьшение средней толщины покровного эпителия среза яичников по центру органа на 41,0 % ($p \leq 0,05$);
- 2) уменьшение средней площади поперечного среза яичников на 48,0 % ($p \leq 0,05$);
- 3) уменьшение средней площади коркового вещества яичников на 73,0 % ($p \leq 0,05$);
- 4) увеличение средней толщины коркового вещества яичников на 22,0 % ($p \leq 0,05$);
- 5) уменьшение средней площади мозгового вещества яичников и толщины на 74,0 % ($p \leq 0,05$) и 47,0 % ($p \leq 0,05$), соответственно;
- 6) увеличение среднего диаметра кровеносных сосудов на стандартной площади среза яичников на 38,0 % ($p \leq 0,05$).

Сравнительный анализ фолликулярного аппарата среза яичников на стандартной площади экспериментальной С-40 мкг/кг и интактной группы, показал (таблица 20, рисунок 32, 33):

- 1) снижение среднего количества примордиальных фолликулов в яичниках на 86,0 % ($p \leq 0,05$);
- 2) снижение среднего количества первичных фолликулов в яичниках на 54,0 % ($p \leq 0,05$);
- 3) уменьшение средней площади первичных фолликулов на 31,0 %;
- 4) снижение среднего количества вторичных фолликулов на 48,0 % ($p \leq 0,05$);
- 5) уменьшение средней площади вторичных фолликулов на 42,0 % ($p \leq 0,05$);

- 6) уменьшение средней толщины теки, окружающей вторичные фолликулы на 13,0 %;
- 7) снижение среднего количества третичных фолликулов в яичниках на 47,0 % ($p \leq 0,05$);
- 8) уменьшение средней площади третичных фолликулов на 6,0 %;
- 9) увеличение средней теки, окружающей третичные фолликулы на 5,0 %;
- 10) снижение среднего количества атретических фолликулов в яичниках на 47,0 % ($p \leq 0,05$).

Таблица 20 — Фолликулометрические показатели среза яичников на стандартной площади потомства белых беспородных лабораторных мышей при воздействии синэстрола, $M \pm m$

Показатели	Интактная, n = 7	Контроль (МО), n = 7	С-40 мкг/кг, n = 7
Среднее количество примордиальных фолликулов	37,8±3,5	8,0±1,6*	5,4±2,3*
Среднее количество первичных фолликулов	6,2±1,6	3,4±0,5*	2,8±1,3*
Средняя площадь первичных фолликулов, мкм ²	3,5±2,2	2,6±0,4	2,4±0,3
Среднее количество вторичных фолликулов	6,6±1,5	5,2±2,9	3,4±0,5*
Средняя площадь вторичных фолликулов, мкм ²	15,8±15,5	11,6±4,6*	9,1±1,5*
Средняя толщина теки, окружающей вторичные фолликулы, мкм	26,0±7,0	26,0±15,4	22,5±2,2
Среднее количество третичных фолликулов	4,6±1,1	3,4±0,9	2,4±0,5*
Средняя площадь третичных фолликулов, мкм ²	46,7±20,7	32,5±17,5	43,9±5,7
Средняя толщина теки, окружающей третичные фолликулы, мкм	35,0±8,0	31,0±3,1	36,8±2,9
Среднее количество атретических фолликулов	4,2±1,3	3,2±0,8	2,2±0,8*

Примечание: * — в сравнении с интактной группой выявлены различия со статистической значимостью $p \leq 0,05$.

Морфометрические исследования показали, что в экспериментальной группе С-40 мкг/кг, по сравнению с интактной, наблюдались (таблица 21):

- 1) уменьшение среднего количества желтых тел в яичниках на 57,0 % ($p \leq 0,05$);
- 2) уменьшение средней площади желтых тел в яичниках на 56,0 % ($p \leq 0,05$);
- 3) снижение среднего количества лютеиновых клеток в желтом теле на стандартной площади на 45,0 % ($p \leq 0,05$).

Таблица 21 — Морфометрические показатели желтых тел среза яичников на стандартной площади потомства при воздействии синэстрола, $M \pm m$

Показатели	Интактная, n = 7	Контроль (МО), n = 7	С-40 мкг/кг, n = 7
Среднее количество желтых тел	4,2±0,8	2,2±1,3*	1,8±1,3*
Средняя площадь желтых тел, мкм ²	114,1±55,9	100,5±15,6	50,2±2,1*
Среднее количество лютеиновых клеток в желтом теле на стандартной площади	836±352	448±91,0*	458,9±30,2*

Примечание: * — в сравнении с интактной группой выявлены различия со статистической значимостью $p \leq 0,05$.

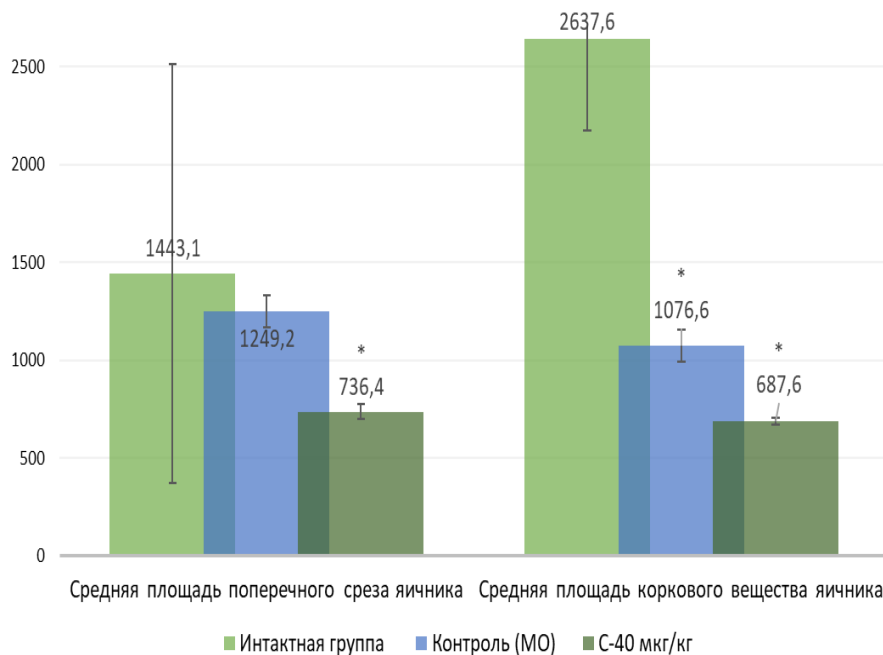


Рисунок 31 — Показатели среза яичников потомства на 90-й день при пренатальном однократном внутримышечном воздействии синэстрола в интактной, контрольной группах и группе С-40 мкг/кг.

Таким образом, при пренатальном введении экспериментальной дозы 40 мкг/кг, синтетического аналога эстрогена синэстрола отмечается морфофункциональная перестройка стромальных компонентов исследуемых параметров коркового и мозгового вещества яичников потомства белых беспородных лабораторных мышей, которые проявляются в виде уменьшения их средних показателей.

Наблюдается увеличение среднего диаметра кровеносных сосудов на стандартной площади среза яичников, демонстрирующее об усилении кровообращения в органе.

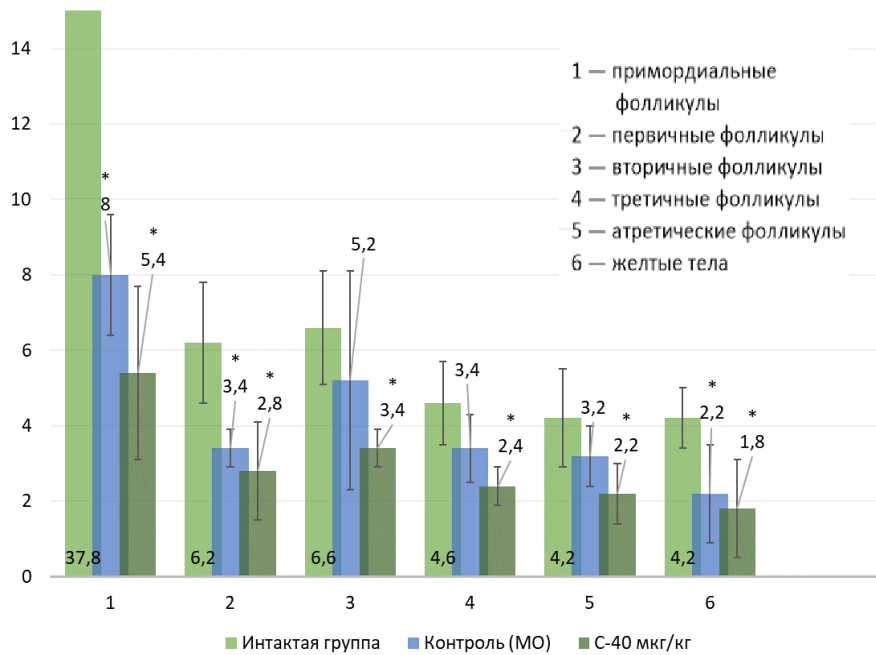


Рисунок 32 — Количественные показатели (средние) структурных компонентов коркового вещества среза яичников потомства на 90-й день при пренатальном однократном внутримышечном воздействии синэстрола в интактной, контрольной группах и группе С-40 мкг/кг.

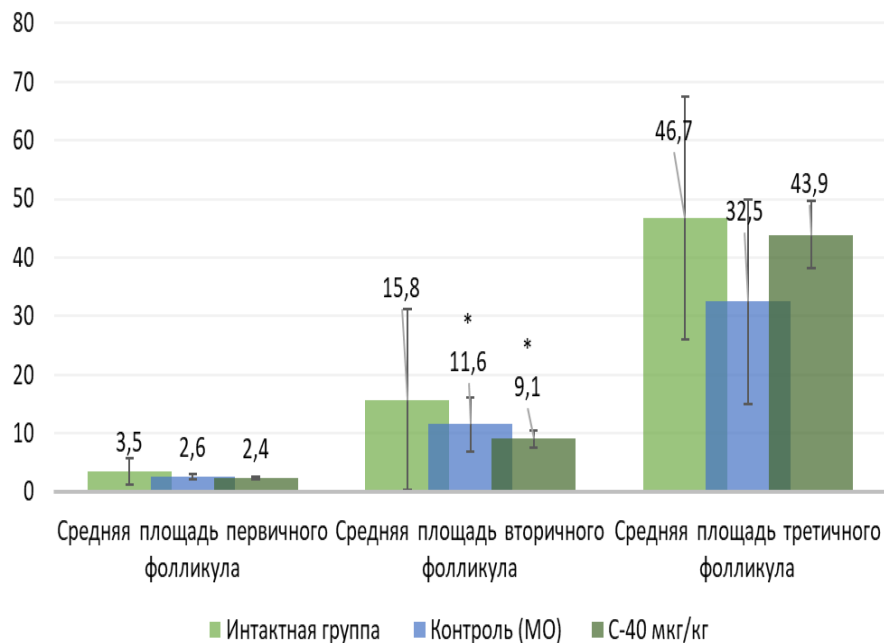


Рисунок 33 — Данные показателей средней площади фолликулов на срезе яичников потомства лабораторных мышей при пренатальном однократном внутримышечном воздействии синэстрола в интактной, контрольной группах и группе С-40 мкг/кг.

Пренатальное воздействие экспериментальной дозы 40 мкг/кг, синтетического аналога эстрогена синэстрола приводит к угнетению фолликулогенеза за счет уменьшения количества фолликулов всех генераций,

среднего количества желтых тел, среднего количества атретических фолликулов в яичниках потомства.

Выявленное на экспериментальной модели пренатальное воздействие синтетического аналога эстрогена синэстрола дает возможность использовать ее для коррекции овариальной дисфункции постнатального развития, а также разработку оптимальных доз введения препаратов эстрогенового ряда во время беременности.

Анализ морфометрического исследования яичников потомства лабораторных мышей при пренатальном однократном внутримышечном введении синэстрола в дозе 50 мкг/кг показал; что яичник потомства сверху покрыт покровным эпителием, состоящим из однослойного плоского, местами кубического эпителия. Значительный объем яичника занят желтыми телами, между которыми проходят соединительнотканые прослойки с кровеносными сосудами и фолликулами (рисунок 34).

В паренхиме коркового вещества в яичниках потомства примордиальные фолликулы представлены одиночно и лишь изредка встречаются небольшими группами, непосредственно под белочной оболочкой, на исследуемом срезе яичников потомства также представлены первичные, вторичные фолликулы овальной и неправильной формы (рисунок 35). В строме яичника наблюдалось увеличение диаметров магистральных сосудов (рисунок 36, 37).

Результаты исследования морфометрических показателей яичников потомства лабораторных мышей при пренатальном однократном внутримышечном введении синтетического препарата синэстрол в дозе С-50мкг/кг представлены в таблице 22.



Рисунок 34 — Яичник потомства на 90-й день белой беспородной лабораторной мыши экспериментальной группы С-50 мкг/кг: 1 — однослойный кубический эпителий; фолликулы различной степени зрелости переместились на периферию, корковое вещество осталось в небольших количествах, вместе с ним сократилось количество первичных фолликул; 2 — первичный фолликул; 3 — вторичный фолликул; 4 — третичный фолликул; 5 — желтые тела; 6 — очаги кровоизлияния. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 100$.

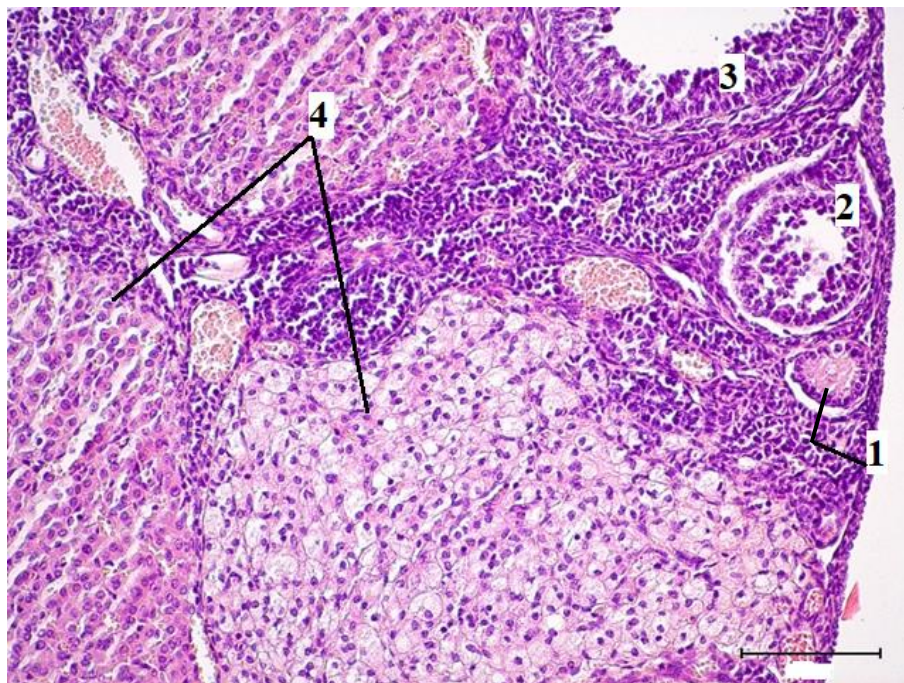


Рисунок 35 — Яичник потомства на 90-й день белой беспородной лабораторной мыши экспериментальной группы С-50 мкг/кг: 1 — первичный фолликул; 2 — вторичный фолликул; 3 — третичный фолликул; 4 — желтые тела. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 400$.

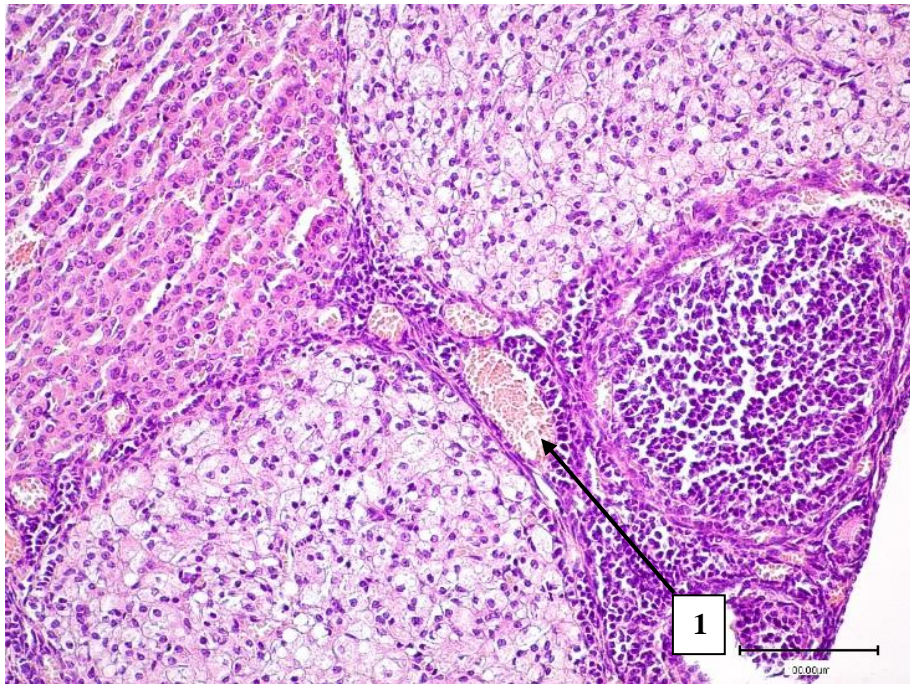


Рисунок 36 — Яичник потомства на 90-й день белой беспородной лабораторной мыши экспериментальной группы С-50 мкг/кг. 1 – сосуды мозгового вещества. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 400$.

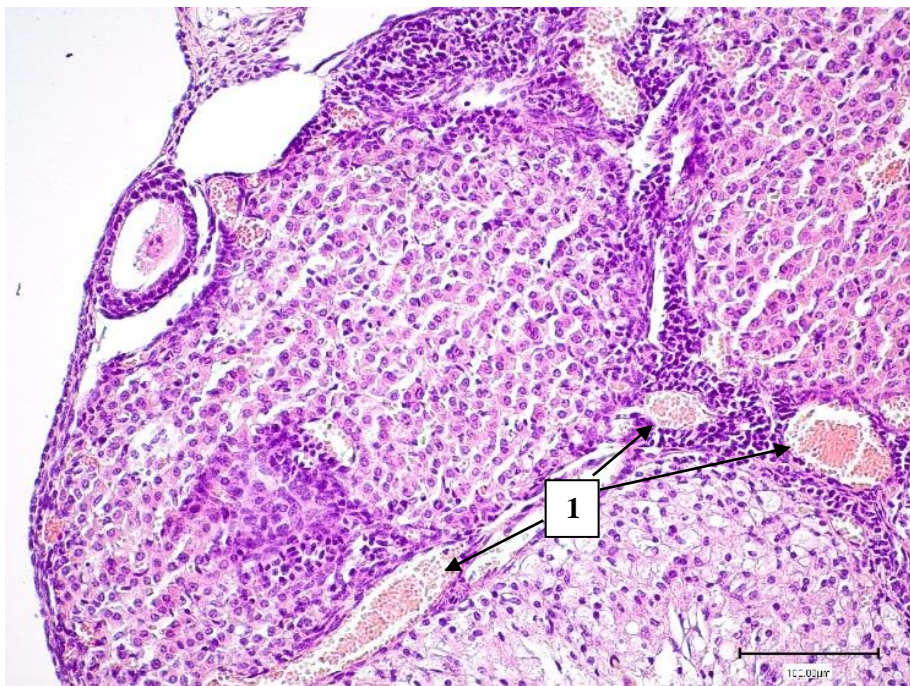


Рисунок 37 — Яичник потомства на 90-й день белой беспородной лабораторной мыши экспериментальной группы С-50 мкг/кг. 1 - увеличение диаметров магистральных сосудов в мозговом веществе. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$.

В литературе отсутствуют сведения о влиянии препарата с эстрогенной активностью синэстрола в дозе 50 мкг/кг. Анализ морфометрических показателей яичников потомства белых беспородных лабораторных мышей при пренатальном

однократном внутримышечном воздействии синэстрола показал, что в экспериментальной группе С-50 мкг/кг, по сравнению с интактной группой, происходит (таблица 22, рисунок 38):

- 1) уменьшение средней толщины покровного эпителия яичников по центру органа в 3 раза ($p \leq 0,05$);
- 2) увеличение средней площади поперечного среза яичников на 12,0 %;
- 3) уменьшение средней площади коркового вещества яичников на 39,0% ($p \leq 0,05$);
- 4) уменьшение средней толщины коркового вещества яичников на 3,0 %;
- 5) уменьшение средней площади мозгового вещества яичников и толщины на 83,0 % ($p \leq 0,05$) и 17,0 %, соответственно;
- 6) увеличение среднего диаметра кровеносных сосудов на стандартной площади среза яичников на 94,0 % ($p \leq 0,05$).

Таблица 22 — Морфометрические показатели среза яичников на стандартной площади потомства белых беспородных лабораторных мышей при воздействии синэстрола, $M \pm m$

Показатели	Интактная, n = 7	Контроль (МО), n = 7	С-50 мкг/кг, n = 7
Средняя толщина покровного эпителия среза яичников по центру органа, мкм	9,0±2	6,0±1,4*	3,0±1,1*
Средняя площадь поперечного среза яичников по центру органа, мкм ²	1443,1±1069,1	1249,2±81,4*	1628,3±62,1
Средняя площадь коркового вещества среза яичников по центру органа, мкм ²	2637,6±466,6	1076,6±82,0*	1596,7±62,5*
Средняя толщина коркового вещества среза яичников по центру органа, мкм	425,0±189,0	301,0±66,4	412,0±287,8
Средняя площадь мозгового вещества среза яичников по центру органа, мкм ²	188,2±93,3	172,6±2,5	31,5±2,3*
Средняя толщина мозгового вещества среза яичников по центру органа, мкм	227,0±73,0	228±46,6	189,0±86,9
Средний диаметр кровеносных сосудов на стандартной площади среза яичников, мкм	16,0±2,0	22,0±3,7*	31,0±16,4*

Примечание: * — в сравнении с интактной группой выявлены различия со статистической значимостью $p \leq 0,05$.

Структурно-функциональную зрелость яичника определяет показатель общего количества фолликулов с клеточным и популяционным составом. Анализ

фолликулярного аппарата яичников показал, что в экспериментальной группе С-50 мкг/кг животных, по сравнению с интактной группой, происходит (таблица 23, рисунок 39, 40):

- 1) снижение среднего количества примордиальных фолликулов в яичниках на 86,0 % ($p \leq 0,05$);
- 2) снижение среднего количества первичных фолликулов в яичниках на 19,0 %;
- 3) увеличение средней площади первичных фолликулов на 97,0 % ($p \leq 0,05$);
- 4) снижение среднего количества вторичных фолликулов на 36,0 % ($p \leq 0,05$);
- 5) увеличение средней площади вторичных фолликулов на 15,0 % ($p \leq 0,05$);
- 6) увеличение средней толщины теки, окружающей вторичные фолликулы на 4,0 %;
- 7) снижение среднего количества третичных фолликулов в яичниках на 34,0 % ($p \leq 0,05$);
- 8) увеличение средней площади третичных фолликулов на 4,0 %;
- 9) уменьшение средней толщины теки, окружающей третичные фолликулы на 11,0 %;
- 10) снижение среднего количества атретических фолликулов в яичниках на 29,0 %.

Морфометрические исследования показали, что в экспериментальной группе С-50 мкг/кг, по сравнению с интактной, наблюдались (таблица 24):

- 1) увеличение среднего количества желтых тел в яичниках на 23,8 % ($p \leq 0,05$);
- 2) увеличение средней площади желтых тел в яичниках на 7,0 %;
- 3) снижение среднего количества лютеиновых клеток в желтом теле яичниках на 29,0 % ($p \leq 0,05$).

Таблица 23— Фолликулометрические показатели среза яичников на стандартной площади потомства белых беспородных лабораторных мышей при воздействии синэстрола, $M \pm m$

Показатели	Интактная, n = 7	Контроль (МО), n = 7	C-50 мкг/кг, n = 7
Среднее количество примордиальных фолликулов	37,8±3,5	8,0±1,6*	5,4±1,7*
Среднее количество первичных фолликулов	6,2±1,6	3,4±0,5*	5,0±1,2
Средняя площадь первичных фолликулов, мкм ²	3,5±2,2	2,6±0,4	6,9±2,4*
Среднее количество вторичных фолликулов	6,6±1,5	5,2±2,9	4,2±1,1*
Средняя площадь вторичных фолликулов, мкм ²	15,8±15,5	11,6±4,6*	18,2±10,1*
Средняя толщина теки, окружающей вторичные фолликулы, мкм	26,0±7,0	26,0±15,4	27,0±6,2
Среднее количество третичных фолликулов	4,6±1,1	3,4±0,9	3,0±0,7
Средняя площадь третичных фолликулов, мкм ²	46,7±20,7	32,5±17,5	48,6±17,7
Средняя толщина теки, окружающей третичные фолликулы, мкм	35,0±8,0	31,0±3,1	31,0±4,8
Среднее количество атретических фолликулов	4,2±1,3	3,2±0,8	3,0±0,7

Примечание: * — в сравнении с интактной группой выявлены различия со статистической значимостью $p \leq 0,05$.

Таблица 24 — Морфометрические показатели желтых тел среза яичников на стандартной площади потомства при воздействии синэстрола, $M \pm m$

Показатели	Интактная, n = 7	Контроль (МО), n = 7	C-50 мкг/кг, n = 7
Среднее количество желтых тел	4,2±0,8	2,2±1,3*	5,2±0,8*
Средняя площадь желтых тел, мкм ²	114,1±55,9	100,5±15,6	122,5±39,5
Среднее количество лютеиновых клеток в желтом теле на стандартной площади	836,0±352,0	448,0±91,0*	590,0±259,1*

Примечание: * — в сравнении с интактной группой выявлены различия со статистической значимостью $p \leq 0,05$.

Таким образом, морфологическая оценка яичников потомства белых беспородных лабораторных мышей при пренатальном однократном внутримышечном воздействии синэстрола в разных дозах показала снижение числа примордиальных и растущих фолликулов по сравнению с интактной группой, свидетельствующее о нарушении репродуктивной функции у потомства. Результаты нашей работы согласуются с исследованиями Н. Н. Шевлюк., Е. В., Боков и Л. Л. Дёмина (2008) и Л. Ф. Курило (2011) (Курило Л. Ф., 2011; Шевлюк. Н. Н., Боков Е. В., Дёмина Л. Л., 2008; Baker T. G., 1977), это обусловлено воздействием повреждающего фактора на яичник в целом и на фолликулы разных стадиях их роста.

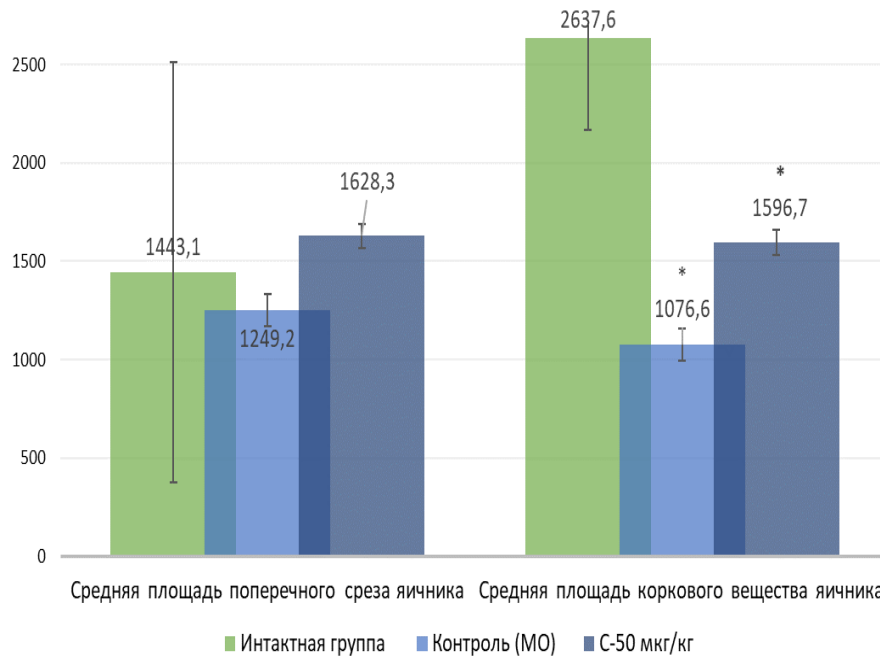


Рисунок 38 — Показатели среза яичников потомства на 90-й день при пренатальном однократном внутримышечном воздействии синэстрола в интактной, контрольной группах и группе С-50 мкг/кг.

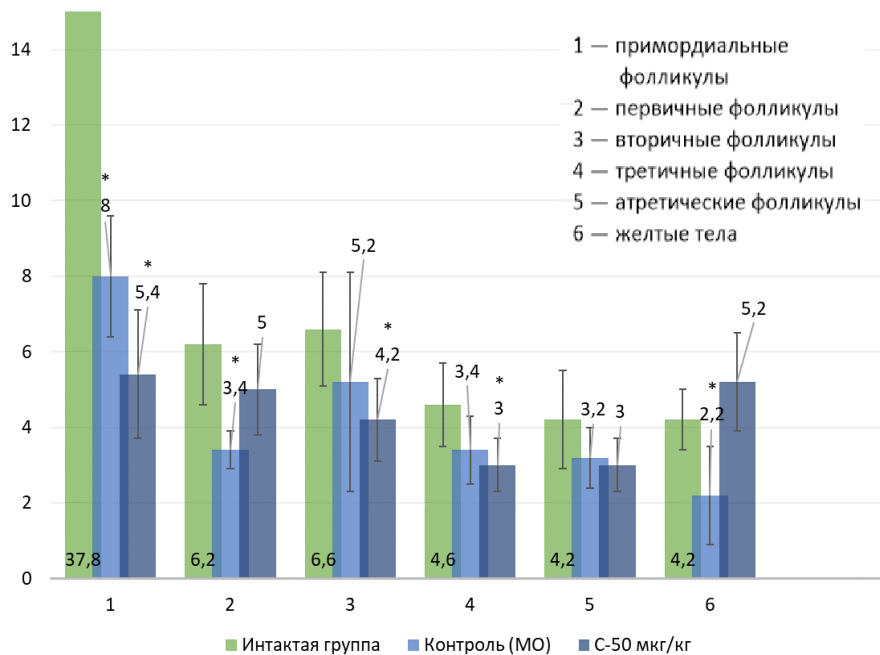


Рисунок 39 — Количественные показатели (средние) структурных компонентов коркового вещества среза яичников потомства на 90-й день при пренатальном однократном внутримышечном воздействии синэстрола в интактной, контрольной группах и группе С-50 мкг/кг.

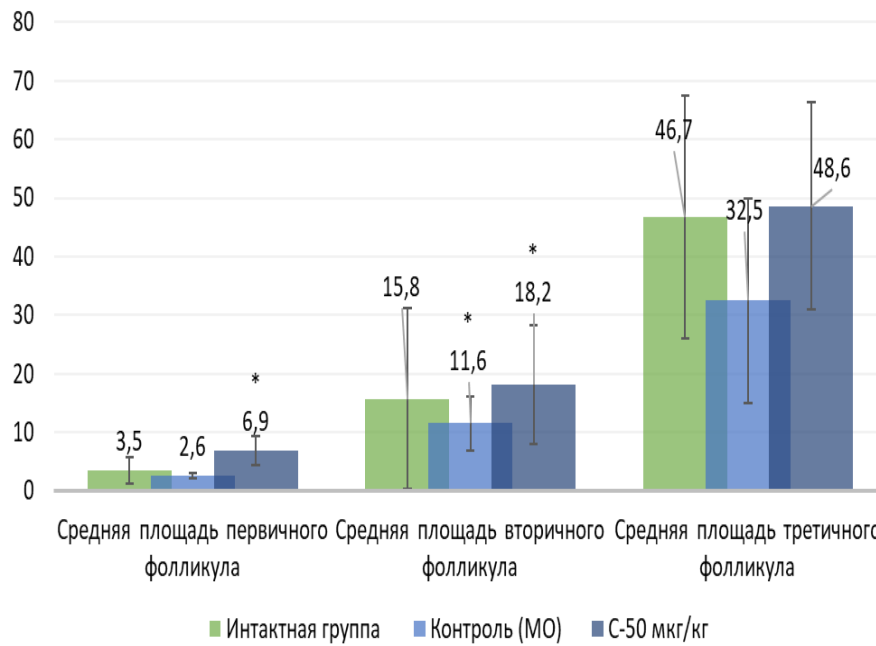


Рисунок 40 — Данные показателей средней площади фолликулов на срезе яичников потомства на 90-й день белых беспородных лабораторных мышей при пренатальном однократном внутримышечном воздействии синэстрола в интактной, контрольной группах и группе С-50 мкг/кг.

Овуляцию фолликула яичников, а также функциональную эффективность роста характеризует образование желтых тел. Экспериментальные исследования при воздействии доз 25 и 40 мкг/кг показали уменьшение количества образованных желтых тел, отражающее ослабление процесса овуляции, а введение препарата в дозе 50 мкг/кг продемонстрировало увеличение числа образованных желтых тел, что, возможно, указывает на увеличение количество созревания фолликулов. В мозговом веществе наблюдается увеличение диаметра кровеносных сосудов, свидетельствующее об усилении кровоснабжения яичников потомства (рисунок 41).

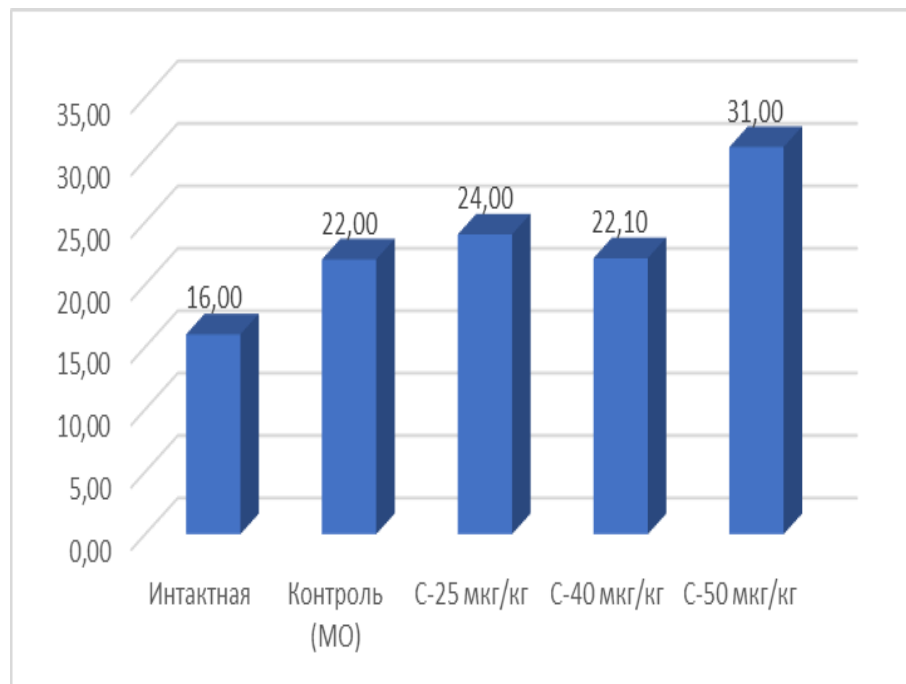


Рисунок 41 — Сравнение диаметров кровеносных сосудов яичников потомства на 90-й день белых беспородных лабораторных мышей при воздействии различных доз синэстрола.

2.2.4. МИКРОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЯИЧНИКОВ ПОТОМСТВА БЕЛЫХ БЕСПОРОДНЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ ПРИ ПРЕНАТАЛЬНОМ ОДНОКРАТНОМ ВНУТРИМЫШЕЧНОМ ВВЕДЕНИИ ФУЛВЕСТРАНТА

Гистологическое строение яичников потомства белых беспородных лабораторных мышей в результате пренатального однократного внутримышечного введения препарата фулвестрант в дозе 20 мкг/кг беременной мыши показал, что снаружи яичник покрыт поверхностным однослойным плоским, местами кубическим эпителием (рисунок 42).

Мозговое вещество яичника располагается в глубине органа и состоит из рыхлой соединительной ткани с кровеносными сосудами (рисунок 42), в которых наблюдалось усиление кровоснабжения в виде перестройки сосудистой сети, приводящее к склерозированию стромального компонента яичников (рисунок 42).

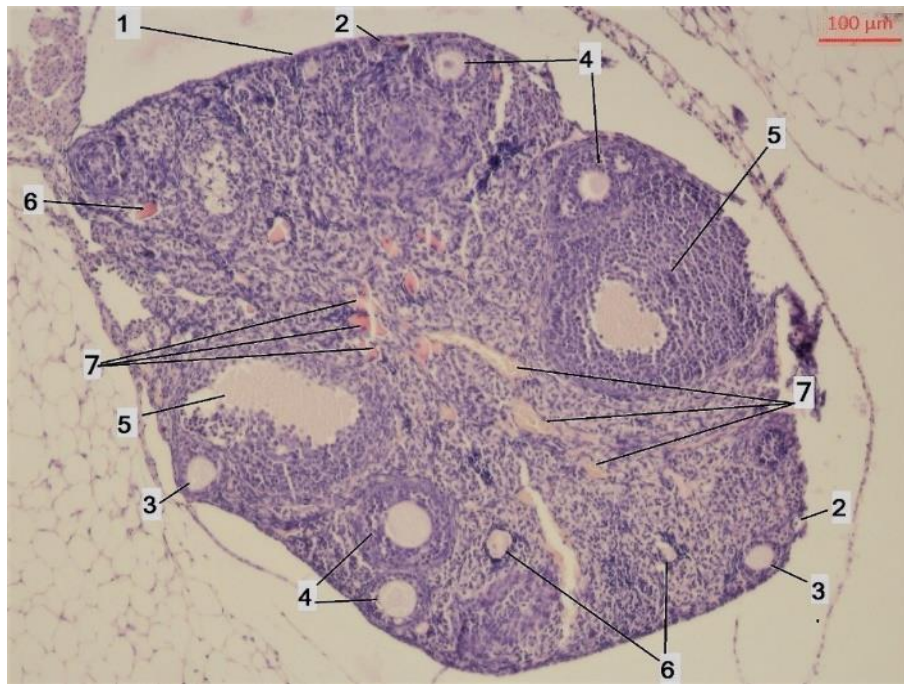


Рисунок 42 — Яичник потомства на 90-й день белой беспородной лабораторной мыши, получивший во время беременности масло касторовое в дозе 0,8 мкг/кг: 1— однослойный кубический эпителий; 2 — примордиальный фолликул; 3 — первичный фолликул; 4 — вторичный фолликул; 5 — третичный фолликул. Мозговое вещество состоит из: 6 — атретические тела; 7 — кровеносные сосуды. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 100$

В корковом веществе яичника фолликулы находятся на разных уровнях развития от примордиальных до третичных (рисунок 43). Морфологическое исследование выявило, что примордиальные фолликулы, располагаются в поверхностном слое коркового вещества в виде компактных групп.

Первичные фолликулы представлены кубическими фолликулярными клетками, ооцит которых окружен блестящей оболочкой.

Фолликулярный эпителий вторичных фолликулов становится многослойным. Вокруг фолликулярных клеток появляется текальная оболочка, имеющая два слоя — внутреннюю теку, образованную текальными клетками, и соединительнотканную наружную теку (рисунок 43).

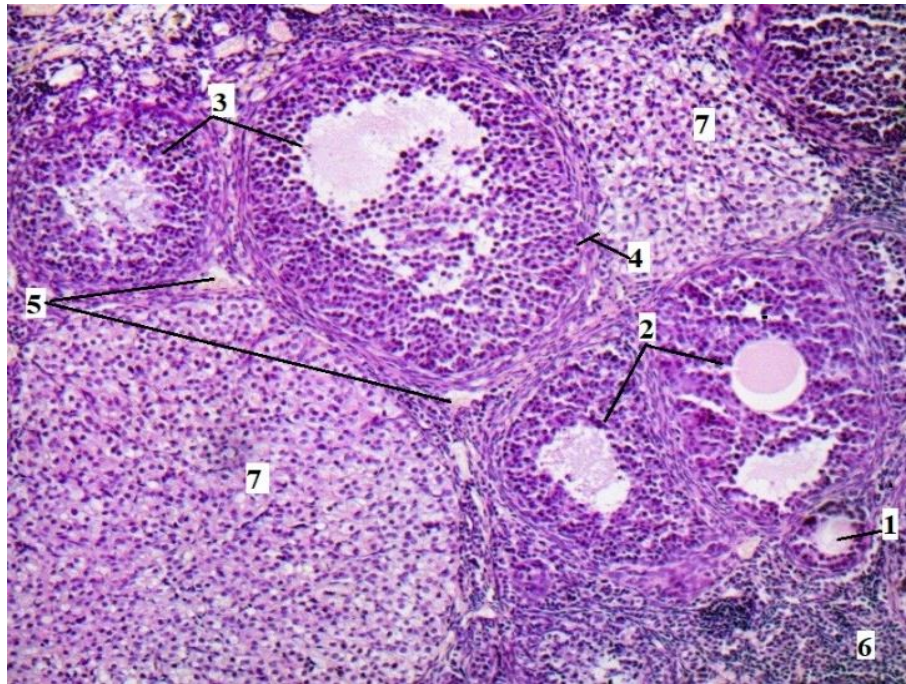


Рисунок 43 — Яичник потомства на 90-й день белой беспородной лабораторной мыши экспериментальной группы Ф-20 мкг/кг: 1 — первичные фолликулы (отмечается увеличение первичных фолликулов, внутренняя поверхность которых выстлана высоким цилиндрическим эпителием с зернистой цитоплазмой); 2 — вторичные фолликулы; 3 — третичные фолликулы; 4 — слой теки, окружающий фолликулы, утолщен. 5 — мозговое вещество; 6 — лимфоцитарная инфильтрация (определяется резко выраженное паретическое расширение сосудов и полнокровие как сосудов коркового вещества, так и мозгового); 7 — желтые тела. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$.

На срезе яичников потомства среди развивающихся фолликулов в корковом веществе находятся атретические фолликулы со сморщенной блестящей оболочкой. При исследовании яичников потомства атретические фолликулы выявлялись по выпадению клеток гранулезы в полость фолликула, по отслойке оболочки от внутренней теки, по исчезновению блестящей оболочки.

На срезе яичников потомства третичные фолликулы достигли почти максимального развития и являются наиболее крупными среди всех фолликулов. Основной объем фолликула занят большой полостью с жидкостью. Присутствуют также малые полости, окруженные розеткообразными скоплениями фолликулярных клеток и еще не успевшие слиться с основной полостью (рисунок 43).

Гистологический анализ среза яичников лабораторных мышей показал, что соединительнотканная основа мозгового вещества яичников содержит более

крупные кровеносные сосуды с резко выраженным паретическим расширением сосудов и полнокровием, как в сосудах коркового вещества, так и мозгового.

Срез яичников потомства показал, что желтые тела располагаются равномерно, покрыты соединительнотканной капсулой, от которой к центру направляются тонкие прослойки кровеносных сосудов. Округлой и овальной формой представлены обнаруженные желтые тела в яичниках потомства.

Результаты исследования морфометрических показателей яичников потомства лабораторных мышей при пренатальном однократном введении препарата фулвестранта в дозе Ф-20 мкг/кг представлены в таблице 25.

Таблица 25 — Морфометрические показатели среза яичников на стандартной площади потомства белых беспородных лабораторных мышей при воздействии фулвестранта, $M \pm m$

Показатели	Интактная, n = 7	Контроль (МК), n = 7	Ф-20 мкг/кг, n = 7
Средняя толщина покровного эпителия среза яичников по центру органа, мкм	9,0±2,0	10,3±1,71	9,0±2,0
Средняя площадь поперечного среза яичников по центру органа, мкм ²	1443,1±106,9	964,5±167,5*	1428,1±100,3
Средняя площадь коркового вещества среза яичников по центру органа, мкм ²	2637,6±466,6	862,8±175,3*	2607,2±294,9
Средняя толщина коркового вещества среза яичников по центру органа, мкм	425,0±189,0	246,5±33,2*	348,0±88,0
Средняя площадь мозгового вещества среза яичников по центру органа, мкм ²	188,2±93,3	101,7±10,4*	200,0±78,1
Средняя толщина мозгового вещества среза яичников по центру органа, мкм	227,0±73,0	202,4±46,41	236,0±82,0
Средний диаметр кровеносных сосудов на стандартной площади среза яичников, мкм	16,0±2,0	21,5±6,6*	22,0±9,0*

Примечание: * — в сравнении с интактной группой выявлены различия со статистической значимостью $p \leq 0,05$.

Анализ морфометрических показателей среза яичников по центру органа потомства белых беспородных лабораторных мышей при пренатальном однократном внутримышечном воздействии фулвестранта в контрольной группе (МК), по сравнению с интактной группой, показал (таблица 25, рисунок 44):

- 1) увеличение средней толщины покровного эпителия среза яичников по центру органа на 14,0 % ($p \leq 0,05$);

- 2) уменьшение средней площади поперечного среза яичников по центру органа на 33,0 %;
- 3) уменьшение средней площади коркового вещества яичников на 67,0 % ($p \leq 0,05$);
- 4) уменьшение средней толщины коркового вещества яичников на 42,0 % ($p \leq 0,05$);
- 5) уменьшение средней площади мозгового вещества яичников на 46,0 % ($p \leq 0,05$);
- 6) уменьшение средней толщины мозгового вещества яичников на 11,0 %;
- 7) увеличение среднего диаметра кровеносных сосудов на стандартной площади среза яичников на 34,0 % ($p \leq 0,05$).

Анализ морфометрических показателей яичников потомства белых беспородных лабораторных мышей при пренатальном однократном внутримышечном воздействии фулвестранта показал, что в экспериментальной группе Ф-20 мкг/кг по сравнению с интактной группой (таблица 25, рисунок 45, 46):

- 1) средняя толщина покровного эпителия среза яичников по центру органа без изменений;
- 2) уменьшение средней площади поперечного среза яичников на 1,3 %;
- 3) уменьшение средней площади коркового вещества яичников на 1,1 %;
- 4) уменьшение средней толщины коркового вещества яичников на 18,0 %;
- 5) увеличение средней площади мозгового вещества яичников на 6,0 %;
- 6) увеличение средней толщины мозгового вещества яичников на 4,0 %;
- 7) увеличение среднего диаметра кровеносных сосудов на стандартной площади среза яичников на 38,0 % ($p \leq 0,05$).

Анализ фолликулярного аппарата яичников показал, что в контрольной группе (МК) животных, по сравнению с интактной группой, происходит (таблица 26, рисунок 45, 46):

- 1) значительное снижение среднего количества примордиальных фолликулов в яичниках на 78,0 % ($p \leq 0,05$);

- 2) снижение среднего количества первичных фолликулов в яичниках на 25,0 %;
- 3) уменьшение средней площади первичных фолликулов на 17,0 %;
- 4) среднее количество вторичных фолликулов изменений не показало;
- 5) уменьшение средней площади вторичных фолликулов на 25,0 %;
- 6) увеличение средней толщины теки, окружающей вторичные фолликулы на 12,0 % ($p \leq 0,05$);
- 7) снижение среднего количества третичных фолликулов в яичниках в 2 раза ($p \leq 0,05$);
- 8) увеличение средней площади третичных фолликулов на 19,0 %;
- 9) увеличение средней толщины теки, окружающей третичные фолликулы, на 2,0 %;
- 10) снижение среднего количества атретических фолликулов в яичниках на 24,0 %.

Анализ фолликулярного аппарата яичников показал, что в экспериментальной группе Ф-20 мкг/кг животных, по сравнению с контролем, происходит (таблица 26, рисунок 45, 46):

- 1) значительное снижение среднего количества примордиальных фолликулов в яичниках на 81,0 % ($p \leq 0,05$);
- 2) увеличение среднего количества первичных фолликулов в яичниках в 2 раза ($p \leq 0,05$);
- 3) уменьшение средней площади первичных фолликулов на 63,0 % ($p \leq 0,05$);
- 4) увеличение среднего количества вторичных фолликулов в 2 раза ($p \leq 0,05$);
- 5) увеличение средней площади вторичных фолликулов на 49,0 %;
- 6) увеличение средней толщины теки, окружающей вторичные фолликулы на 19,0 % ($p \leq 0,05$);
- 7) увеличение среднего количества третичных фолликулов в яичниках в 2 раза ($p \leq 0,05$);

- 8) увеличение средней площади третичных фолликулов на 17,0 %;
- 9) увеличение средней толщины теки, окружающей третичные фолликулы, на 14,0 % ($p \leq 0,05$);
- 10) увеличение среднего количества атретических фолликулов в яичниках на 10,0 %.

Таблица 26 — Фолликулометрические показатели среза яичников на стандартной площади потомства белых беспородных лабораторных мышей при воздействии фулвестранта, $M \pm m$

Показатели	Интактная, n = 7	Контроль (МК), n = 7	Ф-20 мкг/кг, n = 7
Среднее количество примордиальных фолликулов	37,8±3,5	8,2±3,7*	7,0±2,3*
Среднее количество первичных фолликулов	6,2±1,6	4,6±1,5	13,8±5,2*
Средняя площадь первичных фолликулов, мкм ²	3,5±2,2	2,9±0,5	1,3±0,8*
Среднее количество вторичных фолликулов	6,6±1,5	6,6±1,5	12,2±4,7
Средняя площадь вторичных фолликулов, мкм ²	15,8±15,5	11,9±2,7	23,5±16,7
Средняя толщина теки, окружающей вторичные фолликулы, мкм	26,0±7,0	29,2±6,7*	31,0±8,0*
Среднее количество третичных фолликулов	4,6±1,1	2,4±1,1*	9,0±3,2*
Средняя площадь третичных фолликулов, мкм ²	46,7±20,7	55,4±4,8	54,7±27,7
Средняя толщина теки, окружающей третичные фолликулы, мкм	35,0±8,0	35,7±8,4	40,0±8,0*
Среднее количество атретических фолликулов	4,2±1,3	3,2±1,3	4,6±1,1

Примечание: * — в сравнении с интактной группой выявлены различия со статистической значимостью $p \leq 0,05$.

Морфометрические исследования показали, что в группе контроля (МК), по сравнению с интактной, наблюдались (таблица 27):

- 1) снижение среднего количества желтых тел в яичниках на 61,0 % ($p \leq 0,05$);
- 2) уменьшение средней площади желтых тел в яичниках на 53,0 % ($p \leq 0,05$);
- 3) снижение среднего количества лютеиновых клеток в желтом теле яичников на 44,0 % ($p \leq 0,05$).

Таблица 27 — Морфометрические показатели желтых тел среза яичников на стандартной площади потомства при воздействии фулвестранта, $M \pm m$

Показатели	Интактная, n = 7	Контроль (МК), n = 7	Ф-20 мкг/кг, n = 7
Среднее количество желтых тел	4,2±0,8	1,6±1,1*	4,8±1,3
Средняя площадь желтых тел, мкм ²	114,1±55,9	53,2±4,2*	115,4±62,6
Среднее количество лютеиновых клеток в желтом теле на стандартной площади	836±352	465,8±64,7*	560±422

Примечание: * — в сравнении с интактной группой выявлены различия со статистической значимостью $p \leq 0,05$.

Морфометрические показатели в экспериментальной группе Ф-20мкг/кг, по сравнению с интактной, продемонстрировали (таблица27):

- 1) увеличение среднего количества желтых тел в яичниках на 14,0 %;
- 2) увеличение средней площади желтых тел в яичниках на 1,1 %;
- 3) снижение среднего количества лютеиновых клеток в желтом теле яичников на 33,0 %.

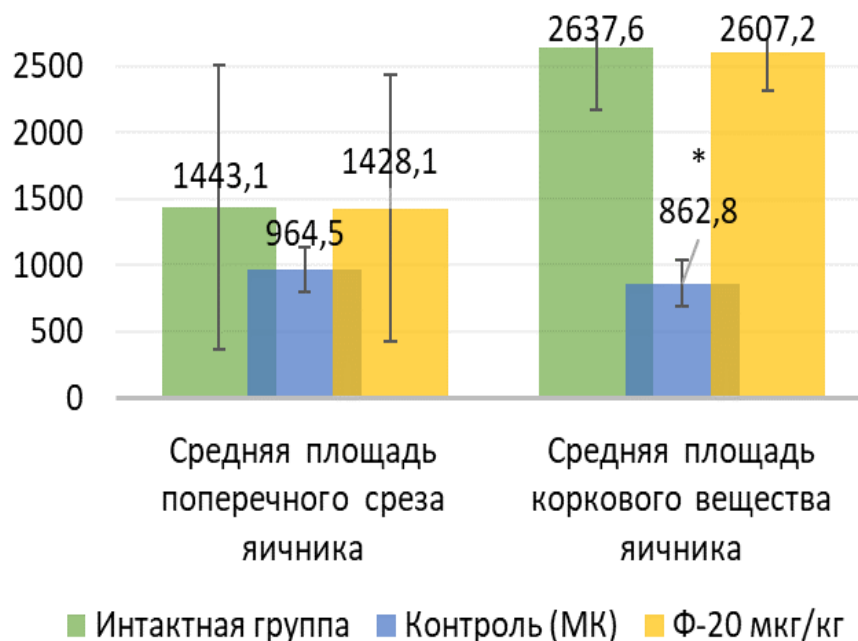


Рисунок 44 — Показатели среза яичников потомства на 90-й день при пренатальном однократном внутримышечном воздействии фулвестранта в интактной, контрольной группах и группе Ф-20 мкг/кг

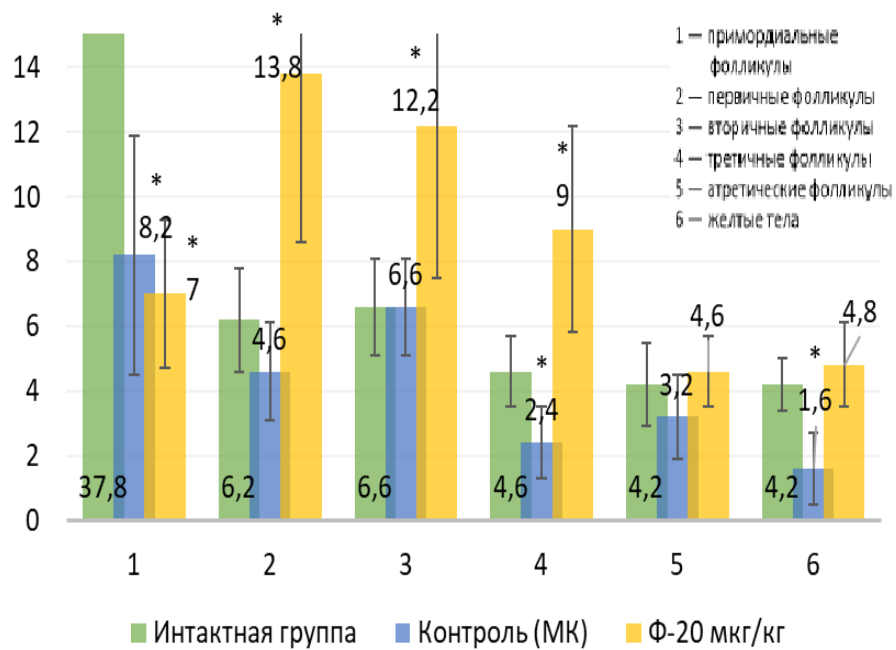


Рисунок 45 — Количественные показатели (средние) структурных компонентов коркового вещества среза яичников потомства на 90-й день при пренатальном однократном внутримышечном воздействии фулвестранта в интактной, контрольной группах и группе Ф-20 мкг/кг

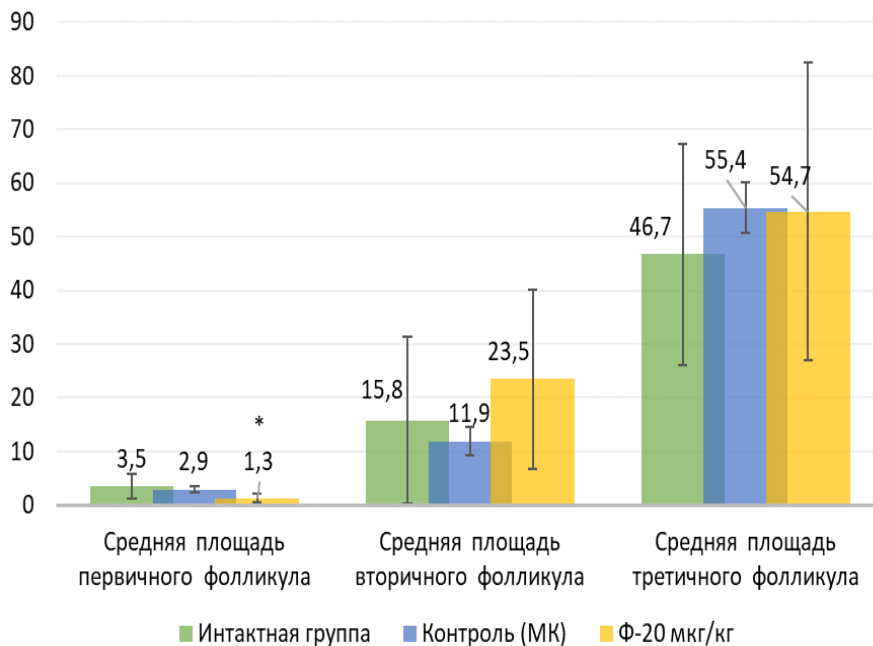


Рисунок 46 — Данные показателей средней площади фолликулов на срезе яичников потомства на 90-й день белых беспородных лабораторных мышей при пренатальном однократном внутримышечном воздействии фулвестранта в интактной, контрольной группах и группе Ф-20 мкг/кг

Морфометрия яичников потомства лабораторных мышей при однократном пренатальном внутримышечном введении препарата фулвестрант в дозе

100мкг/кг установила: снаружи яичники окружены белочной оболочкой, состоящей из плотной волокнистой соединительной ткани, покрытой мезотелием. На срезе органа потомства хорошо различимы корковый и мозговой слои яичника (рисунок 47).

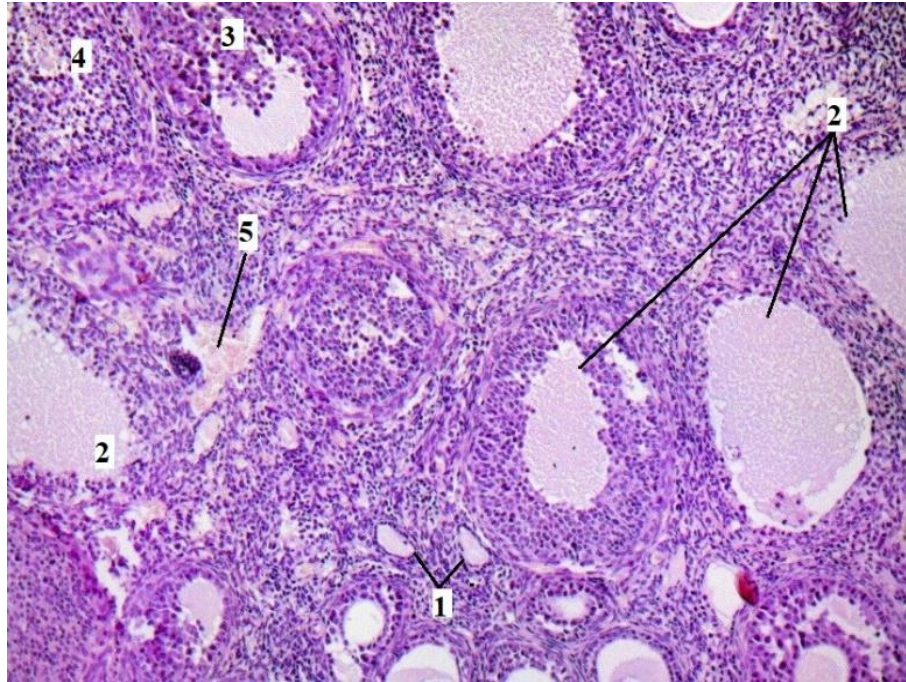


Рисунок 47 — Яичник потомства на 90-й день белой беспородной лабораторной мыши экспериментальной группы Ф-100 мкг/кг: 1 — первичные фолликулы (отмечаются увеличение первичных фолликулов и смещение их вглубь органа к мозговому веществу); 2 — вторичные фолликулы (также определяется выраженное преобладание вторичных фолликулов с признаками кистозного расширения, фолликулярный эпителий в них утолщен); 3 — третичные фолликулы; 4 — желтое тело; 5 — в мозговом слое отмечается обеднение кровотока сосудов. Окраса гематоксилином и эозином. $\times 400$

В корковом веществе яичников потомства фолликулы представлены на разных этапах развития от примордиальных, первичных, вторичных до зрелых третичных фолликулов (рисунок 47).

Исследование среза яичников потомства по центру органа выявило уменьшение примордиальных фолликулов в корковом веществе, увеличение первичных фолликулов и смещение их к мозговому веществу.

По размеру вторичные фолликулы вместе с ооцитом становятся крупнее, вокруг ооцита появляется блестящая оболочка, фолликулярные клетки приобретают кубическую форму и лежат в 1–2 слоя (рисунок 47).

В строме яичника наблюдалось выраженное преобладание вторичных и третичных фолликулов с признаками кистозного расширения, фолликулярный эпителий в них утолщен (рисунок 47).

Среди развивающихся фолликулов на срезе яичника в корковом веществе находятся атретические фолликулы со сморщенной блестящей оболочкой.

Исследования показали, что мозговое вещество яичника представлено рыхлой соединительной тканью, имеющей извитые кровеносные сосуды. В мозговом веществе отмечается обеднение кровотока сосудов (рисунок 47).

Результаты исследования морфометрических показателей яичников потомства лабораторных мышей при пренатальном однократном внутримышечном введении фулвестранта в дозе 100 мкг/кг представлены в таблице 28.

Таблица 28 — Морфометрические показатели среза яичников на стандартной площади потомства белых беспородных лабораторных мышей при воздействии фулвестранта, $M \pm m$

Показатели	Интактная, n = 7	Контроль (МК), n = 7	Ф-100 мкг/кг, n = 7
Средняя толщина покровного эпителия среза яичников по центру органа, мкм	9,0±2,0	10,3±1,71*	8,0±1,7
Средняя площадь поперечного среза яичников по центру органа, мкм ²	1443,1±1069,1	964,5±167,5*	1122,3±412,2
Средняя площадь коркового вещества среза яичников по центру органа, мкм ²	2637,6±466,6	862,8±175,3*	1273,7±196,7*
Средняя толщина коркового вещества среза яичников по центру органа, мкм	425,0±189,0	246,5±33,2*	271,0±79,8*
Средняя площадь мозгового вещества среза яичников по центру органа, мкм ²	188,2±93,3	101,7±10,4*	73,1±22,6*
Средняя толщина мозгового вещества среза яичников по центру органа, мкм	227,0±73,0	202,4±46,41	164,0±77,9*
Средний диаметр кровеносных сосудов на стандартной площади среза яичников, мкм	16,0±2,0	21,5±6,6*	22,0±6,6*

Примечание: * — в сравнении с интактной группой выявлены различия со статистической значимостью $p \leq 0,05$.

Литературных данных по воздействию препарата фулвестранта в дозе 100 мкг/кг мы не встретили. Из приведенных данных (таблица 28) анализа морфометрических показателей яичников потомства белых беспородных лабораторных мышей показал, что в экспериментальной группе Ф-100 мкг/кг животных, по сравнению с интактной группой, происходит (рисунок 48):

- 1) уменьшение средней толщины покровного эпителия среза яичников по центру органа на 11,0 %;
- 2) уменьшение средней площади поперечного среза яичников на 22,0 %;
- 3) уменьшение средней площади коркового вещества яичников на 51,0 % ($p \leq 0,05$);
- 4) уменьшение средней толщины коркового вещества яичников на 36,0 % ($p \leq 0,05$);
- 5) уменьшение средней площади мозгового вещества яичников на 61,0 % ($p \leq 0,05$);
- 6) уменьшение средней толщины мозгового вещества яичников на 28,0 % ($p \leq 0,05$);
- 7) увеличение среднего диаметра кровеносных сосудов на стандартной площади среза яичников на 38,0 % ($p \leq 0,05$).

Общее количество фолликулов, а также их клеточный популяционный состав является важным показателем зрелости яичника. Анализ фолликулярного аппарата яичников показал, что в экспериментальной группе Ф-100 мкг/кг животных, по сравнению с контролем, происходит (таблица 29, рисунок 48, 49):

- 1) снижение среднего количества примордиальных фолликулов в яичниках на 71,0 % ($p \leq 0,05$);
- 2) увеличение среднего количества первичных фолликулов в яичниках на 23,0 %;
- 3) уменьшение средней площади первичных фолликулов на 37,0 %;
- 4) увеличение среднего количества вторичных фолликулов в 2 раза ($p \leq 0,05$);
- 5) уменьшение средней площади вторичных фолликулов на 13,0 %;

- б) увеличение средней толщины теки, окружающей вторичные фолликулы, на 4,0 %;
- 7) снижение среднего количества третичных фолликулов в яичниках на 22,0 %;
- 8) увеличение средней площади третичных фолликулов на 3,2 %;
- 9) увеличение средней толщины теки, окружающей третичные фолликулы, на 9,0 %;
- 10) снижение среднего количества атретических фолликулов в яичниках на 76,0 %.

Таблица 29 — Фолликулометрические показатели яичников потомства белых беспородных лабораторных мышей при однократном воздействии фулвестранта, $M \pm m$

Показатели	Интактная, n = 7	Контроль (МК), n = 7	Ф-100 мкг/кг, n = 7
Среднее количество примордиальных фолликулов	37,8±3,5	8,2±3,7*	11,0±1,9*
Среднее количество первичных фолликулов	6,2±1,6	4,6±1,5	7,6±2,4
Средняя площадь первичных фолликулов, мкм ²	3,5±2,2	2,9±0,5	2,2±1,2
Среднее количество вторичных фолликулов	6,6±1,5	6,6±1,5	10,0±2,7*
Средняя площадь вторичных фолликулов, мкм ²	15,8±15,5	11,9±2,7	13,7±6,9
Средняя толщина теки, окружающей вторичные фолликулы, мкм	26,0±7,0	29,2±6,7*	27,0±11,0
Среднее количество третичных фолликулов	4,6±1,1	2,4±1,1*	3,6±1,5
Средняя площадь третичных фолликулов, мкм ²	46,7±20,7	55,4±4,8	48,2±12,8
Средняя толщина теки, окружающей третичные фолликулы, мкм	35,0±8,0	35,7±8,4	38,0±7,5
Среднее количество атретических фолликулов	4,2±1,3	3,2±1,3	7,4±1,8*

Примечание: * — в сравнении с интактной группой выявлены различия со статистической значимостью $p \leq 0,05$.

Морфометрические исследования показали, что в экспериментальной группе Ф-100 мкг/кг, по сравнению с интактной, наблюдалось (таблица 30):

- 1) снижение среднего количества желтых тел в яичниках на 24,0 %;
- 2) уменьшение средней площади желтых тел в яичниках на 67,0 % ($p \leq 0,05$);
- 3) снижение среднего количества лютеиновых клеток в желтом теле на стандартной площади яичников на 47,0 % ($p \leq 0,05$).

Таблица 30 — Морфометрические показатели желтых тел среза яичников на стандартной площади потомства при воздействии фулвестранта, $M \pm m$

Показатели	Интактная, n = 7	Контроль (МК), n = 7	Ф-100 мкг/кг, n = 7
Среднее количество желтых тел	4,2±0,8	1,6±1,1*	3,2±1,3
Средняя площадь желтых тел, мкм ²	114,1±55,9	53,2±4,2*	37,1±13,4*
Среднее количество лютеиновых клеток в желтом теле на стандартной площади	836,0±352,0	465,8±64,7	439±204,7

Примечание: * — в сравнении с интактной группой выявлены различия со статистической значимостью $p \leq 0,05$.

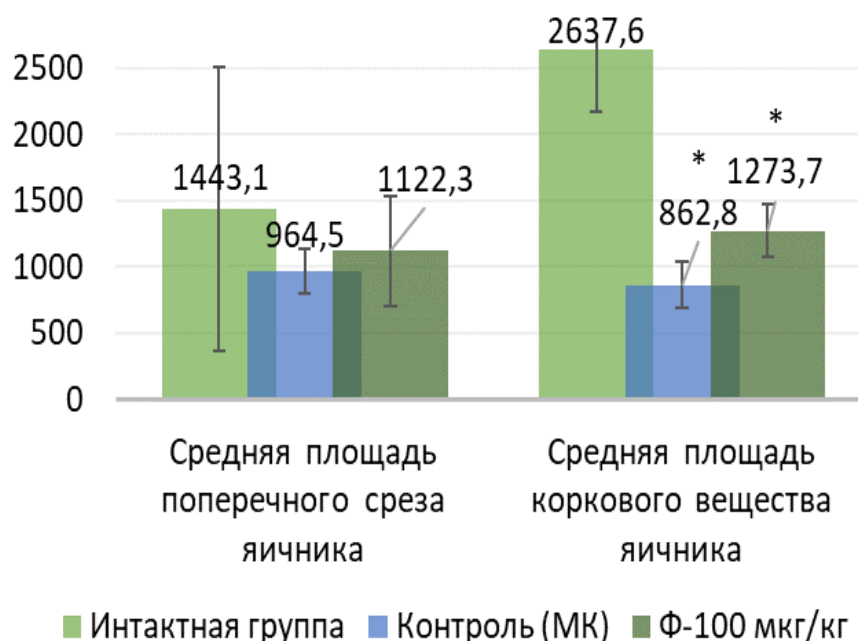


Рисунок 48 — Показатели среза яичников потомства на 90-й день при пренатальном однократном внутримышечном воздействии фулвестранта в интактной, контрольной группах и группе Ф-100 мкг/кг

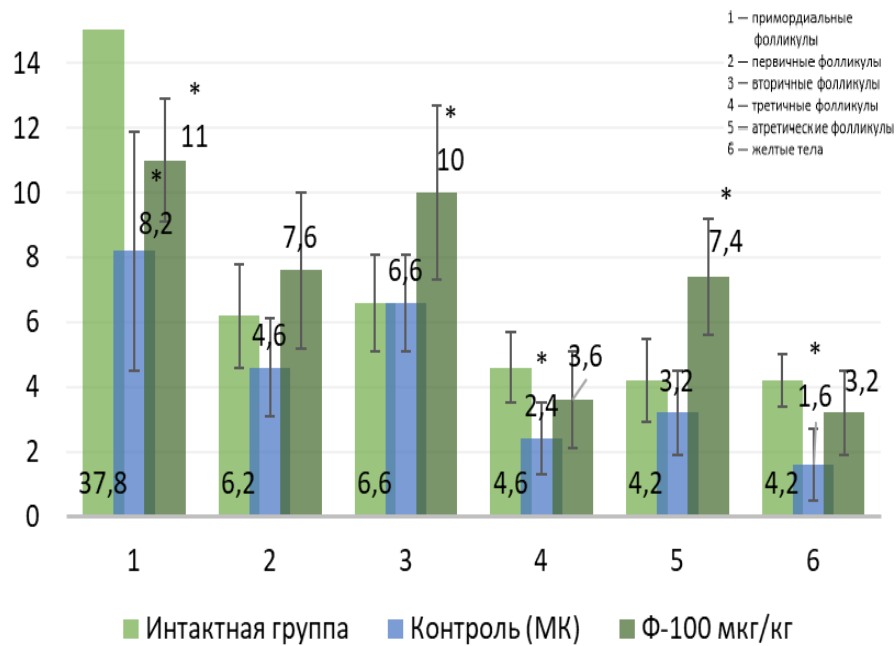


Рисунок 49 — Количественные показатели (средние) структурных компонентов коркового вещества среза яичников потомства на 90-й день при пренатальном однократном внутримышечном воздействии фулвестранта в интактной, контрольной группах и группе Ф-100 мкг/кгппо, *- $p < 0,05$ при сравнении с интактной группой.

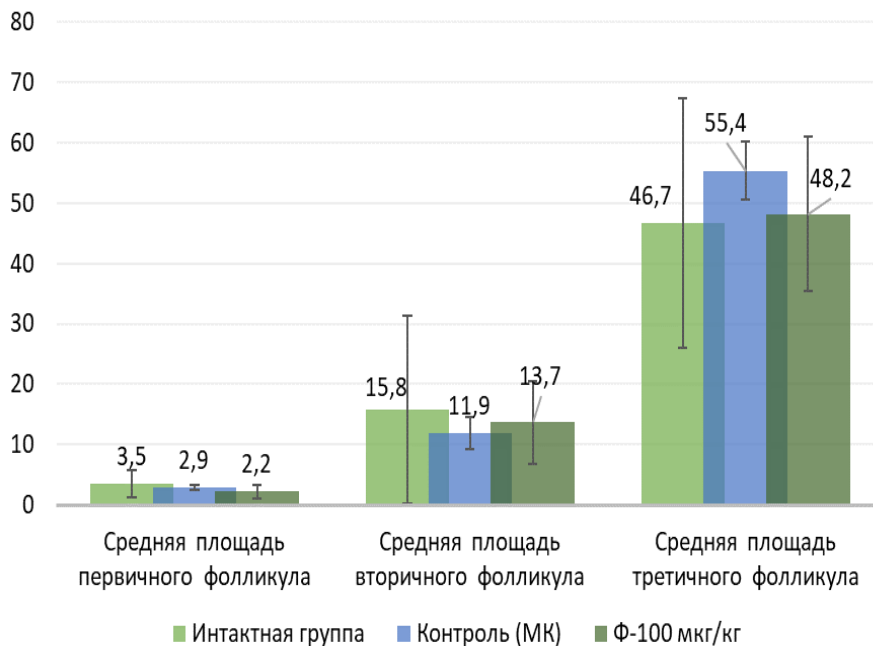


Рисунок 50 — Данные показателей средней площади фолликулов на срезах яичников потомства на 90-й день белых беспородных лабораторных мышей при пренатальном однократном внутримышечном воздействии фулвестранта в интактной, контрольной группах и группе Ф-100 мкг/кг

Таким образом, мы выявили, что при однократном пренатальном внутримышечном воздействии фулвестранта на беременных самок мышей в

разных дозах на срезе яичников потомства наблюдается снижение количества примордиальных, третичных фолликулов при одновременном увеличении среднего количества вторичных. Введение фулвестранта вызывало усиление кровоснабжения яичников у потомства, на что указывало увеличение среднего диаметра кровеносных сосудов (рисунок 51). Результаты наших экспериментальных исследований согласуются с результатами Н. А. Дуденкова, О. С. Шубина (2015), это обусловлено тем, что патогенное воздействие веществ различной природы оказывает повреждающий фактор на репродуктивную систему в целом.

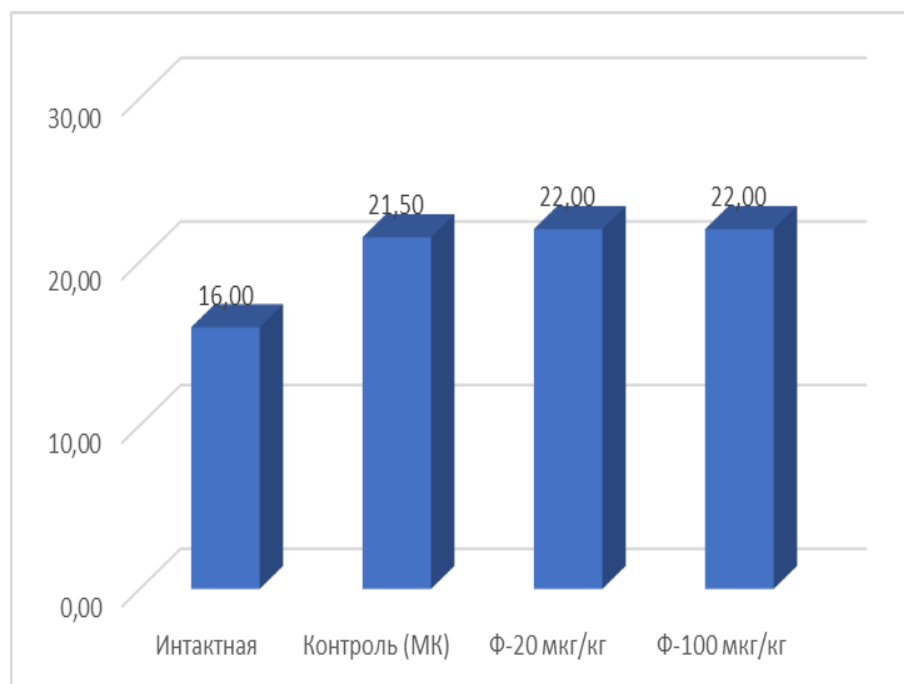


Рисунок 51 — Сравнение диаметров кровеносных сосудов яичников потомства на 90-й день белых беспородных лабораторных мышей при воздействии различных доз фулвестранта

После проведенных гистологических исследований морфометрии яичников потомства лабораторных мышей при однократном пренатальном внутримышечном введении фулвестранта в дозе 200 мкг/кг установлено, что корковое вещество и мозговое вещество плохо дифференцируются (рисунок 52, 53).

Наблюдалось значительное уменьшение примордиальных фолликулов, сохраненные фолликулы на срезе имели признаки атрофии и дистрофии.

Структура вторичных, третичных фолликулов и желтых тел не определяется, наблюдались кистозные изменения.

Площадь яичника представлена большим количеством полостей, выстланных однослойным, резко уплощенным эпителием с признаками выраженной белковой и жировой дистрофии, некрозом клеток, полнокровием сосудов коркового и мозгового вещества с очаговым фибриноидным некрозом сосудов. Слой теки расширен за счет выраженного фиброза и отека.

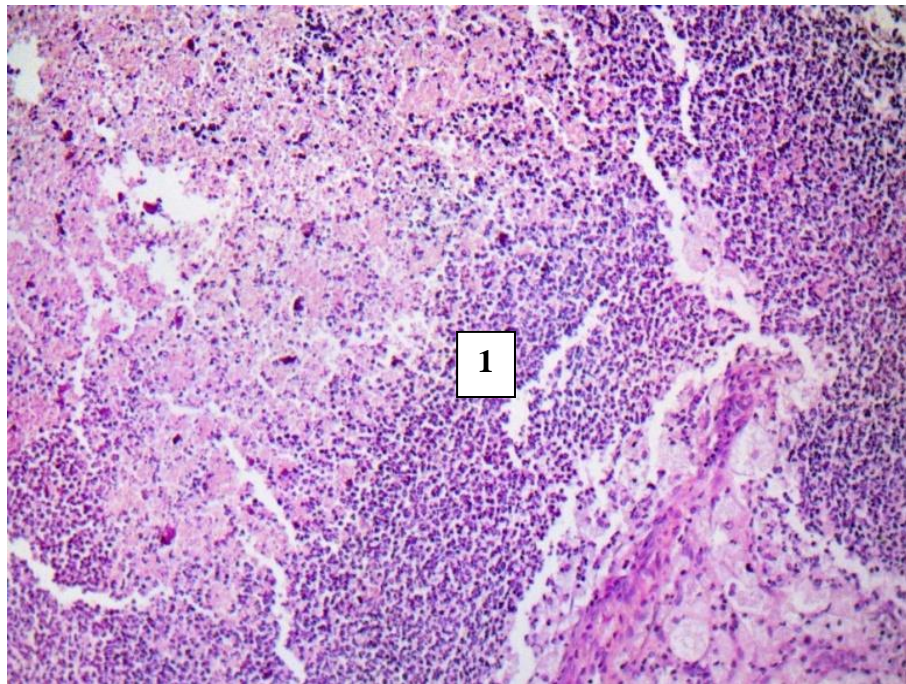


Рисунок 52 — Яичник потомства на 90-й день белой беспородной лабораторной мыши экспериментальной группы Ф-200 мкг/кг. 1 - тотальный некроз, нейтрофильная инфильтрация. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 400$.

Гистологический анализ яичников потомства лабораторных мышей при однократном пренатальном внутримышечном введении препарата фулвестрант в дозе 200 мкг/кг выявил патоморфологические изменения в корковом и в мозговом веществе. Микроскопически не определялись части коркового и мозгового вещества органа и не подавались дифференцировке (рисунок 52). Наблюдалось значительное уменьшение фолликулов на всех стадиях развития, сохраненные фолликулы встечались с признаками атрофии и дистрофии.

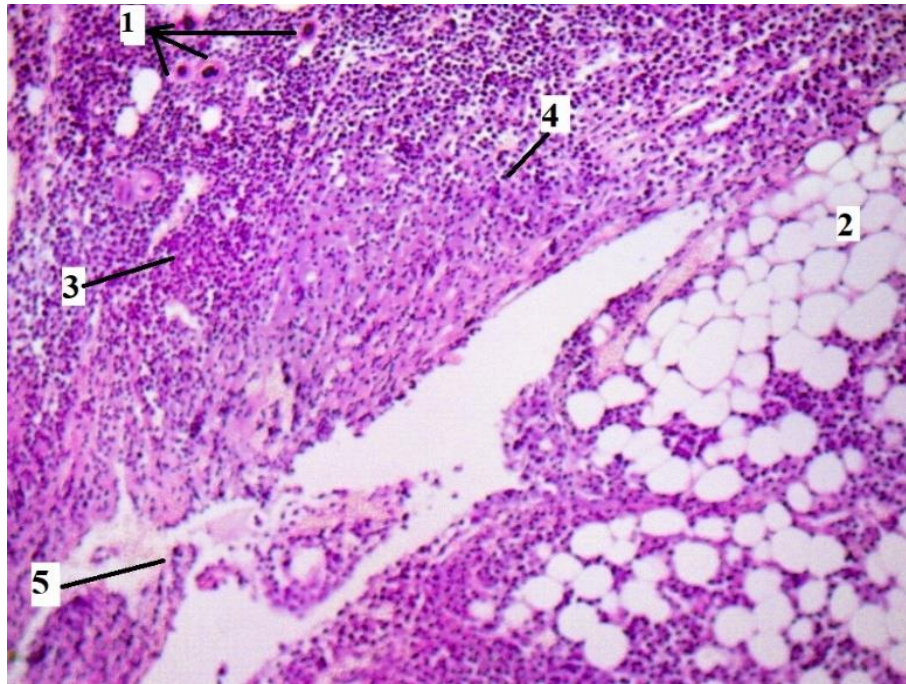


Рисунок 53 — Яичник потомства на 90-й день белой беспородной лабораторной мыши экспериментальной группы Ф-200 мкг/кг. 1 — вторичные фолликулы (присутствуют кистозные изменения); структуры третичных фолликулов и желтых тел не определяются; 2 — жировая ткань; 3 — белковая дистрофия; 4 — некроз стромальных клеток; 5 — умеренное полнокровие сосудов с очаговым фибриноидным некрозом сосудов. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 400$.

В строме органа наблюдалась жировая ткань в виде диффузной инфильтрации яичника, который распространялся на прилежащую жировую ткань. Наблюдалась белковая дистрофия, некроз стромальных клеток, умеренное полнокровие сосудов с очаговым фибриноидным некрозом сосудов (рисунок 53).

Такая гистологическая картина яичников при однократном пренатальном внутримышечном введении препарата фулвестрант в дозе 200 мкг/кг не подлежала морфометрическим измерениям для экспериментального исследования.

2.2.5. ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ЯИЧНИКОВ ПОТОМСТВА БЕЛЫХ БЕСПОРОДНЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ ПРИ ПРЕНАТАЛЬНОМ ОДНОКРАТНОМ ВНУТРИМЫШЕЧНОМ ВВЕДЕНИИ СИНЭСТРОЛА И ФУЛВЕСТРАНТА

2.2.5.1. Исследование иммуногистохимического маркера Vcl-2

Результаты морфометрического анализа ИГХ-маркера Vcl-2 при введении доз эстрогенов представлены в таблице 31 и на рисунках 54– 60.

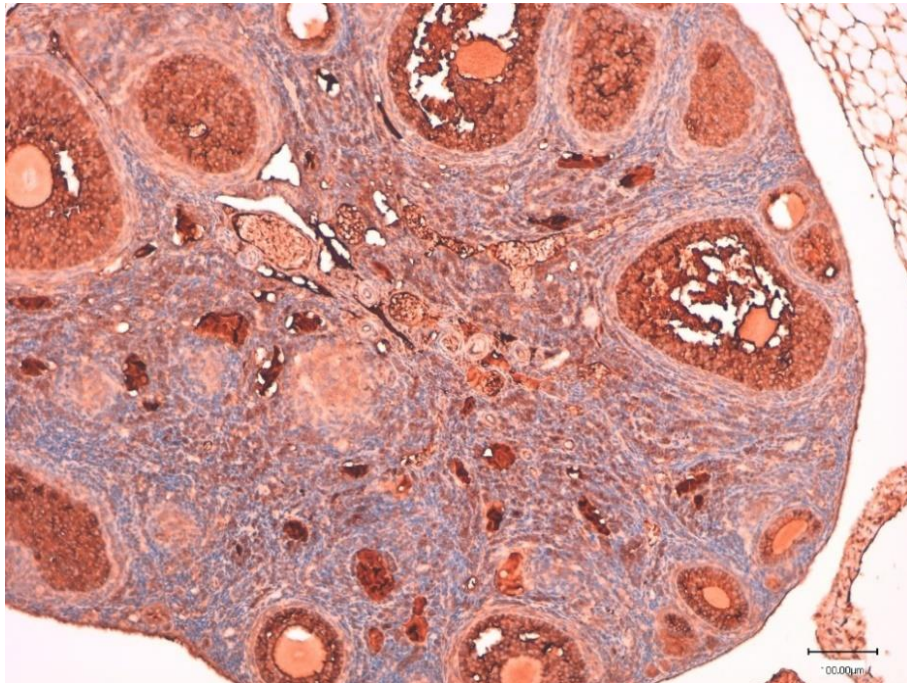


Рисунок 54 — Vcl-2⁺ маркер в яичнике потомства на 90-й день белой беспородной лабораторной мыши интактной группы. ИГХ-реакция на маркер Vcl-2. Докраска ядер гематоксилином. x100

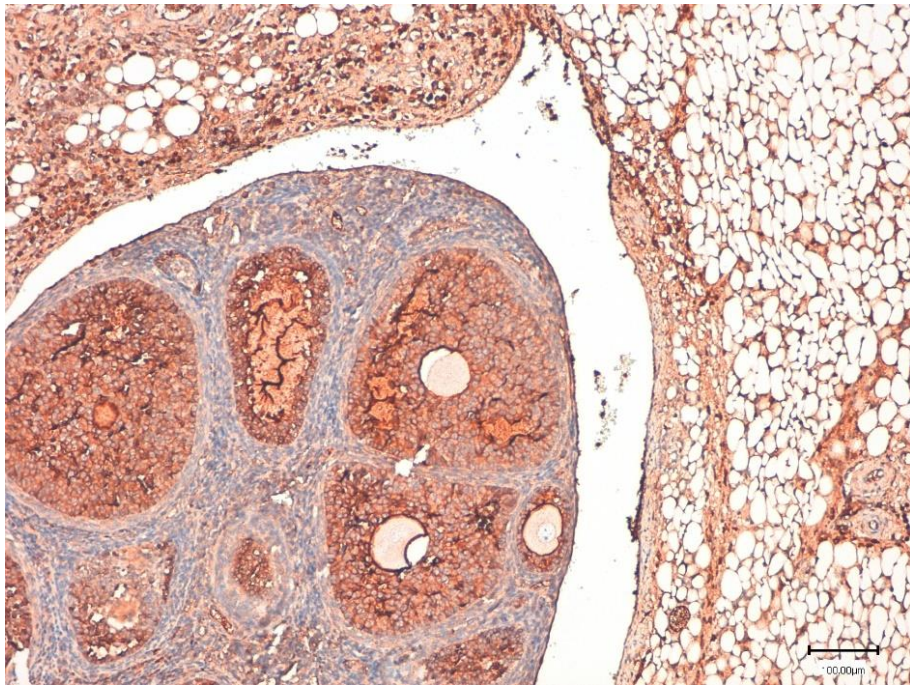


Рисунок 55 — Vcl-2⁺ маркер в яичнике потомства на 90-й день белой беспородной лабораторной мыши при воздействии синэстрола в дозе 25 мкг/кг. ИГХ-реакция на маркер Vcl-2. Докраска ядер гематоксилином. x100

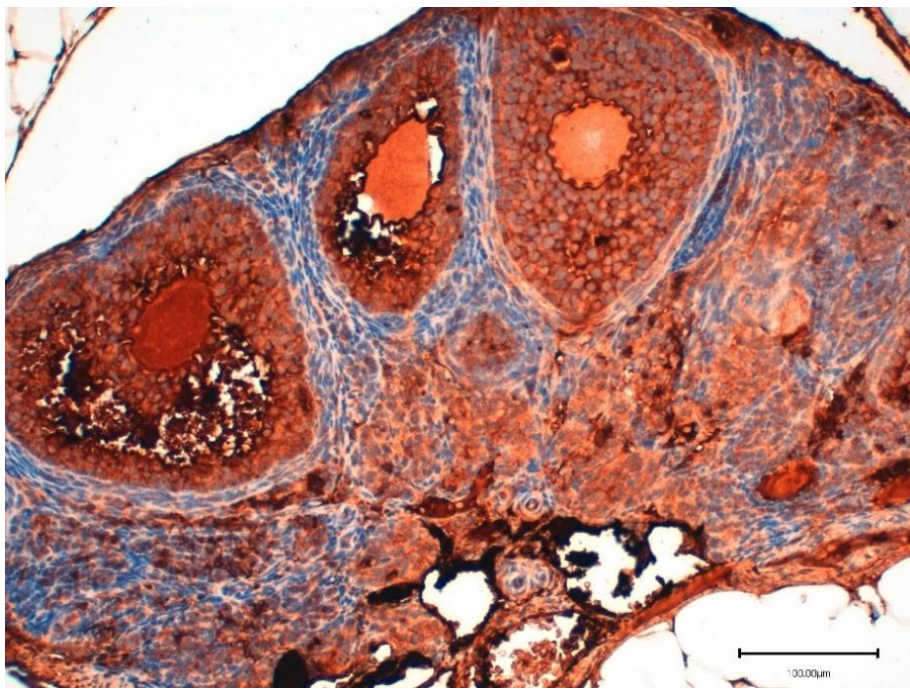


Рисунок 56 — Vcl-2⁺ маркер в яичнике потомства на 90-й день белой беспородной лабораторной мыши при воздействии синэстрола в дозе 40 мкг/кг. ИГХ-реакция на маркер Vcl-2. Докраска ядер гематоксилином. x100

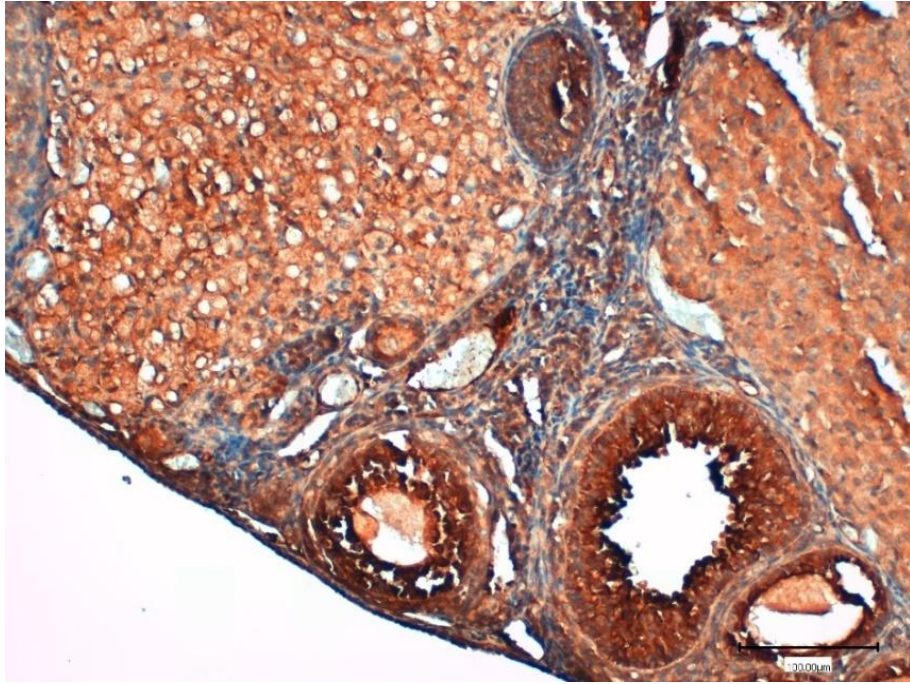


Рисунок 57 — Vcl-2⁺ маркер в яичнике потомства на 90-й день белой беспородной лабораторной мыши при воздействии синэстрола в дозе 50 мкг/кг. ИГХ-реакция на маркер Vcl-2. Докраска ядер гематоксилином. x100

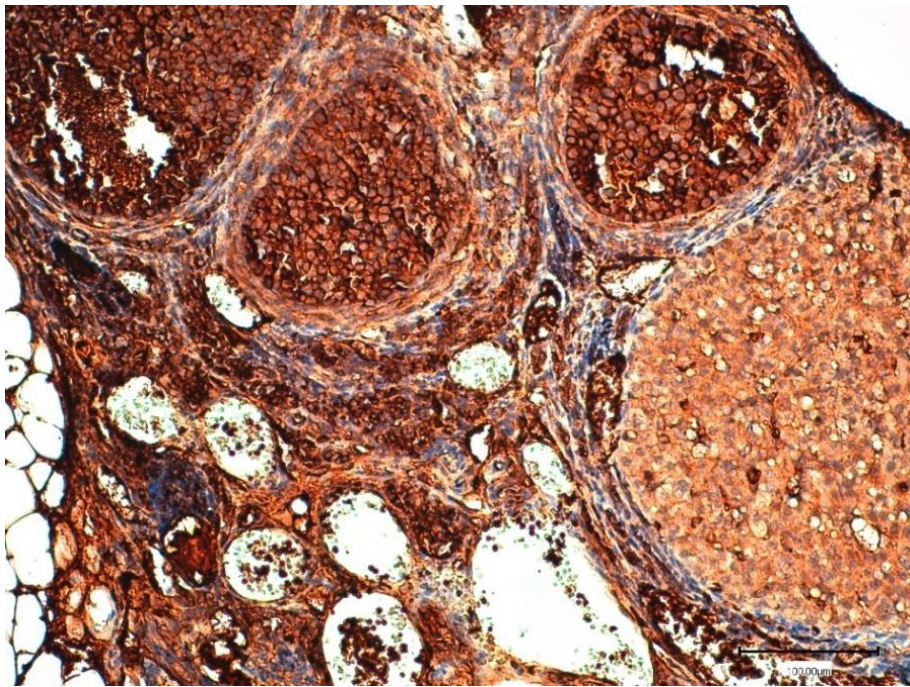


Рисунок 58 — Vcl-2⁺ маркер в яичнике потомства на 90-й день белой беспородной лабораторной мыши при воздействии фулвестранта в дозе 20 мкг/кг. ИГХ-реакция на маркер Vcl-2. Докраска ядер гематоксилином. x100

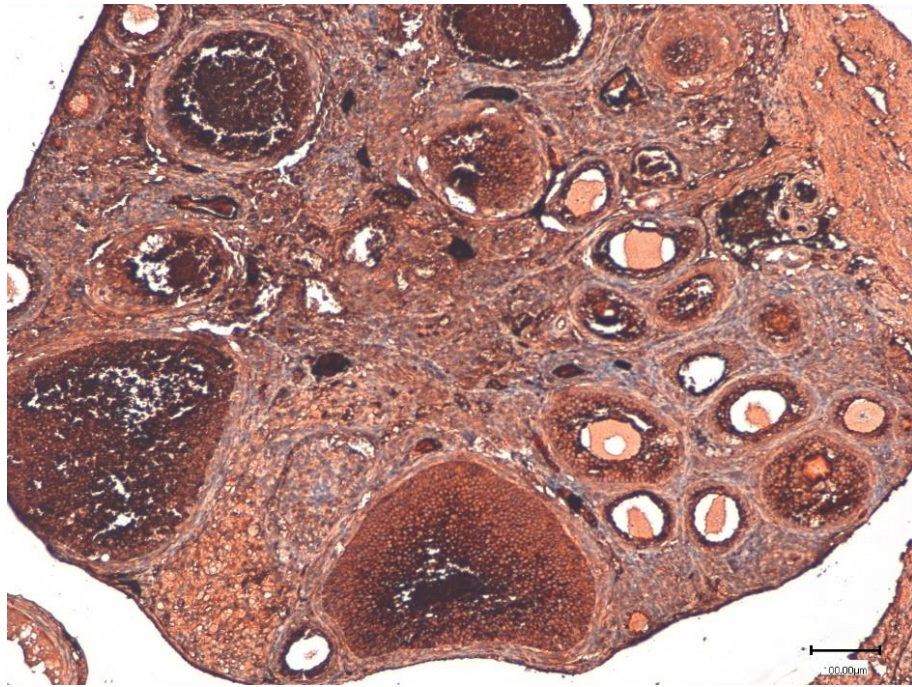


Рисунок 59 — Vcl-2⁺ маркер в яичнике потомства на 90-й день белой беспородной лабораторной мыши при воздействии фулвестранта в дозе 100 мкг/кг. ИГХ-реакция на маркер Vcl-2. Докраска ядер гематоксилином. x100

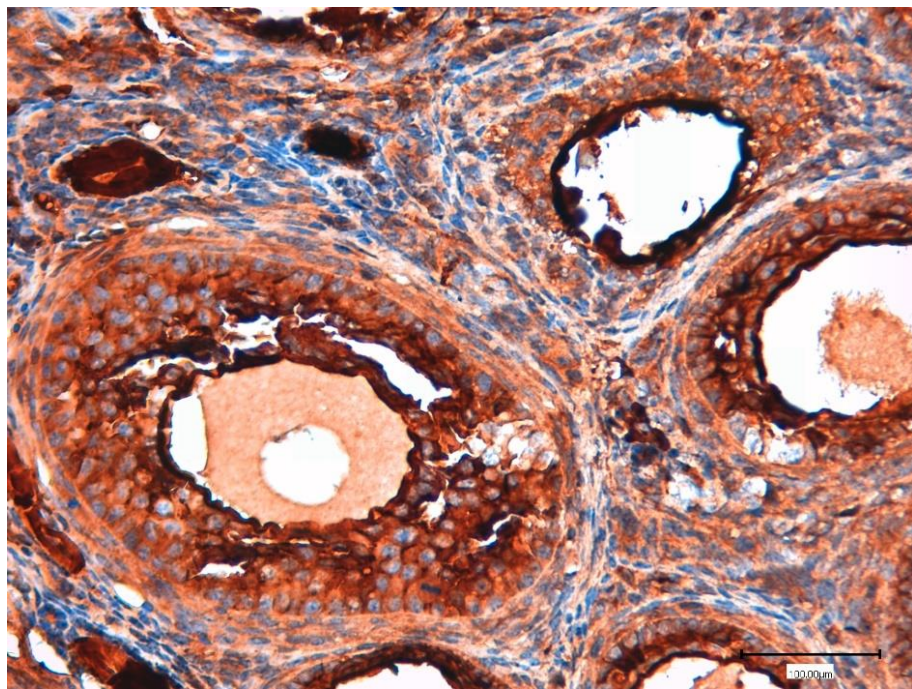


Рисунок 60 — Vcl-2⁺ маркер в яичнике потомства на 90-й день белой беспородной лабораторной мыши при воздействии фулвестранта в дозе 100 мкг/кг. ИГХ-реакция на маркер Vcl-2. Докраска ядер гематоксилином. x100

Таблица 31 — Количество Vcl-2 иммунопозитивных клеток в структурах яичников потомства на 90-й день при пренатальном введении эстрогенов, $M \pm m$

Показатели	Интактная, n = 7	Контроль (МО), n = 7	C-25 мкг/кг, n = 7	C-40 мкг/кг, n = 7	C-50 мкг/кг, n = 7	Контроль (МК), n = 7	Ф-20 мкг/кг, n = 7	Ф-100 мкг/кг, n = 7
Первичный фолликул	52,4±2,7	62,2±3,8*	65,2±5,9*	45,6±4,8*	66,2±3,3*	51,8±2,4	54,6±4,3	65,0±3,9*
Вторичный фолликул	65,4±10,0	72,2±8,2	53,2±4,9*	69,2±9,3	37,8±8,7*	56,8±1,9*	56,4±3,9	79,2±2,4
Третичный фолликул	56,0±3,2	51,4±6,2	75,8±3,9*	74,2±5,8*	59,4±5,9	59,0±2,5	73,8±3,3*	60,0±5,3
Желтое тело	64,4±3,6	64,6±3,9	72,4±3,2*	75,0±3,2*	63,2±1,9	47,6±2,9*	65,4±2,1	74,4±1,8*
Строма	80,4±2,4	70,8±2,4*	78,6±4,6	66,8±3,1*	38,4±8,9*	69,2±2,9*	63,4±2,1*	72,6±2,9*

Примечание: * — в сравнении с интактной группой выявлены различия при уровне значимости $p \leq 0,05$.

В результате морфометрического анализа ИГХ- маркера Vcl-2 при введении эстрогенного препарата синэстрола выяснено, что количество позитивно окрашенных клеток в первичном фолликуле яичника статистически значимо увеличилось в группе контроля (МО) на 18,7 % ($p \leq 0,05$), в группе С-25 мкг/кг на 24,4 % ($p \leq 0,05$) и в группе С-50 мкг/кг на 26,3 % ($p \leq 0,05$), а в группе С-40 мкг/кг произошло статистически значимое уменьшение (на 12,9 %, $p \leq 0,05$) этого же показателя по сравнению с интактной группой. Анализ показал, что при введении фулвестранта в группе контроля (МК) и в группе Ф-20 мкг/кг по сравнению с интактной группой значимые различия отсутствовали. Статистически значимое различие произошло только в группе Ф-100 мкг/кг, и по сравнению с интактной группой позитивно окрашенные клетки в данной группе увеличились на 24,0 % ($p \leq 0,05$).

Сравнительный анализ с интактной группой показал, что количество позитивно окрашенных клеток во вторичном фолликуле яичника в группе контроля (МО) и в группе С-40 мкг/кг увеличились на 10,4 и 5,8 %, соответственно, но статистически значимых различий не отмечены. Количество позитивно окрашенных клеток уменьшилось в группах С-25 мкг/кг и С-50 мкг/кг по сравнению с интактной группой на 18,7 % ($p \leq 0,05$) и 42,2 % ($p \leq 0,05$), соответственно. Также уменьшение позитивно окрашенных клеток произошло в группе контроля (МК) на 13,1 % ($p \leq 0,05$) и в группе Ф-20 мкг/кг на 13,7 % по сравнению с интактной группой. В группе Ф-100 мкг/кг произошло увеличение количества позитивно окрашенных клеток на 21,1 % по сравнению с интактной группой, но эти различия не были статистически значимыми.

Морфометрический анализ ИГХ-маркера Vcl-2 при введении доз эстрогенов в результате показал, что количество позитивно окрашенных клеток в третичном фолликуле яичника увеличилось в группе С-25 мкг/кг на 35,4 % ($p \leq 0,05$), в группе С-40 мкг/кг на 32,5 % ($p \leq 0,05$) и в группе Ф-20 мкг/кг на 31,8 % ($p \leq 0,05$) по сравнению с интактной группой. По сравнению с интактной группой незначительное увеличение позитивно окрашенных клеток произошло в группе С-50 мкг/кг (на 6,1 %), группе контроля (МК; на 5,4 %) и в группе Ф-100 мкг/кг (на 7,1 %).

В ходе морфометрического анализа ИГХ-маркера Vcl-2 при введении доз эстрогенов было установлено, что количество позитивно окрашенных клеток в желтом теле яичника увеличилось в группе С-25 мкг/кг на 12,4 % ($p \leq 0,05$), в группе С-40 мкг/кг на 16,5 % ($p \leq 0,05$) и в группе Ф-100 мкг/кг на 15,5 % ($p \leq 0,05$) по сравнению с интактной группой. В экспериментальных группах контроля (МО) и Ф-20 мкг/кг произошло незначительное увеличение позитивно окрашенных клеток по сравнению с интактной группой на 0,3 и 1,6 %, соответственно. По сравнению с интактной группой произошло снижение количества позитивно окрашенных клеток в группе С-50 мкг/кг (на 1,9 %), группе контроля (МК; на 26,1% ($p \leq 0,05$)).

Результаты проведенного нами анализа показали, что количество позитивно окрашенных клеток в строме яичника статистически значимо уменьшилось в группе контроля (МО) на 11,9 % ($p \leq 0,05$), в группе С-40 мкг/кг 16,9 % ($p \leq 0,05$), в группе С-50 мкг/кг 52,2 % ($p \leq 0,05$), в группе контроля (МК) на 13,9 % ($p \leq 0,05$), в группе Ф-20 мкг/кг на 21,1 % ($p \leq 0,05$) и в группе Ф-100 мкг/кг на 9,7 % ($p \leq 0,05$) по сравнению с интактной группой.

2.2.5.2 Исследование иммуногистохимического маркера Ki-67

Результаты морфометрического анализа ИГХ-маркера Ki-67 при введении доз эстрогенов представлены в таблице 32 и на рисунках 61–66.

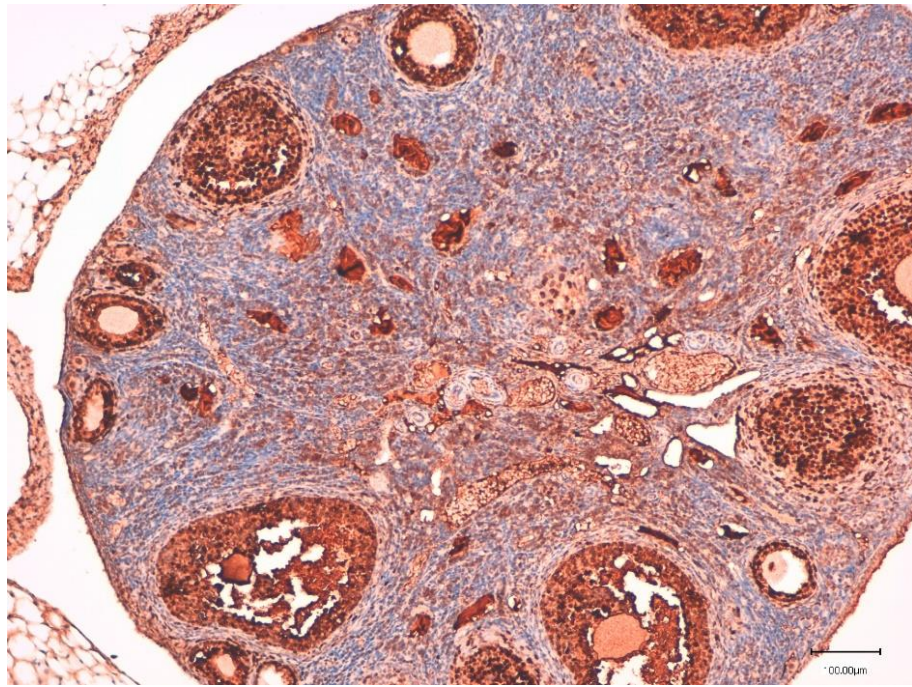


Рисунок 61 — Ki-67⁺ маркер в яичнике потомства на 90-й день белой беспородной лабораторной мыши интактной группы. ИГХ- реакция на маркер Ki-67. Продукт реакции коричневого цвета. Докраска ядер гематоксилином. x100

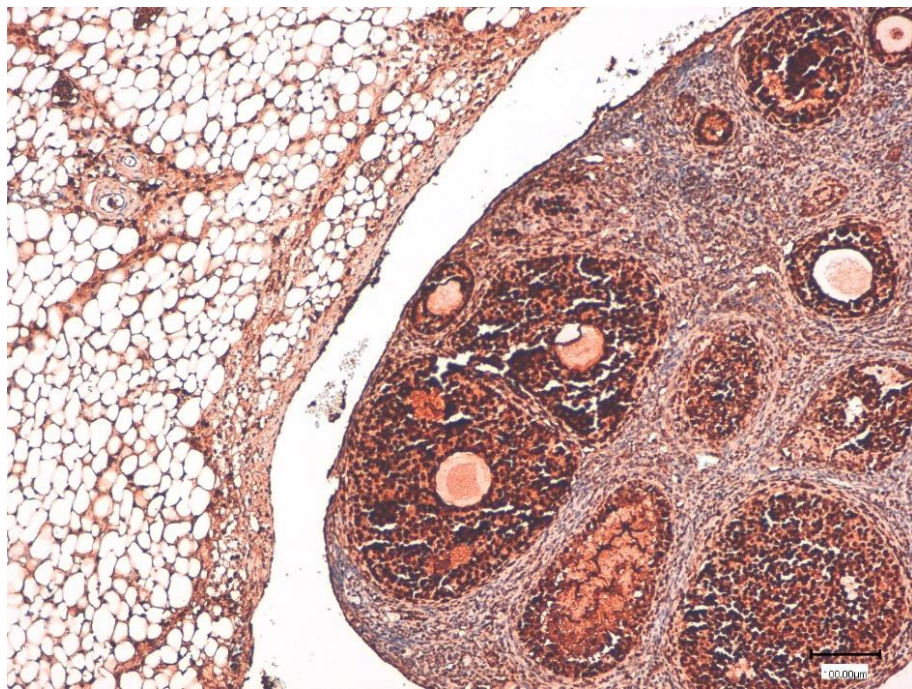


Рисунок 62 — Ki-67⁺ маркер в яичнике потомства на 90-й день белой беспородной лабораторной мыши при воздействии синэстрола в дозе 25 мкг/кг. ИГХ-реакция на маркер Ki-67. Продукт реакции коричневого цвета. Докраска ядер гематоксилином. x100

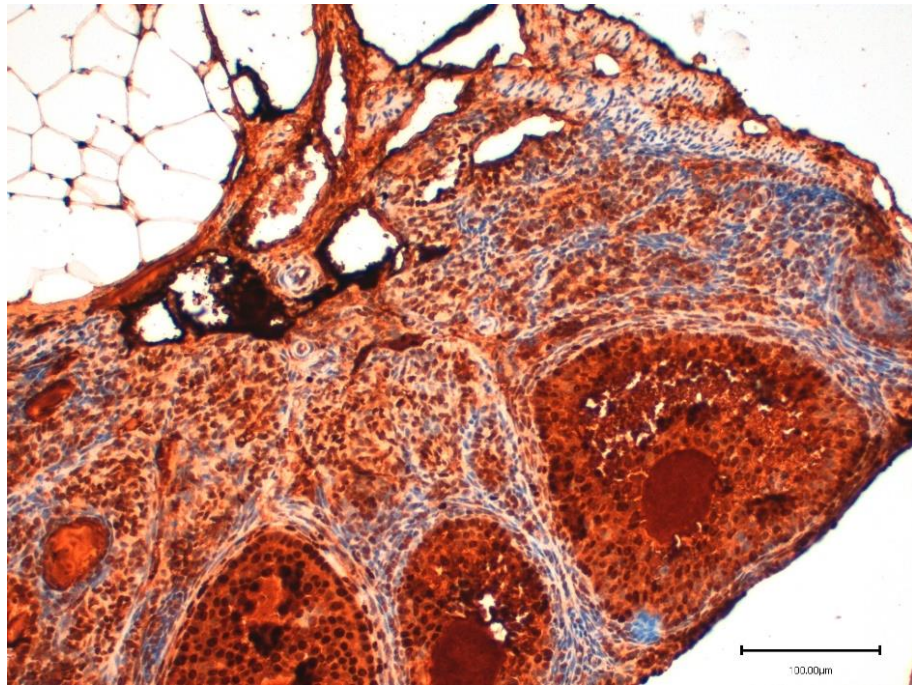


Рисунок 63 — Ki-67⁺ маркер в яичнике потомства на 90-й день белой беспородной лабораторной мыши при воздействии синэстрола в дозе 40 мкг/кг. ИГХ-реакция на маркер Ki-67. Продукт реакции коричневого цвета. Докраска ядер гематоксилином. x100

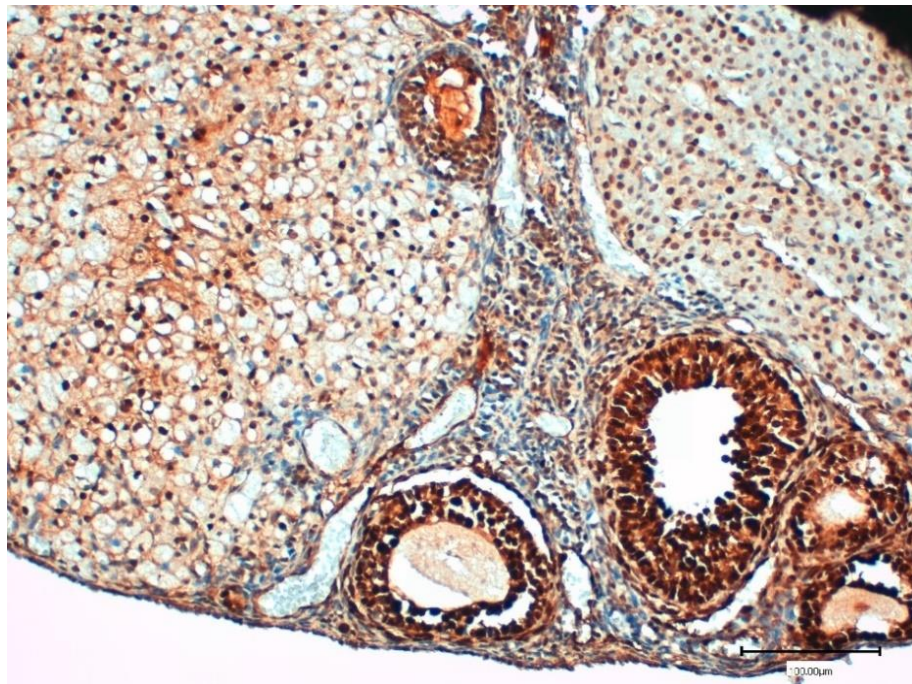


Рисунок 64 — Ki-67⁺ маркер в яичнике потомства на 90-й день белой беспородной лабораторной мыши при воздействии синэстрола в дозе 50 мкг/кг. ИГХ-реакция на маркер Ki-67. Продукт реакции коричневого цвета. Докраска ядер гематоксилином. x100

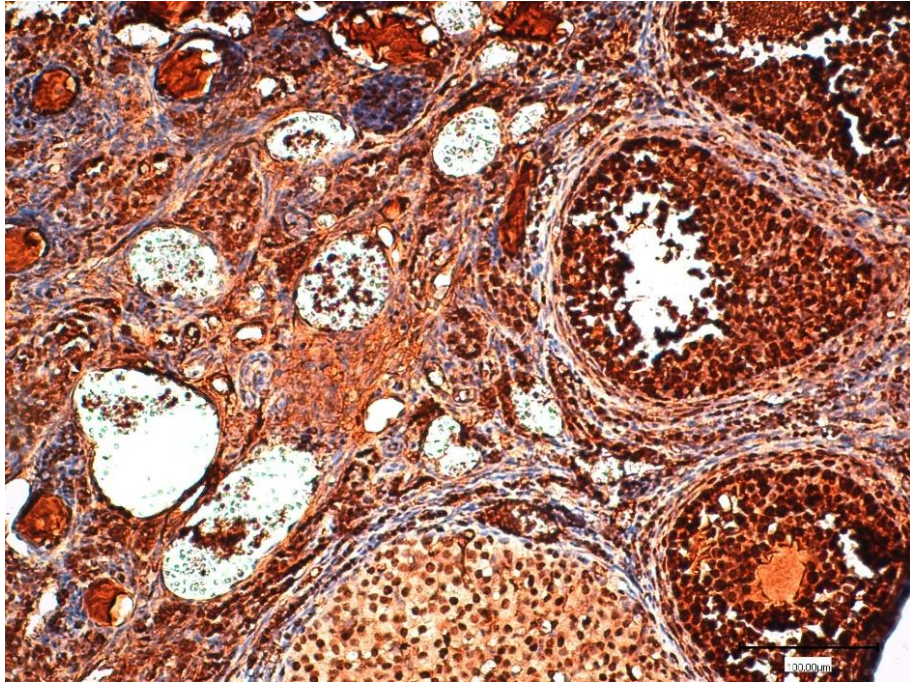


Рисунок 65 — Ki-67⁺ маркер в яичнике потомства на 90-й день белой беспородной лабораторной мыши при воздействии фулвестранта в дозе 20 мкг/кг. ИГХ-реакция на маркер Ki-67. Продукт реакции коричневого цвета. Докраска ядер гематоксилином.
x100

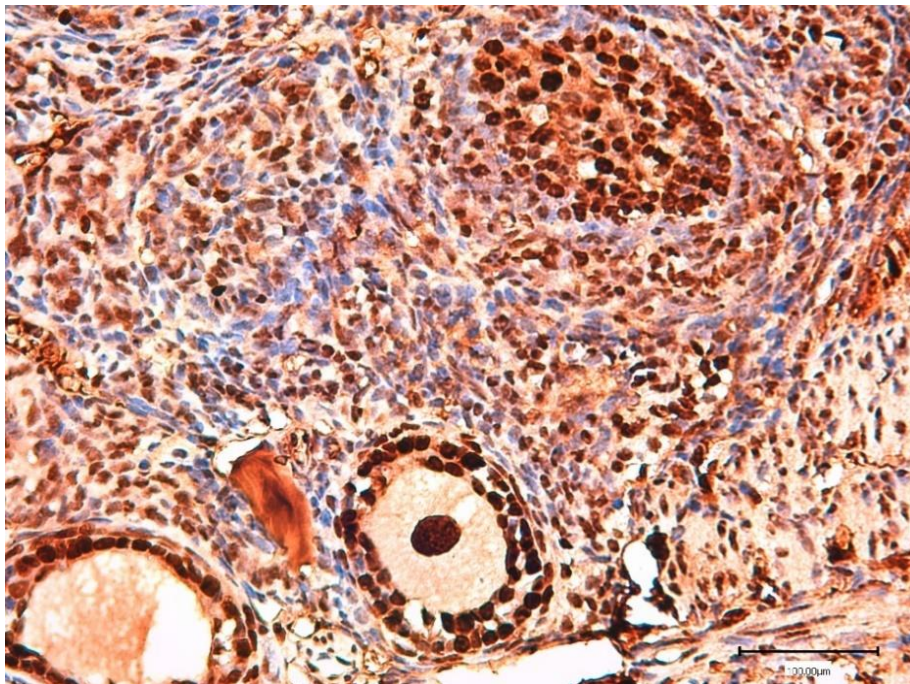


Рисунок 66 — Ki-67⁺ маркер в яичнике потомства на 90-й день белой беспородной лабораторной мыши при воздействии фулвестранта в дозе 100 мкг/кг. ИГХ-реакция на маркер Ki-67. Продукт реакции коричневого цвета. Докраска ядер гематоксилином.
x100

Таблица 32 — Количество Ki-67 иммунопозитивных клеток в структурах яичников потомства на 90-й день при пренатальном введении эстрогенов, $M \pm m$

Показатели	Интактная, n = 7	Контроль (МО), n = 7	С-25 мкг/кг, n = 7	С-40 мкг/кг, n = 7	С-50 мкг/кг, n = 7	Контроль (МК), n = 7	Ф-20 мкг/кг, n = 7	Ф-100 мкг/кг, n = 7
Первичный фолликул	80,2±3,7	73,6±5,2	66,8±5,8*	81,0±3,2	91,0±2,7*	75,8±5,9	70,8±2,9*	66,2±4,5*
Вторичный фолликул	74,0±6,1	76,2±3,7	70,6±5,5	82,2±4,8	83,8±3,8	73,2±5,4	74,0±5,7	80,8±9,8
Третичный фолликул	79,0±2,5	69,8±5,8*	61,6±3,0*	85,0±4,7	87,0±4,2	72,0±4,1	79,0±5,7	74,4±9,2
Желтое тело	59,8±2,4	68,4±3,9	60,6±1,1	44,2±3,5*	80,8±12,9*	66,4±4,3	57,8±12,2	62,0±5,1
Строма	56,0±3,5	60,8±3,2	53,0±4,1	77,0±2,1*	64,2±3,7*	63,4±3,2*	62,8±4,3*	66,0±4,5*

Примечание: * — в сравнении с интактной группой выявлены различия при уровне значимости $p \leq 0,05$.

В результате морфометрического анализа ИГХ-маркера Ki-67 при введении доз эстрогенов определили, что количество позитивно окрашенных клеток в первичном фолликуле яичника по сравнению с интактной группой уменьшилось в таких группах, как группа контроля (МО) на 8,2 %, группа С-25 мкг/кг на 16,7 % ($p \leq 0,05$), группа контроля (МК) на 5,5 %, группа Ф-20 мкг/кг на 11,7 % ($p \leq 0,05$) и группа Ф-100 мкг/кг на 17,5 % ($p \leq 0,05$). Увеличение количества позитивно окрашенных клеток произошло в группах С-40 мкг/кг на 0,9 % и С-50 мкг/кг на 13,5 % ($p \leq 0,05$) по сравнению с интактной группой.

Морфометрический анализ ИГХ-маркера Ki-67 при введении доз эстрогенов в результате показал, что количество позитивно окрашенных клеток во вторичном фолликуле яичника произошло в группе контроля (МО) на 2,9 %, в группах С-40 мкг/кг на 11,1 %, С-50 мкг/кг на 13,5 %, Ф-100 мкг/кг на 9,2 %. В экспериментальной группе Ф-20 мкг/кг значимых различий не было по сравнению с интактной группой. Уменьшение количества позитивно окрашенных клеток в рассматриваемом фолликуле произошло только в экспериментальной группе С-25 мкг/кг на 4,6 % по сравнению с интактной группой.

Сравнительный анализ с интактной группой показал, что количество позитивно окрашенных клеток в третичном фолликуле яичника уменьшилось в контрольной группе (МО) на 11,6 % ($p \leq 0,05$), в группе С-25 мкг/кг на 22,0 % ($p \leq 0,05$), в группа контроля (МК) на 8,9 % и в группа Ф-100 мкг/кг на 5,8 %. Статистически значимое увеличение количества позитивно окрашенных клеток произошло в таких группах, как С-40 мкг/кг на 7,6 % и С-50 мкг/кг на 10,1 %. В экспериментальной группе Ф-20 мкг/кг значимых различий не было по сравнению с интактной группой.

В ходе морфометрического анализа ИГХ-маркера Ki-67 при введении доз эстрогенов было установлено, что количество позитивно окрашенных клеток в желтом теле яичника увеличились в таких группах, как контрольная группа (МО) на 14,4 % ($p \leq 0,05$), группа С-25 мкг/кг на 1,3 %, группа С-50 мкг/кг на 35,1 % ($p \leq 0,05$), группа контроля (МК) на 11,0 % и группа Ф-100 мкг/кг на 3,7 % по сравнению с интактной группой. Уменьшение количества позитивно окрашенных

клеток в желтом теле произошло только в экспериментальной группе С-40 мкг/кг и Ф-20 мкг/кг на 26,1 % ($p \leq 0,05$) и на 3,3 %, соответственно, по сравнению с интактной группой.

Результаты проведенного нами анализа показали, что количество позитивно окрашенных клеток в строме яичника по сравнению с интактной группой увеличилось в группе контроля (МО) на 8,6 %, в группах С-40 мкг/кг на 37,5 % ($p \leq 0,05$), С-50 мкг/кг на 14,6 % ($p \leq 0,05$), в контрольной группе (МК) на 13,2 % ($p \leq 0,05$), Ф-20 мкг/кг на 12,1 % ($p \leq 0,05$) и Ф-100 мкг/кг на 17,8 % ($p \leq 0,05$).

2.2.5.3. Сравнительный анализ иммуногистохимических маркеров

Vcl-2 и Ki-67

Сравнительный анализ ИГХ-маркеров Vcl-2 и Ki-67 при пренатальном введении синтетического препарата синэстрола показал, что в первичных фолликулах яичников потомства (рисунок 67, 68) в первой опытной группе «МО» наблюдалось увеличение позитивно окрашенных клеток, демонстрирующих вероятность повышения клеточной гибели на ИГХ-маркер Vcl-2. Также обнаружилось снижение митотической активности клеток при окрашивании ИГХ-маркером Ki-67. В опытной группе «С-25» наблюдалось увеличение числа иммунопозитивных клеток на маркер Vcl-2 ($p \leq 0,05$) и снижение числа Ki-67 ($p \leq 0,05$). Введение синэстрола в группе «С-40» показало уменьшение количества позитивно окрашенных клеток в маркере регулятора апоптоза Vcl-2, а пролиферативная активность клеток к Ki-67 находилась в пределах нормы. В опытной группе «С-50» в обоих исследуемых маркерах наблюдалось увеличение числа иммунопозитивных клеток в первичных фолликулах яичника.

Во вторичных фолликулах наблюдались следующие изменения (рисунки 69, 70): первой опытной группе «МО» в обоих исследуемых маркерах наблюдалось увеличение количества иммунопозитивных клеток. Введение дозы 25 мкг/кг привело к уменьшению количества позитивно окрашенных клеток в исследуемых маркерах Vcl-2 ($p \leq 0,05$) и Ki-67. При введении дозы 40 мкг/кг во вторичных

фолликулах наблюдалось увеличение числа позитивно окрашенных клеток в обоих исследуемых маркерах. При введении дозы 50 мкг/кг наблюдалось уменьшение количества клеток, окрашенных маркером Vcl-2 ($p \leq 0.05$) и увеличение числа клеток, окрашенных маркером Ki-67.

В третичных фолликулах яичников потомства (рисунки 71, 72) в первой опытной группе «МО» наблюдалось увеличение числа позитивно окрашенных клеток в обоих исследуемых маркерах (Ki-67 ($p \leq 0.05$)). В опытной группе «С-25» наблюдалось увеличение позитивно окрашенных клеток на Vcl-2 ($p \leq 0.05$) и значительным уменьшением позитивно окрашенных клеток на Ki-67 ($p \leq 0.05$). В опытных группах «С-40» и «С-50» в обоих исследуемых маркерах Vcl-2 и Ki-67 наблюдалось увеличение числа позитивно окрашенных клеток.

В желтом теле яичников потомства (рисунок 72, 74) первой опытной группе «МО» не наблюдалось значительных изменений количества позитивно окрашенных клеток на исследуемых маркерах. В опытных группах были выявлены следующие изменения: при введении дозы 25 мкг/кг количество позитивно окрашенных клеток на Vcl-2 увеличилось ($p \leq 0.05$), а количество клеток на маркер Ki-67 находилось в пределах нормы. При введении дозы 40 мкг/кг наблюдалось увеличение количества позитивно окрашенных клеток Vcl-2 ($p \leq 0.05$), обнаружилось снижение митотической активности клеток при окрашивании ИГХ-маркером Ki-67 ($p \leq 0.05$). Введение дозы 50 мкг/кг привело к уменьшению количества иммунопозитивно окрашенных клеток на Vcl-2 и увеличению числа позитивно окрашенных клеток на Ki-67 ($p \leq 0.05$).

В строме яичников потомства наблюдались следующие изменения (рисунки 75, 76): первой опытной группе «МО» отмечалось снижение количества иммунопозитивно окрашенных клеток Vcl-2 ($p \leq 0.05$) и увеличение числа позитивно окрашенных клеток на Ki-67. При введении дозы 25 мкг/кг количество позитивно окрашенных клеток маркера Ki-67 снижалось, а количество клеток на маркер Vcl-2 находилось в пределах нормы. Введение синэстрола в дозе 40 мкг/кг показал, что количество позитивно окрашенных клеток увеличилось при исследовании маркера Ki-67 ($p \leq 0.05$), а количество иммунопозитивных клеток

на маркере Vcl-2 уменьшилось ($p \leq 0.05$). Отмечалось снижение числа иммунопозитивных клеток на маркер Vcl-2 ($p \leq 0.05$) и рост количества позитивно окрашенных клеток на маркер Ki-67 ($p \leq 0.05$) при введении доз 40 мкг/кг и 50 мкг/кг.

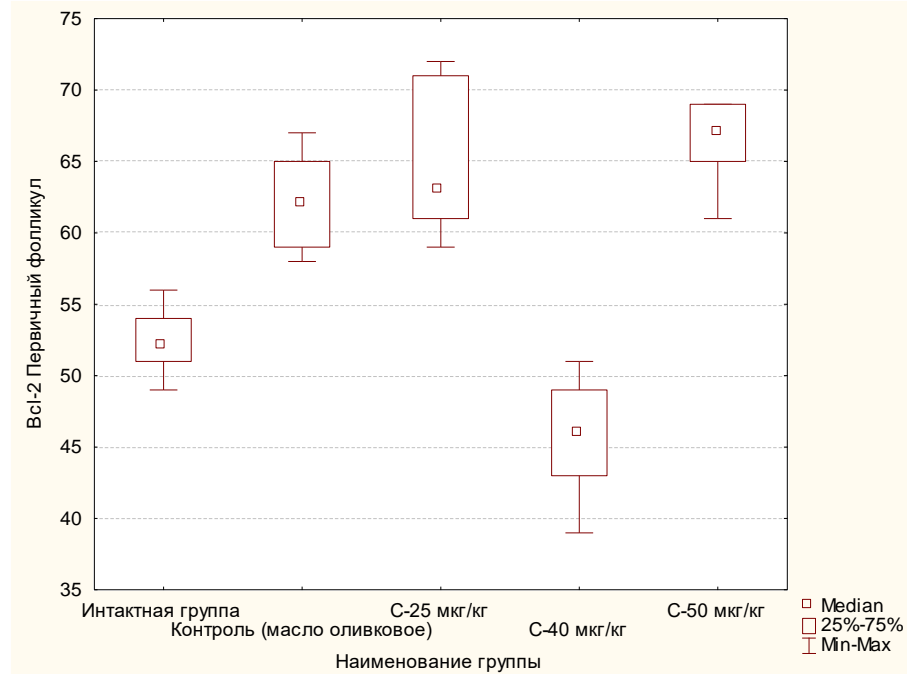


Рисунок 67 — Диаграмма (ящик с усами, box plot), отражающая количество Vcl-2 иммунопозитивных клеток в первичных фолликулах яичников потомства на 90-й день в фолликулярных клетках при введении синэстрола.

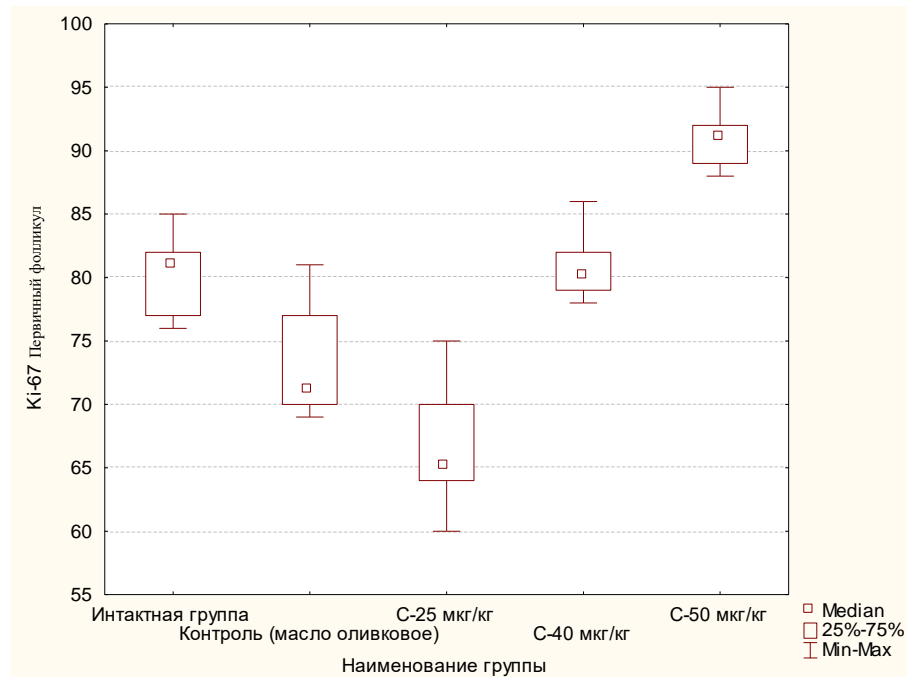


Рисунок 68 — Диаграмма (ящик с усами, box plot), отражающая количество Ki-67 иммунопозитивных клеток в первичных фолликулах яичников потомства на 90-й день в фолликулярных клетках при введении синэстрола.

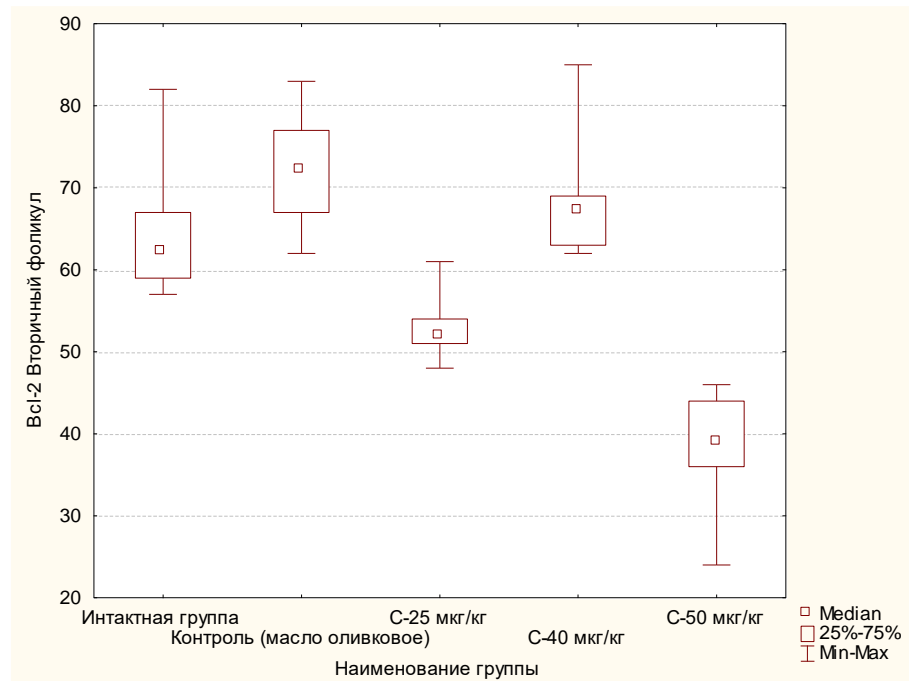


Рисунок 69 — Диаграмма (ящик с усами, box plot), отражающая количество Vcl-2 иммунопозитивных клеток во вторичных фолликулах яичников потомства на 90-й день в фолликулярных клетках при введении синэстрола.

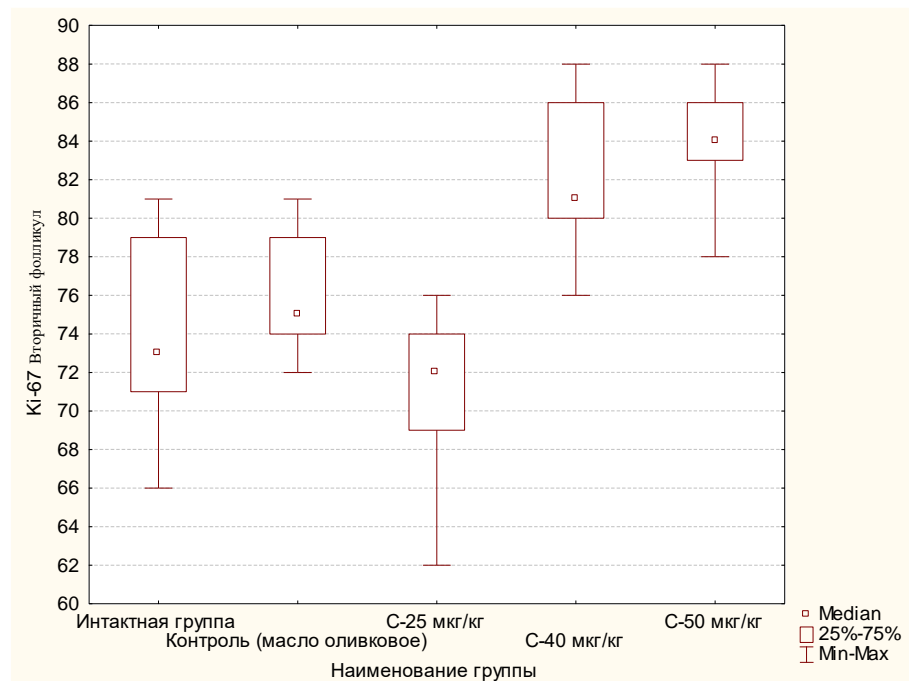


Рисунок 70 — Диаграмма (ящик с усами, box plot), отражающая количество Ki-67 иммунопозитивных клеток во вторичных фолликулах яичников потомства на 90-й день в фолликулярных клетках при введении синэстрола.

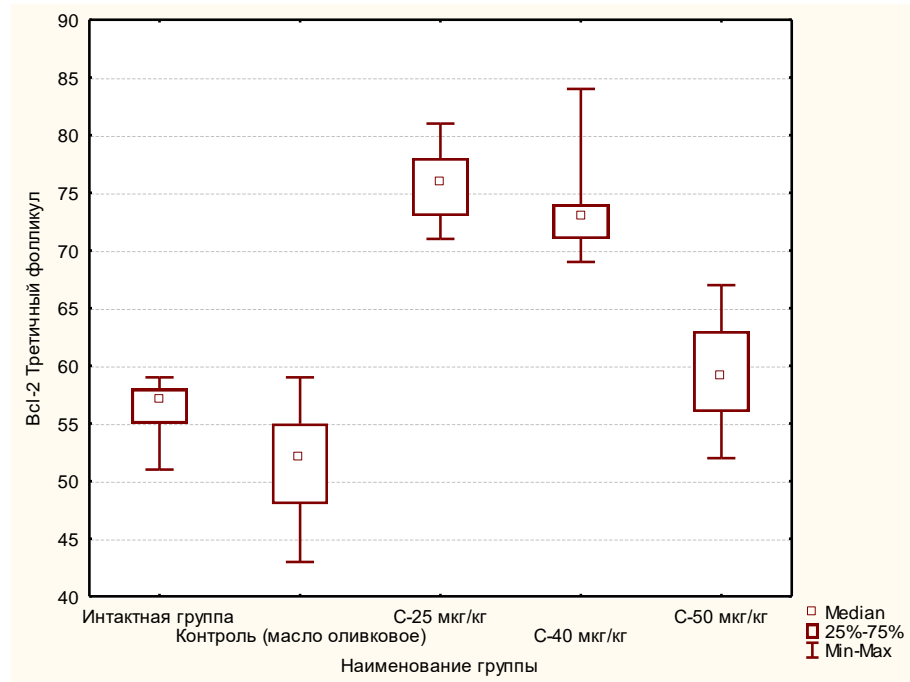


Рисунок 71 — Диаграмма (ящик с усами, box plot), отражающая количество Vcl-2 иммунопозитивных клеток в третичных фолликулах яичников потомства в фолликулярных клетках при введении синэстрола.

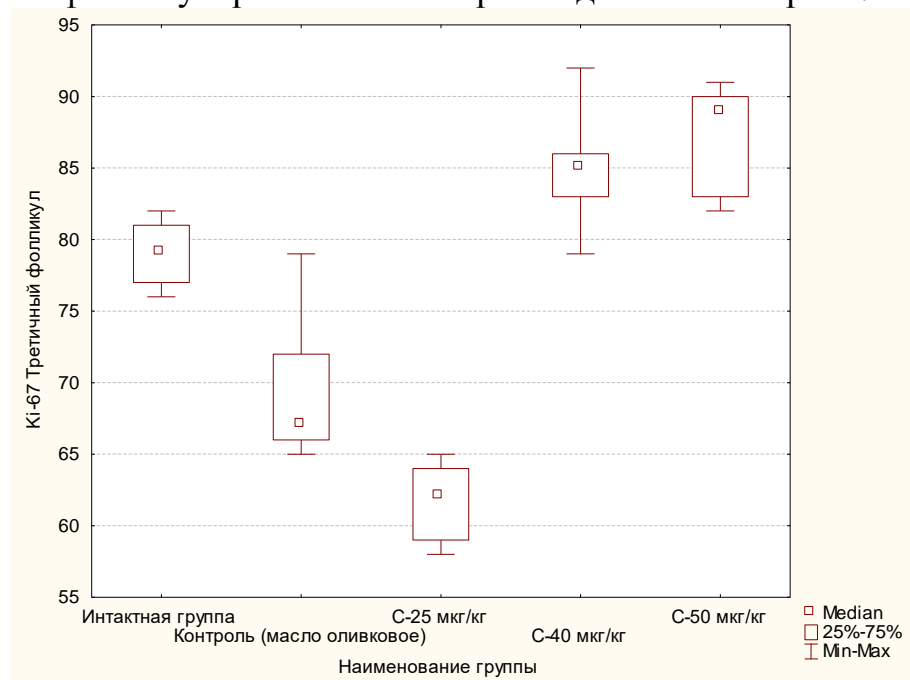


Рисунок 72 — Диаграмма (ящик с усами, box plot), отражающая количество Ki-67 иммунопозитивных клеток в третичных фолликулах яичников потомства на 90-й день в фолликулярных клетках при введении синэстрола.

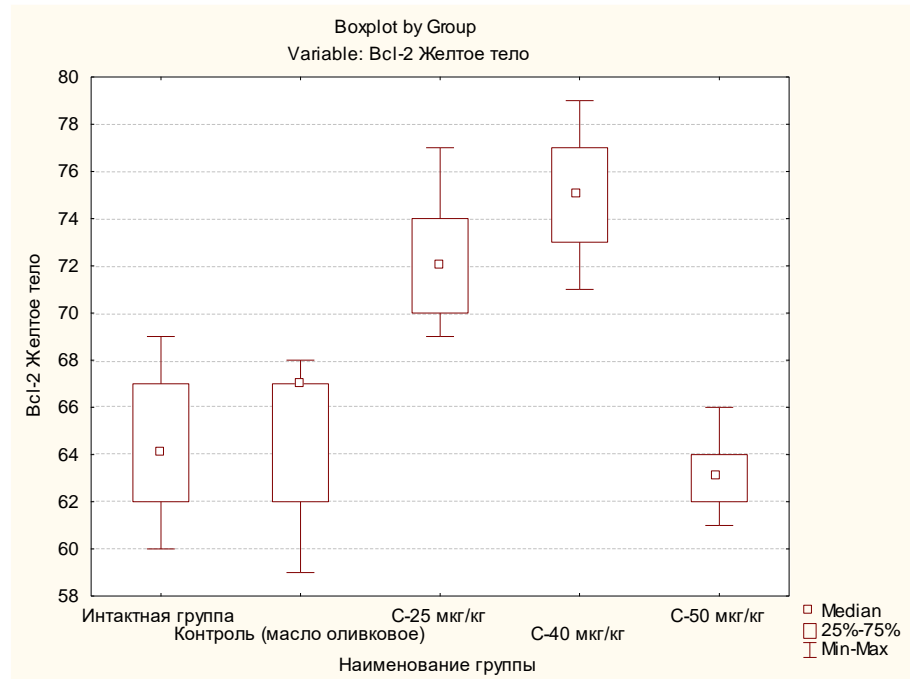


Рисунок 73.— Диаграмма (ящик с усами, box plot), отражающая количество Bcl-2 иммунопозитивных клеток в желтых телах яичников потомства на 90-й день в фолликулярных клетках при введении синэстрола.

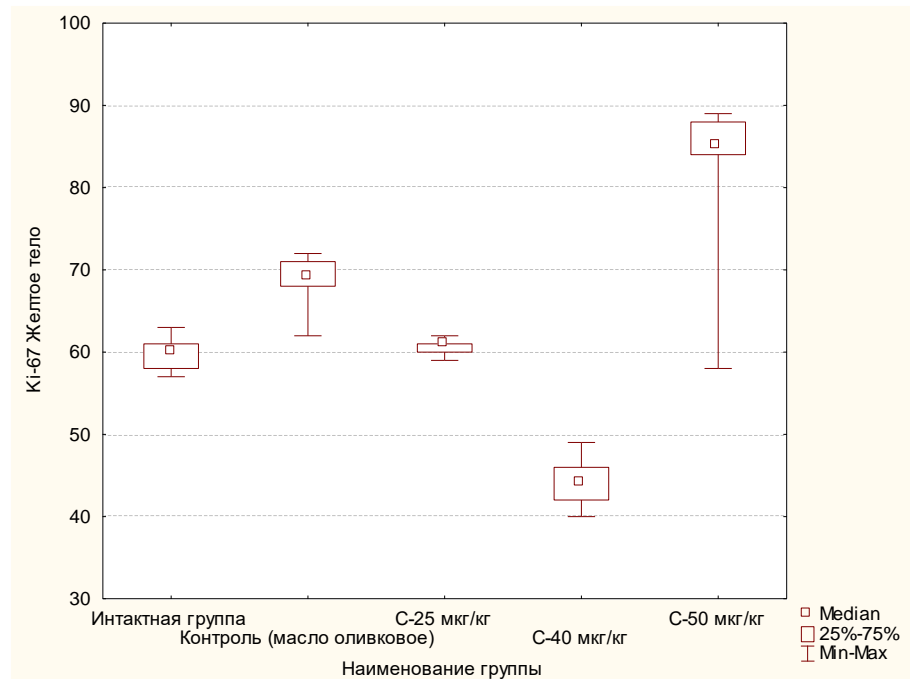


Рисунок 74 — Диаграмма (ящик с усами, box plot), отражающая количество Ki-67 иммунопозитивных клеток в желтых телах яичников потомства на 90-й день в фолликулярных клетках при введении синэстрола.

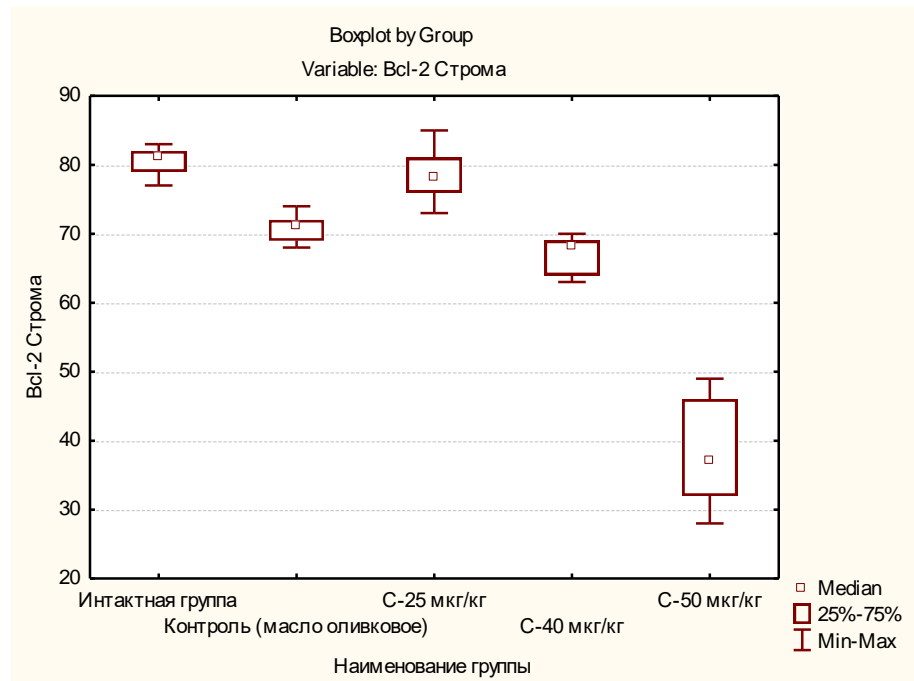


Рисунок 75 — Диаграмма (ящик с усами, box plot), отражающая количество Vcl-2 иммунопозитивных клеток в строме яичников потомства на 90-й день в фолликулярных клетках при введении синэстрола.

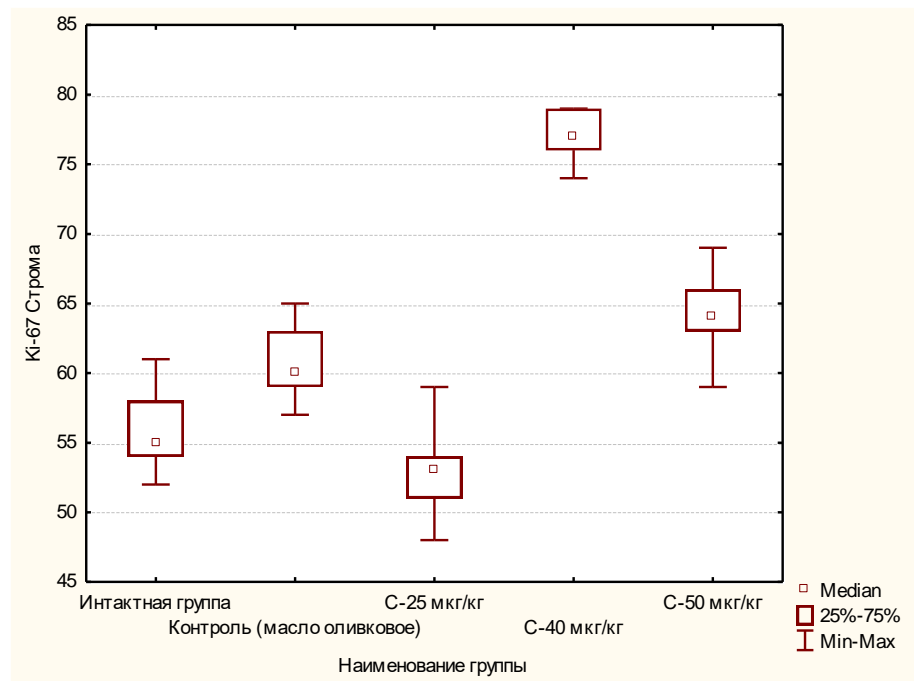


Рисунок 76 — Диаграмма (ящик с усами, box plot), отражающая количество Ki-67 иммунопозитивных клеток в строме яичников потомства на 90-й день в фолликулярных клетках при введении синэстрола.

Таким образом, структурные изменения в яичниках потомства белых беспородных лабораторных мышей определяются вводимой дозой синтетического аналога эстрогена синэстрола, в период пренатального развития органов плода. Лимитирование дозозависимости вводимого препарата в пренатальный период позволит избежать неблагоприятного эффекта на развитие и структурно-функциональную организацию яичников потомства, о чем свидетельствуют ИГХ-маркеры Ki-67 и Bcl-2.

Сравнительный анализ ИГХ-маркеров Bcl-2 (маркера — регулятора апоптоза) и Ki-67 (маркера клеточной пролиферации) в ходе пренатального однократного внутримышечного введения препарата фулвестрант показал следующие результаты.

1. В первичных фолликулах яичников потомства наблюдались следующие изменения (рисунок 77, 78).

В контрольной группе (МК) маркер — регулятор апоптоза Bcl-2 находился в пределах нормы, а маркер пролиферативной активности клеток Ki-67 снижался, что свидетельствует о снижении процессов естественной гибели клеток.

При введении фулвестранта в дозах 20 и 100 мкг/кг наблюдалось увеличение количества позитивно окрашенных клеток, демонстрирующее вероятность повышения клеточной гибели на ИГХ-маркер Bcl-2, а также снижение митотической активности клеток при окрашивании ИГХ-маркером Ki-67. Повышение апоптоза наряду со снижением митотической активности говорит о том, что это приводит к ускорению физиологической гибели клеток.

2. Во вторичных фолликулах яичников потомства наблюдались следующие изменения (рисунок 79, 80).

В маркере регулятора апоптоза количество позитивно окрашенных клеток уменьшалось, а пролиферативная активность клеток находилась в пределах нормы в контрольной группе (МК), что свидетельствует о снижении процессов естественной гибели клеток.

Наблюдалось сокращение числа клеток, регулирующих апоптоз, и увеличение пролиферативноактивных клеток при введении фулвестранта в дозе

20 мкг/кг. Уменьшение количества позитивно окрашенных клеток для маркеров Bcl-2 и Ki-67 свидетельствует о снижении естественной гибели клеток.

При введении фулвестранта в дозе 100 мкг/кг в обоих исследуемых маркерах наблюдался однонаправленный процесс роста числа иммунопозитивно окрашенных клеток. Повышение апоптоза наряду со повышением митотической активности говорит о том, что это приводит к снижению процессов естественной гибели клеток.

3. В третичных фолликулах яичников потомства наблюдались следующие изменения (рисунок 81, 82).

В группе короля (МК) и при введение препарата фулвестранта в дозах 20 и 100 мкг/кг характеризовалось преобладанием уровня экспрессии антител к Bcl-2 над уровнем экспрессии к Ki-67. Повышение апоптоза наряду со снижением митотической активности свидетельствует о том, что это приводит к ускорению физиологической гибели клеток.

4. В желтых телах яичников потомства наблюдались следующие изменения (рисунок 83, 84).

Отмечалось уменьшение количества клеток, регулирующих апоптоз, и увеличение числа пролиферативноактивных клеток в группе контроля (МК). Сокращение количества позитивно окрашенных клеток маркерами Bcl-2 и Ki-67 свидетельствует о снижении естественной гибели клеток.

В маркере регулятора апоптоза позитивно окрашенные клетки находились в пределах нормы, а пролиферативная активность клеток снижалась при введении фулвестранта в дозе 20 мкг/кг, что свидетельствует о снижении процессов естественной гибели клеток.

При введении фулвестранта в дозе 100 мкг/кг в обоих исследуемых маркерах наблюдался однонаправленный процесс роста числа иммунопозитивно окрашенных клеток. Повышение апоптоза наряду со повышением митотической активности говорит о том, что это приводит к снижению процессов естественной гибели клеток.

5. В строме яичников потомства наблюдались следующие изменения (рисунок 85, 86).

В группе короля (МК) и при введении препарата фулвестрант в дозах 20 и 100 мкг/кг отмечалось преобладание экспрессии антител к Ki-67 над уровнем маркера к Bcl-2, свидетельствующее о снижении процессов естественной гибели клеток.

Таким образом, сопоставление биологических маркеров клеточного цикла Bcl-2 (маркера — регулятора апоптоза) и Ki-67 (маркера пролиферативной клеточной активности) в яичниках потомства при пренатальном однократном внутримышечном введении фулвестранта показало, что в первичных фолликулах при введении доз 20 и 100 мкг/кг наблюдалось увеличение количества позитивно окрашенных клеток, демонстрирующее вероятность повышения клеточной гибели на ИГХ-маркер Bcl-2, обнаружилось снижение митотической активности клеток при окрашивании ИГХ-маркером Ki-67. Во вторичных фолликулах яичников потомства наблюдалось уменьшение числа клеток, регулирующих апоптоз, и увеличение количества пролиферативноактивных клеток при введении фулвестранта в дозе 20 мкг/кг. При введении фулвестранта в дозе 100 мкг/кг в обоих исследуемых маркерах наблюдался однонаправленный процесс роста числа иммунопозитивно окрашенных клеток. В желтых телах яичников потомства наблюдалось сокращение количества клеток, регулирующих апоптоз, и увеличение числа пролиферативноактивных клеток в группе контроля (МК). В маркере регулятора апоптоза позитивно окрашенные клетки находились в пределах нормы, а пролиферативная активность клеток снижалась при введении фулвестранта в дозе 20 мкг/кг. При введении фулвестранта в дозе 100 мкг/кг в обоих исследуемых маркерах наблюдался однонаправленный процесс роста числа иммунопозитивно окрашенных клеток.

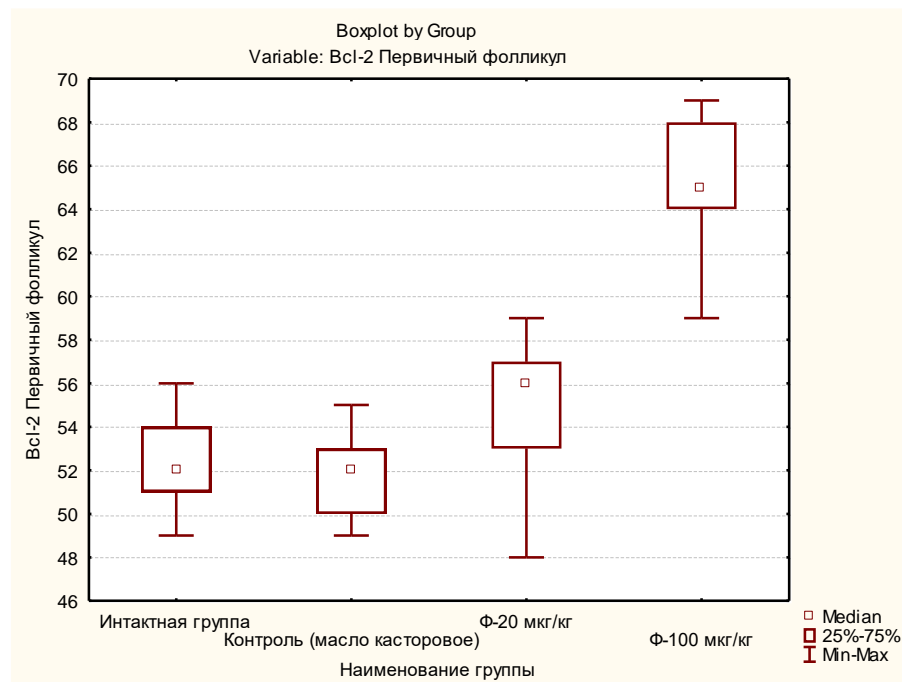


Рисунок 77 — Диаграмма (ящик с усами, box plot), отражающая количество Vc1-2 иммунопозитивных клеток в первичных фолликулах яичников потомства на 90-й день в фолликулярных клетках при введении фулвестранта.

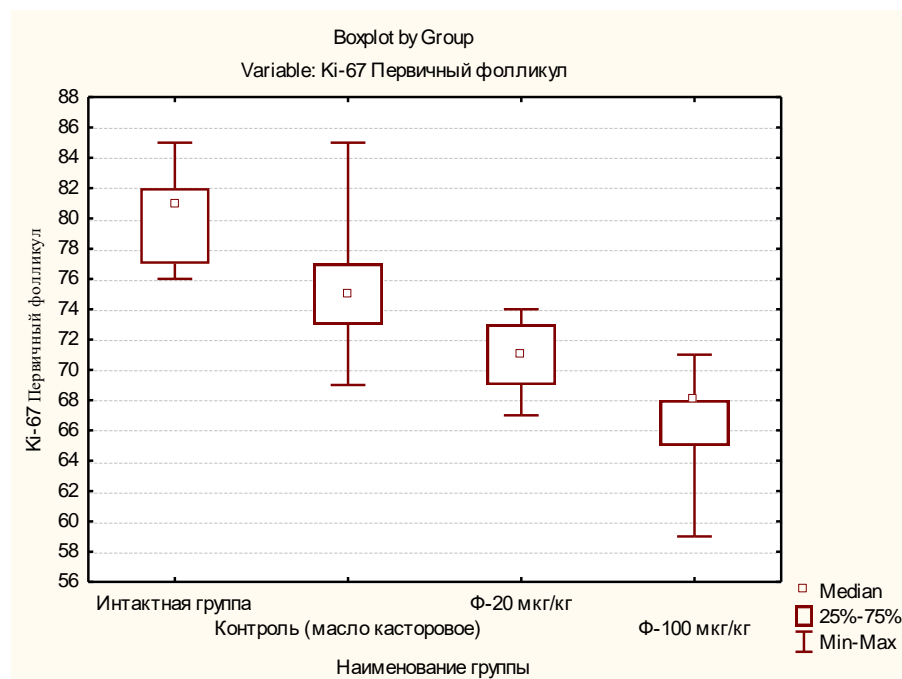


Рисунок 78 — Диаграмма (ящик с усами, box plot), отражающая количество Ki-67 иммунопозитивных клеток в первичных фолликулах яичников потомства на 90-й день в фолликулярных клетках при введении фулвестранта.

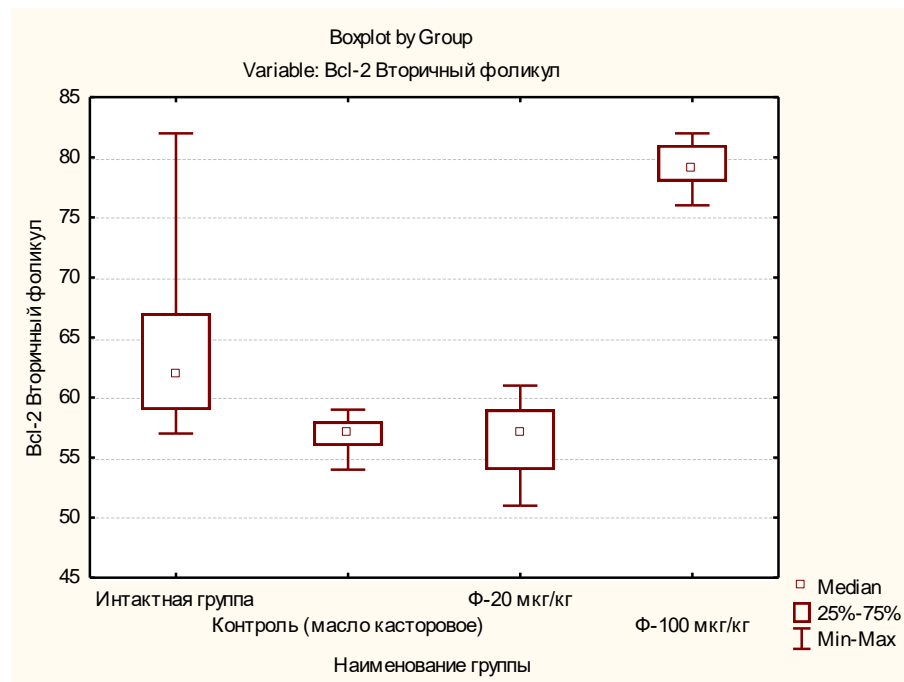


Рисунок 79 — Диаграмма (ящик с усами, box plot), отражающая количество Vcl-2 иммунопозитивных клеток во вторичных фолликулах яичников потомства на 90-й день в фолликулярных клетках при введении фулвестранта.

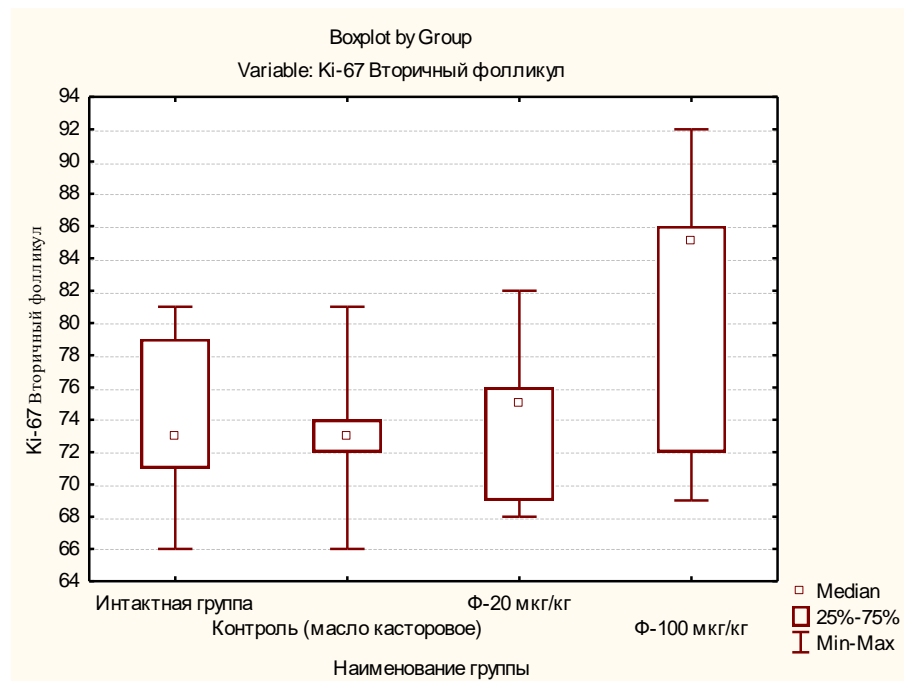


Рисунок 80 — Диаграмма (ящик с усами, box plot), отражающая количество Ki-67 иммунопозитивных клеток во вторичных фолликулах яичников потомства на 90-й день в фолликулярных клетках при введении фулвестранта.

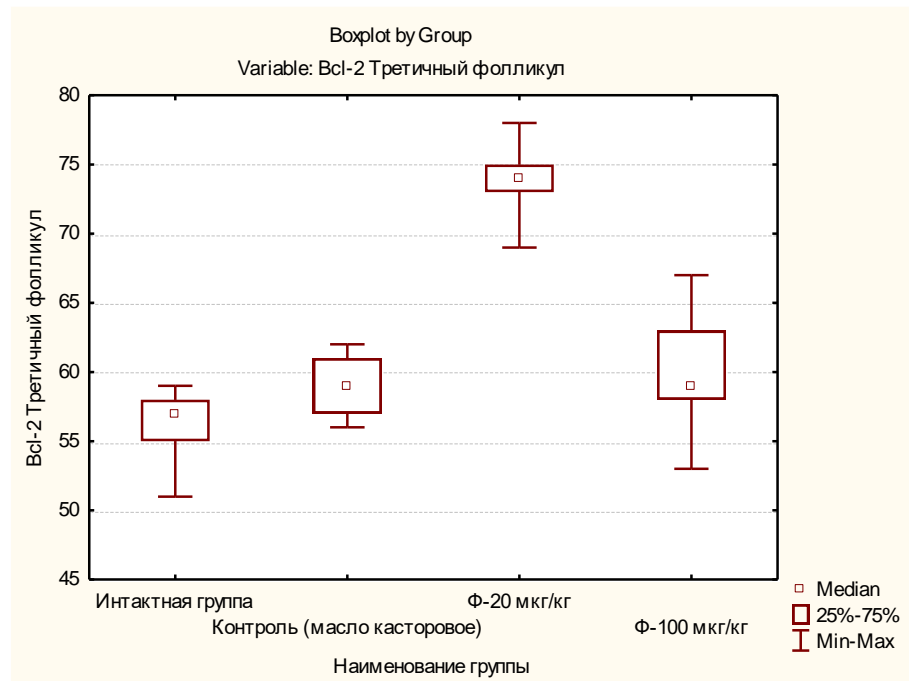


Рисунок 81 — Диаграмма (ящик с усами, box plot), отражающая количество Vcl-2 иммунопозитивных клеток в третичных фолликулах яичников потомства на 90-й день в фолликулярных клетках при введении фулвестранта.

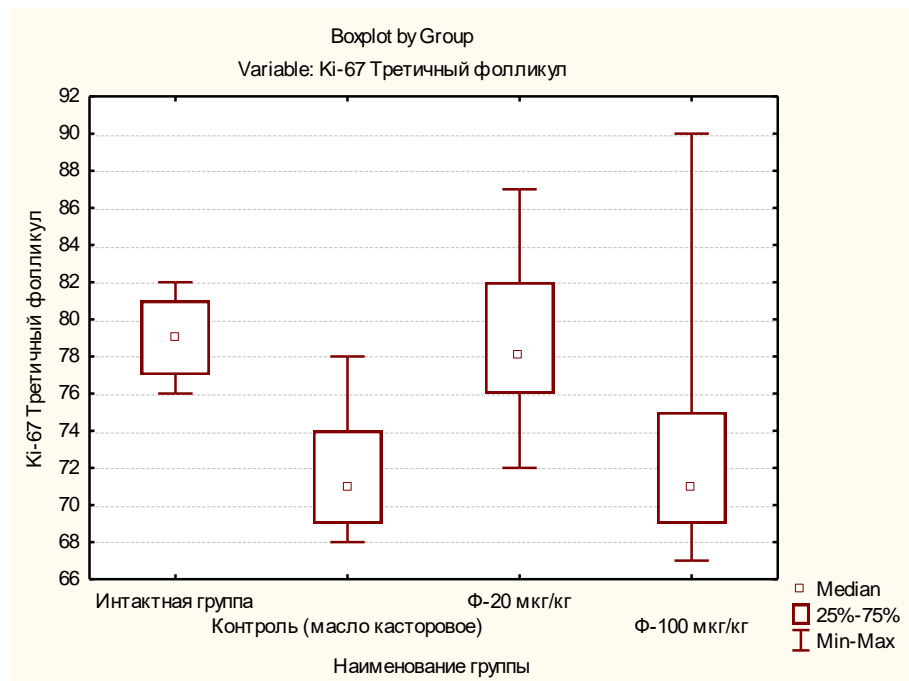


Рисунок 82 — Диаграмма (ящик с усами, box plot), отражающая количество Ki-67 иммунопозитивных клеток в третичных фолликулах яичников потомства на 90-й день в фолликулярных клетках при введении фулвестранта.

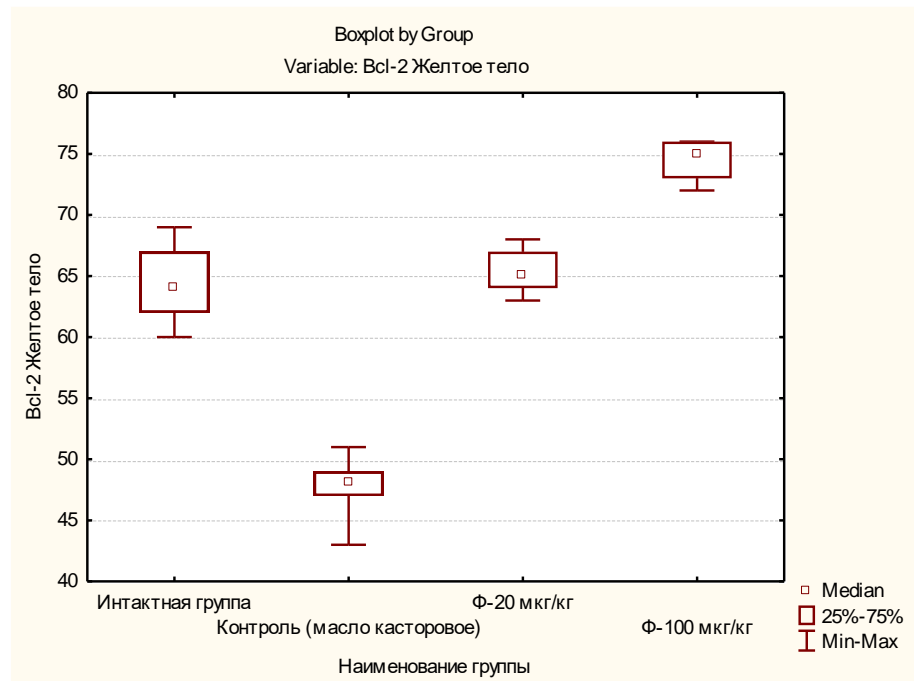


Рисунок 83 — Диаграмма (ящик с усами, box plot), отражающая количество Bcl-2 иммунопозитивных клеток в желтых телах яичников потомства на 90-й день в фолликулярных клетках при введении фулвестранта.

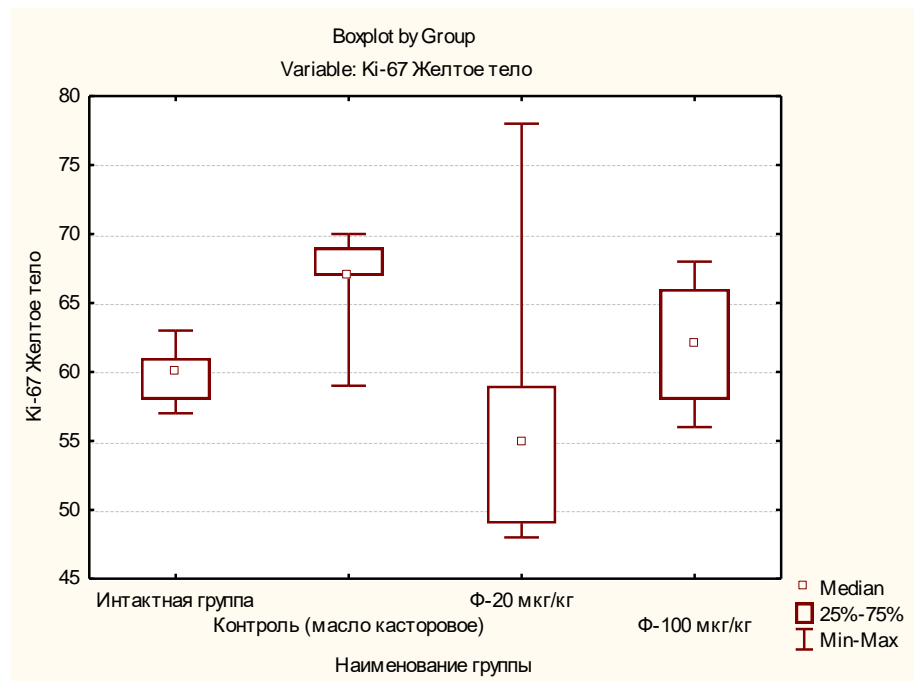


Рисунок 84 — Диаграмма (ящик с усами, box plot), отражающая количество Ki-67 иммунопозитивных клеток в желтых телах яичников потомства на 90-й день в фолликулярных клетках при введении фулвестранта.

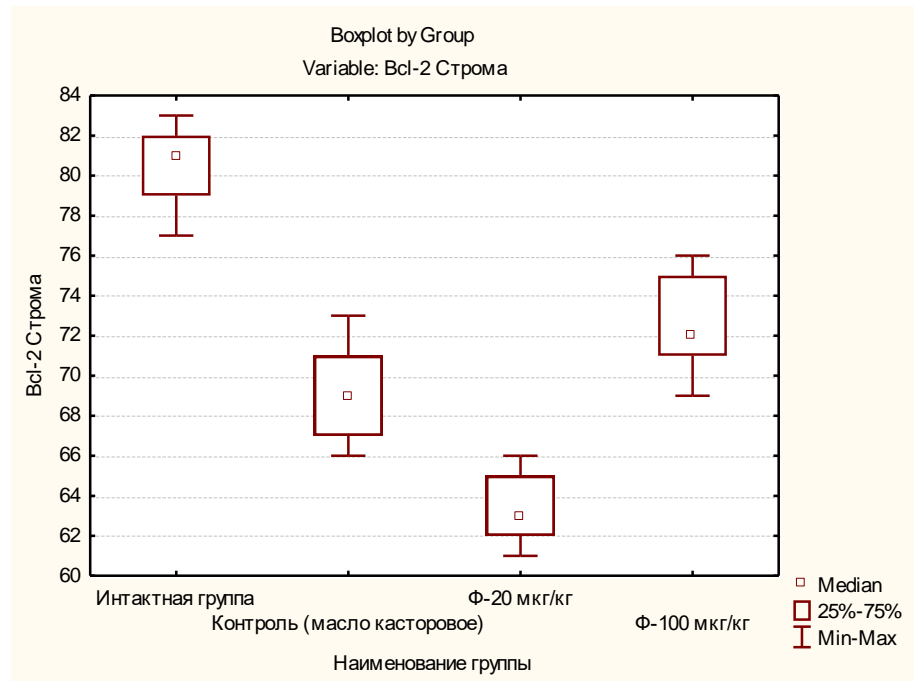


Рисунок 85 — Диаграмма (ящик с усами, box plot), отражающая количество Bcl-2 иммунопозитивных клеток в строме яичников потомства на 90-й день в фолликулярных клетках при введении фулвестранта.

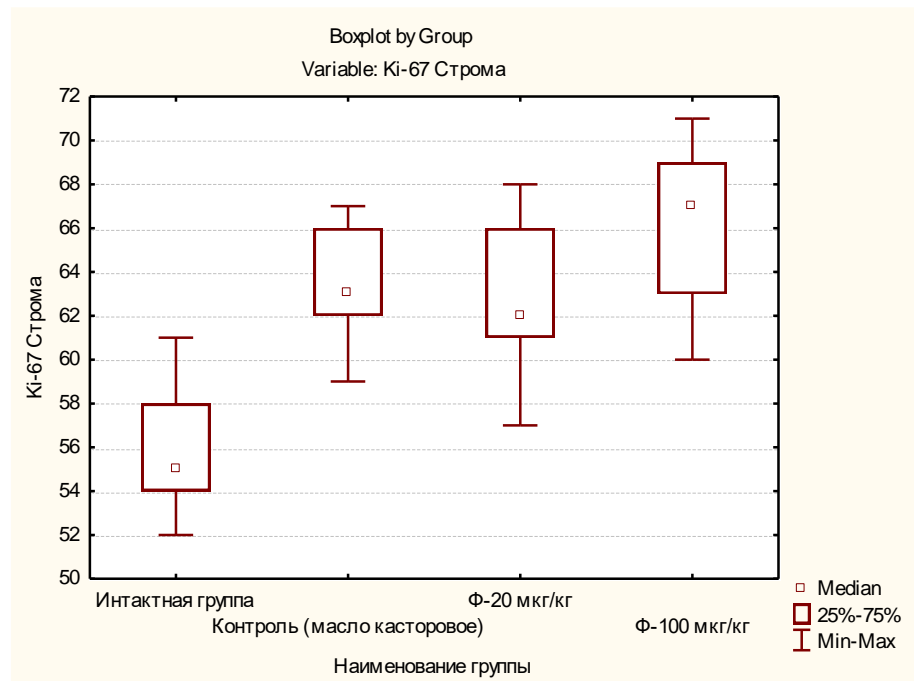


Рисунок 86 — Диаграмма (ящик с усами, box plot), отражающая количество Ki-67 иммунопозитивных клеток в строме яичников потомства на 90-й день в фолликулярных клетках при введении фулвестранта.

2.2.5.4. Исследование иммуногистохимического маркера p53

Результаты морфометрического анализа ИГХ-маркера p53 при введении доз эстрогенов представлены в таблице 33 и на рисунках 87-92.

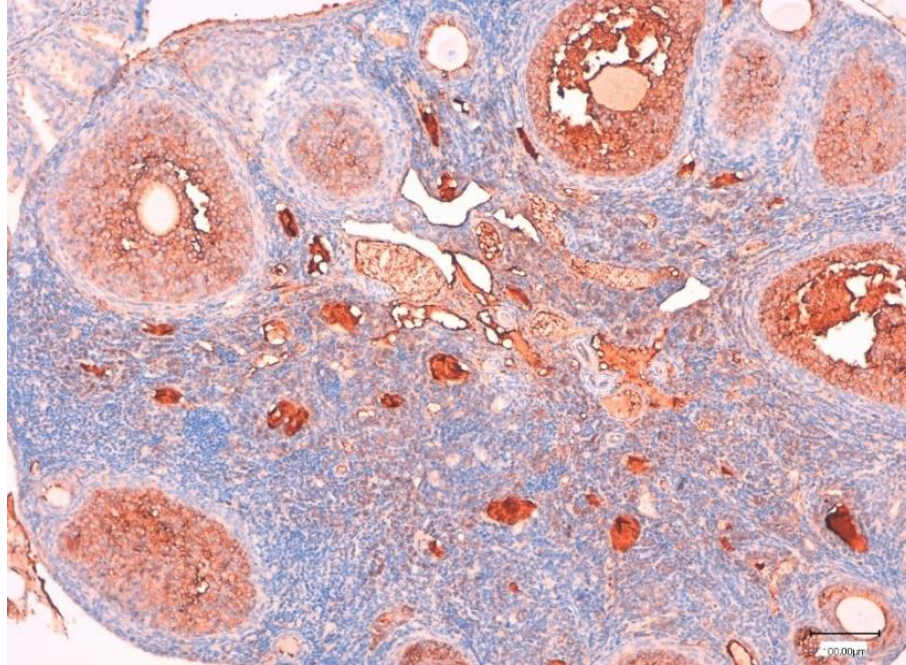


Рисунок 87 — p53⁺ маркер в яичнике потомства на 90-й день белой беспородной лабораторной мыши интактной группы. ИГХ-реакция на маркер p53. Докраска ядер гематоксилином. x100.

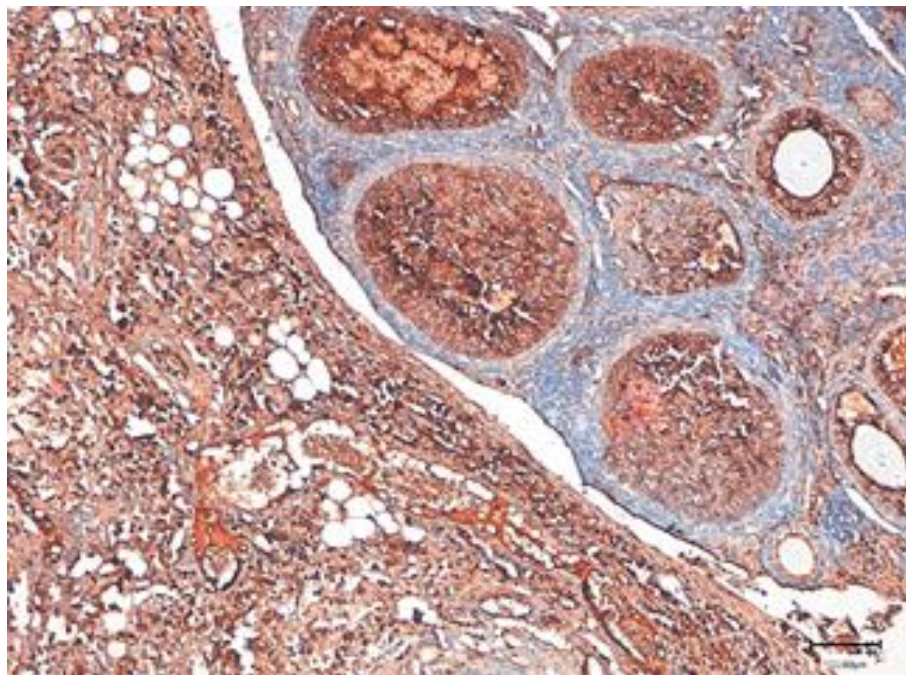


Рисунок 88 — p53⁺ маркер в яичнике потомства на 90-й день белой беспородной лабораторной мыши при воздействии синэстрола в дозе 25 мкг/кг. ИГХ-реакция на маркер p53. Докраска ядер гематоксилином. x100.

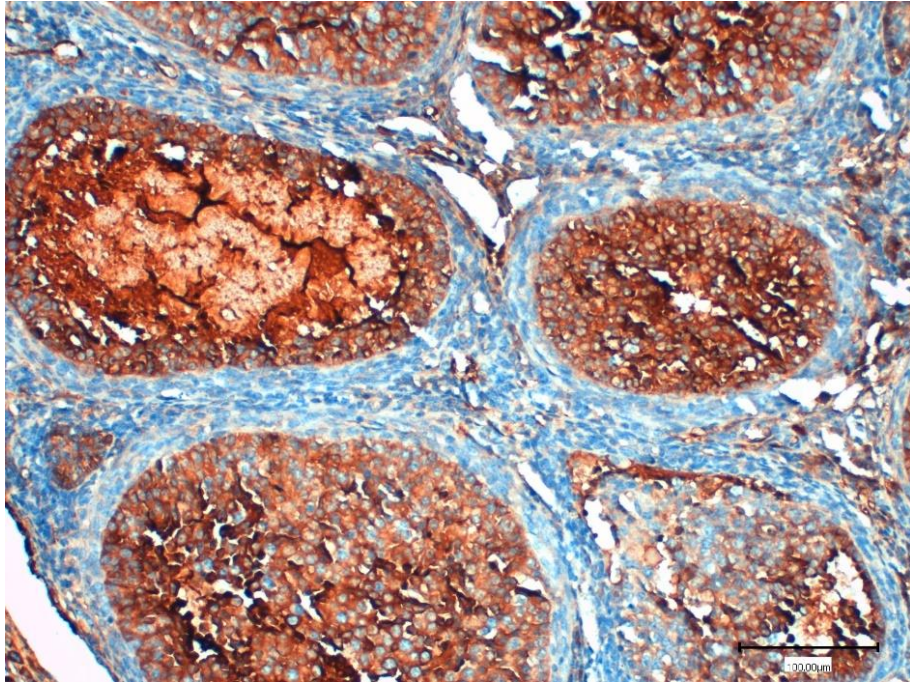


Рисунок 89 — p53⁺ маркер в яичнике потомства на 90-й день белой беспородной лабораторной мыши при воздействии синэстрола в дозе 40 мкг/кг. ИГХ-реакция на маркер p53. Докраска ядер гематоксилином. x100.

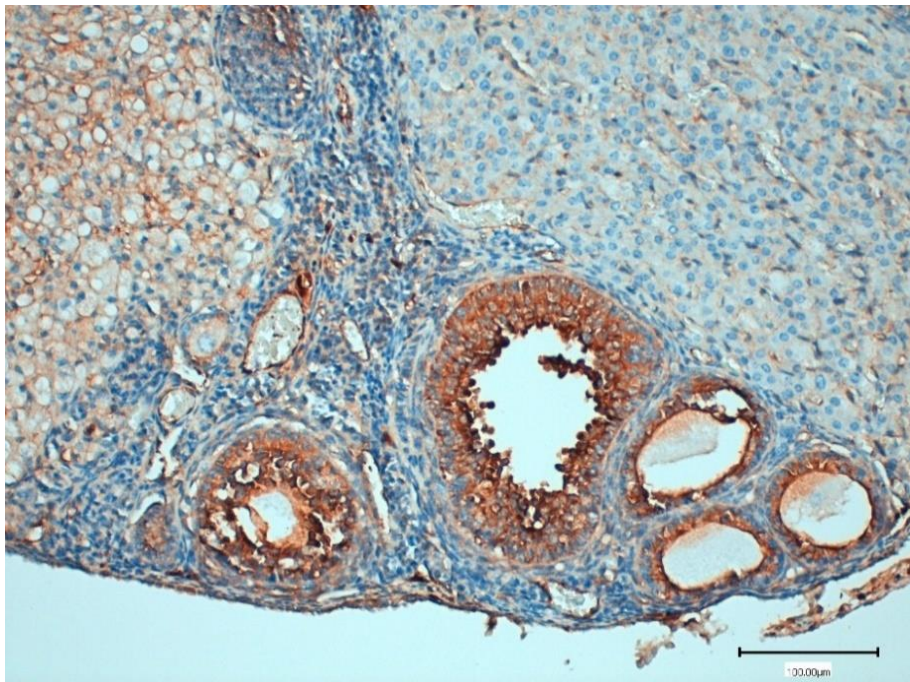


Рисунок 90 — p53⁺ маркер в яичнике потомства на 90-й день белой беспородной лабораторной мыши при воздействии синэстрола в дозе 50 мкг/кг. ИГХ-реакция на маркер p53. Докраска ядер гематоксилином. x100.

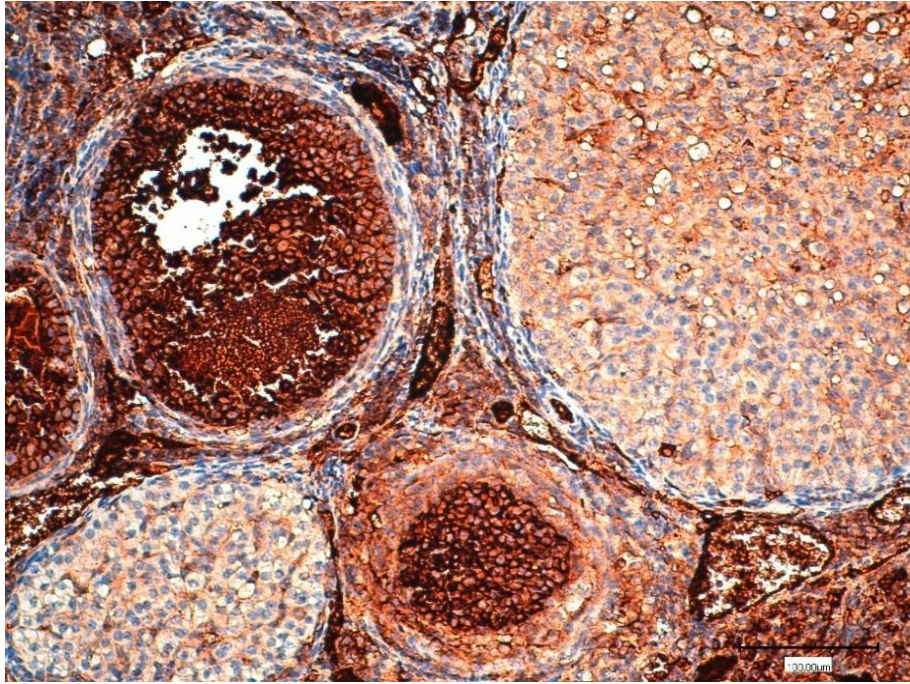


Рисунок 91 — p53⁺ маркер в яичнике потомства на 90-й день белой беспородной лабораторной мыши при воздействии фулвестранта в дозе 20 мкг/кг. ИГХ-реакция на маркер p53. Докраска ядер гематоксилином. x100.

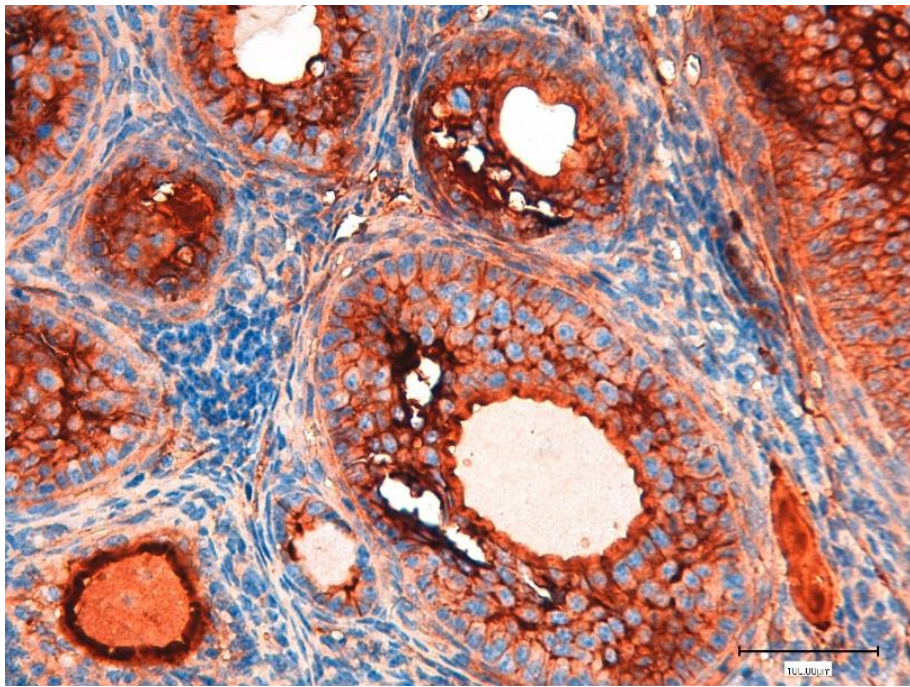


Рисунок 92 — p53⁺ маркер в яичнике потомства на 90-й день белой беспородной лабораторной мыши при воздействии фулвестранта в дозе 100 мкг/кг. ИГХ-реакция на маркер p53. Докраска ядер гематоксилином. x100.

Морфометрический анализ ИГХ-маркера p53 при введении доз эстрогенов показал, что количество позитивно окрашенных клеток в первичном фолликуле яичника по сравнению с интактной группой увеличилось в контрольной группе (МО) на 10,4 %, в группах С-25 мкг/кг на 10,0 % и С-40 мкг/кг на 4,0 %. Уменьшение количества позитивно окрашенных клеток произошло в группе С-50 мкг/кг на 12,1 %, в контрольной группе (МК) на 0,7 %, в группах Ф-20 мкг/кг на 12,1 % и Ф-100 мкг/кг на 5,4 %, по сравнению с интактной группой (рисунок 93, 98).

Сравнительный анализ с интактной группой продемонстрировал, что количество позитивно окрашенных клеток во вторичном фолликуле яичника увеличилось в группе контроля (МО) на 3,1 % и в группе Ф-20 мкг/кг на 0,3 %. По сравнению с интактной группой произошло уменьшение количества позитивно окрашенных клеток в группах С-25 мкг/кг на 3,8 %, С-40 мкг/кг на 4,4 %, С-50 мкг/кг на 0,9 %, в контрольной группе (МК) на 10,9 %, в группе Ф-100 мкг/кг на 9,4 % (рисунок 94, 99).

Морфометрический анализ ИГХ-маркера p53 при введении доз эстрогенов в результате показал, что количество позитивно окрашенных клеток в третичном фолликуле яичника по сравнению с интактной группой увеличились в контрольной группе (МО) на 5,1 %, в группах С-25 мкг/кг на 8,1 %, С-40 мкг/кг на 22,0% ($p < 0,05$), С-50 мкг/кг на 14,9 % и Ф-20 мкг/кг на 6,4 %. По сравнению с интактной группой произошло уменьшение количества позитивно окрашенных клеток в таких группах, как группа контроля (МК) на 2,0 % и группа Ф-100 мкг/кг на 3,4 % (рисунок 95, 100).

Таблица 33 — Количество р53 иммунопозитивных клеток в структурах яичников потомства на 90-й день при пренатальном введении эстрогенов, $M \pm m$

Показатели	Интактная, n = 7	Контроль (МО), n = 7	C-25 мкг/кг, n = 7	C-40 мкг/кг, n = 7	C-50 мкг/кг, n = 7	Контроль (МК), n = 7	Ф-20 мкг/кг, n = 7	Ф-100 мкг/кг, n = 7
Первичный фолликул	59,6±10,5	65,8±13,0	65,6±4,5	62,0±8,6	52,4±4,6	59,2±9,1	52,4±5,4	56,4±17,7
Вторичный фолликул	63,8±15,2	65,8±13,4	61,4±6,3	61,0±5,8	63,2±10,1	56,8±7,0	64,0±8,9	57,8±10,1
Третичный фолликул	59,0±12,2	62,0±14,3	63,8±9,1	72,0±11,9*	67,8±8,5	57,8±10,1	62,8±3,6	57,0±17,6
Желтое тело	62,4±8,3	60,0±12,9	67,8±9,7	48,2±6,8*	68,6±12,3	56,4±9,6	77,4±9,3*	53,0±17,4
Строма	57,6±19,6	64,2±15,1	62,8±7,3*	57,4±9,0	69,4±9,4	60,2±8,9	51,6±4,7	54,0±7,8

Примечание: * — в сравнении с интактной группой выявлены различия при уровне значимости $p \leq 0,05$.

В ходе морфометрического анализа ИГХ-маркера p53 при введении доз эстрогенов было установлено, что количество позитивно окрашенных клеток в желтом теле яичника уменьшились по сравнению с интактной группой в таких группах, как группа контроля (МО) на 3,8 %, С-40 мкг/кг на 22,8 % ($p \leq 0,05$), контрольная группа (МК) на 9,6 % и Ф-100 мкг/кг на 15,1 %. По сравнению с интактной группой произошло увеличение количества позитивно окрашенных клеток в группах С-25 мкг/кг на 8,7 %, С-50 мкг/кг на 9,9 % и Ф-20 мкг/кг на 24,0% ($p \leq 0,05$; рисунок 96, 101).

Результаты проведенного нами анализа показали, что количество позитивно окрашенных клеток в строме яичника по сравнению с интактной группой увеличились в таких группах, как группа контроля (МО) на 11,5 %, С-25 мкг/кг на 9,0 % ($p < 0,05$), С-50 мкг/кг на 20,5 %, контрольная группа (МК) на 4,5 %. По сравнению с интактной группой произошло уменьшение количества позитивно окрашенных клеток в группах С-40 мкг/кг на 0,3 %, Ф-20 мкг/кг на 10,4 % и Ф-100 мкг/кг на 6,3 % (рисунок 97, 102).

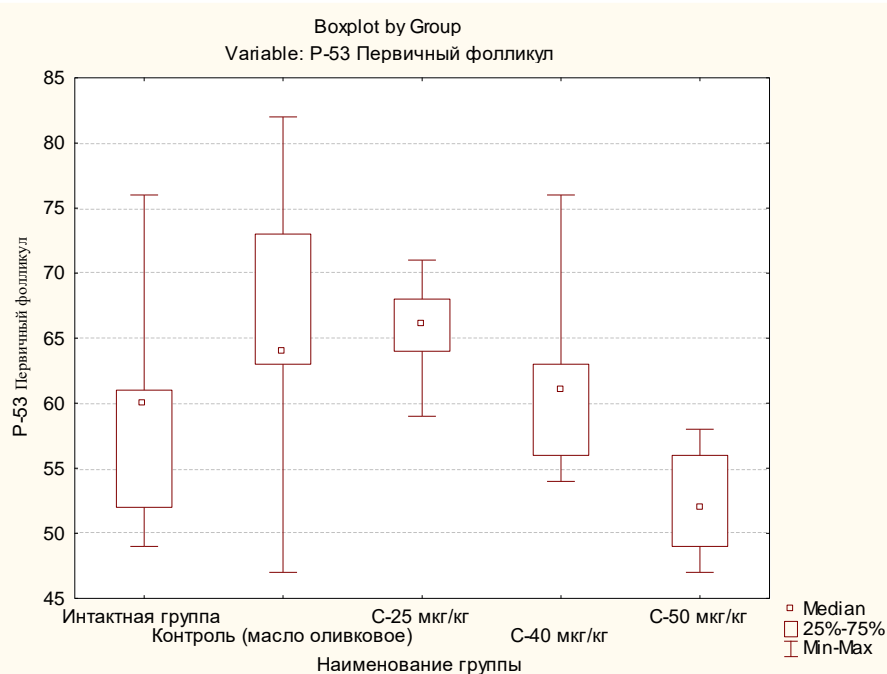


Рисунок 93 — Диаграмма (ящик с усами, box plot), отражающая количество p53 иммунопозитивных клеток в первичных фолликулах яичников потомства на 90-й день в фолликулярных клетках при введении синэстрола.

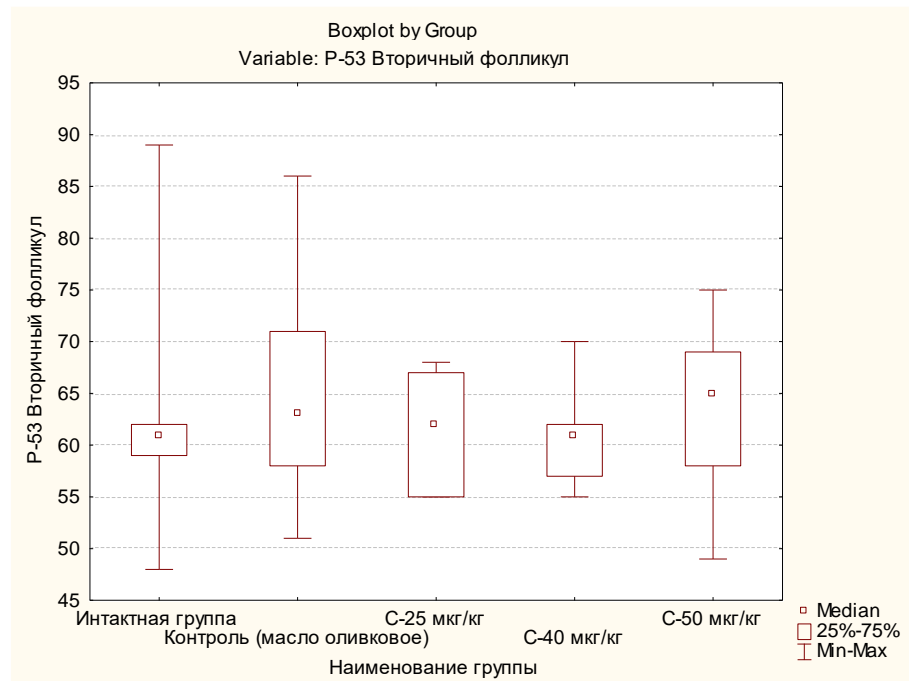


Рисунок 94 — Диаграмма (ящик с усами, box plot), отражающая количество p53 иммунопозитивных клеток во вторичных фолликулах яичников потомства на 90-й день в фолликулярных клетках при введении синэстрола.

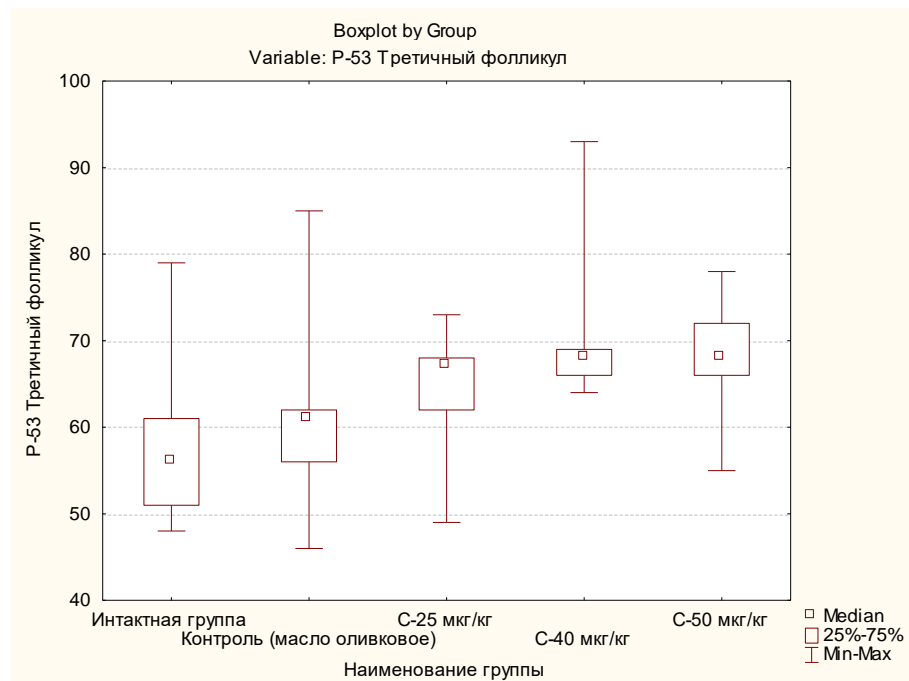


Рисунок 95 — Диаграмма (ящик с усами, box plot), отражающая количество p53 иммунопозитивных клеток в третичных фолликулах яичников потомства на 90-й день в фолликулярных клетках при введении синэстрола

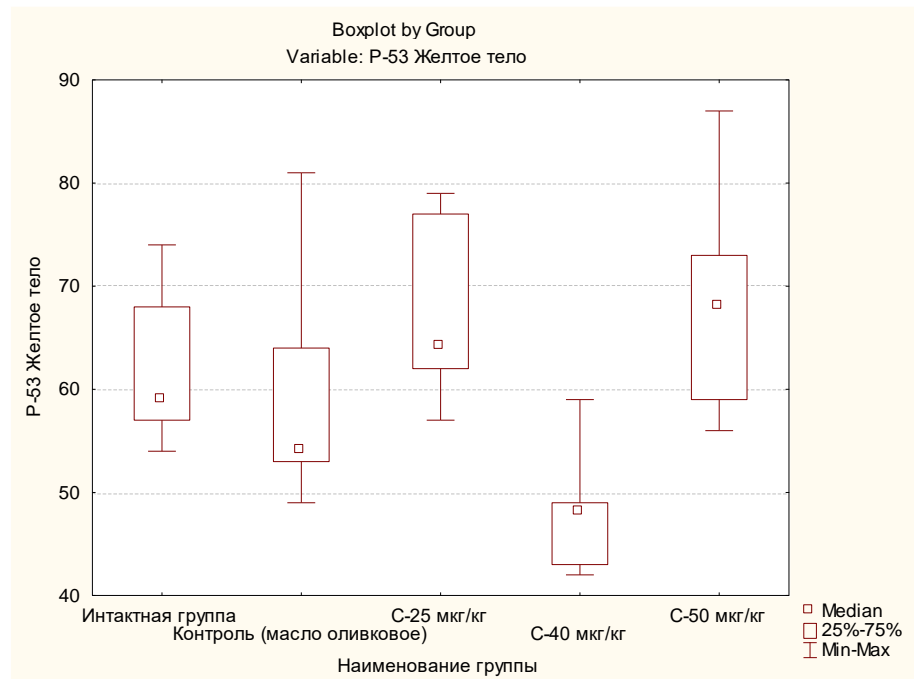


Рисунок 96 — Диаграмма (ящик с усами, box plot), отражающая количество p53 иммунопозитивных клеток в желтых телах яичников потомства на 90-й день в фолликулярных клетках при введении синэстрола.

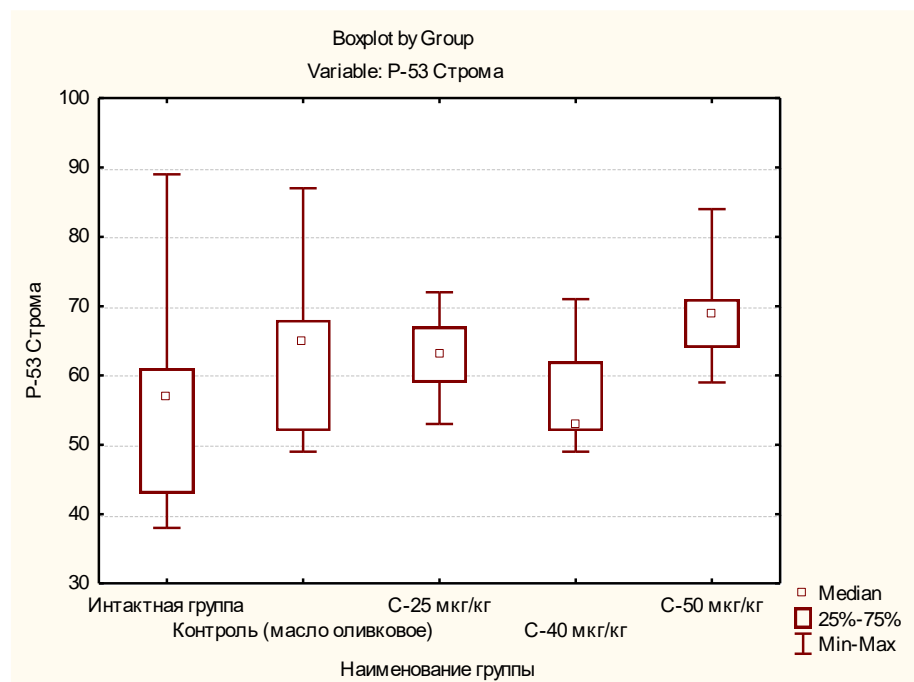


Рисунок 97 — Диаграмма (ящик с усами, box plot), отражающая количество p53 иммунопозитивных клеток в строме яичников потомства на 90-й день в фолликулярных клетках при введении синэстрола.

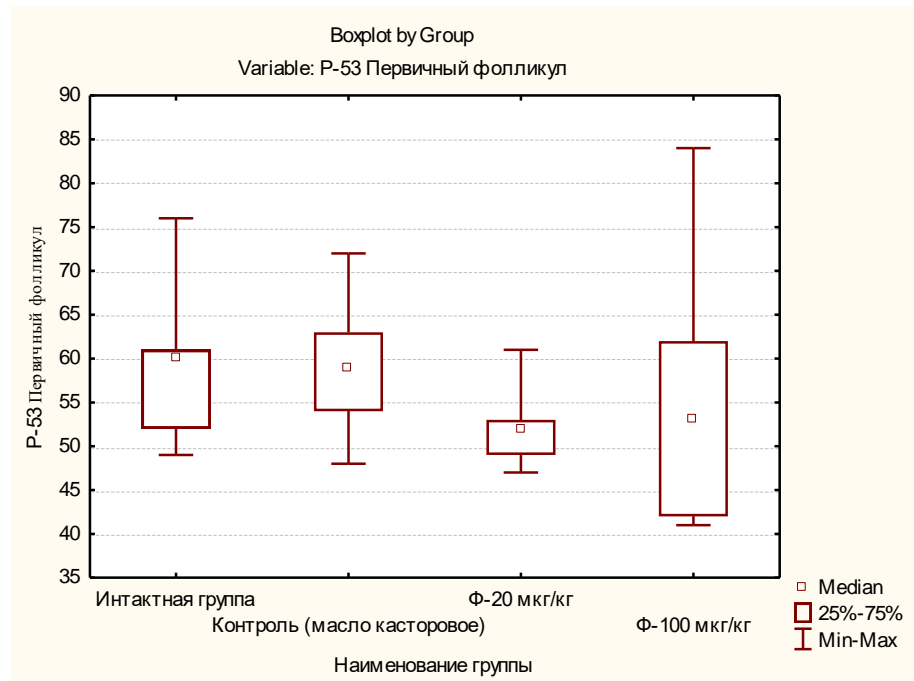


Рисунок 98 — Диаграмма (ящик с усами, box plot), отражающая количество p53 иммунопозитивных клеток в первичных фолликулах яичников потомства на 90-й день в фолликулярных клетках при введении фулвестранта.

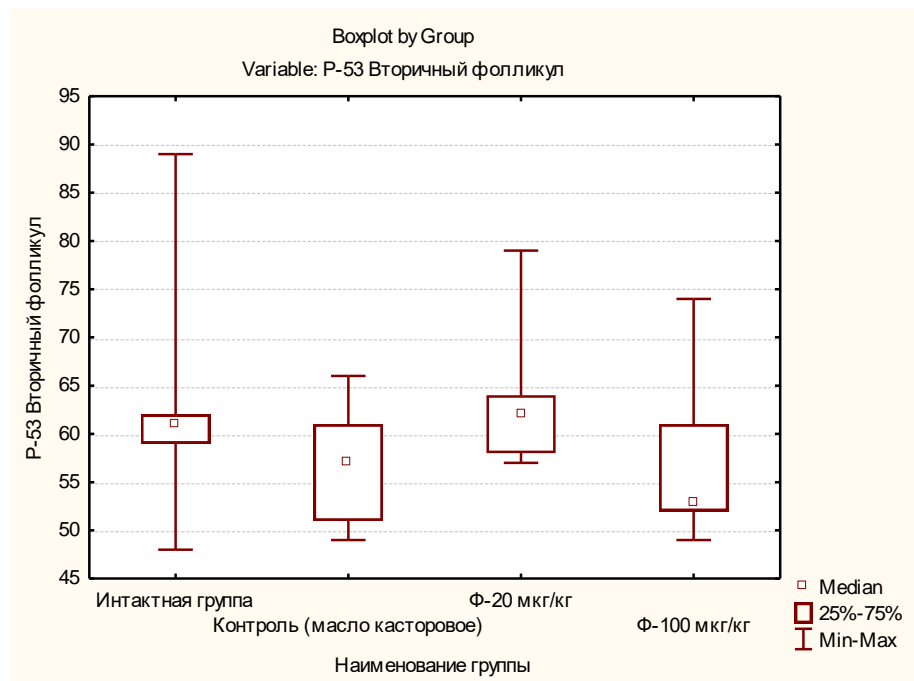


Рисунок 99 — Диаграмма (ящик с усами, box plot), отражающая количество p53 иммунопозитивных клеток во вторичных фолликулах яичников потомства на 90-й день в фолликулярных клетках при введении фулвестранта.

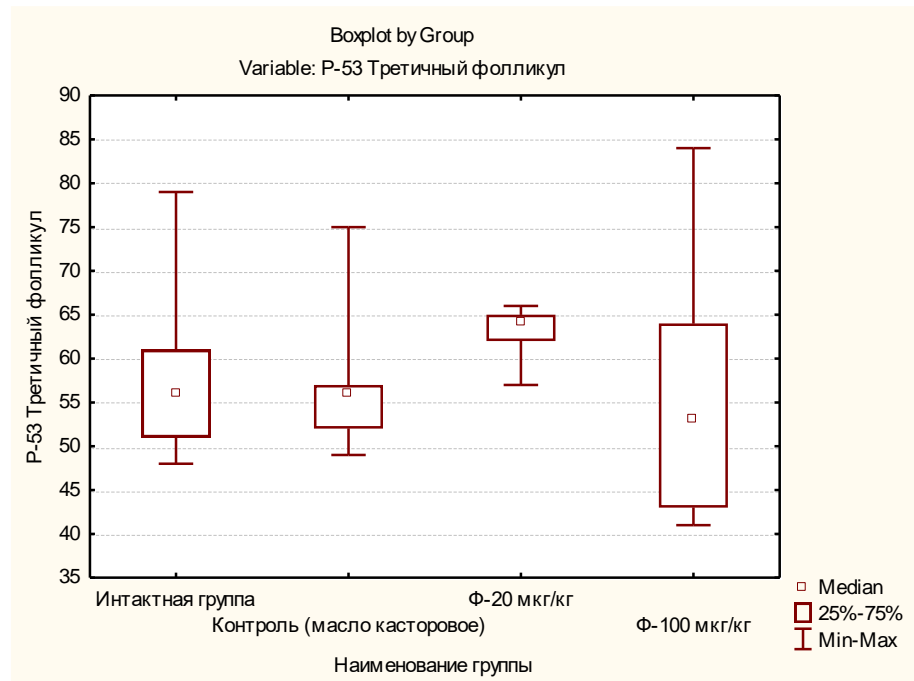


Рисунок 100 — Диаграмма (ящик с усами, box plot), отражающая количество p53 иммунопозитивных клеток в третичных фолликулах яичников потомства на 90-й день в фолликулярных клетках при введении фулвестранта.

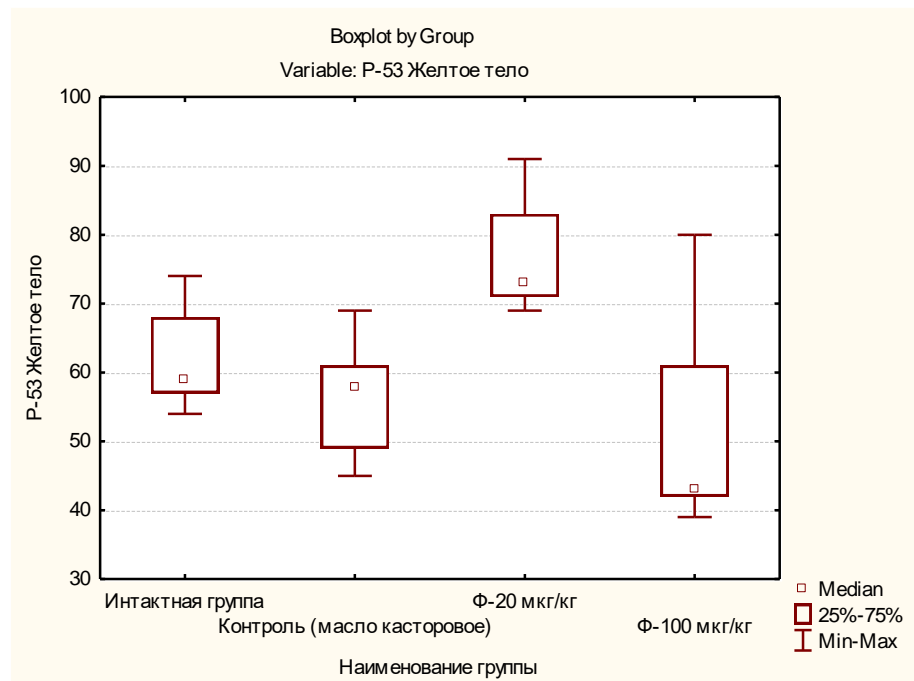


Рисунок 101 — Диаграмма (ящик с усами, box plot), отражающая количество p53 иммунопозитивных клеток в желтых телах яичников потомства на 90-й день в фолликулярных клетках при введении фулвестранта.

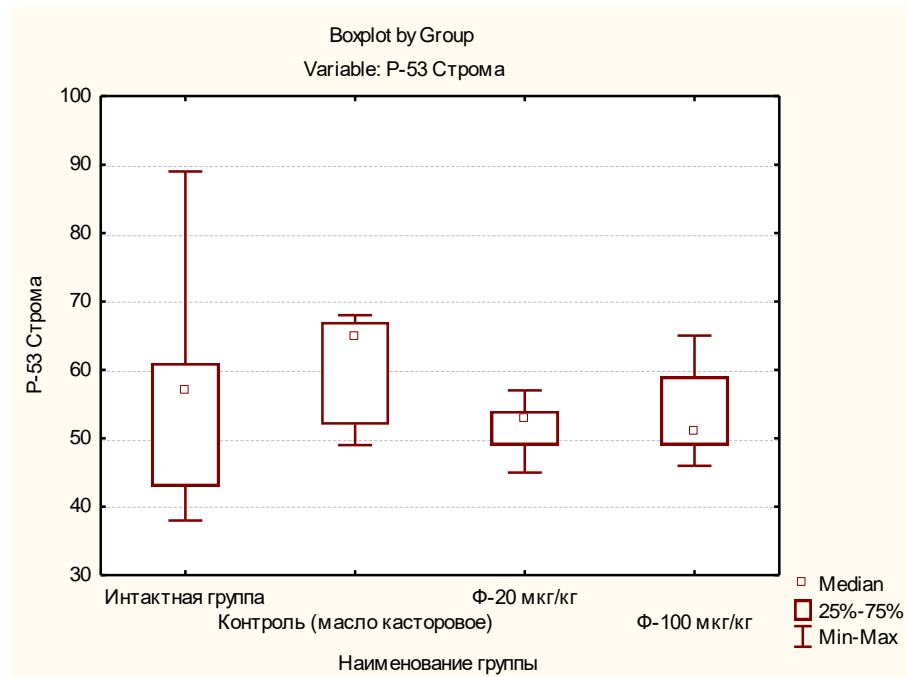


Рисунок 102 — Диаграмма (ящик с усами, box plot), отражающая количество p53 иммунопозитивных клеток в строме яичников потомства в фолликулярных клетках при введении фулвестранта.

2.2.6. МИКРОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СЕМЕННИКАХ ПОТОМСТВА БЕЛЫХ БЕСПОРОДНЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ ПРИ ПРЕНАТАЛЬНОМ ОДНОКРАТНОМ ВНУТРИМЫШЕЧНОМ ВВЕДЕНИИ СИНЭСТРОЛА

Результаты морфометрического анализа показателей извитых семенных канальцев потомства белых беспородных лабораторных мышей при пренатальном однократном внутримышечном введении синтетического препарата синэстрол представлены в таблице 34 и на рисунках 103-108.

Морфометрических анализ показателей извитых семенных канальцев потомства белых беспородных лабораторных мышей при пренатальном однократном внутримышечном введении синтетического препарата синэстрол показал (таблица 34) отсутствие значимых различий количества извитых семенных канальцев в одном поле зрения в экспериментальных группах С-25 мкг/кг и С-40 мкг/кг по сравнению с интактной группой. В показателе площади поперечного сечения извитого семенного канальца незначительное уменьшение

произошло только в группе С-25 мкг/кг по сравнению с интактной группой. Показатель диаметра извитых семенных канальцев в экспериментальных группах С-25 мкг/кг и С-40 мкг/кг незначительно уменьшился, но значимых различий не показал по сравнению с интактной группой.

Таблица 34 — Морфометрические показатели извитых семенных канальцев потомства белых беспородных лабораторных мышей при пренатальном однократном введении синтетического препарата синэстрол, $M \pm m$

Показатели	Интактная, n=7	С-25 мкг/кг, n=7	С-40 мкг/кг, n=7
Среднее количество извитых семенных канальцев в одном поле зрения	28,8±2,6	28,4±2,1	26,4±1,1
Средняя площадь поперечного сечения извитого семенного канальца, мкм ²	1696,20± 562,39	1515,61± 280,17	1651,23± 442,11
Средний диаметр извитых семенных канальцев, мкм	22,38±4,36	19,99±2,98	21,56±4,42
Средняя толщина сперматогенного эпителия, мкм	4,41±0,86	4,45±0,47	4,71±0,53
Среднее количество клеток sustentоцитов в эпителии извитого семенного канальца	20,8±1,9	18,4±1,1*	17,4±1,1*
Среднее количество сперматогониев в эпителии извитого семенного канальца	26,4±1,1	25,4±1,1	24,4±1,1*
Среднее количество сперматоцитов в эпителии извитого семенного канальца	32,6±2,1	31,0±1,6	30,2±1,3
Среднее количество сперматид в эпителии извитого семенного канальца	28,6±1,7	27,2±0,8	28,0±1,0
Среднее количество сперматозоидов в просвете извитого семенного канальца	196,6±5,3	175,0±3,8*	178,0±4,2*
Средняя площадь ядер интерстициальных клеток, мкм ²	6,72±1,78	5,88±1,43	4,93±1,31*

Примечание: * — в сравнении с интактной группой выявлены различия со статистической значимостью $p \leq 0,05$.

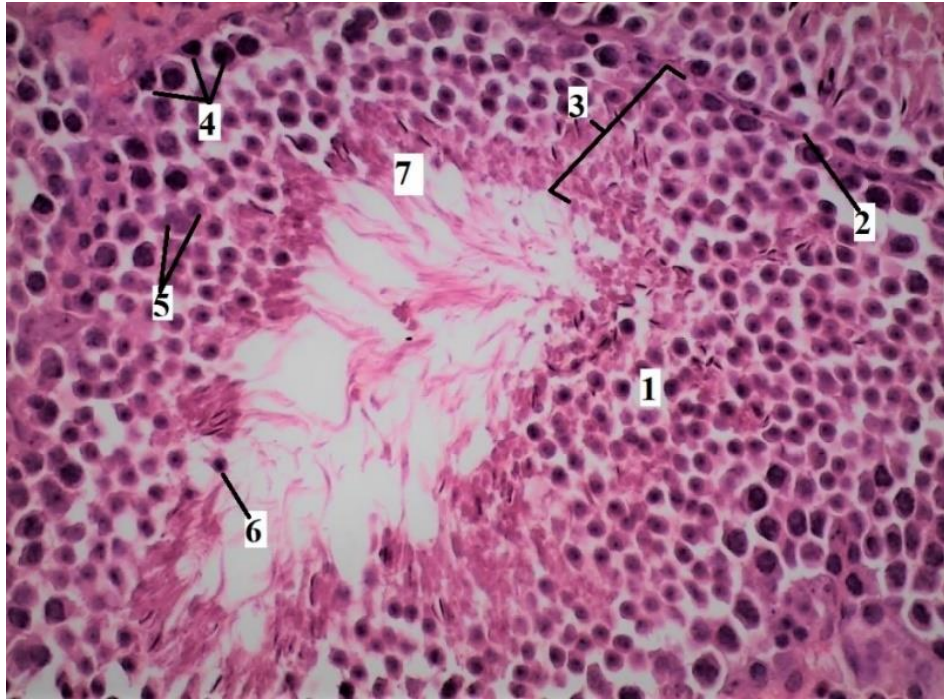


Рисунок 103 — Семенник потомства на 90-й день белой беспородной лабораторной мыши интактной группы: 1 — извитой семенной каналец; 2 — базальная мембрана; 3 — сперматогенный эпителий; 4 — сперматогонии; 5 — сперматоциты; 6 — сперматиды; 7 — сперматозоиды. Окраска гематоксилином и эозином. x400.

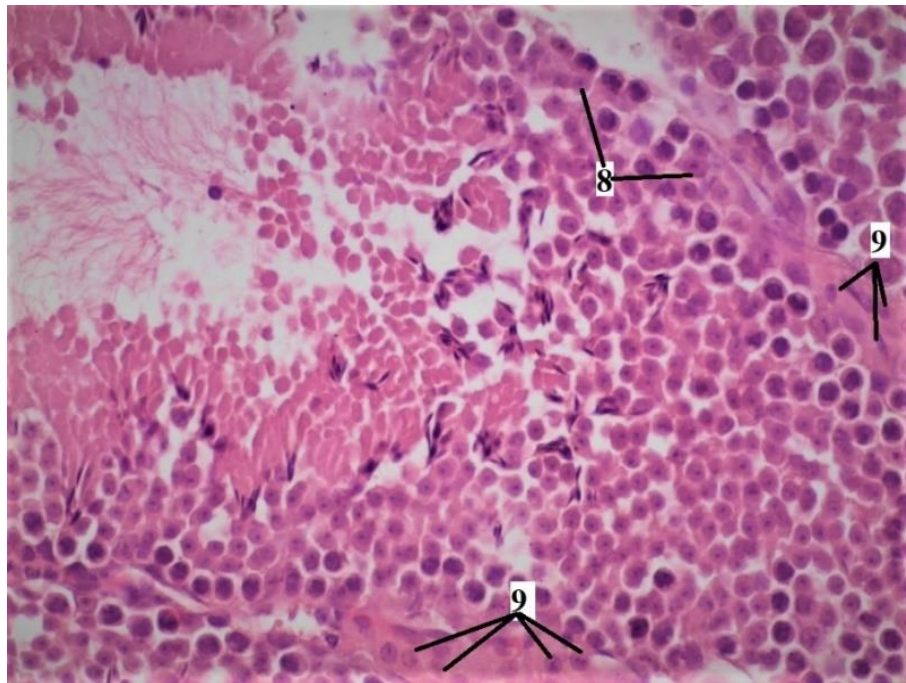


Рисунок 104 — Семенник потомства на 90-й день белой беспородной лабораторной мыши интактной группы: 8 — sustentоциты; 9 — интерстициальные клетки. Окраска гематоксилином и эозином. x400.

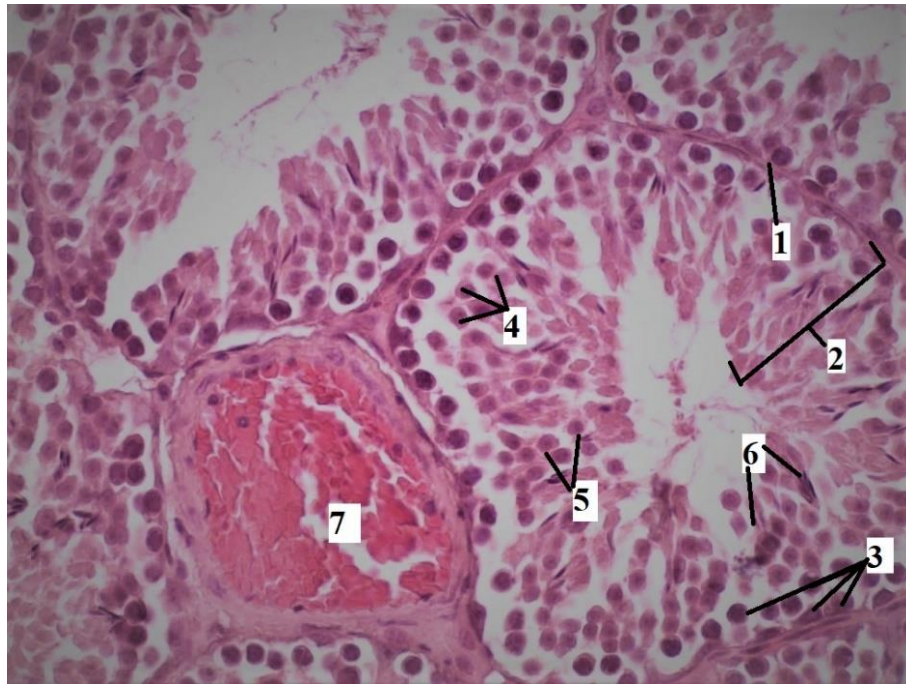


Рисунок 105 — Семенник потомства на 90-й день белой беспородной лабораторной мыши экспериментальной группы С-25 мкг/кг: 1 — базальная мембрана; 2 — сперматогенный эпителий; 3 — сперматогонии; 4 — сперматоциты; 5 — сперматиды; 6 — сперматозоиды; 7 — кровеносные сосуды. Окраска гематоксилином и эозином. x400.

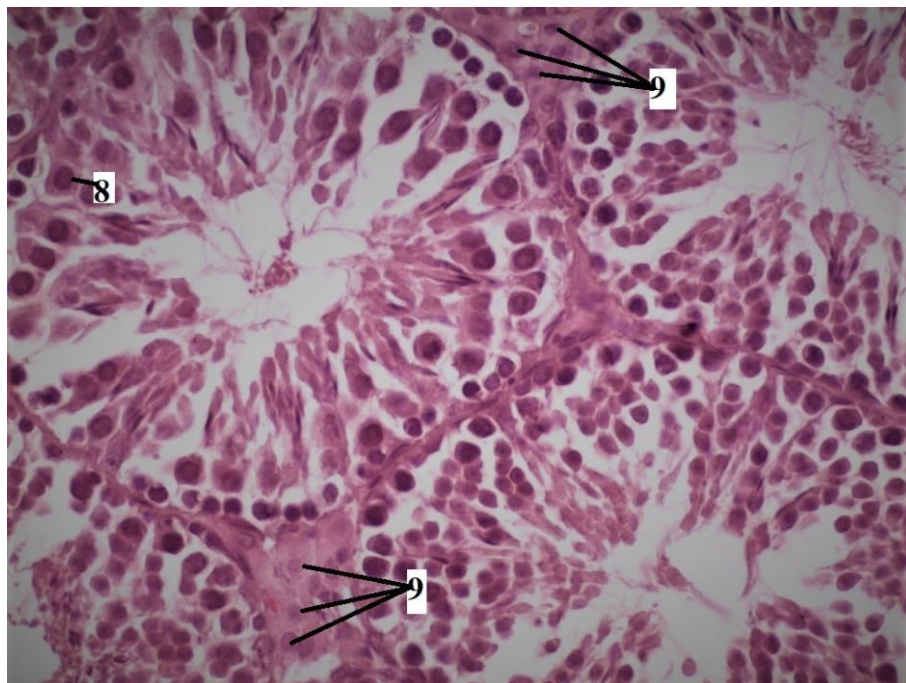


Рисунок 106 — Семенник потомства на 90-й день белой беспородной лабораторной мыши экспериментальной группы С-25 мкг/кг: 8 — sustentоциты; 9 — интерстициальные клетки. Окраска гематоксилином и эозином. x400,

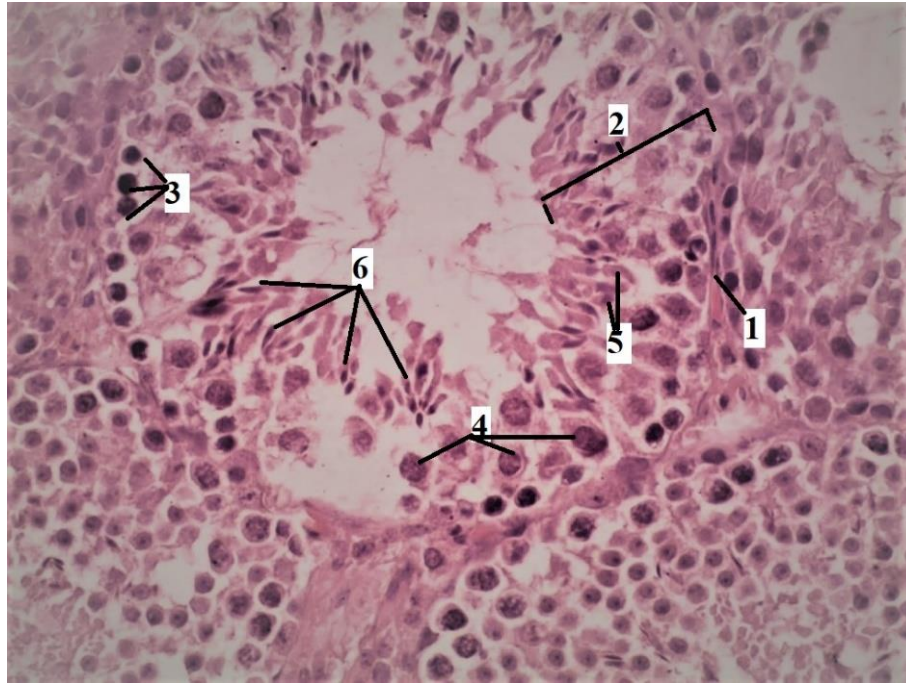


Рисунок 107 — Семенник потомства на 90-й день белой беспородной лабораторной мыши экспериментальной группы С-40 мкг/кг: 1 — базальная мембрана; 2 — сперматогенный эпителий; 3 — сперматогонии; 4 — сперматоциты; 5 — сперматиды; 6 — сперматозоиды. Окраска гематоксилином и эозином. х400.

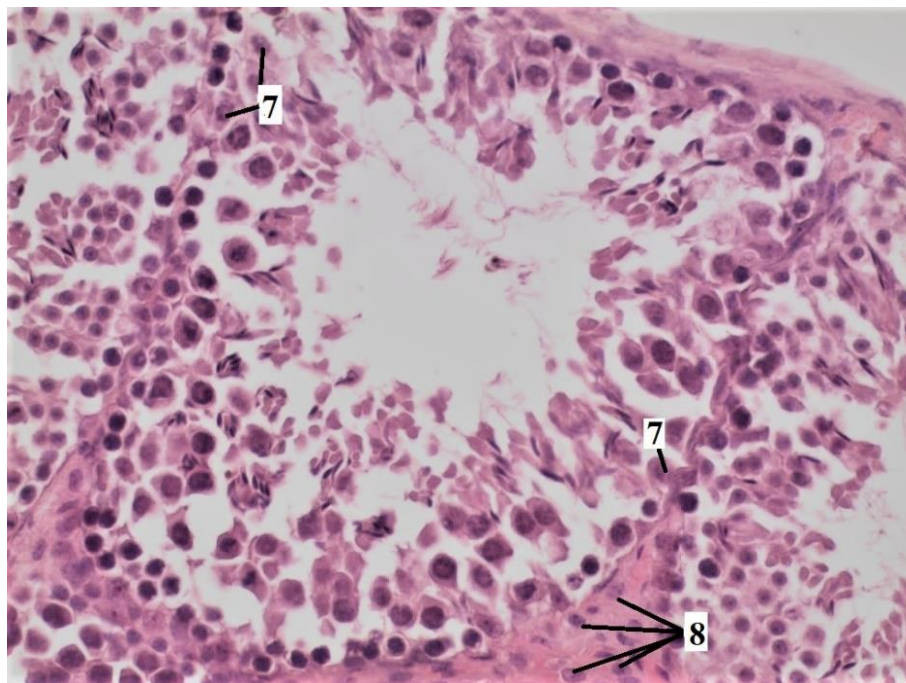


Рисунок 108 — Семенник потомства на 90-й день белой беспородной лабораторной мыши экспериментальной группы С-40 мкг/кг: 7 — sustentocytes; 8 — интерстициальные клетки. Окраска гематоксилином и эозином. х400.

Показатель толщины сперматогенного эпителия незначительно увеличился в экспериментальных группах С-25 мкг/кг и С-40 мкг/кг. Сравнительный анализ с интактной группой показал, что в экспериментальных группах С-25 мкг/кг и С-40 мкг/кг произошло статистически значимое уменьшение количества sustentocytov в эпителии извитого семенного канальца на 11,3 % ($p \leq 0,05$) и 16,3% ($p \leq 0,05$), соответственно (рисунок 109).

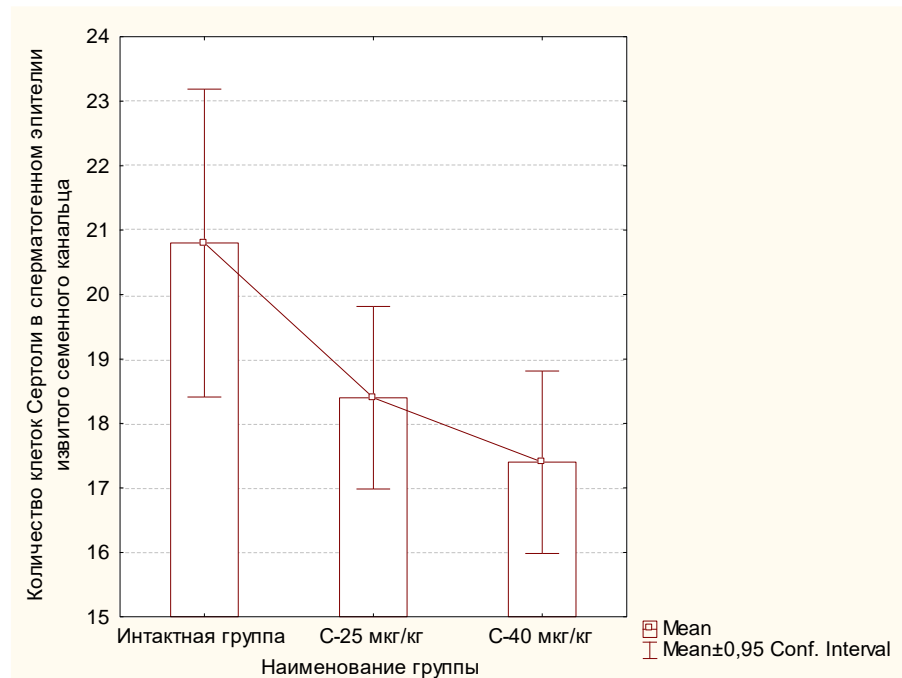


Рисунок 109 — Гистограмма количества sustentocytov в эпителии извитого семенного канальца потомства на 90-й день белых беспородных лабораторных мышей при пренатальном введении синэстрола.

Значимое уменьшение количества сперматогониев в эпителии извитого семенного канальца произошло в экспериментальной группе С-40 мкг/кг на 7,6 % ($p \leq 0,05$) по сравнению с интактной группой. Показатель количества сперматоцитов в эпителии извитого семенного канальца незначительно уменьшился в экспериментальных группах С-25 мкг/кг и С-40 мкг/кг, но значимых различий не показал по сравнению с группой интакта. В показателе количества сперматид в эпителии извитого семенного канальца значимых различий не отмечено. Сравнительный анализ с интактной группой показал, что в экспериментальных группах С-25 мкг/кг и С-40 мкг/кг произошло статистически

значимое уменьшение количества сперматозоидов в просвете извитого семенного канальца на 10,9 % ($p \leq 0,05$) и 9,5 % ($p \leq 0,05$), соответственно (рисунок 110). Уменьшение площади ядер интерстициальных клеток наблюдалось в обеих экспериментальных группах С-25 мкг/кг и С-40 мкг/кг по сравнению с группой интакта на 12,5 % и 26,6 % ($p \leq 0,05$), соответственно.

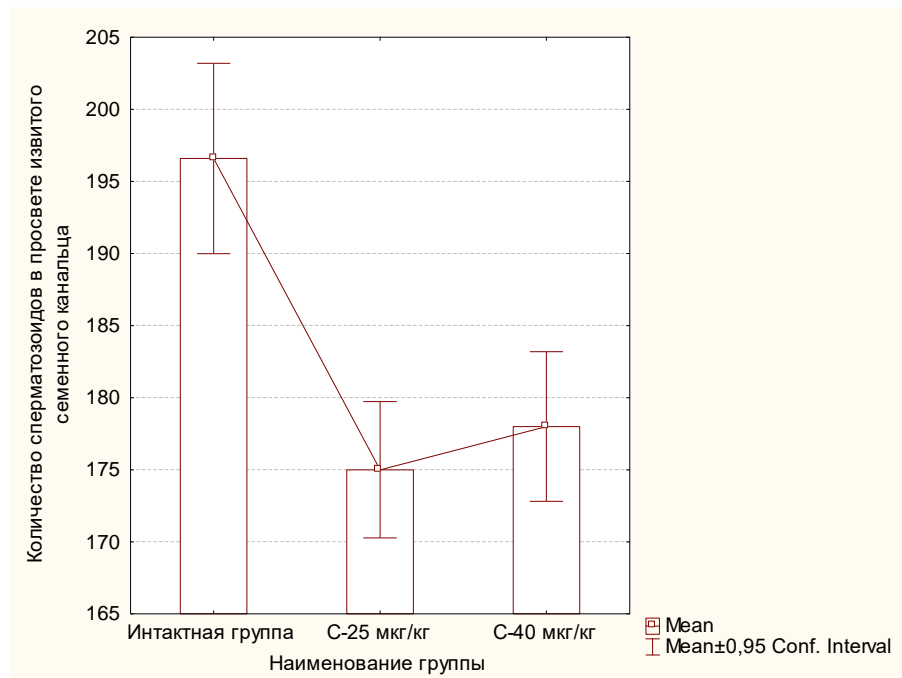


Рисунок 110 — Гистограмма количества сперматозоидов в просвете извитого семенного канальца потомства на 90-й день белых беспородных лабораторных мышей при пренатальном введении синэстрола.

Генеративная функция семенников потомства лабораторных мышей оценивалась по усредненным параметрам площади поперечного сечения и диаметра больших и малых извитых семенных канальцев, толщины сперматогенного эпителия, площади ядер интерстициальных клеток.

При гистологической оценке среза семенников интактной группы, окрашенного гематоксилином и эозином, морфофункциональных изменений не выявлено: семенник типичного дольчатого строения, состоит из многочисленных извитых семенных канальцев, средний диаметр которых составил $22,38 \pm 4,36$ мкм. Пространство между канальцами заполняет интерстиций, представленный прослойками рыхлой волокнистой соединительной ткани, сосудами и интерстициальными клетками. Средняя площадь ядер интерстициальных клеток

соответствует значениям $6,72 \pm 1,78$ мкм², а средняя площадь извитых семенных канальцев составляет $1696,20 \pm 562,39$ мкм².

Стенки канальцев выстланы с внутренней стороны сперматогенным эпителием, с внешней — собственной оболочкой. Сперматогенный эпителий расположен на базальной мембране и включает два типа клеток: sustentоциты и сперматогенные клетки на разных стадиях созревания (сперматогонии, сперматоциты, сперматиды, сперматозоиды). Собственная оболочка представлена сетью коллагеновых волокон, образующих базальный слой, и одним слоем миоидных клеток, составляющих миоидный слой (Кузнецов С. Л., Мушкамбаров Н. Н., 2016).

При изучении среза семенника экспериментальной группы С-25 мкг/кг было произведено измерение средней площади извитых семенных канальцев, поскольку, по утверждениям рядов авторов, данный показатель представляет собой достоверный критерий, отражающий структурно-функциональное состояние семенников и активность сперматогенеза (Саяпина И. Ю., 2013; Сизоненко М. Л., 2012; Cora M. C., Kooistra L., Travlos G., 2015). На основании полученных данных установлено уменьшение значений данного параметра у потомства экспериментальной группы С-25 мкг/кг ($1515,61 \pm 280,17$ в мкм²) в сравнении с потомством интактных мышей ($1696,20 \pm 562,39$ мкм²), что указывает на снижение продукции половых клеток в просвете канальца, в том числе угнетение сперматогенеза (Creasy D. M., 2001) (таблица 31).

Для оценки генеративной функции потомства лабораторных мышей использовали определение средней площади ядер интерстициальных клеток. Критерием послужило их общее эндокринное и паракринное действие на регуляцию интенсивности процессов сперматогенеза (Демяшкин Г. А., Амиров Н. Ш., 2009, Дуденкова Н. А., 2014). В ходе наших исследований было выявлено уменьшение данного значения ($5,8 \pm 1,43$ мкм²) у потомства экспериментальных мышей в сравнении с таковыми у потомства интактных особей ($6,72 \pm 1,78$ мкм²).

При гистологической оценке среза семенника, окрашенного гематоксилином и эозином, потомства экспериментальной группы С-25 мкг/кг

различаются видимые морфофункциональные изменения в структуре яичка: наблюдается видимое эстроген-опосредованное расширение кровеносных сосудов в интерстиции яичника, значения средней толщины сперматогенного эпителия в сравнении с этими же параметрами у потомства интактных особей больше, а значения среднего диаметра извитых канальцев в противовес меньше (таблица 31).

Одним из распространенных методов лечения олигоспермии является применение антиэстрогенов, так как они встраиваются в отрицательную обратную связь половых стероидов на уровне гипоталамуса и гипофиза, повышая эндогенную секрецию гонадотропин-рилизинг-гормона гипоталамусом и, соответственно, фолликулостимулирующего (ФСГ) и лютеинизирующего (ЛГ) гормонов гипофизом (Chehab M., Madala A., Trussell J. C., 2015). В свою очередь, ФСГ и ЛГ стимулируют интерстициальные клетки в семенниках, что ведет к повышению местной продукции тестостерона; таким образом, происходит стимуляция сперматогенеза с возможным улучшением фертильности.

Широкое распространение терапия антиэстрогенами за рубежом получила в начале двухтысячных годов. Так, S. S. Patankar с соавт. (2007) исследовали влияние кломифена цитрата на концентрацию сперматозоидов у мужчин в бесплодных парах с выраженной и умеренной олигозооспермией. Исследователи получили статистически значимые данные в обеих группах пациентов и сделали вывод, что эффекты кломифена цитрата проявляются в улучшении количества сперматозоидов, подвижности сперматозоидов и в определенной степени их морфологии (Patankar S. S., Kaore S. B., Sawane M. V. et al., 2007).

При сравнительном анализе семенников потомства экспериментальной группы С-40 мкг/кг с семенниками потомства интактной группы различимы патоморфологические изменения в структуре паренхимы: наблюдается запустевание некоторых извитых семенных канальцев с уменьшением значений средней площади, средний диаметр канальцев существенно не меняется, увеличивается средняя толщина сперматогенного эпителия, а также полость интерстиция, средняя площадь ядер интерстициальных клеток в противовес уменьшается ($4,93 \pm 1,31$ мкм²; таблица 31), миоидный слой не определяется, слой

фибробластоподобных клеток разрушен, все стадии сперматогенеза со структурными нарушениями и активность процесса снижена. Имеются признаки очагового клеточного некроза эпителия семенных канальцев.

Таким образом, полученные нами данные при изучении влияния пренатального однократного внутримышечного введения синэстрола на потомство лабораторных мышей углубляют и расширяют уже существующие представления о повреждающем действии данного синтетического препарата синэстрола дозе С-40 мкг/кг.

Данные литературных источников свидетельствуют о том, что эстрогены, синтезируемые семенниками, участвуют в физиологическом развитии репродуктивной системы млекопитающих. Экзогенный же эстроген провоцирует аномалии развития половых органов (Hess R. A., Cooke P. S. , 2018).

Изменения размеров извитых семенных канальцев являются важными количественными показателями, указывающими на угнетение сперматогенеза. Увеличение размеров извитых семенных канальцев является распространенным изменением со стороны мужской репродуктивной системы при различных интоксикациях (Шубина О. С., Грызлова Л. В., Киреева Ю .В., 2007, Дуденкова Н. А., 2014) (особенно ярко развивающееся при гиперандрогинемии, а также асептических воспалениях (Шепитько В. И., Стецук Е. В., 2007)). При этом авторы указывают на альтернативный характер подобных изменений и отмечают тенденцию к существенному уменьшению размеров канальцев по сравнению с нормой в дальнейшем. Аналогичные изменения мы наблюдаем у подопытных животных, когда увеличение диаметра и площади семенных извитых канальцев на начальных этапах онтогенеза сменяются их уменьшением по сравнению с интактными самцами в период половозрелости.

Уменьшение площади канальцев при действии различных экстремальных факторов на организм отмечается многими авторами, в частности при эмоционально-болевым стрессе при гипокинетическом стрессе (Tash J. S., Bracho G. E., 1994; Delbès G, Levacher C, Habert R., 2006), холодовом стрессе (Саяпина И. Ю., 2013), нарушении гемодинамики в семеннике и т. д. Подобные изменения

обычно связывают с уменьшением числа сперматогенных клеток в просвете канальца (Creasy D. M., 2001), однако увеличение диаметра канальцев при патологии, как правило, также сопровождается истончением сперматогенного пласта и уменьшением количества клеток в его составе (Саяпина И. Ю., 2013). Ряд авторов полагают, что уменьшение размеров извитых семенных канальцев обусловлено уменьшением секреции жидкой среды канальца sustentоцитами, связанным со снижением уровня тестостерона в семенниках, поскольку данный гормон участвует в регуляции секреторной активности sustentоцитов, в том числе и секреции жидкой среды канальца (Creasy D. M., 2001).

Увеличение размеров канальцев при интоксикации на фоне гиперандрогинемии (Васильева С. Г., Мхитаров В. А., Косырева А. М., Макарова О. В., 2011) происходит, напротив, благодаря усилению секреторной активности sustentоцитов вследствие стимуляции их секреторной активности тестостероном. Очевидно, процессы усиления и угнетения секреции sustentоцитов отражают развивающиеся в них неспецифические процессы адаптации и истощения внутренних резервов.

Таким образом, в анализе морфофункционального состояния семенников потомства половозрелых самцов, матерям которых во время беременности вводили синтетический аналог эстрогена синэстрол в дозе 25 мкг/кг и в дозе 40 мкг/кг отмечалась морфофункциональная перестройка стромальных компонентов исследуемых параметров коркового и мозгового вещества яичников потомства белых беспородных лабораторных мышей, которые проявляются в виде уменьшения их средних показателей. Эти изменения представляют собой достоверные критерии, отражающие патологические структурно-функциональные изменения в семенниках потомства в виде снижения продукции половых клеток в просвете канальца, а также угнетения регуляции интенсивности процессов сперматогенеза.

Выявленное на экспериментальной модели пренатальное воздействие синтетического аналога эстрогена синэстрола дает возможность использовать ее для коррекции тестикулярной дисфункции постнатального развития, а также

разработку оптимальных доз введения препаратов эстрогенового ряда во время беременности.

2.2.7. ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ СЕМЕННИКОВ ПОТОМСТВА БЕЛЫХ БЕСПОРОДНЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ ПРИ ПРЕНАТАЛЬНОМ ОДНОКРАТНОМ ВНУТРИМЫШЕЧНОМ ВВЕДЕНИИ СИНЭСТРОЛА

В ходе настоящей работы использовались ИГХ-маркеры. Это обусловлено их чувствительностью и информативностью, что позволяет количественно оценить процессы клеточной пролиферации, дифференцировки и гибели клеток на клеточном и тканевом уровнях.

Для определения особенностей и наличия патологий извитого семенного канала в исследовании рассматривали следующие молекулярно-биологические маркеры: индекс пролиферации Ki-67 — позитивные клетки, инактивацию функции белка p53, кодируемого геном-супрессором p53, ген p53 координирует основные процессы поддержания стабильности генома (p53-позитивные клетки), и антиапоптотический индекс (Bcl-2-позитивные клетки).

В ходе нашего исследования мы установили аналогичность гистологических и ИГХ-образцов яичек потомства экспериментальных групп. Было выявлено, что введение синэстрола не приводит к изменениям средней площади сперматогенного эпителия, количества клеток сперматогенного эпителия, общей площади сперматогенного эпителия, площади ядер и цитоплазмы клеток.

Результаты ИГХ-анализа маркера Bcl-2 семенников потомства лабораторных мышей при пренатальном введении синтетического препарата синэстрол представлены в таблице 35 и на рисунках 111-113.

Иммуногистохимический анализ маркера Bcl-2 при введении синтетического препарата синэстрол в дозах 25 и 40 мкг/кг показал, что количество клеток позитивно окрашенных сперматогониев в эпителии извитого

семенного канальца увеличилось на 8,6 и 9,4 % по сравнению с интактной группой.

Таблица 35 — Количество Vcl-2 иммунопозитивных клеток в структурах семенников потомства при пренатальном введении синэстрола, $M \pm m$

Показатели	Интактная, n=7	С-25 мкг/кг, n=7	С-40 мкг/кг, n=7
Клетки сперматогониев в эпителии извитого семенного канальца	25,4±1,8	27,6±1,7	27,8±1,5
Клетки сперматоцитов в эпителии извитого семенного канальца	29,2±1,3	29,6±2,1	29,4±1,1
Клетки сперматид в эпителии извитого семенного канальца	24,8±0,8	25,8±0,8	26,0±1,1
Клетки сперматозоидов в просвете извитого семенного канальца	119,4±0,5	117,8±0,9	116,9±1,9
Клетки в соединительнотканной строме между извитыми семенными канальцами	5,0±0,7	2,2±0,8*	2,0±0,7*

Примечание: * — в сравнении с интактной группой выявлены различия при уровне значимости $p \leq 0,05$.

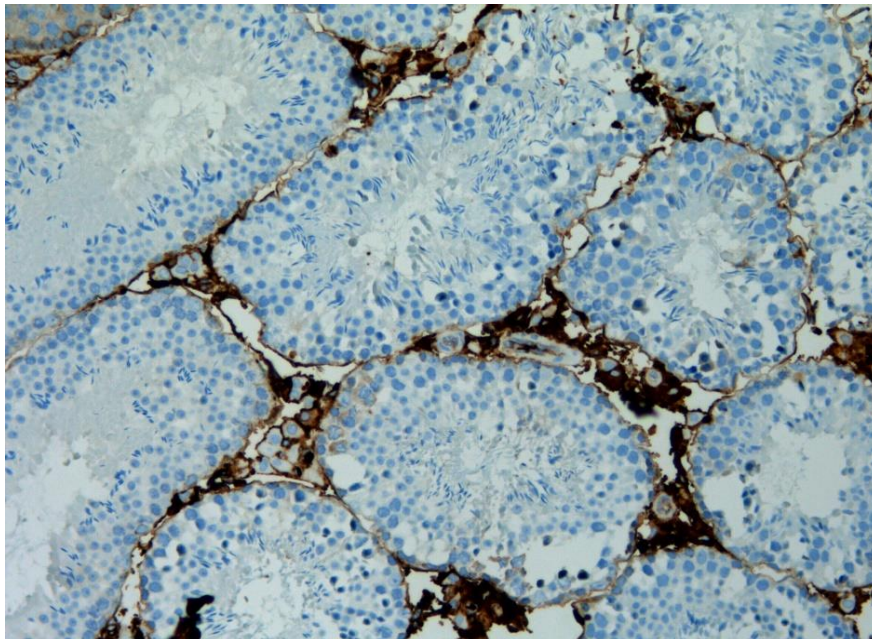


Рисунок 111 — Vcl-2⁺ маркер в семеннике потомства на 90-й день белой беспородной лабораторной мыши интактной группы. ИГХ-реакция на маркер Vcl-2. Докраска ядер гематоксилином. x100.

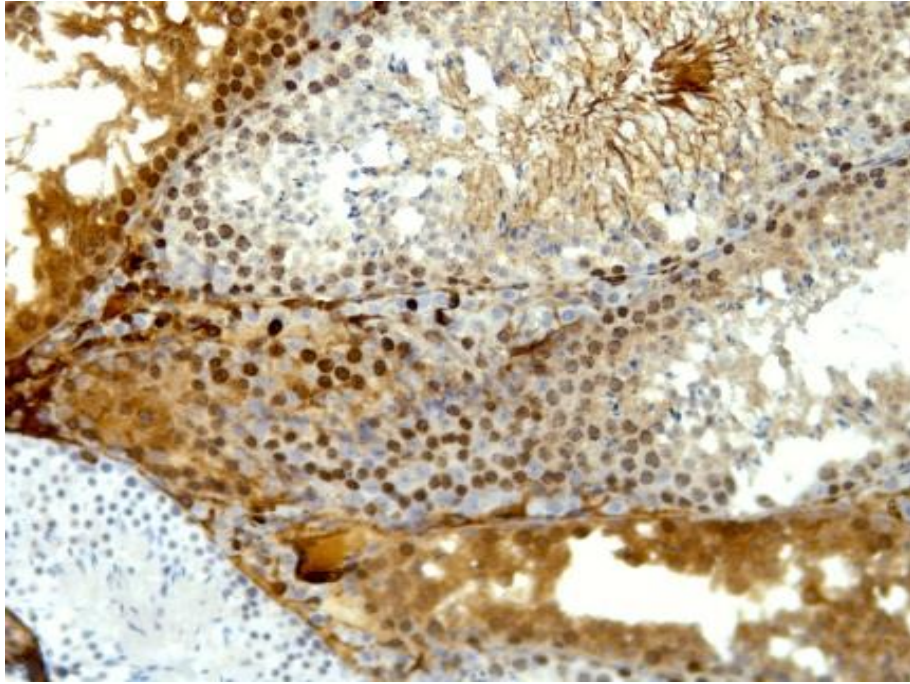


Рисунок 112 — Vcl-2⁺ маркер в семеннике потомства на 90-й день белой беспородной лабораторной мыши экспериментальной группы С-25 мкг/кг. ИГХ-реакция на маркер Vcl-2. Докраска ядер гематоксилином. x100.

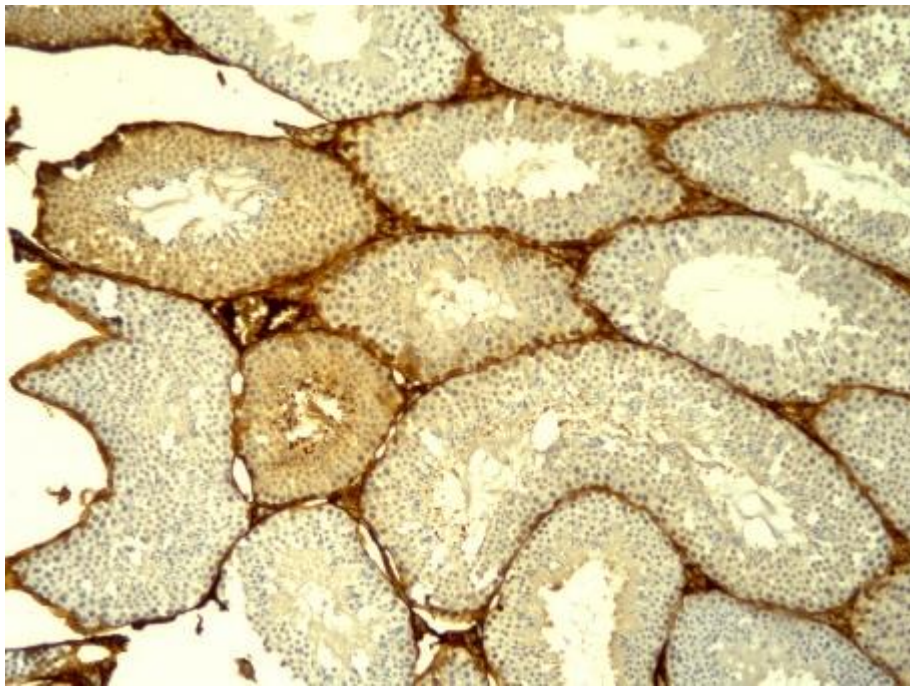


Рисунок 113 — Vcl-2⁺ маркер в семеннике потомства на 90-й день белой беспородной лабораторной мыши экспериментальной группы С-40 мкг/кг. ИГХ-реакция на маркер Vcl-2. Докраска ядер гематоксилином. x100.

Сравнительный анализ интактной группы с экспериментальными группами С-25 мкг/кг и С-40 мкг/кг в клетках сперматоцитов в эпителии извитого семенного канальца различий не выявил. Количество позитивно окрашенных

клеток сперматидов в эпителии извитого семенного канальца экспериментальных групп незначительно увеличилось по сравнению с интактной группой. Сравнительный анализ интактной группы с экспериментальными группами С-25 мкг/кг и С-40 мкг/кг по количеству сперматозоидов в просвете извитого семенного канальца различий не показал. Сравнительный анализ с интактной группой показал, что в экспериментальных группах С-25 мкг/кг и С-40 мкг/кг произошло статистически значимое уменьшение количества позитивно окрашенных интерстициальных клеток в слоях соединительной ткани между извитыми семенными канальцами на 56,0 % ($p \leq 0,05$) и 60,0 % ($p \leq 0,05$), соответственно (рисунок 114).

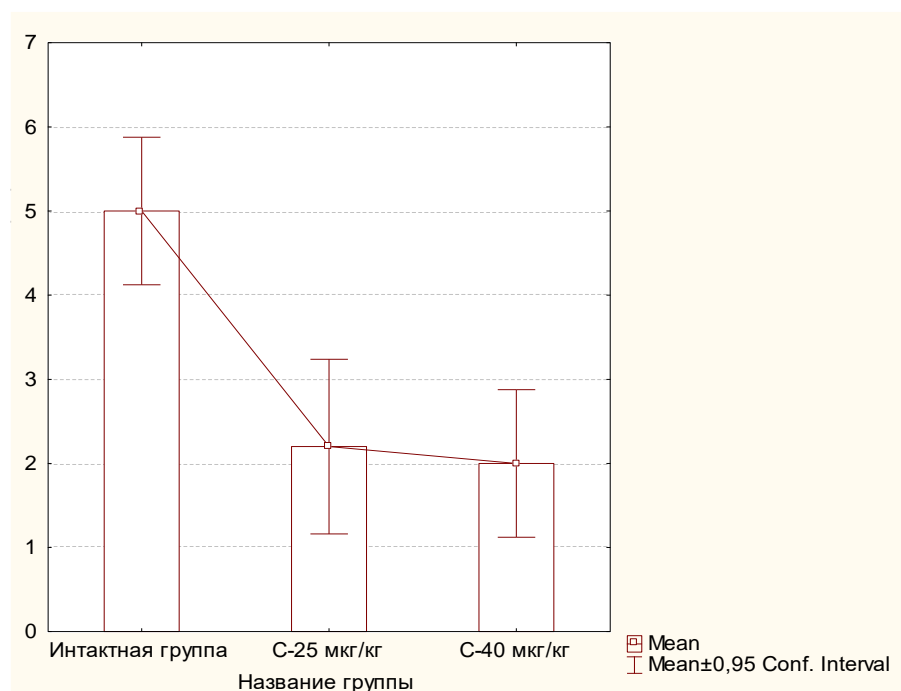


Рисунок 114 — Гистограмма количества Vcl-2 иммунопозитивных интерстициальных клеток потомства белых беспородных лабораторных мышей при пренатальном введении синэстрола.

Можно предполагать, что введение синтетического аналога эстрогена синэстрола в период закладки половых желез плода приводит к нарушению морфологии в семенниках во взрослом периоде. Показатель экспрессии маркера Vcl-2 в экспериментальных группах С-25 и С-40 уменьшился в интерстициальных клетках, что вызвало апоптотическую гибель клеток, отвечающих за выработку мужского полового гормона тестостерона. Полученные результаты могут быть

использованы при выборе оптимальных доз введения синтетического аналога эстрогена синэстрола в пренатальный период.

Результаты ИГХ-анализа маркера Ki-67 семенников потомства лабораторных мышей при пренатальном однократном внутримышечном введении синтетического препарата синэстрол представлены в таблице 36 и на рисунках 115-117.

В результате морфометрического анализа ИГХ-маркера Ki-67 при введении синтетического препарата синэстрол в дозах 25 и 40 мкг/кг позитивно окрашенных клеток в сперматогониях по сравнению с интактной группой значимых различий не выявлено.

Таблица 36 — Количество Ki-67 иммунопозитивных клеток в структурах семенников потомства при пренатальном введении синэстрола, $M \pm m$

Показатели	Интактная, n=7	С-25 мкг/кг, n=7	С-40 мкг/кг, n=7
Клетки сперматогониев в эпителии	27,6±1,7	25,4±1,8	29,4±1,1
Клетки сперматоцитов в эпителии извитого семенного канальца	29,2±1,3	29,6±2,1	27,8±1,5
Клетки сперматид в эпителии извитого семенного канальца	24,8±0,8	27,6±1,1*	25,8±0,8
Клетки сперматозоидов в просвете извитого семенного канальца	121,7±0,3	120,9±0,1	119,3±0,4
Интерстициальные клетки	5,0±1,0	2,6±0,5*	2,4±0,5*

Примечание: * — в сравнении с интактной группой выявлены различия при уровне значимости $p \leq 0,05$.

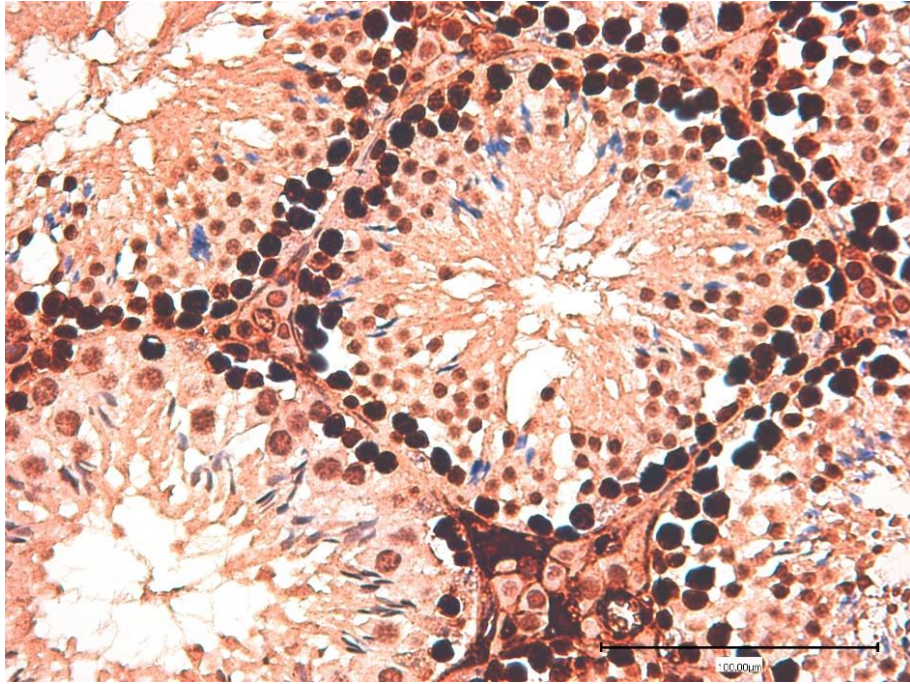


Рисунок 115 — Ki-67⁺ маркер в семеннике потомства на 90-й день белой беспородной лабораторной мыши интактной группы. ИГХ-реакция на маркер Ki-67. Докраска ядер гематоксилином. x100.

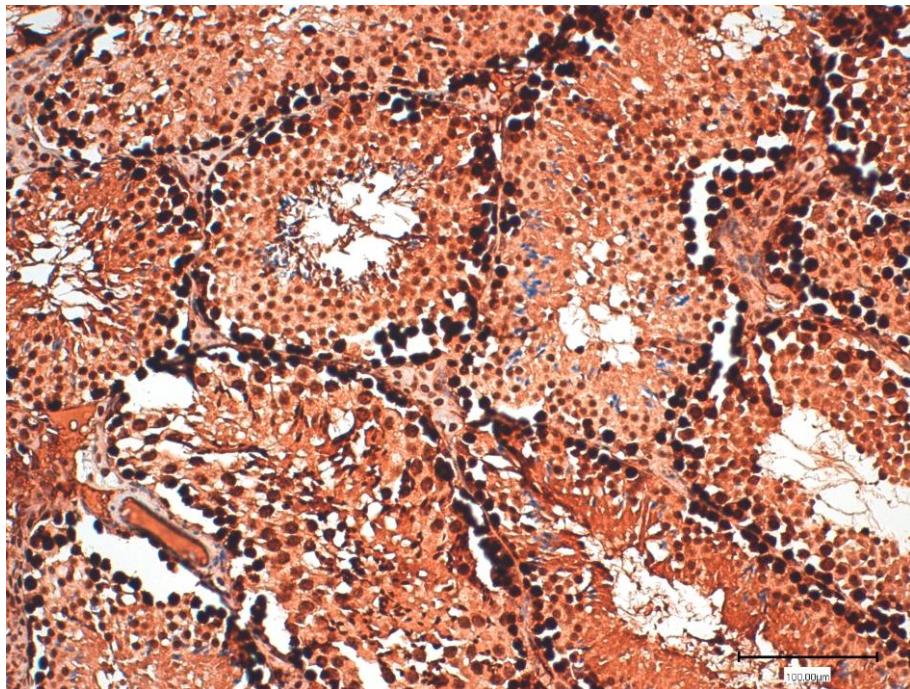


Рисунок 116.— Ki-67⁺ маркер в семеннике потомства на 90-й день белой беспородной лабораторной мыши экспериментальной группы С-25 мкг/кг. ИГХ-реакция на маркер Ki-67. Докраска ядер гематоксилином. x100.

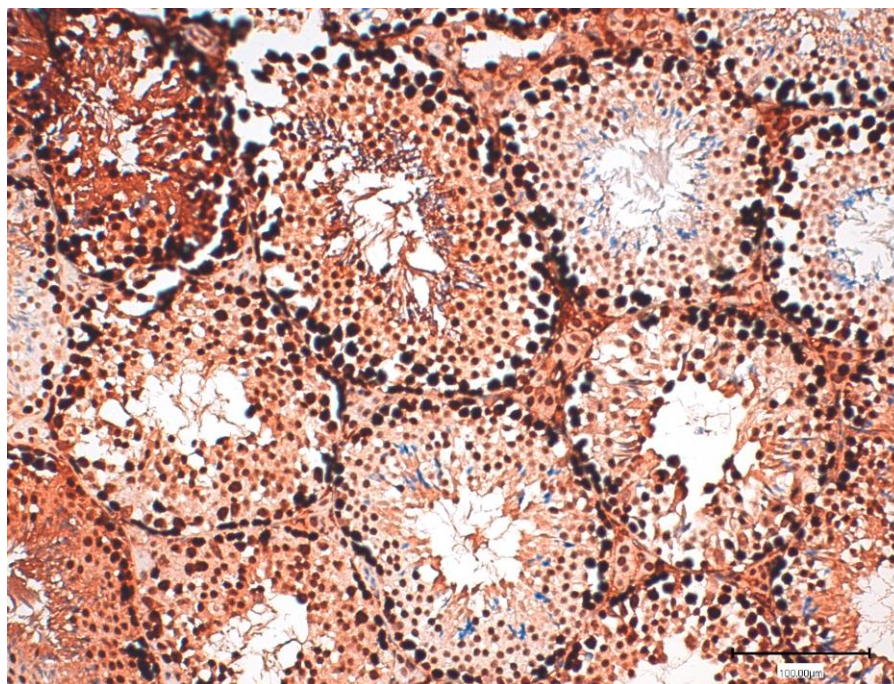


Рисунок 117 — Ki-67⁺ маркер в семеннике потомства на 90-й день белой беспородной лабораторной мыши экспериментальной группы С-40 мкг/кг. ИГХ-реакция на маркер Ki-67. Докраска ядер гематоксилином. х100.

Сравнительный анализ интактной группы с экспериментальными группами С-25 мкг/кг и С-40 мкг/кг в клетках сперматоцитов в эпителии извитого семенного канальца различий не показал. Количество позитивно окрашенных клеток сперматидов в эпителии извитого семенного канальца в экспериментальных группах С-25 мкг/кг и С-40 мкг/кг увеличилось по сравнению с интактной группой на 11,3 % ($p \leq 0,05$) и 4,1 %, соответственно. Сравнительный анализ интактной группы с экспериментальными группами С-25 и С-40 мкг/кг по количеству сперматозоидов в просвете извитого семенного канальца различий не показал. Сравнительный анализ с интактной группой продемонстрировал, что в экспериментальных группах С-25 мкг/кг и С-40 мкг/кг произошло статистически значимое уменьшение количества интерстициальных клеток в слоях соединительной ткани между извитыми семенными канальцами на 52,0% ($p \leq 0,05$) и 48,0 % ($p \leq 0,05$), соответственно (рисунок 118).

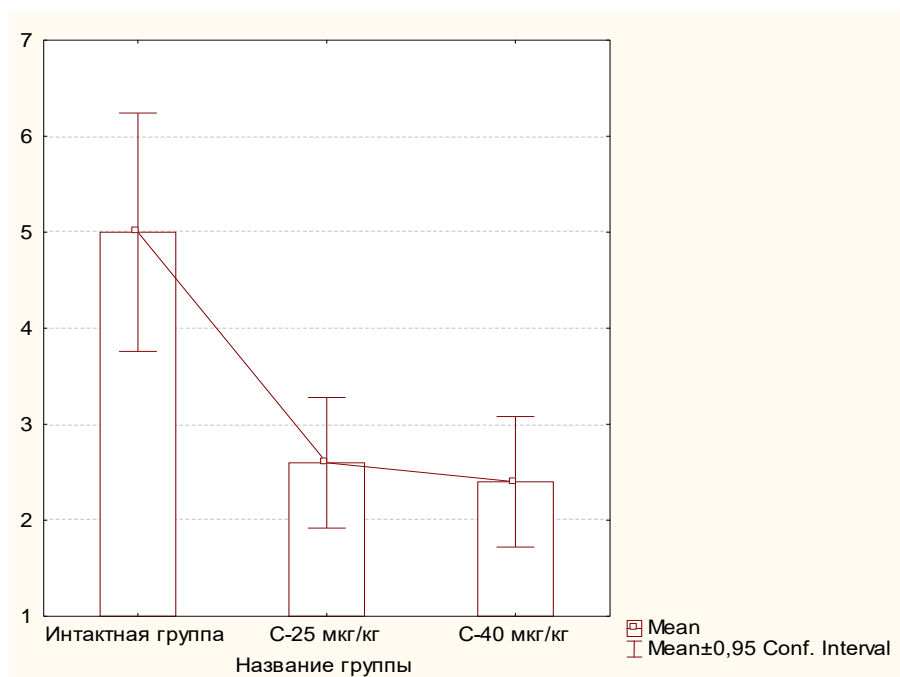


Рисунок 118 — Гистограмма количества Ki-67 иммунопозитивных интерстициальных клеток в потомства белых беспородных лабораторных мышей при пренатальном введении синэстрола.

Таким образом, структурные изменения в семенниках потомства белых беспородных лабораторных мышей определяются вводимой дозой синтетического аналога эстрогена синэстрола, в период пренатального развития органов плода. Лимитирование дозозависимости вводимого препарата в пренатальный период позволит избежать неблагоприятного эффекта на развитие и структурно-функциональную организацию семенников потомства, о чем свидетельствует маркер Ki-67.

Результаты ИГХ-анализа маркера p53 семенников потомства лабораторных мышей при пренатальном однократном внутримышечном введении синтетического препарата синэстрол представлены в таблице 37 и на рисунках 119-121.

Морфометрический анализ ИГХ-маркера p53 при введении синтетического препарата синэстрол в дозах 25 и 40 мкг/кг позитивно окрашенных клеток в сперматогониях по сравнению с интактной группой показал незначительное увеличение. Сравнительный анализ интактной группы с экспериментальными

группами С-25 мкг/кг и С-40 мкг/кг в клетках сперматоцитов в эпителии извитого семенного канальца различий не показал.

Таблица 37 — Количество p53 иммунопозитивных клеток в структурах семенников потомства при пренатальном введении синэстрола, $M \pm m$

Показатели	Интактная, n=7	С-25 мкг/кг, n=7	С-40 мкг/кг, n=7
Клетки сперматогониев в эпителии извитого семенного канальца	24,4±1,4	25,5±1,0	26,2±0,8
Клетки сперматоцитов в эпителии извитого семенного канальца	27,8±0,8	26,8±0,9	27,0±0,7
Клетки сперматид в эпителии извитого семенного канальца	25,0±1,0	26,3±0,9	25,8±0,8
Клетки сперматозоидов в просвете извитого семенного канальца	118,9±1,2	121,6±0,2	120,7±0,5
Интерстициальные клетки	5,4±1,1	3,3±0,5*	4,0±0,7*

Примечание: * — в сравнении с интактной группой выявлены различия при уровне значимости $p \leq 0,05$.

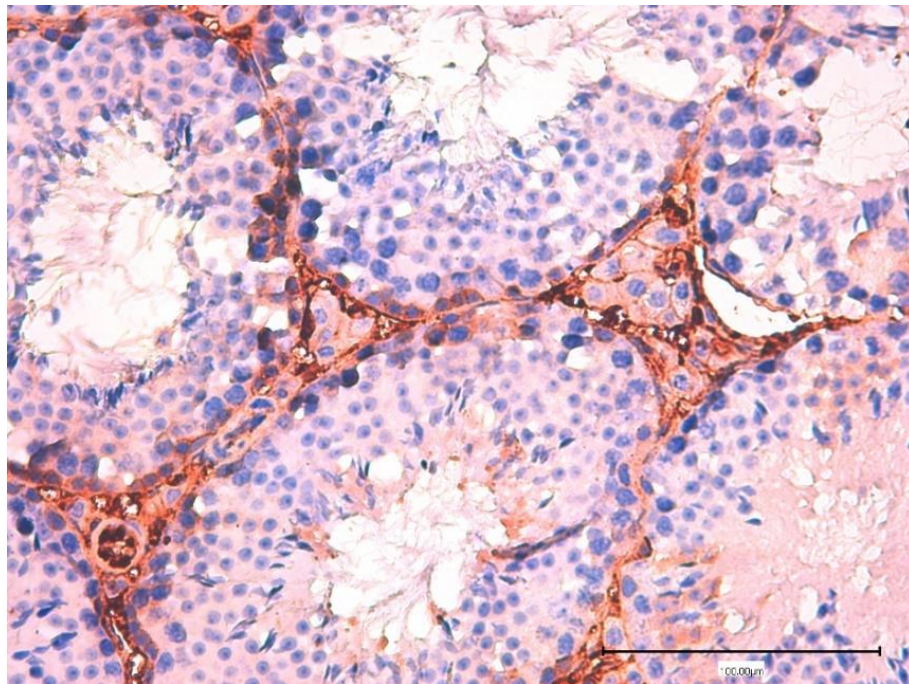


Рисунок 119 — p53⁺ маркер в семеннике потомства на 90-й день белой беспородной лабораторной мыши интактной группы. ИГХ-реакция на маркер p53. Докраска ядер гематоксилином. x400.

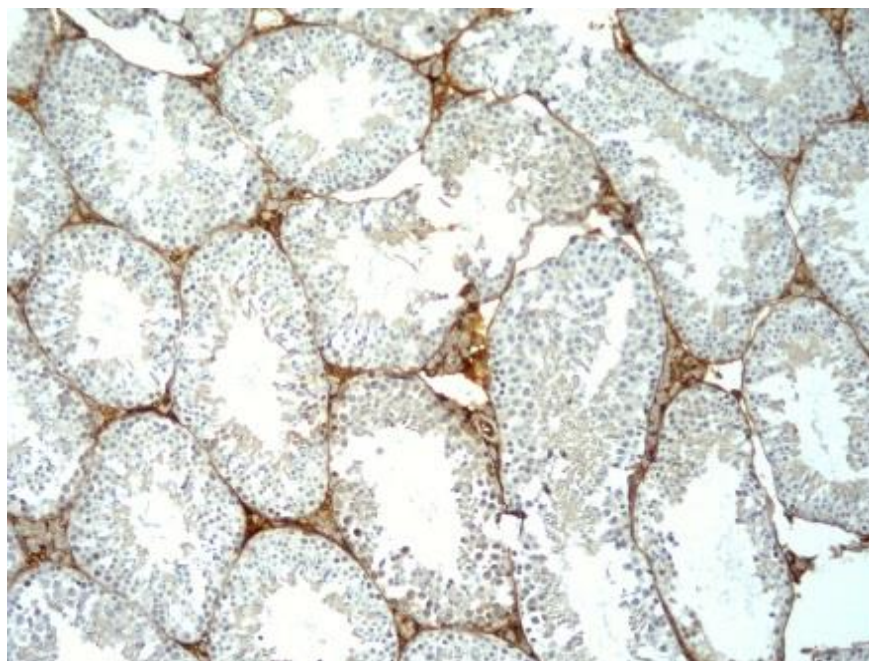


Рисунок 120 — p53⁺ маркер в семеннике потомства на 90-й день белой беспородной лабораторной мыши экспериментальной группы С-25 мкг/кг. ИГХ-реакция на маркер p53. Докраска ядер гематоксилином. x100.

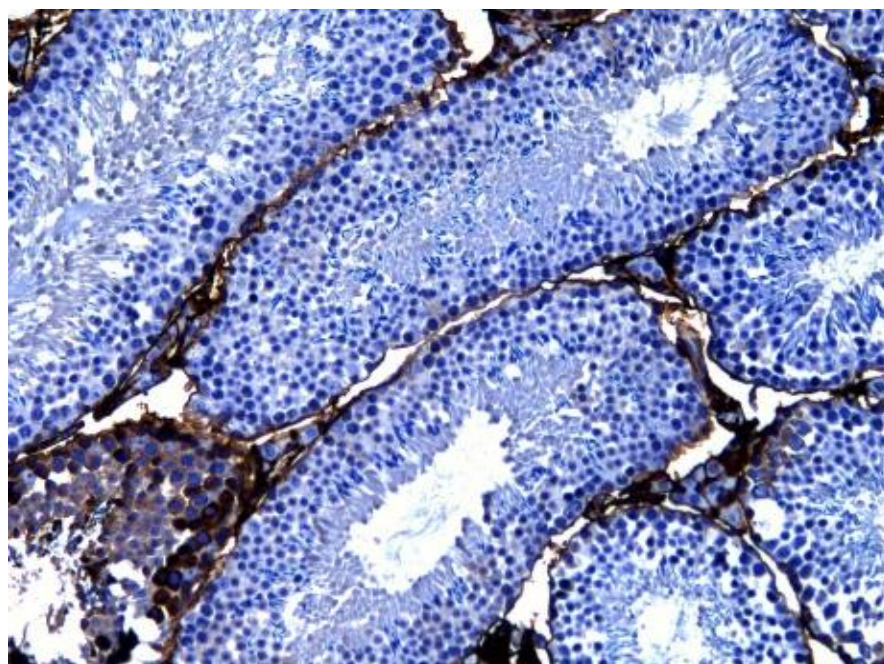


Рисунок 121 — p53⁺ маркер в семеннике потомства на 90-й день белой беспородной лабораторной мыши экспериментальной группы С-40 мкг/кг. ИГХ-реакция на маркер p53. Докраска ядер гематоксилином. x100.

Сравнительный анализ позитивно окрашенных клеток сперматидов в эпителии извитого семенного канальца в экспериментальных группах С-25 мкг/кг и С-40 мкг/кг значимых различий не показал по сравнению с интактной группой. Анализ сперматозоидов в просвете извитого семенного канальца в интактной

группе по сравнению с экспериментальными группами С-25 и С-40 мкг/кг различий не показал. Сравнительный анализ с интактной группой показал, что в экспериментальных группах С-25 мкг/кг и С-40 мкг/кг произошло статистически значимое уменьшение количества интерстициальных клеток в слоях соединительной ткани между извитыми семенными канальцами на 61,1 % ($p \leq 0,05$) и 74,1 % ($p \leq 0,05$), соответственно (рисунок 122).

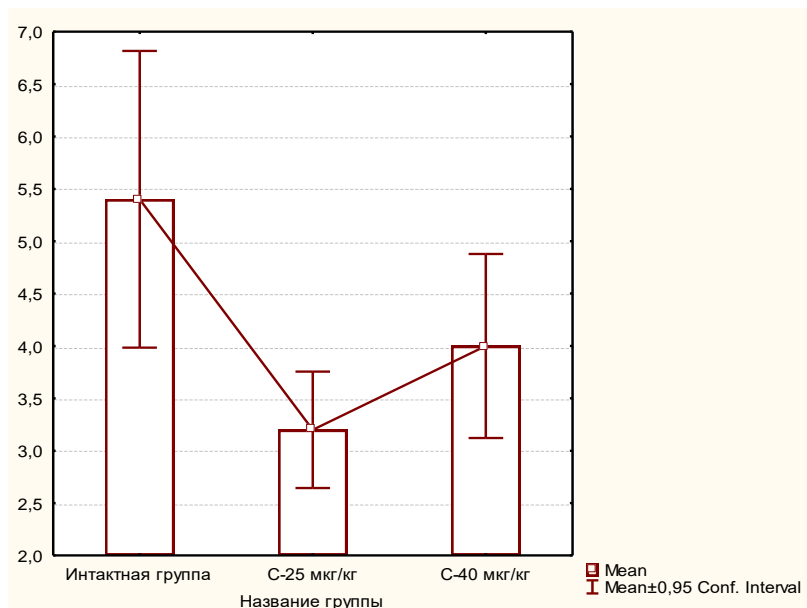


Рисунок 122 — Гистограмма количества p53 иммунопозитивных интерстициальных клеток потомства белых беспородных лабораторных мышей при пренатальном введении синэстрола.

Таким образом, пренатальное введение синтетического аналога эстрогена синэстрола в условиях эксперимента оказывает негативное влияние на морфофункциональное состояние семенников потомства. На ряду с этим, наблюдались нарушения эндокринного аппарата семенников в виде снижения численности интерстициальных клеток и их функциональной активности, о чем свидетельствует ИГХ маркер p53. Полученные результаты убедительно доказывают, что пренатальное введение синтетического препарата синэстрола можно рассматривать в качестве этиологического фактора, обуславливающего нарушение мужской фертильности. На наш взгляд, экспериментальные данные можно рекомендовать для лимитирования доз введения синтетического аналога эстрогена синэстрола в пренатальный период.

3. ЗАЛЮЧЕНИЕ

В результате экспериментального комплексного исследования разработаны и запатентованы две модели возможных отдаленных повреждений в яичниках и семенниках потомства при введении в материнский организм в период беременности (стадия E11.5) препаратов эстрогенового и антиэстрогенового рядов, что необходимо учитывать в научно-практической деятельности специалистов биологического профиля при воспроизводстве высокопродуктивных и исчезающих видов животных.

Исследованиями показано, что у потомства в раннем постнатальном онтогенезе наблюдаются достоверные отличия в параметрах соматометрических показателей по сравнению с данными интактной группы. Внутриутробное воздействие эстрогенных препаратов не влияет на массу тела потомства, приводит к изменению аногенитального расстояния и не зависит от половой принадлежности потомства.

Представленные данные свидетельствуют о том, что введение веществ с эстрогенной и антиэстрогенной активностью приводит к различным патологическим нарушениям в структурной организации яичников и семенников. При этом установлено, что органы репродуктивной системы потомства мужского пола на структурном уровне подвержены изменениям в меньшей степени, чем у женского пола.

Впервые при исследовании экспрессии маркеров пролиферации (Ki-67), ингибитора апоптоза (Bcl-2) и индуктора апоптоза (p53) в яичниках и семенниках потомства, на фоне применения различных доз препаратов эстрогенового (синестрол) и антиэстрогенового (фулвестрант) рядов беременным матерям, выявлены повреждения, визуализируемые в виде пролиферативных процессов, апоптической гибели клеток и других деструктивных нарушений в эндокринном аппарате.

Представленное диссертационное исследование способствует решению научной проблемы в области биологии и зооветеринарной практике по прогнозированию, разработке мер профилактики возможных функциональных

отклонений и возникновения повреждений в органах репродуктивной системы у потомства, при разработке вспомогательных репродуктивных технологий с целью повышения эффективности использования генетических ресурсов и сохранения генофонда высокопродуктивных и исчезающих видов животных.

ВЫВОДЫ

1. Разработаны, апробированы и запатентованы две экспериментальные модели, позволяющие прогнозировать возможные отдаленные повреждения в гонадах потомства, полученного от матерей, которым вводили препараты эстрогенового и антиэстрогенового рядов в период беременности (стадия E11.5).

2. Эквивалентные дозы препаратов эстрогенового (синэстрол - 40 мкг/кг) и антиэстрогенового (фулвестрант - 100 мкг/кг) рядов беременным самкам (стадия E11.5) приводят к деструктивным процессам в гонадах их потомства.

3. Введение синэстрола беременным матерям в дозе 50 мкг/кг приводит к изменению соматометрических показателей у потомства мужского пола: увеличивается длина «ухо-ухо» на 41,0 %, длина стопы правой тазовой конечности на 23,0 %, уменьшается на 15,0 % аногенитальное расстояние. Введение фулвестранта беременным матерям в дозе 100 мкг/кг приводит к увеличению на 18,0 % аногенитального расстояния у потомства по сравнению с параметрами интактной группы

4. У потомства женского пола, матерям которых вводили во время беременности синэстрол в дозе 50 мкг/кг, наблюдается увеличение длины «ухо-ухо» на 38,0 %, длины стопы правой тазовой конечности на 25,0 %, уменьшение на 22,0 % аногенитального расстояния по сравнению с данными интактной группы. При введении фулвестранта в дозе 200 мкг/кг регистрируется увеличение длины «ухо-ухо» на 52,0 %, без достоверного изменения параметров аногенитального расстояния.

5. Введение беременным самкам (стадия E11.5) синэстрола в дозе 50 мкг/кг приводит к значительным микроморфологическим изменениям в яичниках потомства: снижается на 86,0 % среднее количество примордиальных

фолликулов, увеличивается на 23,8 % среднее количество желтых тел, и уменьшается на 29,0% среднее количество лютеиновых клеток. В мозговом веществе отмечается увеличение в 2 раза диаметра сосудомикроциркуляторного русла, что свидетельствует об усилении кровоснабжения органа. Применение фулвестранта в дозе 100 мкг/кг приводит к снижению среднего количества примордиальных, третичных фолликулов при одновременном увеличении в 2 раза вторичных, на 76,0 % увеличивается среднее количество атретических фолликулов.

6. Инъекция беременным самкам (стадия E11.5) синэстрола в дозах 25 и 40 мкг/кг вызывает достоверное уменьшение среднего количества суспендоцитов на 11,3 % и 16,3 % соответственно, значений площади ядер интерстициальных клеток на 12,5 % и 26,6 % соответственно в семенниках потомства белых беспородных лабораторных мышей по сравнению с данными интактной группы.

7. Экспрессия маркера пролиферации (Ki-67), ингибитора апоптоза (Bcl-2) и индуктора апоптоза (p53) в яичниках потомства при введении беременным самкам (стадия E11.5) синэстрола в дозах 40 мкг/кг и 50 мкг/кг приводит к снижению митотической активности и увеличению числа апоптозных клеток. Использование фулвестранта в дозе 100 мкг/кг вызывает увеличение среднего количества позитивно окрашенных клеток к Ki-67 и Bcl-2 в яичниках потомства, что свидетельствует о повышении митотической активности клеток.

8. Экспрессия маркеров Ki-67, Bcl-2 и p53 в интерстициальных (эндокринных) клетках семенников потомства, полученного от матерей, которым вводили во время беременности (стадия E11.5) синэстрол в дозах 25 мкг/кг и 40 мкг/кг приводит к замедлению процессов пролиферации и апоптоза. Количество позитивно окрашенных клеток к маркеру Ki-67 снизилось на 52,0 % и на 48,0 % соответственно, к маркеру Bcl-2 уменьшилось на 56,0 % и на 60,0 % соответственно, а к маркеру p53 снизилось на 61,1 % и на 74,1 % по сравнению с данными интактной группы.

Практические предложения

Разработанные и запатентованные модели (№ RU2676437, № RU2722988) рекомендуется использовать в научно-практической деятельности биологов и зооветеринарных специалистов с целью контролируемого моделирования пренатального воздействия, прогнозирования и профилактики возможных функциональных нарушений и развития патологических процессов в органах репродуктивной системы потомства, при воспроизводстве высокопродуктивных и исчезающих видов животных.

Данные по соматометрическим параметрам органов, морфологическим, морфометрическим и иммуногистохимическим показателям тканей и клеток семенников и яичников потомства белых беспородных лабораторных мышей, могут быть использованы в качестве референсных в оценке их функционального состояния при моделировании патоморфологических процессов.

Результаты экспериментальных исследований могут быть использованы при проведении научных исследований, составлении монографий, учебно-методических пособий и справочных материалов по гистологии, эмбриологии и цитологии, физиологии, патофизиологии, фармакологии, репродуктологии, эндокринологии, акушерству, гинекологии и биотехнике размножения животных, при подготовке специалистов в учебных заведениях биологического профиля.

Рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы

Проведенные экспериментальные исследования позволили получить новые фундаментальные данные по динамике соматометрических, морфометрических, морфологических и иммуногистохимических показателей органов репродуктивной системы потомства белых беспородных лабораторных мышей. Дальнейшие исследования могут быть направлены на разработку мер профилактики возможных функциональных отклонений и возникновения повреждений в органах репродуктивной системы у потомства при воспроизводстве высокопродуктивных и исчезающих видов животных.

4. ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов, Г. Г. Медицинская морфометрия : руководство. — Москва : Медицина, 1990. — 384 с.
2. Айбазов, А. М. М. Итоги и перспективы применения вспомогательных репродуктивных технологий в воспроизводстве мелких жвачных / А. М. М. Айбазов, Т. В. Мамонтова, И. Г. Сердюков, М. А. Губаханов // Овцы, козы, шерстяное дело. – 2022. – № 2. – С. 8-14. – DOI 10.26897/2074-0840-2022-2-8-14.
3. Айбазов, А. М. М. Вспомогательные репродуктивные технологии в воспроизводстве мелкого рогатого скота (Обзор) / А. М. М. Айбазов, Т. В. Мамонтова, М. А. Губаханов // Сельскохозяйственный журнал. – 2022. – № 2(15). – С. 29-36. – DOI 10.25930/2687-1254/004.2.15.2022.
4. Айбазов, А. М. М. Влияние различных препаратов фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) на суперовуляторную реакцию у мясных овец зарубежной селекции в неполовой сезон / А. М. М. Айбазов // Сельскохозяйственный журнал. – 2022. – № 4(15). – С. 57-65. – DOI 10.25930/2687-1254/006.4.15.2022.
5. Айбазов, А. М. М. Результаты приживляемости эмбрионов овец, полученных на разной стадии развития и криоконсервированных разными технологиями / А. М. М. Айбазов // Сельскохозяйственный журнал. – 2023. – № 2(16). – С. 66-76. – DOI 10.48612/FARC/2687-1254/007.2.16.2023.
6. Александровская, О.В. Цитология, гистология и эмбриология / О.В. Александровская, Т.Н. Радостина, Н.А. Козлов. — Москва : Агропромиздат, 1987. — С. 421–431.
7. Амельхина, И.В. Длительная угроза прерывания беременности. Ближайшие и отдаленные результаты развития детей : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.01 / Амельхина Ирина Валерьевна. — Москва, 2007. — 25 с.
8. Андрология : мужское здоровье и дисфункция репродуктивной системы / Э. Нишлаг [и др.] ; под ред. Э. Нишлага, Г.М. Бере ; пер. с англ. В.И. Кандрора под ред. И.И. Дедова. — Москва : Мед. информ. агентство, 2005. — 554 с.

9. Арзамасцев, Е.В. Методологические указания по изучению общетоксического действия фармакологических веществ / Е.В. Арзамасцев, Т.А. Гуськова, И.В. Березовская ; под ред. Р.У. Хабриева. — Москва : Медицина, 2005. — С. 41–54.
10. Артифексов, С.Б. Состояние органного кровотока в семенниках и придатках самцов крыс в условиях экспериментального венозного тестикулярного кровотока / С.Б. Артифексов, А.А. Артюхин // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2007. — Т. 143, № 6. — С. 623–627.
11. Бабичев, В.Н. Нейроэндокринология пола / В.Н. Бабичев. — Москва : Наука, 1981. — 221 с.
12. Багацька, Н.В. Генетичні фактори у виникненні порушень статевого розвитку у хлопців-підлітків : автореф. дис. ... на здобуття наук, ступеня д-ра біол. наук : 03.00.15 / Багацька Наталія Василівна. — Киев, 2004. — 38 с.
13. Брагина Е. Е., Бочарова Е. Н., Абдумаликов Р. М. и др. // Андрол. и генитальная хир. — 2003. № 3-4. — С. 31-34
14. Богдан, И.В. Потребление алкоголя в российском мегаполисе: факторы и группы риска / И.В. Богдан, М.Д. Горносталёв, В.А. Кузьменков, Т.А. Потяева, Д.П. Чистякова // Анализ риска здоровью. — 2023. — № 2. — С. 30–41. DOI: 10.21668/health.risk/2023.2.03
15. Болтовская, М.Н. Структурно-функциональное сопоставление плаценты человека и мыши как обоснование для моделирования невынашивания беременности / М.Н. Болтовская, К.А. Артемьева, С.В. Назимова, И.И. Степанова, Н.А. Старосветская, О.В. Калюжин // Клиническая и экспериментальная морфология. — 2014. - № 1(9). — С. 73-78.
16. Болтнев, Е. А. Морфофункциональные изменения семенников у каланов в постнатальном онтогенезе / Е. А. Болтнев, П. М. Торгун, А. И. Болтнев // Труды ВНИРО. — 2019. — Т. 178. — С. 77-83.
17. Боровая, Т.Г. Фолликулогенез и факторы его модуляции : автореф. дис. ... докт. мед. наук : 14.00.23 / Боровая Татьяна Геннадьевна. — Москва, 1993. — 50 с.

18. Боярский, К.Ю. Фолликулогенез и современная овариальная стимуляция (обзор литературы) / К.Ю. Боярский // Проблемы репродукции. — 2002. — Т. 8, № 3. — С. 36–43.

19. Брюхин, Г.В. Особенности становления фолликулогенеза в яичниках у потомства матерей с хроническим поражением гепатобилиарной системы в условиях эксперимента / Г.В. Брюхин, Е.В. Вторушина // Проблемы репродукции. — 2004. — № 3 — С. 54–57.

20. Валькович, Э.И. Общая и медицинская эмбриология : учебное пособие для медицинских вузов / Э.И. Валькович. — Санкт-Петербург : Фолиант, 2003. — 320 с.

21. Введение гидрокортизона ацетата беременным самкам мышей и уровень тревожности их потомства / Р. Т. Сулайманова, Л. Р. Юсупова, Р. И. Бахтияров, А. Х. Нугуманова // Лимфология: от фундаментальных исследований к медицинским технологиям : материалы XII международной конференции, посвященной 25-летию Научно-исследовательского института клинической и экспериментальной лимфологии, Новосибирск, 22–23 марта 2016 года. — Новосибирск: Филиал "Гео" Издательства СО РАН, Издательский дом "Манускрипт", 2016. — С. 239-240.

22. Взаимоотношения системы естественной клеточной цитотоксичности и системы интерферона при иммобилизационном стрессе / Г.Т. Сухих, Н.Н. Носик, О.В. Паршина [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 1984. — № 11. — С. 593–595.

23. Вихляева, Е.М. Руководство по эндокринной гинекологии / Е.М. Вихляева. — Москва : Медицинское информационное агентство, 2006. — 784 с.

24. Влияние введения гидрокортизона ацетата беременным самкам мышей на уровень тревожности их потомства / Р. Бахтияров, Р. Т. Сулайманова, Р. И. Зарипова [и др.] // Новое слово в науке и практике: гипотезы и апробация результатов исследований. — 2015. — № 19. — С. 7-10.

25. Внутритрубное развитие человека : руководство для врачей / под ред. А.П. Милованова, С.В. Савельева. — Москва : МВД, 2006. — 384 с.
26. Волков, В.П. Функциональная морфология клеток Лейдига при антипсихотической терапии в зависимости от возраста / В.П. Волков // Инновации в науке. — 2015. — № 41. — С. 146–154.
27. Волкова, О.В. Структура и регуляция функции яичников / О.В. Волкова. — Москва : Медицина, 1989. — 186 с.
28. Волкова, О.В. Функциональная морфология женской репродуктивной системы / О.В. Волкова. — Москва : Медицина, 1983. — 224 с.
29. Волошин, Н.А. Морфофункциональные особенности формирования яичек крыс от момента рождения до второго месяца жизни / Н.А. Волошин, Т.А. Тополенко // Український морфологічний альманах. — 2009. — Т. 7, № 2. — С. 32–34.
30. Гаччиладзе, Л.Ф. Структурные и гистохимические изменения молочных желез и яичников при введении синэстрола : Эксперим. исследование / Л.Ф. Гаччиладзе. — Тбилиси : Мецниереба, 1967. — С. 7–41.
31. Гематотестикулярный барьер: функции и значения для организма / Л.Ф. Сыч, В.А. Беляев, Е.В. Сафоновская, Я.И. Переверзева // Вестник ветеринарии. — 2012. — Т. 4, № 63. — С. 14–15.
32. Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов : постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 21 апреля 2008 г. № 26 г. «Об утверждении СанПиН 2.3.2.2354-08» // Гарант.ру : [информационно-правовой портал]. — URL: <https://base.garant.ru/12160648/> (дата обращения: 06.03.2002). — Текст : электронный.
33. Гистология, эмбриология, цитология / под ред. Ю.И. Афанасьева, Н.А. Юриной. — 6-е изд., перераб. доп. — Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2019. — 800 с.
34. Гистологическая структура яичников потомства лабораторных мышей при токсическом действии синэстрола в критический период развития / Р. М.

Хайруллин, Р. Т. Сулайманова, Л. И. Сулайманова [и др.] // Оперативная хирургия и клиническая анатомия (Пироговский научный журнал). – 2019. – Т. 3, № 2-2. – С. 99-100. – DOI 10.17116/operhirurg20193022003.

35. Гланц, С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц ; пер. с англ. д-ра физ.-мат. наук Ю. А. Данилова под ред. Н.Е. Бузикашвили и Д.В. Самойлова. — Москва : Практика, 1999. — 459 с.

36. Григорян, А.Н. Физическое и половое развитие детей, рожденных женщинами, принимавшими во время беременности гормональную терапию: автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.01.08, 14.01.01 / Григорян Алла Нагапетовна. — Москва, 2017. — 27 с.

37. Гуськова, Т.А. Доклиническое токсикологическое изучение лекарственных средств как гарантия безопасности проведения их клинических исследований / Т.А. Гуськова // Токсикологический вестник. — 2010. — Т. 5, № 104. — С. 2–5.

38. Данилов, Р.К. Гистология, эмбриология, цитология / Р.К. Данилов, Т.Г. Боровая. — Москва : ГЭОТАР-медиа, 2018. — 520 с.

39. Данилов, Р.К. Курс эмбриологии с основами тератологии : учебник / Р.К. Данилов, Т.Г. Боровая. — Санкт-Петербург : ВМА, 2016. — 316 с.

40. Данилова, Л.В. Сперматогонии, сперматоциты, сперматиды / Л.В. Данилова // Современные проблемы сперматогенеза. — Москва : Наука, 1982. — С. 25–72.

41. Демченко, В.Н. Андрогенная активность семенников препубертатных самцов крыс в условиях применения хлорида кадмия / В.Н. Демченко // Эндокринная система организма и токсические факторы внешней среды : тезисный доклад II Всесоюзной конференции. — Л., 1983. — С. 45.

42. Демяшкин, Г.А. Паракринные механизмы регуляции функций семенника (иммуноцитохимический аспект) / Г.А. Демяшкин, Н.Ш. Амиров // Фундаментальные исследования. — 2009. — № 2. — С. 88–90.

43. Дизрапторы как экологический фактор риска опухолей репродуктивной системы / Р.М. Хайруллин, Р.Т. Сулайманова, Л.И. Сулайманова,

Р.И. Бахтияров // Медико-физиологические проблемы экологии человека: сборник научных трудов V Всероссийской конференции с международным участием. — Ульяновск : УлГУ, 2014. — С. 193–195.

44. Диндяев, С.В. Медицинская эмбриология : учебник и практикум для вузов / С.В. Диндяев, С.Ю. Виноградов. — 2-е изд., испр. и доп. — Москва : Юрайт, 2020. — 347 с.

45. Држевецкая, И.А. Основы физиологии обмена веществ и эндокринной системы / И.А. Држевецкая. — Москва : Высш. школа, 1983. — 272 с.

46. Дроздов, А.Л. Морфология гамет животных / А.Л. Дроздов, В.Н. Иванков. — Москва : Круглый стол, 2000. — 460 с.

47. Дуденкова, Н.А. Морфофункциональные особенности репродуктивной системы при свинцовой интоксикации : дис. .. канд. биол. наук : 06.02.01 / Дуденкова Наталья Анатолиевна. — Саранск, 2015. — 138 с.

48. Дуденкова, Н.А. Влияние ацетата свинца на структурные изменения яичников самок белых крыс в период постнатального онтогенеза / Н.А. Дуденкова, О.С. Шубина // Современные проблемы науки и образования. – 2015. - №2

49. Дуденкова, Н.А. Влияние ацетата свинца на клетки Лейдига семенных желез самцов белых крыс / Н.А. Дуденкова, О.С. Шубина, Л.П. Тельцов // Теория и практика современной науки: матер. 14 Меж-дунар. Науч.-практ. Конференции, Москва, 2-3 июля 2014 года – М. : Изд. «Спецкнига», 2014. С. 59-66.

50. Душкина, Е.А. Морфофункциональные особенности яичника крольчих при влиянии препаратов селена : дис. ... канд. биол. наук : 06.02.01 / Душкина Екатерина Анатольевна. — Уфа, 2014. — 175 с.

51. Дыбан, А.П. Раннее развитие млекопитающих / А. П. Дыбин; АН СССР, Ин-т биологии развития им. Н. К. Кольцова, Науч. совет по пробл. "Закономерности индивидуал. развития животных и управление процессами онтогенеза". - Ленинград : Наука : Ленингр. отд-ние, 1988. - 228 с., [4] л. ил. : ил.; 25 см.; ISBN 5-02-025636-6 (В пер.) : 3 р. 80 к.

52. Евдокимов, В.В. Нарушение сперматогенеза при варикоцеле: патогенез и прогноз лечения / В.В. Евдокимов, Т.О. Селиванов // Андрология и генитальная хирургия. — 2006. — № 3. — С. 12–13.
53. Зимин, Ю.И. Иммуитет и стресс / Ю.И. Зимин // Итоги науки и техники. — Москва : ВИНТИ, 1979. — Т. 8. — С. 173–198.
54. Иванов, Ю.Н. Исследование синхронизации полового цикла у самок серой крысы (*Rattus norvegicus*) при совместном содержании / Ю.Н. Иванов, Д.В. Ключков, М.А. Позняков // Вавиловский журнал генетики и селекции. — 2011. — Т. 15, № 1. — С. 35–44.
55. Изменения эндокринных желез в ответ на удаление левого надпочечника у крыс / Р. Т. Сулайманова, Х. Х. Мурзабаев, Н. Н. Заречнова, Х. М. Алиев // Морфология. — 2008. — Т. 133, № 2. — С. 131.
56. Изучение сперматогенеза у мышей с ускоренным старением / С.Т. Захидов, А. В.Гопко, Т.Л. Маршак [и др.] // Известия РАН. — 2007. — № 6. — С. 661–668.
57. Изучение половых различий аногенитального расстояния у потомства лабораторных мышей / З. И. Идрисова, Э. Р. Акрамова, А. С. Выродов [и др.] // Forcipe. — 2021. — Т. 4, № 2. — С. 16-20.
58. Кабак, Я.М. Практикум по эндокринологии : основные методики эксперим.-эндокринол. исследований / Я.М. Кабак — 2-е изд., доп. — Москва : Изд-во Моск. ун-та, 1968. — 275 с.
59. Камфарин, Д.П. Ультразвуковые параметры органов репродуктивной системы кобыл в динамике полового цикла / Д.П. Камфарин, И.В. Колодий // Ветеринарная патология. № 3. — 2013. - С.123-125.
60. Кветной, И.М. Сигнальные молекулы - маркеры зрелости плаценты / И.М. Кветной [др.]. - Москва : МЕДпресс-Информ, 2005 (ОАО Тип. Новости). - 95 с. : ил.; 21 см.; ISBN 5-98322-095-0 (в обл.)
61. Квочко, А.Н. Воздействие препарата эстрогенного рядов на динамику роста потомства лабораторных мышей / А. Н. Квочко, Р. Т. Сулайманова, Э. Д. Асхабова, Л. И. Сулайманова // Известия Самарской государственной

сельскохозяйственной академии. 2023. №3. С. 70–74. doi: 10.55170/19973225_2023_8_3_70

62. Квочко, А.Н. Влияние препарата эстрогенового рядов на соматометрические показатели потомства женского пола / А.Н. Квочко, Р.Т. Сулайманова // Вестник КрасГАУ. 2023. № 8 С. 158-163. DOI: 10.36718/1819-4036-2023-8-158-163

63. Квочко, А.Н. Иммуногистохимический анализ семенников белых лабораторных мышей при пренатальном введении эстрогенов / А.Н. Квочко, Р.Т. Сулайманова // Ветеринарный фармакологический вестник. – 2023. – № 1(22). – С. 97-106. – DOI 10.17238/issn2541-8203.2023.1.97.

64. Кенешбаев, Б.К. Морфология плаценты как индикатор экоинтоксикации сурьмой // Б.К. Кенешбаев, Т.М. Тулекеев, Р.Т. Сулайманова, Р.М. Хайруллин / под ред. Проф. Р.М. Хайруллина. – СПб: Издательство СПбГЭТУ «ЛЭТИ», 2023. – 138с.

65. Клочков, Д.В. Возрастные особенности эстральной цикличности и фолликулогенеза самок крыс линии ГК, селекционированных на проявление кататонической реактивности / Д.В. Клочков, Т.А. Алехина, О.И. Прокудина // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2011. — Т. 151, № 2. — С. 182–185.

66. Ключарев, Б.В. Экспериментальные новообразования предстательной железы и их гормонотерапия / Б.В. Ключарев ; под ред. чл.-корр. АМН СССР проф. Л.М. Шабада. — Л. : Медгиз, Ленингр. отд-ние, 1954. — 256 с.

67. Косовский, Г. Ю. Гонадотропный профиль крови крольчих при различных способах введения экзогенных гонадотропинов с целью индукции суперовуляции / Г. Ю. Косовский, Д. В. Попов // Ветеринария Кубани. – 2021. – № 2. – С. 40-44. – DOI 10.33861/2071-8020-2021-2-40-44.

68. Корнева, Е.А. Физиологические механизмы стресса на иммунную систему / Е.А. Корнева, Э.К. Шхинек // Вестник АМН СССР. — 1985. — № 8. — С. 44–50.

69. Корсак, В.С. Регистр ВРТ Российской ассоциации репродукции человека. Отчет за 2017 год / В.С. Корсак, А.А. Смирнова, О.В. Шурыгина // Проблемы репродукции. — 2019. — Т. 25, № 6. — С. 9–21.

70. Котарев, В. И. Эффективность сперматогенеза как показатель воспроизводительных качеств баранов / В. И. Котарев, А. Г. Ульянов, П. М. Торгун // Ветеринарный фармакологический вестник. — 2019. — № 3(8). — С. 117-130.

71. Крыжановский, Г.Н. Стресс и иммунитет / Г.Н. Крыжановский // Вестник АМН СССР. — 1985. — № 8. — С. 3–12.

72. Кузнецов, С.Л. Гистология, цитология и эмбриология / С.Л. Кузнецов, Н.Н. Мушкамбаров. — Москва : Медицинское информационное агентство, 2005. — 600 с.

73. Кузнецов, С.Л. Гистология, цитология и эмбриология : краткий курс / С.Л. Кузнецов, Н.Н. Мушкамбаров. — Москва : МИА, 2016. — 532 с.

74. Кузнецова, Т.Е. Морфофункциональные изменения в некоторых эндокринных органах крысят при действии ацетата свинца / Т.Е. Кузнецова, О.А. Манеева, Е.Л. Рыжковская // Здоровье и окружающая среда : сборник научных трудов. — Минск, 2006. — Вып. 8. — С. 590–595.

75. Курило, Л.Ф. Система тестирования факторов, повреждающих женские и мужские гаметы и гонады / Л.Ф. Курило // Гигиена и санитария. — 2011. - №5. -С. 72-78.

76. Курс гистологии / Н.В. Бойчук, Р.Р. Исламов, Э.Г. Улумбеков, Ю.А. Чельшев. — Казань : Поволжский книжный центр, 1995. — 282 с.

77. Курцхалидзе, Е.Д. Морфологические аспекты канцерогенеза почек, вызванного экспериментальным введением синэстрола : дис. ... канд. мед. наук : 14.00.15 / Курцхалидзе Елена Дживановна. — Красноярск, 2005. — 174 с.

78. Кустаров, В.Н. Нарушения менструального цикла / В.Н. Кустаров, В.А. Линде, В.И. Ильяшевич. — Санкт-Петербург : Гиппократ, 2008. — 128 с.

79. Лабораторная диагностика мужского бесплодия / В.В. Долгов, С.А. Луговская, Н.Д. Фанченко [и др.]. — Москва : ООО «Издательство Триада», 2006. — 144 с.

80. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте / И.П. Западнюк, В.И. Западнюк, Е.А. Захария, Б.В. Западнюк. — 3-е изд. — Киев : Вища школа. Головное изд-во, 1983. — 383 с.

81. Лебедева, Т.С. Морфодинамика фолликулогенеза млекопитающих / Т.С. Лебедева, Ю.В. Храмова // ЛОМОНОСОВ — 2014: тез. докл. XXI Междунар. конф. студентов, аспирантов и молодых ученых : Секция «Биология». — Москва, 7–11 апреля 2014 г. — Москва : Изд. Московского ун-та, 2014. — С. 7.

82. Литвинова, Д. Д. Изменение соматометрических показателей потомства лабораторных мышей при пренатальном воздействии фулвестранта / Д. Д. Литвинова, Р. Т. Сулайманова, Э. Д. Асхабова // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. — 2022. — Т. 16, № 3. — С. 78-82.

83. Лэнг, Т.А. Как описывать статистику в медицине: руководство для авторов, редакторов и рецензентов / Т.А. Ланг, М. Сесик ; пер. с англ. под ред. В.П. Леонова. — Москва : Практическая медицина, 2011. — 477 с.

84. Малишкіш, І.Н. Дисперсний аналіз інтеграції судинно та гермшативної систем яєчка у патогенезі негідносTM / І.Н. Малишкіш // Лжарська справа. — 2000. — № 3. — С. 77–80.

85. Мамина, В.П. Влияние ионизирующего излучения и ксенобиотиков на сперматогенный эпителий лабораторных животных / В.П. Мамина, Л.Д. Шейко // Гигиена и санитария. — 2001. — № 6. — С. 24–27.

86. Мамонтова, Т. В. Половая активность и спермопродукция у баранов пород шароле и иль-де-франс в разные сезоны года / Т. В. Мамонтова, М. И. Селионова, А. М. М. Айбазов // Сельскохозяйственная биология. — 2021. — Т. 56, № 4. — С. 752-762. — DOI 10.15389/agrobiology.2021.4.752rus.

87. Манских, В.Н. Патоморфология лабораторной мыши: в 3 т. / В.Н. Манских. — Москва: ВАКО, 2016. — Т. 1, 208 с. ; Т. 2, 222 с. ; Т. 3, 432 с. ISBN 978-5-408-02353-0

88. Методические указания по гигиенической оценке новых пестицидов / Антонович Е. А., Каган Ю. С., Спыну Е. И. и др. — Киев, 1988. — 208 с.

89. Мельник, С.А. Изучение корреляции между некоторыми морфометрическими параметрами самцов лабораторных мышей / С.А. Мельник // Наука и современность. — 2010. — № 2–1. — С. 33–37.

90. Механизмы сезонного изменения активности сперматогенеза у животных с сезонным характером репродуктивной активности / Н.Н. Шевлюк, Е.В. Блинова, Д.А. Боков, М.Ф. Рыскулов // Морфология. — 2014. — Т. 145. — № 3. — С. 221.

91. Миронов, А.В. Отдаленные прогнозы лечения невынашивания беременности в первом триместре : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.01 / Миронов Алексей Валентинович. — Москва, 2008. — 27 с.

92. Мирский, В.Е. Детская и подростковая андрология / В.Е. Мирский, В.В. Михайличенко, В.В. Заезжалкин. — Санкт-Петербург : Питер, 2003. — 224 с.

93. Молнар, Е. Общая сперматология / Е. Молнар ; пер. с нем. д-р Марио Сиза. — Перераб. и доп. изд. — Будапешт : Изд-во Акад. наук Венгрии, 1969. — 293 с.

94. Морфология яичников потомства лабораторных мышей при пренатальном действии субтоксической дозы синестрола / Р. Т. Сулайманова, Р. М. Хайруллин, С. Ю. Злобина [и др.] // Детская медицина Северо-Запада. — 2020. — Т. 8, № 1. — С. 326-327.

95. Морфология и иммуногистохимия семенников животных при введении эстрогенов в пренатальном периоде : методические рекомендации / В. С. Скрипкин, Р. Т. Сулайманова, А. Н. Квочко, Р. М. Хайруллин. — Ставрополь : АГРУС Ставропольского гос. аграрного ун-та, 2023. — 40 с. ISBN 978-5-9596-1922-0

96. Морфологическая и иммуногистохимическая оценка яичников при введении эстрогенов в пренатальном периоде : методические рекомендации / Р. Т. Сулайманова, В. С. Скрипкин, А. Н. Квочко, Р. М. Хайруллин. — Ставрополь : АГРУС Ставропольского гос. аграрного ун-та, 2023. — 52 с. ISBN 978-5-9596-1923-7

97. Морфофункциональная характеристика семенников крыс вистар при воздействии липополисахарида в условиях гиперандрогенемии / С.Г. Васильева, В.А. Мхитаров, А.М. Косырева, О.В. Макарова // Российский медико-биологический вестник имени акад. И.П. Павлова. — 2011. — № 2. — С. 35–40.

98. Морфофункциональная характеристика органов размножения грызунов из популяций, находящихся в зоне влияния завода, перерабатывающего газ с повышенным содержанием соединений серы / Н. Н. Шевлюк, Е. В. Блинова, Д. А. Боков, Л. Л. Демина // Морфология. – 2008. – Т. 134, № 5. – С. 43-47.

99. Морфологические особенности яичников потомства лабораторных мышей, которым вводили эстрогены во время беременности / Р. Т. Сулайманова, Р. М. Хайруллин, А. И. Лебедева [и др.] // Педиатр. – 2021. – Т. 12, № 6. – С. 55-62. – DOI 10.17816/PED12655-62.

100. Нарбутова, Т.Е. Морфологическое обоснование использования эрбисола для коррекции негативного влияния свинца на репродуктивную систему у мышей в эксперименте / Т.Е. Нарбутова // Актуальні проблеми сучасної медицини. — 2011. — Т. 11, № 3. — С. 66–69.

101. Нейштадт, Э.Л. Опухоли яичника / Э.Л. Нейштадт, И.Н. Ожиганова. — Санкт-Петербург : Фолиант, 2017. — 352 с.

102. Нежданов, А.Г. Оксид азота и функциональная активность яичников у коров в послеродовой период / А. Г. Нежданов, В. А. Сафонов, Т. Г. Ермолова [и др.] // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2020. – № 2. – С. 41-44.

103. Николаева, Л.Б. Первая беременность и первые роды / Л.Б. Николаева, Г.А. Ушакова. — Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2010. — 264 с.

104. Обухова Ю.Д. Морфология яичников в различные периоды онтогенеза. Обзор литературы / Ю.Д. Обухова // Вестник новых медицинских технологий. – 2010 – Т. XVII, № 2 – С.301-305.

105. О принятии технического регламента Таможенного союза «О безопасности пищевой продукции» : решение Комиссии Таможенного союза от 9 декабря 2011 г. № 880 // Гарант.ру : [информационно-правовой портал]. — URL:

<https://base.garant.ru/70106650/> (дата обращения: 06.03.2002). — Текст : электронный.

106. О факторе риска развития рака молочной железы, связанном с пренатальным обменом эстрогенов / Л.Р. Юсупова, Р.Т. Сулайманова, Т.Р. Магадеев [и др.] // *Фундаментальные исследования*. — 2013. — Т. 10, № 1. — С.130–135.

107. Особенности пренатального воздействия стероидных половых гормонов на дефинитивную морфологию яичников в эксперименте / Л.Р. Юсупова, Р.Т. Сулайманова, Т.Р. Магадеев [и др.] // *Морфология*. — 2014. — Т. 145, № 3. — С. 231.

108. Пальцев, М.А. Патологическая анатомия / М.А. Пальцев, Н.М. Аничков. — Москва : Медицина, 2001. — Т. 2, ч. II. — 680 с.

109. Патент (изобретение) № RU2605655 С1 Российская Федерация, МПК G09В 23/28 (2006.01). Способ моделирования фиброзно-кистозной болезни молочной железы в эксперименте : № 2015152626/14 : заявл. 08.12.2015 : опубл. : 27.12.2016 / Д.А. Максаев, Ж.А. Свирина, С.А. Анисимова ; заявитель и патентообладатель Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. — 6 с. : ил. — Текст : непосредственный.

110. Патент (изобретение) № RU2676437 С1 Российская Федерация, МПК G09В 23/28 (2006.01). Способ моделирования проканцерогенного действия синэстрола на яичники потомства женского пола у лабораторных мышей: № 2018100495 : заявл. 09.01.2018: опубл.: 28.12.2018 / Р.Т. Сулайманова, Р.М. Хайруллин, А.К. Имаева [и др.]; заявитель и патентообладатель федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU). — 16 с.

111. Патент (изобретение) № RU2722988 C1 Российская Федерация, МПК А61М 5/32 (2006.01), А61К 31/565 (2006.01), А61Р 43/00 (2006.01), G09В 23/28 (2006.01). Способ моделирования проканцерогенного действия фулвестранта на яичники потомства женского пола у лабораторных мышей : № 2019137152 : заявл. 19.11.2019: опубл. : 05.06.2020 / Р.Т. Сулайманова, Х.Х. Мурзабаев, И.Р. Рахматуллина [и др.] ; заявитель и патентообладатель федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU). — 16 с.

112. Павленко, О. Б. Гистологическая характеристика яичника у кошек разного возраста / О. Б. Павленко // Морфология. – 2020. – Т. 157, № 2-3. – С. 161.

113. Плехова, Е.И. Задержка полового развития мальчиков / Е.И. Плехова, О.О. Хижняк, Л.П. Левчук. — Москва : Знание, 2000. — 112 с.

114. Попов, Д. В. Характеристики эмбрионов, полученных от крольчих при различных способах индукции суперовуляции / Д. В. Попов, Г. Ю. Максудов, С. П. Шипова, Г.Ю. Косовский // Кролиководство и звероводство. – 2018. – № 6. – С. 9-15. – DOI 10.24418/KIPZ.2018.6.0001.

115. Попов, Д. В. Индукция суперовуляции у крольчих гипофизарными гонадотропинами / Д. В. Попов, Г. Ю. Максудов, С. П. Шипова, Г. Ю. Косовский // Кролиководство и звероводство. – 2018. – № 5. – С. 10-15. – DOI 10.24418/KIPZ.2018.5.0002.

116. Попов, Д. В. Подходы к получению ооцитов от крольчих и самок норок / Д. В. Попов, Е. С. Колесник, И. С. Кашапова, Г. Ю. Косовский // Кролиководство и звероводство. – 2020. – № 4. – С. 3-8. – DOI 10.24411/0023-4885-2020-10401.

117. Потапов, С.Н. Морфологические особенности клеток Лейдига плодов и новорожденных от матерей с преэклампсией / С.Н. Потапов, Н.И. Горголь, А.В. Андреев // Медицина сегодня и завтра. — 2011. — Т. 4, № 53. — С. 23–26.

118. Потапова, С.Н. Влияние цинка и магния на репродуктивную токсичность у крыс под воздействием кадмия / С. Н. Потапова, И. Р. Кадиков, А.

А. Корчемкин [и др.] // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2021. – Т. 248, № 4. – С. 178-181.

119. Пренатальное воздействие тестостерона пропионата на аногенитальное расстояние у лабораторных мышей / А.В. Фомина, Д.А. Тихонов, Ю.Ф. Зеркалова, Р.М. Хайруллин // Репродуктивное здоровье как фактор демографической стабилизации. Первый национальный форум, 2012. — Ростов н/Д. : РостГМУ, 2012. — С. 74–75.

120. Пренатальное воздействие эстрогенов на яичники потомства / Р. Т. Сулайманова, М. Р. Рязанцева, К. М. Гаспарян [и др.] // Бородинские чтения : Материалы III Международной научно-практической конференции, посвященной 90-летию академика РАН Юрия Ивановича Бородина, Новосибирск, 22 марта 2022 года. – Новосибирск: Новосибирский государственный медицинский университет, 2022. – С. 460-463.

121. Пренатальный стресс и нейроэндокринная патология / А.Г. Резников, В.П. Пишак, Н.Д. Носенко [и др.]. — Черновцы : Медакадемия, 2004. — 351 с.

122. Пренатальный эффект субтоксической дозы синэстрола на яичники потомства лабораторных мышей / Р.Т. Сулайманова // Морфологические ведомости. – 2020. – Т. 28. - № 1. – С. 15.

123. Пренатальный эффект синэстрола на морфологию яичников потомства лабораторных мышей / Р. Т. Сулайманова, Р. М. Хайруллин, С. Ю. Злобина [и др.] // Детская медицина Северо-Запада. – 2020. – Т. 8, № 1. – С. 325.

124. Пренатальное влияние синэстрола на динамику роста потомства / Р. Т. Сулайманова, А. С. Выродов, Д. Д. Литвинова [и др.] // Forcipe. – 2022. – Т. 5, № S2. – С. 466-467.

125. Привес, М.Г. Анатомия человека : учебник / М.Г. Привес, Н.К. Лысенков, В.И. Бушкович. — 13-е изд., испр. и доп. — Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2022. — 896 с.

126. Проканцерогенные эффекты субтоксических доз синэстрола на яичник потомства у лабораторных мышей / Р.М. Хайруллин, Р.Т. Сулайманова Л.И. Сулайманова [и др.] // Морфология. — 2018. — Т. 153, № 3. — С.289–290.

127. Радзинский, В.Е. Биогеоценозы влагалища при угрожающем невынашивании и преждевременных родах / В.Е. Радзинский, Н.Г. Кипяткова, А.В. Мухтарова // Вестник РУДН. — 2009. — № 2. — С. 364–373.

128. Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных / О.Ю. Реброва. — Москва : Медиа Сфера. — 2003. — 312 с.

129. Резніков, О.Г. Механізми розвитку функціональної патології репродукції та адаптації в ранньому онтогенезі / О.Г. Резніков // Журнал АМН України. — 1998. — Т. 4, № 2. — С. 216–233.

130. Репродуктивная эндокринология Йена и Джаффе. Физиология, патофизиология, клиника, диагностика и лечение / Джером Ф. Штраус III, Роберт Л. Барбьери, Антонио Р. Гарджуло. — 8-е изд. — Москва : ООО «Издательство «Медицинское информационное агентство», 2022. — 1200 + XVI с. : ил. ISBN 978-5-9986-0491-1

131. Репродуктивные технологии и рак молочной железы / Р.М. Хайруллин, Р.Т. Сулайманова, В.В. Кометова, Л.Р. Юсупова // Ульяновский медико-биологический журнал. — 2014. — № 4. — С. 47–51.

132. Реунов, А.А. Сперматогенез многоклеточных животных / А.А. Реунов. — Москва : Наука, 2005. — 123 с.

133. Режим введения гормональных препаратов крольчихам для повышения эффективности искусственного осеменения / А. С. Окутин, Н. И. Куликова, Х. З. Заманов, Д.В. Попов, Б.В. Очиров, Г.Ю. Косовский // Естественные и технические науки. — 2019. — № 12(138). — С. 127-130. — DOI 10.25633/ETN.2019.12.12.

134. Роговин, К.А. О возможности неинвазивной оценки репродуктивного статуса самцов хомячка Кэмпбелла (*Phodopus Campbelli*) по цифровым фотоснимкам / К.А. Роговин, О.Н. Шекарова, А.М. Хрущова // Зоологический журнал. — 2011. — № 1. — С. 67–70.

135. Рузен-Ранге, Э. Сперматогенез у животных / Э. Рузен-Ранге ; пер. с англ. Л.В. Даниловой. — Москва : Мир, 1980. — 259 с.

136. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях : учебное пособие для системы медицинского и фармацевтического послевузовского образования / под ред. Н.Н. Каркищенко, С.В. Грачева. — Москва : Профиль-2С, 2010. — 354 с.

137. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ : учебное пособие для системы послевузовского проф. образования врачей / Федер. служба по надзору в сфере здравоохранения и соц. развития Федер. гос. учреждение Науч. центр экспертизы средств мед. применения ; под общ. ред. Р.У. Хабриева. — Москва : Медицина ; Шико, 2005. — 826 с.

138. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических средств / Под ред. Р. У. Хабриева. 2-е изд. – М., 2005.

139. Рыжавский, Б.Я. Состояние важнейших систем в эмбриогенезе: отдаленные последствия / Б.Я. Рыжавский. — Хабаровск : Изд-во Хабаровского краевого центра психического здоровья, 1999. — 203 с.

140. Савченков, Ю.И. Очерки физиологии и морфологии функциональной системы мать — плод / Ю.И. Савченков, К.С. Лобынцев. — Москва : Медицина, 1980. — 254 с.

141. Самусев, Р.П. Железы внутренней секреции / Р.П. Самусев, Е.В. Зубарева. — Москва : Мир и образование, 2011. — 144 с.

142. Саноцкий И. В., Фоменко В. Н. Отдаленные последствия влияния химических соединений на организм. – М., 1979.

143. Сапин, М.Р. Анатомия человека : учебник : в 2 т. / М.Р. Сапин, Д.Б. Никитюк, В.Н. Николенко, С.В. Ключкова ; под ред. М.Р. Сапина. — Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2021. — Т. II. — 464 с.

144. Сафонов, В. А. Концентрация глюкозы в крови молочных коров как индикатор супрессии овуляторной функции яичников после родов / В. А. Сафонов, А. Г. Нежданов, В. И. Михалев [и др.] // Молочное и мясное скотоводство. – 2020. – № 2. – С. 42-46.

145. Саяпина, И.Ю. Морфофункциональная характеристика органов репродуктивной системы самцов крыс при адаптации к низким температурам и на фоне коррекции: экспериментальное исследование : дис. ... д-ра биол. наук : 06.02.01 / Саяпина Ирина Юрьевна. — Благовещенск, 2013. — 386 с.

146. Семченко, В. В. Гистологическая техника. / В. В. Семченко, С. А. Барашкова, В. И. Ноздрин, В. Н. Артемьев. – Омск: Омская областная типография, 2006. – 290 с.

147. Сеин, О. Б. Функциональное состояние яичников у ремонтных свинок после комплексного применения половых феромонов и гонадотропных препаратов / О. Б. Сеин, Р. А. Ершов, Н. Н. Субботина // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. – 2022. – № 3. – С. 89-95.

148. Сеин, О. Б. Препарат половых феромонов барана для стимуляции репродуктивной функции у овец / О. Б. Сеин, Р. А. Ершов, Н. Н. Субботина // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. – 2021. – № 2. – С. 29-34.

149. Сеин, О. Б. Морфофункциональные особенности яичников у ремонтных свинок после стимуляции препаратом натуральных половых феромонов хряка / О. Б. Сеин, А. В. Мамаев, Н. И. Ярован, Н. Н. Субботина // Генетика и разведение животных. – 2022. – № 1. – С. 62-67. – DOI 10.31043/2410-2733-2022-1-62-67.

150. Сеин, О. Б. Получение и производственная апробация препарата половых феромонов хряка / О. Б. Сеин, Н. В. Бабаева, Н. Н. Субботина // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. – 2019. – № 9. – С. 121-127.

151. Сеин, О. Б. Разработка и научно-производственная апробация препарата натуральных половых феромонов хряка / О. Б. Сеин, Н. Н. Субботина // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. – 2023. – № 1. – С. 96-101.

152. Сизоненко, М.Л. Морфофункциональная характеристика сперматогенного пласта у потомства самок крыс с хроническим

экспериментальным поражением печени / М.Л. Сизоненко, Г.В. Брюхин // Проблемы репродукции. — 2012. — № 4. — С. 12–15.

153. Сизоненко, М.Л. Роль хронических экспериментальных поражений гепатобилиарной системы матери различного генеза в нарушении морфофункционального становления мужской репродуктивной системы потомства : дис. ... док. мед. наук : 03.03.04 / Сизоненко Максим Леонидович. — Челябинск, 2015. — 313 с.

154. Синдром андрогенной недостаточности как маркер техногенного загрязнения среды обитания / Ф.Х. Камилов, Ш.Н. Галимов, Э.Ф. Акметдинов [и др.] // Проблемы репродукции. — 2002. — Т. 8, № 1. — С. 46–50.

155. Синхронизация эструса у коров / О. Б. Павленко, Д. А. Остриков, Э. Е. Острикова, И. В. Засемчук // Вестник Донского государственного аграрного университета. — 2023. — № 1(47). — С. 70-77.

156. Соколов, И.И. Цитологические основы полового размножения многоклеточных животных : руководство по цитологии : в 2 т. / И.И. Соколов ; под ред. Л.Н. Жинкина, П.П. Румянцева. — Л.: Наука, 1966. — Т. 2. — С. 390–461.

157. Соотношение возрастов основных лабораторных животных (мышей, крыс, хомячков и собак) и человека: актуальность для проблемы возрастной радиочувствительности и анализ опубликованных данных / А.Н. Котеров, Л.Н. Ушенкова, Е.С. Зубенкова [и др.] // Медицинская радиология и медицинская безопасность. — 2018. — Т. 63, № 1. — С. 5–24.

158. Сравнительное влияние пренатальных воздействий на структурно-функциональные особенности надпочечников потомства лабораторных мышей / А. Ф. Гафурова, Р. Т. Сулайманова, А. Р. Хазиев [и др.] // Морфология. — 2014. — Т. 145, № 3. — С. 53.

159. Структура сперматозоидов и функция простаты и семенных пузырьков / С.В. Боголюбов, О.Б. Поздняков, А.А. Артамонов, А.М. Алисенев // Морфология. — 2014. — Т. 145, № 3. — С. 35.

160. Структурные основы генеративной и эндокринной функции яичников в норме и патологии / Г.Б. Ковальский, Э.М. Китаев, Б.Я. Рыжавский,

Л.М. Мельникова ; науч. ред. проф. Р. А. Прочуханов. — Санкт-Петербург, 1996. — 201 с.

161. Сулайманова, Р. Т. Компенсаторно-приспособительные реакции в плаценте / Р. Т. Сулайманова, Х. Х. Мурзабаев, Н. Н. Заречнова // Морфология. — 2009. — Т. 136, № 4. — С. 134а.

162. Сулайманова, Р. Т. Соматометрические показатели потомства лабораторных мышей при пренатальном воздействии синестрола / Р. Т. Сулайманова // Морфологические ведомости. — 2022. — Т. 30, № 2. — С. 61-63.

163. Сулайманова, Р. Т. Морфология яичников потомства мышей в постнатальном онтогенезе при воздействии эстрогенов на материнский организм / Р. Т. Сулайманова // Современные проблемы морфологии : Материалы научной конференции, посвященной памяти академика РАН, профессора Льва Львовича Колесникова, Москва, 10 декабря 2020 года. — Москва: Издательско-полиграфический центр "Научная книга", 2020. — С. 221-223.

164. Сулайманова, Р. Т. Морфометрические показатели семенников потомства при воздействии синестрола в пренатальный период / Р. Т. Сулайманова // Морфология. — 2019. — Т. 155, № 2. — С. 273-274.

165. Сулайманова, Р. Т. Экспрессия маркера Ki-67 при пренатальном введении эстрогенов на яичники потомства / Р. Т. Сулайманова // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. — 2022. — Т. 16, № 3. — С. 73-77.

166. Сулайманова, Р.Т. Аногенитальное расстояние как биомаркер пренатального действия эстрогенов и риска развития репродуктивных нарушений потомства / Р.Т. Сулайманова // Журнал анатомии и гистопатологии. — 2021. — Т. 10, № 2. — С. 38–42.

167. Сулайманова, Р.Т. Изменения морфологии яичников лабораторных мышей при пренатальном воздействии эстрогенов / Р.Т. Сулайманова, Н.Д. Ахметова, Д.О. Исламгареева // *Anatomicum Latinicumque* : сборник статей ; под ред. проф. Р.М. Хайруллина. — Ульяновск : УЛГУ, 2017. — С. 186–188.

168. Сулайманова, Р.Т. Использование аногенитального расстояния в оценке пренатальных феминизирующих эффектов эстрогенов на потомство

мужского пола в эксперименте / Р.Т. Сулайманова, Р.М. Хайруллин // *Фундаментальные и прикладные аспекты морфогенеза человека: сборник материалов Всероссийской научной конференции с международным участием.* — Оренбург : Оренбургский государственный медицинский университет, 2017. — С. 196–198.

169. Сулайманова, Р.Т. Экспериментальные модели трансгенерационных эффектов влияния эстрогенов на морфологию репродуктивных органов потомства в постнатальном онтогенезе / Р.Т. Сулайманова // *Морфологические ведомости.* — 2019. — Т. 27, № 1. — С. 36–44.

170. Сулайманова, Р.Т. Эффекты пренатального воздействия субтоксической дозы синэстрола на яичники потомства лабораторных мышей / Р.Т. Сулайманова // *Морфологические ведомости.* — 2020. — Т. 28, № 1. — С. 37–42.

171. Сулайманова, Р.Т. Морфология гонад потомства мышей при воздействии эстрогена в период пренатального развития органа / Р. Т. Сулайманова, А. Н. Квочко, Е. С. Аширкаева // *Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии.* – 2023. – № 2. – С. 135-138.

172. Сулайманова, Р.Т. Пренатальный эффект эстрогенов на гонады потомства лабораторных мышей / Р. Т. Сулайманова, А. Н. Квочко // *Вестник АПК Ставрополя.* – 2023. – № 1(49). – С. 25-27. – DOI 10.31279/222-9345-2023-12-49-25-27.

173. Сулайманова, Р.Т. Экспрессия маркера p53 при пренатальном введении эстрогенов на семенники потомства белых лабораторных мышей / Р.Т. Сулайманова // *Известия Оренбургского государственного аграрного университета.* 2023. № 2 (100). С. 227 – 230. <https://doi.org/10.37670/2073-0853-2023-100-2-227-230>

174. Сулайманова, Р.Т. Исследование пренатального влияния эстрогена на постнатальную морфологию семенников потомства / Р.Т. Сулайманова // *Известия Самарской государственной сельскохозяйственной академии.* 2023. №2. С. 74–79. doi: 10.55170/19973225_2023_8_2_74.

175. Сулайманова, Р.Т. Семенники потомства лабораторных мышей при пренатальном введении экспериментальных доз эстрогена / Р.Т. Сулайманова // Вестник Марийского государственного университета. Серия «Сельскохозяйственные науки. Экономические науки». 2023. Т. 9. № 1. С. 44–49. DOI: <https://doi.org/10.30914/2411-9687-2023-9-1-44-49>

176. Сулайманова Р.Т. Молекулярно-биологический маркер BCL-2: анализ семенников при пренатальном введении эстрогенов белым лабораторным мышам / Р.Т. Сулайманова, А.Н. Квочко // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Агронимия и животноводство. 2023. Т. 18. № 2. С. 273—281. doi: 10.22363/2312-797X-2023-18-2-273-281

177. Сулайманова, Р.Т. Соматометрические промеры самцов при пренатальном воздействии препарата эстрогенового рядов / Р. Т. Сулайманова, А. Н. Квочко // Вестник АПК Ставрополя. – 2023. – № 20(50). – С. 13-16. – DOI: 10.31279/222-9345-2023-13-50-13-16

178. Терехова, М.Н. Клинико-морфофункциональная характеристика развития яичников потомства при различном течении беременности : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.01, 14.00.23 / Терехова Мария Николаевна. — Москва, 1994. — 37 с.

179. Топка, Э.Г. Этиология, патогенез, клиническая картина и лечение вторичного мужского бесплодия / Э.Г. Топка, И.И. Горпинченко, И.Н. Малышкин // Урология и нефрология. — 1993. — № 5. — С. 43–48.

180. Торгун, П. М. Особенности сперматогенеза у собак / П. М. Торгун, З. А. Воронцова, И. А. Ульянов // Морфология. – 2020. – Т. 157, № 2-3. – С. 211.

181. Торгун, П. М. Эффективность сперматогенеза у кошек в зависимости от возраста / П. М. Торгун, Д. Б. Никитюк, С. В. Ключкова [и др.] // Журнал анатомии и гистопатологии. – 2020. – Т. 9, № 1. – С. 64-68.

182. Торгун, П. М. Кариометрические исследования овоцитов в яичнике северных морских котиков / П. М. Торгун, К. А. Лободин, А. Г. Нежданов, Е. И. Мозговая // Морфология. – 2019. – Т. 155, № 2. – С. 281.

183. Трансгенерационный эффект пренатального действия синестрола на морфофункциональную характеристику яичников потомства лабораторных мышей / Р. Т. Сулайманова, Р. М. Хайруллин, С. Ю. Злобина [и др.] // *Forcipe*. – 2020. – Т. 3, № 4. – С. 5-11.

184. Трансгенерационный эффект влияния токсической дозы синестрола на морфофункциональную характеристику яичников потомства лабораторных мышей / Р. Т. Сулайманова, Р. М. Хайруллин, А. С. Выродов [и др.] // *Детская медицина Северо-Запада*. – 2020. – Т. 8, № 1. – С. 323-324.

185. Улумбеков, Э.Г. Гистология / Э.Г. Улумбеков, Ю.А. Челышев. — Москва : ГЭОТАР-Мед, 2001. — 694 с.

186. Ульянов, И. А. Эффективность сперматогенеза у русской выхухолы в различные сезоны года / И. А. Ульянов, З. А. Воронцова, П. М. Торгун [и др.] // *Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание*. – 2022. – Т. 16, № 1. – С. 114-120.

187. Устинкина, Т.И. Общие вопросы эндокринологии мужской половой системы: структурно-функциональная организация, этиопатогенез недостаточности и основные формы нарушений половых желез / Т.И. Устинкина // *Проблемы эндокринологии*. — 2007. — Т. 53, № 6. — С. 34–40.

188. Феномен образования универсальных розеткообразующих клеток при суперэкстремальных нагрузках / И.В. Петрова, С.Н. Кузьмин, Т.С. Куршакова [и др.] // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. — 1985. — № 2. — С. 72–76.

189. Харченко, Т.Н. Развитие белых крыс в условиях хронической свинцовой интоксикации / Т.Н. Харченко // *Доклад АН УССР*. — 1988. — № 2. — С. 85–88.

190. Хилькевич Л. В., Курило Л. Ф. // *Онтогенез*. – 1992. – Т. 23, № 5. – С. 506-510.

191. Хэм, А. Гистология : в 5 т. / А. Хэм, Д. Кормак ; пер. с англ. под ред. Ю. И. Афанасьева, Ю. С. Ченцова. — Москва : Мир, 1982 — Т. 5. — 296 с.

192. Цомартова, Д.А. Постнатальный морфогенез и секреторная деятельность надпочечников в условиях воздействия эндокринного дисраптора ДДТ : дис. ... д-ра мед. наук : 03.03.04 / Цомартова Дибыхан Асланбековна. — Москва, 2020. — 278 с.

193. Шарафутдинова, Л.А. Морфофункциональные изменения нервной, иммунной и репродуктивной систем при воздействии наноразмерного диоксида титана в форме рутила : дис. ... д-ра биол. наук : 03.03.04 / Шарафутдинова Люция Ахтямовна. — Казань, 2019. — 258 с.

194. Шепитько, В.И. Динамика ранних сроков острого асептического воспаления семенников под влиянием трансплантации криоконсервированной плаценты / В.И. Шепитько, Е.В. Стецук // Морфология — 2007. — Т. 1, № 1. — С. 120–123.

195. Шубина, О.С. Свинец и его влияние на организм / О.С. Шубина, Л.В. Грызлова, Ю.В. Киреева. — Саранск : Мордов. гос. пед. ин-т, 2007. — 58 с.

196. Яглова, Н.В. Эндокринные дизрапторы — новое направление исследований в эндокринологии / Н.В. Яглова, В.В. Яглов // Вестник РАМН. — 2012. — № 3. — С.56–61.

197. 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid residues in semen of Ontario farmers / T.E. Arbuckle, S.M. Scharader, D. Cole [et al.] // *Reprod. Toxicol.* — 1999. — Vol. 13, № 6. — P. 421–429.

198. A mixture of diethylhexyl, diisononyl and dibutyl phthalate decreased anogenital distance, postnatal testosterone levels, and changed social behavior in wistar rats / M. Morová, T. Senko, L. Olexová [et al.] // *Physiol. Res.* — 2020. — Vol. 69, № S.3. — P. S489–S498.

199. A prospective study of dietary acrylamide intake and the risk of endometrial, ovarian, and breast cancer / J.G. Hogervorst, L.J. Schouten, E.J. Konings [et al.] // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* — 2007. — Vol. 16, № 11. — P. 11–13.

200. A randomized double-blind controlled trial of the value of stilbestrol therapy in pregnancy: long-term follow-up of mothers and their offspring / M.P. Vessey,

D.V. Fairweather, B. Norman-Smith, J. Buckley // *Br. J. Obstet. Gynecol.* — 1983. — Vol. 90, № 11. — P. 1007–1017.

201. A systematic review and meta-analysis of perinatal variables in relation to the risk of testicular cancer--experiences of the son / M.B. Cook, O. Akre, D. Forman [et al.] // *Int. J. Epidemiol.* — 2010. — Vol. 39, № 6. — P. 1605–18.

202. A twenty-five year follow-up study of women exposed to diethylstilbestrol during pregnancy / M. Bibbo, W.M. Haenszel, G.L. [et. al.] // *N. Engl. J. Med.* — 1978. — Vol. 298, № 14. — P. 763–767.

203. A variety of environmentally persistent chemicals. including some phthalate plasticizers, are weakly estrogenic / S. Jobling, T. Reynolds, R. White [et al.] // *Environ. Health Perspect.* — 1995. — Vol. 103, № 6. — P. 582–587.

204. Acrylamide: increased concentrations in homemade food and first evidence of its variable absorption from food, variable metabolism and placental and breast milk transfer in humans / F. Sörgel, R. Weissenbacher, M. Kinzig-Schippers [et al.] // *Chemotherapy.* — 2002. — Vol. 48? № 6. — 267–274.

205. Amoako, P.K. Pesticides usage in cabbage (*Brassica oleracea*) cultivation in the forest ecozone of Ghana / P.K. Amoako, P. Kumah, F. Appiah // *Int. J. Res. Chem. Environ.* — 2012. — № 2. — P. 26–31.

206. Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in heated foodstuffs / E. Tareke, P. Rydberg, P. Karlsson [et al.] // *J. Agric. Food Chem.* — 2002. — Vol. 50, № 17. — P. 4998–5006.

207. Analysis of age-associated changes in mitochondrial free radical generation by rat testis / M.E. Vazquez-Memije, R. Capin, A. Tolosa, M. El-Hafidi // *Mol. Cell Biochem.* — 2008. — Vol. 307, № 1. — P. 23–30.

208. Analysis of hemoglobin adducts from acrylamide, glycidamide, and ethylene oxide in paired mother/cord blood samples from Denmark / H. von Stedingk, A.C. Vikström, P. Rydberg [et al.] // *Chem. Res. Toxicol.* — 2011. — Vol. 24, № 11. — P. 1957–1965.

209. Anogenital distance as a marker of androgen exposure in humans / A. Thankamony, V. Pasterski, K.K. Ong [et al.] // *Andrology*. — 2016. — Vol. 4, № 4. — P. 616–25.

210. Anogenital distance as a toxicological or clinical marker for fetal androgen action and risk for reproductive disorders / C.L. Schwartz, S. Christiansen, A.M. Vinggaard [et al.] // *Arch. Toxicology*. — 2019. — Vol. 93. — P. 253–272.

211. Anogenital distance of women in relation to their mother's gynaecological characteristics before or during pregnancy / M.P. Mira-Escolano, J. Mendiola, L. Mínguez-Alarcón [et al.] // *Reprod. Biomed. Online*. — 2014. — Vol. 28, № 2. — P. 209–15.

212. Anti-Müllerian hormone and ovarian dysfunction / F.J. Broekmans, J.A. Visser, J.S. Laven [et al.] // *Trends Endocrinol. Metab.* — 2008. — Vol. 19, № 9. — P. 340–347.

213. An experimental study of the effects of synestrol during pregnancy on the postnatal morphology of the testicles of the offspring / R. T. Sulaymanova, R. M. Khayrullin, A. A. Izmailov [et al.] // *Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger*. — 2020. — Vol. 230, No. S. — P. 6-7. — DOI 10.1016/j.aanat.2020.151532.

214. Assessing exposure to phthalates — the human biomonitoring approach / M. Wittassek, H.M. Koch, J. Angerer, T. Bruning // *Mol. Nutr. Food Res.* — 2011. — Vol. 55. — P. 7–31.

215. Assessment of nonoccupational exposure to DDT in the tropics and the north: relevance of uptake via inhalation from indoor residual spraying / R. Ritter, M. Scheringer, M. MacLeod, K. Hungerbuhler // *Environ. Health Perspect.* — 2011. — V. 119, № 5. — P. 707–712.

216. Association of phthalate esters with endometriosis in Indian women / B.S. Reddy, R. Rozati, B.V. Reddy, N.V. Raman // *BJOG*. — 2006. — Vol. 113, № 5. — P. 515–520.

217. Associations between urinary phthalate monoesters and thyroid hormones in pregnant women / P.C. Huang, P.L. Kuo, Y.L. Guo [et al.] // *Hum. Reprod.* — 2007. — Vol. 22, № 10. — P. 2715–2722.

218. Associations of prenatal exposure to multiple metals with testicular volume and anogenital distance in infant boys: a longitudinal cohort study / L. Huang, S. Huang, X. Luo [et al.] // *Environ. Int.* — 2020. — Vol. 143. — P. 105900.

219. Autologous Transplantation of Adult Mice Spermatogonial Stem Cells into Gamma Irradiated Testes / K. Morteza, M. Mansoureh, J.M. Seyed, G. Hamid // *Cell J.* — 2012. — Vol. 14, № 2. — P. 82–89.

220. Beatson, G.T. On the treatment of inoperable cases of carcinoma of the mamma: suggestions for a new method of treatment with illustrative cases / G.T. Beatson // *Trans. Med. Chir. Soc. Edinb.* — 1896. — № 15. — P. 153–179.

221. Baker T. G., Neal P. // *The ovary* / Eds S/ Zuckerman, B. I. Weir. — New York, 1977. — Vol. 1. — P. 1-58

222. Barker DJ. In utero programming of chronic disease. *Clin Sci (Lond)*. 1998;95:115-128.

223. Bisphenol-A: an estrogenic substance is released from polycarbonate flasks during autoclaving / A.V. Krishnan, P. Stathis, S.F. Permuth // *Endocrinology*. — 1993. — Vol. 132, № 6. — P. 2279–2286.

224. Bloom, W. *Textbook of histology* / W. Bloom, D.W. Fawcett. — New York: Saunders Co., 1975. — 1033 p.

225. Boylan, E.S. Mammary tumorigenesis in the rat following prenatal exposure to diethylstilbestrol and postnatal treatment with 7,12-dimethylbenz(a)anthracene / E.S. Boylan, R.E. Calhoon // *Jyo Toxicol. Environ. Health*. — 1979. — Vol. 5, № 6. — P. 1059–1071.

226. Breast cancer in mothers given diethylstilbestrol in pregnancy / E.R. Greenberg, A.B. Barnes, L. Resseguie [et al.] // *N. Engl. J. Med.* — 1984. — Vol. 311, № 22. — P. 1393–1398.

227. Calafat, A.M. Integrating biomonitoring exposure data into the risk assessment process: phthalates [diethyl phthalate and di(2-ethylhexyl) phthalate] as a case study / A.M. Calafat, R.H. McKee // *Environ. Health Perspect.* — 2006. — Vol. 114, № 11. — P. 1783–1789.

228. Changes in thyroid gland morphology after acute acrylamide exposure / M.A. Khan, C.A. Davis, G.L. Foley [et al.] // *Toxicol. Sci.* — 1999. — Vol. 47, № 2. — P. 151–157.

229. Characteristics of the transgenerational effect of the toxic dose of synestrol on the morphology of ovaries in the experiment / R.M. Khayrullin, R.T. Sulaymanova, Sh.P. Kumar [et al.] // *Morfologija.* — 2018. — Vol. 153, № S3–S1. — P. 61.

230. Characterization of ciliary activity in distal Fallopian tube biopsies of women with obstructive tubal infertility / Z. Leng, D.E. Moore, B.A. Mueller [et al.] // *Hum. Reprod.* — 1998. — Vol. 13, № 11. — P. 3121–3127.

231. Charlier, C. Environmental dichlor-o-diphenyl-trichlorethane or hexachlorobenzene exposure and breast cancer: is there a risk? / C. Charlier, F.M. Foidart, F. Pitance // *Clin. Chem. Lab. Med.* — 2004. — Vol. 42, № 2. — P. 222–227.

232. Chehab, M. On-label and off-label drugs used in the treatment of male infertility / M. Chehab, A. Madala, J.C. Trussell // *Fertil. Steril.* — 2015. — Vol. 103, № 3. — P. 595–604.

233. Choi, J. p53 in embryonic development: maintaining a fine balance / J. Choi, L.A. Donehower // *Cell Mol. Life Sci.* — 1999. — Vol. 55, № 1. — P. 38–47.

234. Chronic toxicity and oncogenicity study on acrylamide incorporated in the drinking water of fischer 344 rats / K.A. Johnson, S.J. Gorzinski, K.M. Bodner [et al.] // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* — 1986. — Vol. 85, № 2. — P. 154–68.

235. Characteristics of the transgenerational effect of the toxic dose of synestrol on the morphology of ovaries in the experiment / R. M. Khayrullin, R. T. Sulaymanova, P. K. Sharma [et al.] // *Morphology.* – 2018. – Vol. 153, No. S3-1. – P. 61.

236. CLARITY-BPA academic laboratory studies identify consistent low-dose Bisphenol A effects on multiple organ systems / G.S. Prins, H.B. Patisaul, S.M. Belcher, L.N. Vandenberg, // *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* — 2019. Vol. 125, suppl. 3. — P. 14–31.

237. Comparative prenatal effects of sex steroids on anogenital distance of the offspring of laboratory mice / R.M. Khayrullin, R.T. Sulaymanova, R.I. Bakhtiyarov [et

al.] // The 7th International Symposium of Clinical and Applied Anatomy: Book of abstracts ISCAA. — Bratislava : Comenius University in Bratislava, 2015. — 140 p.

238. Concepts and mechanisms of generalized central nervous system arousal / D. Pfaff, A. Ribeiro, J. Matthews, L.-M. Kow // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* — 2008. — № 1129. — P. 11–25.

239. Cora, M.C. Vaginal Cytology of the Laboratory Rat and Mouse: Review and Criteria for the Staging of the Estrous Cycle Using Stained Vaginal Smears / M.C. Cora, L. Kooistra, G. Travlos // *Toxicol. Pathol.* — 2015. — Vol. 43, № 6. — P. 776–793.

240. Correlation of umbilical cord blood hormones and growth factors with stem cell potential: implications for the prenatal origin of breast cancer hypothesis / T.M. Savarese, W.C. Strohsnitter, H.P. Low [et al.] // *Breast Cancer Res.* — 2007. — Vol. 9, № 3. — P. R29.

241. Creasy, D.M. Pathogenesis of male reproductive toxicity / D.M. Creasy // *Toxicologic Pathology.* — 2001. — Vol. 29, № 1. — P. 64–76.

242. Cross-sectional study of a community with exceptional exposure to DDT / K. Kreiss, M.M. Zack, R.D. Kimbrough [et al.] // *JAMA.* — 1981. — Vol. 245, № 19 — P. 1926–1930.

243. Davis, E.P. The timing of prenatal exposure to maternal Cortisol and psychosocial stress is associated with human infant cognitive development / E.P. Davis, C.A. Sandman // *Child Dev.* — 2010. — Vol. 81, № 1. — P. 131–148.

244. Delbès G, Levacher C, Habert R. Estrogen effects on fetal and neonatal testicular development. *Reproduction.* 2006 Oct;132(4):527-38. doi: 10.1530/rep.1.01231.

245. DDT, a review of scientific and economic aspects of the decision to ban its use as a pesticide / United States. Environmental Protection Agency. — Washington, D.C. : U.S. Environmental Protection Agency, 1975.

246. Dean, A. Clinical review: anogenital distance or digit length ratio as measures of fetal androgen exposure: relationship to male reproductive development

and its disorders / A. Dean, R.M. Sharpe // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* — 2013. — Vol. 98, № 6. — P. 2230–2238.

247. Descriptions of the mature spermatozoa of the lizards *Crotaphytus bicinctores*, *Gambelia wislizenii* (Crotaphytidae), and *Anolis carolinensis* (Polychrotidae) (Reptilia, Squamata, Iguania) / D.M. Scheltinga, B.G. Jamieson, R.E. Espinoza, K.S. Orrell // *J. Morphol.* — 2001. — Vol. 247, № 2. — P. 160–171.

248. Developmental exposure to low-dose estrogenic endocrine disruptors alters sex differences in exploration and emotional responses in mice / L. Gioiosa, E. Fissore, G. Ghirardelli [et al.] // *Horm. Behav.* — 2007. — Vol. 52, № 3. — P. 307–316.

249. Developmental Programming: Physiological Impacts of Prenatal Melatonin Administration on Reproductive Capacity and Serum Triiodothyronine of Adult Female Offspring Rat Born to Moms Exposed to Bisphenol A During Pregnancy / A. Abdel-Wahab, K.M.A. Hassanin, S.S. Ibrahim [et al.] // *Reproductive Sciences.* — 2021. — Vol. 28, № 7. — P. 1956–1966.

250. Dietary intake of acrylamide in Sweden / K. Svensson, L. Abramsson, W. Becker [et al.] // *Food Chem. Toxicol.* — 2003. — Vol. 41, № 11. — P. 1581–1586.

251. Does the administration of diethylstilbestrol during pregnancy have therapeutic value? / W.J. Dieckmann, M.E. Davis, L.M. Rynkiewicz, R.E. Pottinger // *Am. J. Obstet. Gynecol.* — 1953. — Vol. 66, № 5. — P. 1062–1081.

252. Drickemer, L.C. Anogenital distance and dominance status in male house mice (*Mus domesticus*) / L.C. Drickemer // *Aggress. Behav.* — 1995. — Vol. 21, № 4. — P. 301–309.

253. Dutta, S. Men and mice: relating their ages / S. Dutta, P. Sengupta // *Life Sci.* — 2016. — № 152. — P. 244–248.

254. Dym, M. Basement membrane regulation of Sertoli cells / M. Dym // *Endocr. Rev.* — 1994 — Vol. 15, № 1. — P. 102–115.

255. Dysontogenetic effect of the subtoxic dose of synestrol on the ovaries of the offspring of laboratory mice / R. T. Sulaymanova, R. M. Khayrullin, L. M. Gazdalieva, L. I. Sulaymanova // *Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger.* – 2020. – Vol. 230, No. S. – P. 73-74. – DOI 10.1016/j.aanat.2020.151532

256. ED and children health. Possible developmental early effects of endocrine disrupters on child health. — [S. l.] : World Health Organization, 2012. — 93 p.

257. EDC-2: The Endocrine Society's Second Scientific Statement on Endocrine Disrupting Chemicals / A. Gore, V.A. Chappell, S.E. Fenton [et al.] // *Endocrine Reviews*. — 2015. — Vol. 36, № 6. — P. E1–E150.

258. Effect of clomiphene citrate on sperm density in male partners of infertile couples / S.S. Patankar, S.B. Kaore, M.V. Sawane [et al.] // *Indian J. Physiol. Pharmacol.* — 2007. — Vol. 51, № 2. — P.195–198.

259. Effects of age, sex, and persistent organic pollutants on DNA methylation in children / K. Huen, P. Yousefi, A. Bradman [et al.] // *Environ. Mol. Mutagen.* — 2013. — Vol. 55, № 3. — P. 209–222.

260. Effects of perinatal ethinyl estradiol exposure in male and female Wistar rats / K.R. Mandrup, P.R. Jacobsen, L.K. Isling [et al.] // *Reprod. Toxicol.* — 2013. — Vol. 42. — P. 180–91.

261. Effect of prenatal androgenization at the finger length and 2D:4D digit ratio of laboratory mice / R. M. Khayrullin, A. V. Fomina, R. T. Sulaymanova, N. K. Aynullova // *Revista Argentina de Anatomía Clínica*. — 2013. — Vol. 5, No. 2. — P. 124.

262. Eisenberg, M.L. Anogenital distance as a measure of human male fertility / M.L. Eisenberg, LI. Lipshults // *J. Assist. Reprod. Genet.* — 2015. — Vol. 32, № 3. — P. 479–484.

263. Empereire, J.-C. Le deslancement le 'ovulation / J.-C. Empereire // *Gyn. Obs.* — 1999. — № 408. — P. 24–26.

264. EMT inducers catalyze malignant transformation of mammary epithelial cells and drive tumorigenesis towards claudin-low tumors in transgenic mice / A.P. Morel, G.W. Hinkal, T. Clémence [et al.] // *PLoS Genet.* — 2012. — Vol. 8, № 5. — P. e1002723.

265. Endocrine-disrupting chemicals: an endocrine society scientific statement / E. Diamanti-Kandarakis, J-P. Bourguignon, L. Giudice [et al.] // *Endocrine Reviews*. — 2009. — Vol. 30, № 4. — P. 293–342.

266. Environment and human exposure to persistent organic pollutants (POPs) in India: a systematic review of recent and historical data / B.M. Sharma, G.K. Bharat, S. Tayal [et al.] // *Environ. Int.* — 2014. — V. 66. — P. 48–64.

267. Environmental chemicals and thyroid function / M. Boas, U. Feldt-Rasmussen, N.E. Skakkebaek, K.M. Main // *Eur. J. Endocrinol.* — 2006. — Vol. 154, № 5. — P. 599–611.

268. Environmental influences on ovarian dysgenesis — developmental windows sensitive to chemical exposures / H.K.L. Johansson, T. Svingen, P.A. Fowler [et al.] // *Nat. Rev. Endocrinol.* — 2017. — Vol. 13, № 7. — P. 400–414.

269. Environmental toxins: exposure to bisphenol a advances puberty / K.L. Howdeshell, A.K. Hotchkiss, K.A. Thayer [et al.] // *Nature.* — 1999. — Vol. 401. — P. 763–764.

270. Estrogenic activity of certain synthetic compounds / E.C. Dodds, L. Goldberg, W. Lawson, R. Robinson // *Nature.* — 1938. — Vol. 141. — P. 247–248.

271. Estrogenic chemicals in plastic and oral contraceptives disrupt development of the fetal mouse prostate and urethra / B.G. Timms, K.L. Howdeshell, L. Barton [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2005. — Vol. 102, № 19. — P. 7014–7019.

272. Estrogen-induced rat breast carcinogenesis is characterized by alterations in DNA methylation, histone modifications and aberrant microRNA expression / O. Kovalchuk, V.P. Tryndyak, B. Montgomery [et al.] // *Cell Cycle.* — 2007. — Vol. 15, № 6 (16). — P. 2010–2018.

273. Exposure to phthalates and breast cancer risk in northern Mexico / L. Lopez-Carrillo, R.U. Hernandez-Ramirez, A.M. Calafat [et al.] // *Environ. Health Perspect.* — 2010. — Vol. 118, № 4. — 539–544.

274. Faroon, O. Toxicological profile for DDT, DDE, and DDD / O. Faroon, M. Harris // Agency for Toxic Substances and Disease Registry. — 2002. — 477 p.

275. Fawcett, D.W. The mammalian spermatozoon / D.W. Fawcett // *Dev. Biol.* — 1975. — Vol. 44, № 2. — P. 394–436.

276. Findlay J.K. Reproductive science and the future of the planet / J.K. Findlay, M.K. Holland B.B.M. Wong // *Reproduction*. - 2019. - 158. - P p . 91-96.
277. Follow-up study of male and female offspring of DES-exposed mothers / M. Bibbo, W.B. Gill, F. Azizi [et al.] // *Obstet. Gynecol.* — 1977. — Vol. 49, № 1. — P. 1–8.
278. Fortune, J.E. Follicular development: the role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle / J.E. Fortune, G.M. Rivera, M.Y. Yang // *Anim. Reprod. Sci.* — 2004. — Vol. 82–83. — P. 109–126.
279. Friedman, M.A. A lifetime oncogenicity study in rats with acrylamide / M.A. Friedman, L.H. Dulak, M.A. Stedham // *Fundam. Appl. Toxicol.* — 1995. — Vol. 27, № 1. — P. 95–105.
280. Gandelman, R. Deleterious effects of prenatal prednisolone exposure upon morphological and behavioral development of mice / R. Gandelman, C. Rosenthal // *Teratology*. — 1981. — Vol. 24, № 3. — P. 293–301.
281. Gebremichael, S. Organochlorine pesticide residues in human and cow's milk in the towns of Asendabo, Serbo and Jimma in South-Western Ethiopia / S. Gebremichael, T. Birhanu, D.A. Tessema // *Chemosphere*. — 2013. — Vol. 90, № 5. — P. 1652–1657.
282. Gene expression profile of terminal end buds in rat mammary glands exposed to diethylstilbestrol in neonatal period / Y. Umekita, M. Souda, K. Hatanaka [et al.] // *Toxicol. Lett.* — 2011. — Vol. 10, № 205 (1). — P. 15–25.
283. Genotoxicity of acrylamide and its metabolite glycidamide administered in drinking water to male and female big blue mice / M.G. Manjanatha, A. Aidoo, S.D. Shelton [et al.] // *Environ. Mol. Mutagen.* — 2006. — Vol. 47, № 1. — P. 6–17.
284. Geostatistical modeling of the spatial distribution of soil dioxins in the vicinity of an incinerator. 1. Theory and application to Midland, Michigan / P. Goovaerts, H.T. Trinh, A. Demond [et al.] // *Environ. Sci. Technol.* — 2008. — Vol. 42, № 10. — P. 3648–3654.
285. Ginther O.J. Ultrasonic imaging and animal reproduction: horses. -USA, Equiservices Publishing, 1995.-394p.

286. Global trends in the use of insecticides to control vector-borne diseases / H. Van den Berg, M. Zaim, R.S. Yadav [et al.] // *Environ. Health Perspect.* — 2012. — Vol. 120, № 4. — P. 577–582.

287. Godfrey, K.M. Fetal programming and adult health / K.M. Godfrey, D.J. Barker // *Public Health Nutr.* — 2001. — Vol. 4 (2B). — P. 611–624.

288. Growth and behavioral effects of prenatal cortisol injection on early postnatal development of offspring of laboratory mice / A. F. Gafurova, L. R. Yusupova, R. I. Zaripova [et al.] // *The 6th International Symposium of Clinical and Applied Anatomy, Malinska, Rijeka, Croatia, 26–29 июня 2014 года. – Malinska, Rijeka, Croatia: THE UNIVERSITY OF RIJEKA, 2014. – P. 77.*

289. Hanahan, D. The hallmarks of cancer / D. Hanahan, R.A. Weinberg // *Cell.* — 2000. — Vol. 100, № 1. — P. 57–70.

290. Hatsumi, T. Downregulation of estrogen receptor gene expression by exogenous 17beta-estradiol in the mammary glands of lactating mice / T. Hatsumi, Y. Yamamuro // *Exp. Biol. Med. (Maywood).* — 2006. — Vol. 231, № 3. — P. 311–316.

291. Health assessment document for 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) and related compounds : in 1–3 vol. / U.S. Environmental Protection Agency. — Washington, DC : US Environmental Protection Agency Office of Health and Environmental Assessment, Office of Research and Development, 1994.

292. Herbst, A.L. Adenocarcinoma of the vagina. Association of maternal stilbestrol therapy with tumor appearance in young women / A.L. Herbst, H. Ulfelder, D.C. Poskanzer // *N. Engl. J. Med.* — 1971. — Vol. 284, № 15. — P. 878–881.

293. Hess, R.A. Estrogen in the male: a historical perspective / R.A. Hess, P.S. Cooke // *Biol. Reprod.* — 2018. — Vol. 99, № 1. — P. 27–44.

294. Hess, R.A. Spermatogenesis and cycle of the seminiferous epithelium. Molecular mechanisms in spermatogenesis / R.A. Hess, R.L. Franca // *Austin. TX: Landes Bioscience.* — [S. l.] : Springer Science, 2008. — P. 1–15.

295. High plasma concentrations of di-(2-ethylhexyl)-phthalate in women with endometriosis / L. Reddy, G. Latini, De Felice [et al.] // *Hum. Reprod.* — 2003. — № 18. — P. 1512–1515.

296. High plasma concentrations of polychlorinated biphenyls and phthalate esters in women with endometriosis: a prospective case control study / B.S. Reddy, R. Rozati, S. Reddy [et al.] // *Fertil Steril.* — 2006. — Vol. 85, № 3. — P. 775–779.

297. Histopathology of the testis quantitative evaluation of testis histopathology / L.D. Russell, R.A. Ettlin, A.P. Hikim, E.D. Clegg. — [S. l.] : [s. n.], 1990. — P. 240–264.

298. Hond, D.E. Endocrine disrupters and human puberty / E.D. Hond, G. Schoeters // *Int. J. Androl.* — 2006. — Vol. 29, № 1. — P. 264–271.

299. Human exposure and internal dose assessments of acrylamide in food / E. Dybing, P.B. Farmer, M. Andersen [et al.] // *Food Chem. Toxicol.* — 2005. — Vol. 43, № 3. — P. 365–410.

300. Human exposure to bisphenol A (BPA) / L.N. Vandenberg, R. Hauser, M. Marcus [et al.] // *Reprod. Toxicol.* — 2007 — Vol. 24, № 2. — P. 139–177.

301. IARC. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. — 1994. — Vol. 60. — 560 p.

302. Imbalance between apoptosis and cell proliferation during early stages of mammary gland carcinogenesis in ACL rats / K.R. Kutanzi, I. Koturbash, R.T. Bronson [et al.] // *Mutation Res.* — 2010. — Vol. 694, № 1–2. — P. 1–6.

303. Increased breast cancer risk after multiple implantation in IVF: a cohort study / E. Groeneveld, I. Krul, M. Spaan [et al.] // *ESHRE.* — 2013. — Abstract L13. — P. 1178.

304. Induction of epithelial neoplasms in the ovaries guinea pigs by estrogenic stimulation / E.G. Silva, C. Tornos, M. Deavers, K. Kaisman // *Gynecol. Oncol.* — 1998. — Vol. 71, № 2. — 240–246.

305. Induction of mammary gland ductal hyperplasias and carcinoma in situ following fetal bisphenol a exposure / T.J. Murray, M.V. Maffini, A.A. Ucci [et al.] // *Reprod. Toxicol.* — 2007. — Vol. 23, № 3. — P. 383–390.

306. Infertility with defective spermatogenesis and hypotestosteronemia in male mice lacking the androgen receptor in Sertoli cells / C. Chang, Y.T. Chen, S.D. Yen [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci USA*. — 2004. — Vol. 101. — P. 6876–6881.

307. Increased breast cancer risk after multiple implantation in IVF: a cohort study / E. Groene-veld [et al.] // *ESHRE*. - 2013. - Abstract L13. -P. 1178.

308. Jaga, K. Global surveillance of DDT and DDE levels in human tissues / K. Jaga, C. Dharmani // *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*. — 2003. — Vol. 16, № 1. — P. 7–20.

309. Jorgensen, E.M. Bisphenola exposure in utero alters developmental programming and estrogen responsiveness of the RET Proto-oncogene / E.M. Jorgensen, M.H. Alderman, H.S. Taylor // *Reprod. Sci.* — 2011. — Vol. 18, № 3. — P. 154.

310. Karaca, T. Distribution and quantitative patterns of mast cells in ovary and uterus of rat / T. Karaca, S. Uslu // *Arch Med*. — 2007. — Vol. 39, № 2. — P. 389–393.

311. Kelce, S.M. Effect of lead acetate on the ovarian growth in the pre-pubertal and pubertal periods in the offspring of albino rats and the possible protective role of nigella sativa oil / S.M. Ouies, S.R. Ahmed, A.S. Bassit // *Egyptian Journal of Histology*. — 2021. — Vol. 44, № 3. — P. 814–827.

312. Khayrullin, R.M. Effect of prenatal exposure of various doses of synestrol on ovarian morphology in adult life of offspring / R.M. Khayrullin, R.T. Sulaymanova, L.R. Yusupova // 112th Annual Meeting Deutsche Anatomische Gesellschaft, September 20–22, 2017. — Würzburg, Germany : Würzburg, 2017. — P. 34.

313. Khayrullin, R.M. Toxic doses of estrogen during pregnancy lead to irreversible changes in the ovaries of the offspring / R.M. Khayrullin, R.T. Sulaymanova // XXVI International Symposium on Morphological Sciences. Book of Abstracts. — Prague : AMCA, 2018. — P. 35.

314. Kimura, T. Effects of prenatal treatment with estrogen on mitotic activity of vaginal anlage cells in mice / T. Kimura, S. Kawashin, Y. Nishizuka // *Endocrinol. J.* — 1980. — Vol. 27, № 6. — P. 739–745.

315. Lacassagne, A. Apparition de cancer de la mamelle chez la souris male, soumise a des injections de folliculine / A. Lacassagne // *Compt. Rend. Acad. Sci.* — 1932. — Vol. 195. — P. 630–632.

316. Lamb, J.C. Visualization by light and scanning electron microscopy of reproductive tract lesions in female mice treated transplacentally with diethylstilbestrol / J.C. Lamb, R.R. Newbold, J.A. McLachlan // *Cancer Res.* — 1981. — Vol. 41, № 10. — P. 4057–4062.

317. Lau, C. Embryonic and fetal programming of physiological disorders in adulthood / C. Lau, J.M. Rogers // *Birth Defects Res. C. Embryo Today.* — 2004. — Vol. 72, № 4. — P. 300–312.

318. Levels of seven urinary phthalate metabolites in a human reference population / B.C. Blount, M.J. Silva, S.P. Caudill [et al.] // *Environ. Health Perspect.* — 2000. — № 108. — P. 979–982.

319. Lee I. P., Russell L. L. // *Male fertility and its regulation* / Eds T. Lobl et al. — Boston, 1985. — P. 203–223.

320. Liu, L. Maternal glucocorticoid treatment programs HPA regulation in adult offspring: sex-specific effects / L. Liu, A. Li, S.G. Matthews // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* — 2001. — Vol. 280, № 5. — P. 29–39.

321. Longnecker, M.P. Invited Commentary: Why DDT matters now / M.P. Longnecker // *Am. J. Epidemiol.* — 2005. — Vol. 162, № 8. — P. 726–728.

322. Long-term effects of fetal exposure to low doses of the xenoestrogen bisphenol-A in the female mouse genital tract / C.M. Markey, P.R. Wadia, B.S. Rubin [et al.] // *Biol. Reprod.* — 2005. — Vol. 72, № 6. — P. 1344–1351.

323. Macdonald, R.W. Recent climate change in the Arctic and its impact on contaminant pathways and interpretation of temporal trend data / R.W. Macdonald, T. Harner, J. Fyfe // *Sci. Total Environ.* — 2005. — Vol. 342, № 1–3. — P. 5–86.

324. Male reproductive disorders and fertility trends: influences of environment and genetic susceptibility / N.E. Skakkebaek, E.R.-De Meyts, G.M. Buck Louis [et al.] // *Physiol. Rev.* — 2016. — Vol. 96, № 1. — P. 55–97.

325. Maternal effects on anogenital distance in a wild marmot population / T.D. Fouqueray, D.T. Blumstein, R. Monclús [et al.] // *PLoS One*. — 2014. — Vol. 9, № 3. — P. 92718.

326. Maternal exposure to bisphenol A during pregnancy interferes ovaries development of F1 female mice / Y. Wei, C. Han, S. Li [et al.] // *Theriogenology*. — 2020. — Vol. 142. — P. 138–148.

327. Marks T. A. // *Male fertility and its regulation* / Eds T. Lobl et al. — Boston, 1985. 245-267.

328. McLachlan, J.A. Long-term effects on the female mouse genital tract associated with prenatal exposure to diethylstilbestrol / J.A. McLachlan, R.R. Newbold, B.C. Bullock // *Cancer Res*. — 1980. — Vol. 40, № 11. — P. 3988–3999.

329. McLachlan, J.A. Transplacental effects of diethylstilbestrol in mice / J.A. McLachlan // *Natl. Cancer Inst. Monogr*. — 1979. — № 51. — P. 67–72.

330. Mekonen, S. Pesticide residue evaluation in major staple food items of Ethiopia using the Quechers method: a case study from the Jimma zone / S. Mekonen, A. Ambelu, P. Spanoghe // *Environ. Toxicol. Chem*. — 2014. — Vol. 33, № 6. — P. 1294–1232.

331. Melting glaciers: a major source of persistent organochlorines to subalpine Bow Lake in Banff National Park, Canada / J.M. Blais, D.W. Schindler, D.C. Muiret [et al.] // *Ambio*. — 2001. — Vol. 30, № 7. — P. 410–415.

332. Molecular feminization of mouse seminal vesicle by prenatal exposure to diethylstilbestrol altered expression of messenger RNA / W.C. Beckman, R.R. Newbold, C.T. Teng, J.A. McLachlan // *J. Urol*. — 1994. — Vol. 151, № 5. — P. 1370–1378.

333. Neonatal diethylstilbestrol exposure disrupts female reproductive tract structure/function via both direct and indirect mechanisms in the hamster / I.D. Alwis, D.M. Maroni, I.R. Hendry [et al.] // *Reprod. Toxicol*. — 2011. — Vol. 32, № 4. — P. 472–483.

334. Newbold, R.R. Vaginal adenosis and adenocarcinoma in mice exposed prenatally or neonatally to diethylstilbestrol / R.R. Newbold, J.A. MacLachlan // *Cancer Res*. — 1982. — Vol. 42, № 5. — P. 2003–2011.

335. Occupational exposure to estrogenic chemicals and the occurrence of breast cancer: an exploratory analysis / A. Aschengrau, P.F. Coogan, M. Quinn, L.J. Cashins // *Am. J. Ind. Med.* — 1998. — № 34. — P. 6–14.

336. Olson, J.R. Pharmacokinetics of dioxin and related chemicals / J.R. Olson // *Dioxins and health*. Hoboken. — NJ : Plenum Press, 1994. — P. 163–167.

337. Ovarian response is associated with anogenital distance in patients undergoing controlled ovarian stimulation for IVF / F. Fabregues, I. González-Foruria, J. Peñarrubia, F. Carmona // *Human Reprod.* — 2018. — Vol. 33, № 9. — P. 1696–1704.

338. Over-expression of Skp2 is associated with resistance to preoperative doxorubicin-based chemotherapy in primary breast cancer / S. Davidovich, O. Ben-Izhak, M. Shapira [et al.] // *Breast Cancer Res.* — 2008. — Vol. 10, № 4. — P. R63.

339. Pan, Z. A systematic review of anogenital distance and gynecological disorders: endometriosis and polycystic ovary syndrome / Z. Pan, F. Zhu, K. Zhou // *Front Endocrinol (Lausanne)*. — 2021. — Vol. 12. — P. 696879.

340. Parent bisphenol A accumulation in the human maternal-fetal-placental unit / G. Schonfelder, W. Wittfoht, H. Hopp [et al.] // *Environ. Health Perspect.* — 2002. — Vol. 110, № 11. — P. A703–A707.

341. Pargiline effect on luteinizing hormone secretion throughout the rat estrus cycle: correlation with serotonin, catecholamines and nitric oxide in the medial preoptic area / F.B. Lima, R.E. Szawka, J.A. Anselmo-Franci, C.R. Franci // *Brain Res.* — 2007. — Vol. 20, № 1142. — P. 37–45.

342. Patterns of plasma corticotropin-releasing hormone, progesterone, estradiol, and estriol change and the onset of human labor / 2009 [et al.] // *J. Clin. Endocr. Metab.* — 2009. — Vol. 94, № 6. — P. 2066–2074.

343. Perinatal exposure to bisphenol-A alters peripubertal mammary gland development in mice / M. Munoz-de-Toro, C.M. Markey, P.R. Wadia [et al.] // *Endocrinology*. — 2005. — Vol. 146, № 9. — P. 4138–4147.

344. Permanent induction of morphological abnormalities in the penis and penile skeletal muscles in adult rats treated neonatally with diethylstilbestrol or estradiol

valeriate: a dose-response study / H.O. Goyal, T.D. Braden, C.S. Williams [et al.] // *J. Androl.* — 2005. — Vol. 26, № 1. — P. 32–43.

345. Persistent DDT metabolite p,p'-DDE is a potent androgen receptor antagonist / W.R. Kelce, C.R. Stone, S.C. Laws [et al.] // *Wilson EM Nature.* — 1995. — Vol. 375, № 6532. — P. 581–585.

346. Monitoring of Pesticide Chemical Residues in Domestic and Imported Human Foods (FY 2009 to 2017) / Liang, Chia-Pei Charlotte, Sack, Chris, McGrath, Sara, Cao, Yu, Thompson, Clinton J., Robin, Lauren P., [et al.] // *Pesticide Report.* U.S. Food and Drug Administration, 2021. — 39 p.

347. Petersen, B.J. Exposure to acrylamide: placing exposure in context / B.J. Petersen, N. Tran // *Adv. Exp. Med. Biol.* — 2005. — Vol. 561. — P. 63–76.

348. Phthalates and Cumulative Risk Assessment: The Task Ahead. National Research Council (US) Committee on the Health Risks of Phthalates // Washington (DC) : National Academies Press, 2008.

349. Platz, E.A. The epidemiology of sex steroid hormones and their signaling and metabolic pathways in the etiology of prostate cancer / E.A. Platz, E. Giovannucci // *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* — 2004. — Vol. 92, № 4. — P. 237–253.

350. Polycystic ovary syndrome is associated with anogenital distance, a marker of prenatal androgen exposure / Y. Wu, G. Zhong, S. Chen. [et all.] // *Hum. Reprod.* — 2017. — Vol. 32, № 4. — P. 937–943.

351. Prenatal androgen induced lean pcos impairs mitochondria and mrna profiles in oocytes / N.R. Chappell, B. Zhou, A.K. Schutt, [et all.] // *Endocr. Connect.* — 2020. — Vol. 9, № 3. — P. 261–270.

352. Prenatal diethylstilbestrol exposure and risk of breast cancer / J.R. Palmer, L.A. Wise, E.E. Hatch [et al.] // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* — 2006. — Vol. 15, № 8. — P. 1509–1514.

353. Prenatal exposure to DEHP induces premature reproductive senescence in male mice / R. Barakat, P.-C.P. Lin, S. Rattan [et al.] // *Toxicol. Sci.* — 2017. — Vol. 156, № 1. — P. 96–108.

354. Prenatal TCDD and predisposition to mammary cancer in the rat / N.M. Brown, P.A. Manzillo, J.X. Zhang [et al.] // *Carcinogenesis*. — 1998. — № 19. — P.1623–1629.

355. Presence of polycystic ovary syndrome is associated with longer anogenital distance in adult mediterranean women / M.L. Sánchez-Ferrer, A.I. Hernández-Peñalver, S. Corbalán-Biyang [et al.] // *Hum. Reprod.* — 2017. — Vol. 32, № 11. — P. 2315–2323.

356. Promotion of estrogen-induced mammary gland carcinogenesis by androgen in the male Noble rat: Probable mediation by steroid receptors / D.Z.J. Liao, C.G. Pantazis, X. Hou [et al.] // *Carcinogenesis*. — 1998. — Vol. 19, № 12. — P. 2173–2180.

357. Prostate cancer is associated with anogenital distance, a biomarker of the prenatal androgenic milieu / J. Oñate-Celdrán, P. Samper-Mateo, D. García-Escudero [et al.] // *Archivos Espanoles de Urologia*. — 2019. — Vol. 72, № 1. — P. 9–15.

358. Prostate enlargement in mice due to fetal exposure to low doses of estradiol or diethylstilbestrol and opposite effects at high doses / F.S. Vom Saal, B.G. Timms, M.M. Montano [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. — 1997. — Vol. 94, № 5. — P. 2056–2061.

359. Prostatic dysplasia associated with increased expression of c-myc in neonatally estrogenized mice / L. Pylkkänen, S. Mäkelä, E. Valve [et al.] // *J. Urol.* — 1993. — Vol. 149, № 6. — P. 1593–601.

360. Protective effect of antioxidants on the impairments of sperm motility by activated polymorphonuclear leukocytes / H.W.G. Baker, J. Brindle, D.S. Irvine, R.J. Aitken // *Fertil. Steril.* — 1996. — Vol. 65, № 2. — P. 411–419.

361. Rajfer, J. Sex steroid imprinting of the immature prostate / J. Rajfer, D.S. Coffey // *Invest. Urol.* — 1978. — Vol. 16, № 3. — P. 186–190.

362. Recent developments on the hazards posed by 2,3,7,8-tetrachlorobenzo-p-dioxin in soil: implications for setting risk-based cleanup levels at residential and industrial sites / D.J. Paustenbach, R.J. Wenning, V. Lau [et al.] // *J. Toxicol. Environ. Health*. — 1992. — Vol. 36, № 2. — P. 103–149.

363. Reduced fertility in female mice exposed transplacentally to diethylstilbestrol (DES) / J.A. McLachlan, R.R. Newbold, H.C. Shah [et al.] // *Fertil Steril.* — 1982. — Vol. 38, № 3. — P. 364–371.

364. Reduced intellectual ability in offspring of ovarian hyperstimulation syndrome: a Cohort study / G.-F. Xu, C.-L. Zhou, Y.-M. Xiong [et al.] // *EBioMedicine.* — 2017. — Vol. 20. — P. 263–267.

365. Reznikov, A.G. Hormone-Neurotransmitter Imprinting in the Neuroendocrine Control of Reproduction / A.G. Reznikov. — New York : Harwood Academic Publishers, 1994. — Vol. 7, Part. 4. — 50 p.

366. Rice, J.M. The carcinogenicity of acrylamide / J.M. Rice // *Mutat. Res.* — 2005. — Vol. 580, № 1–2. — P. 3–20.

367. Risks of prenatal exposure to diethylstilbestrol amongst males and females / M.S.I. Dhimi, H. Vernon, R. Kilgannon, A. Manolis // *J. Can. Chiropr. Assoc.* — 1984. — Vol. 28, № 4. — P. 379–383.

368. Rogers, D.J. The global spread of malaria in a future, warmer world / D.J. Rogers, S.E. Randolph // *Science.* — 2000. — Vol. 289 (5485). — P. 1763–1766.

369. Rosenfield, R.L. Current concepts of polycystic ovary syndrome pathogenesis / R.L. Rosenfield // *Curr. Opin. Pediatr.* — 2020. — Vol. 32, № 5. — P. 698–706.

370. Rosińczuk, J. The protective action of tocopherol and acetylsalicylic acid on the behavior of rats treated with dioxins / J. Rosińczuk, R. Dymarek, I. Całkosiński // *Adv. Clin. Exper. Med.* — 2018. — Vol. 27, № 1, P. 5–14.

371. Ruifrok, A.C. Quantification of histochemical staining by color deconvolution / A.C. Ruifrok, D.A. Johnston // *Johnston Anal. Quant. Cytol. Histol.* — 2001. — Vol. 23, № 4. — P.291–299.

372. Safe, S.H. Modulation of gene expression in endocrine response pathways by 2,3,7,8-tetrachlordibenzo-p-dioxin and related compounds / S.H. Safe // *Pharmac. Ther.* — 1995. — № 67. — P. 247–281.

373. Sex differences in the effect of prenatal testosterone exposure on steroid hormone production in adult rats / E. Domonkos, V. Borbélyová, L. Kolátorová [et al.] // *Physiol. Res.* — 2017. — Vol. 66, № 3. — P. S367–S374.

374. Skp2B overexpression alters a prohibitin-p53 axis and the transcription of PAPP-A, the protease of insulin-like growth factor binding protein 4 / [et al.] // *PLoS One.* — 2011. — Vol. 6, № 8. — P. e22456.

375. Smith, O.W. Use of diethylstilbestrol to prevent fetal loss from complications of late pregnancy / O.W. Smith, G.V. Smith // *N. Engl. J. Med.* — 1949. — Vol. 241, № 15. — P. 562–568.

376. Somatometric and behavioral characteristics of the mice offspring in early postnatal development which was prenatally treatment with fulvestrant / L. R. Yusupova, R. T. Sulaymanova, R. M. Khayrullin, L. I. Sulaymanova // *The 6th International Symposium of Clinical and Applied Anatomy, Malinska, Rijeka, Croatia, 26–29 июня 2014 года. – Malinska, Rijeka, Croatia: THE UNIVERSITY OF RIJEKA, 2014. – P. 85-86.*

377. Spike, B.T. P53, stem cells and reprogramming. Tumor suppression beyond guarding the genome / B.T. Spike, G.M. Wahl // *Genes Cancer.* — 2011. — Vol. 2, № 4. — P. 404–419s.

378. Stevens, C.E. Perinatal hepatitis B virus infection: screening of pregnant woman and protection of the infant / C.E. Stevens // *Ann. Intern. Med.* — 1987. — Vol. 107, № 3. — P. 412–413.

379. Stewart MK, Mattiske DM, Pask AJ. (2020) Exogenous Oestrogen Impacts Cell Fate Decision in the Developing Gonads: A Potential Cause of Declining Human Reproductive Health. *Int J Mol Sci.* 21(21):8377. <https://doi.org/10.3390/ijms21218377>.

380. Swan, S.H. Intrauterine exposure to diethylstilbestrol: long-term effects in humans / S.H. Swan // *APMIS.* — 2000. — Vol. 108, № 12. — P. 793–804.

381. Sulaymanova, R. T. Pro-carcinogenic effects of the antiestrogen fulvestrant on the ovaries of offspring of laboratory mice / R. T. Sulaymanova, R. M. Khayrullin, L. I. Sulaymanova // *Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger.* – 2020. – Vol. 230, No. S. – P. 74. – DOI 10.1016/j.aanat.2020.151532.

382. Sulaymanova, R. T. Effect of the prenatal action of fulvestrant on the ovaries of the offspring of laboratory mice / R. T. Sulaymanova // RUDN Journal of Medicine. – 2021. – Vol. 25, No. 3. – P. 256-262. – DOI 10.22363/2313-0245-2021-25-3-256-262.

383. Tash, J.S. Regulation of sperm motility: emerging evidence for a major role for protein phosphatases / J.S. Tash, G.E. Bracho // J. Androl. — 1994. — Vol. 15, № 6. — P. 505–509.

384. The early in utero oestrogen and testosterone environment of blacks and whites: potential effects on male offspring / B.E. Henderson, L. Bernstein, R.K. Ross [et al.] // Br. J. Cancer. — 1988. — Vol. 57, № 2. — P. 216–218.

385. The estrogenic activity of phthalate esters in vitro / C.A. Harris, P. Henttu, M.G. Parker, J.P. Sumpter // Environ. Health Perspect. — 1997. — Vol. 105, № 8. — P. 802–11.

386. The experimental evaluation of the transgenerational effect of the synestrol on the morphology of testicles / R.M. Khairullin, R.T. Sulaymanova, A.M. Baybulatova [et al.] // Morfologija. — 2018. — Vol. 153, № S3–S1. — P. 60.

387. The experimental evaluation of the transgenerational effect of the synestrol on the morphology of testicles / R. M. Khayrullin, R. T. Sulaymanova, A. M. Baybulatova [et al.] // Morphology. – 2018. – Vol. 153, No. S3-1. – P. 60.

388. The sinestrol treatments of pregnant mice affect body growth of their offspring in early postnatal development / R. T. Sulaymanova, A. R. Khaziev, T. R. Magadeev [et al.] // The 6th International Symposium of Clinical and Applied Anatomy, Malinska, Rijeka, Croatia, 26–29 июня 2014 года. – Malinska, Rijeka, Croatia: THE UNIVERSITY OF RIJEKA, 2014. – P. 86.

389. The mouse in aging research / K. Flurkey, J.M. Curren, D.E. Harrison [et al.] // ed. by J.G. Fox, American College Laboratory Animal Medicine / The Mouse in Biomedical Research. — 2nd Edition. — Burlington, MA : Elsevier, 2007. — P. 637–672.

390. The Pine River statement: human health consequences of DDT use / B. Eskenazi, J. Chevrier, L.G. Rosaset [et al.] // *Environ. Health Perspect.* — 2009. — Vol. 117, № 9. — P. 1359–1367.

391. The relationship between anogenital distance and benign prostate hyperplasia-related lower urinary tract symptoms / M.A. Kutluhan, A. Şahin, A. Ürkmez [et al.] // *Andrologia.* — 2020. — Vol. 52, № 7. — P. e13589.

392. Transcriptional responses to estrogen and progesterone in mammary gland identify networks regulating p53 activity / S. Lu, K.A. Becker, M.J. Hagen [et al.] // *Endocrinol.* — 2008. — Vol. 149, № 10. — P. 4809–4820.

393. Transfer of DDT used in malaria control to infants via breast milk / H. Bouwman, P.J. Becker, R.M. Cooppan, A.J. Reinecke // *Bull. World Health Organ.* — 1992. — Vol. 70. — P. 241–250.

394. Trans-placental exposure of neonates to acrylamide - a pilot study / T. Schettgen, B. Kütting, M. Hornig [et al.] // *Int. Arch. Occup. Environ. Health.* — 2004. — Vol. 77, № 3. — P. 213–216.

395. Transplacental transfer of acrylamide and glycidamide are comparable to that of antipyrine in perfused human placenta / K. Annola, V. Karttunen, P. Keski-Rahkonen [et al.] // *Toxicol. Lett.* — 2008. — Vol. 182, № 1–3. — P. 50–56.

396. Turusov, V. Dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT): ubiquity, persistence, and risks / V. Turusov, V. Rakitsky, L. Tomatis // *Environ. Health Perspect.* — 2002. — Vol. 110, № 2. — P. 125–128.

397. Vandenberg, J.G. The anogenital distance index, a predictor of the intrauterine position effects on reproduction in female house mice / J.G. Vandenberg, C.L. Huggett // *Lab Anim Sci.* — 1995. — Vol. 45, № 5. — P. 567–73.

398. Vom Saal, F.S. Update on the Health Effects of Bisphenol A: Overwhelming Evidence of Harm / F.S. Saal Vom, L.N. Vandenberg // *Endocrinology.* — 2021. — Vol. 162, № 3. — P. bqaa171.

399. Vouk V. B., Sheehan P. J. Methods for assessing the effects of chemicals on reproductive functions. – Chichester et al., 1983.

400. Walker, B.E. Pituitary Tumors in Mice Exposed Prenatally to Diethylstilbestrol / B.E. Walker, L.A. Kurth // *Cancer Res.* — 1993. — Vol. 53, № 7. — P. 1546–1541.

401. Walker, B.E. Uterine tumors in old female mice exposed prenatally to diethylstilbestrol / B.E. Walker // *J. Natl. Cancer Inst.* — 1983. — Vol. 70, № 3. — P. 477–484.

402. Ward, I.L. Differentiation effect of pre- and postnatal androgen on the sexual behavior of intact and spayed female rats / I.L. Ward // *Horm. Behav.* — 1969. — Vol. 1. — P. 25–36.

403. Ward, I.L. The Prenatal stress syndrome: Current status / I.L. Ward // *Psychoneuroendocrinology.* — 1984. — Vol. 9, № 1. — P. 3–11.

404. Wolff, M.S. Half-lives of organochlorines (OCs) in humans / M.S. Wolff // *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* — 1999. — Vol. 36, № 4. — P. 504.

405. World Health Organization. Pesticide residues in food — 2016 evaluations. Part II — Toxicological. — Geneva : WHO and FAO, 2017.

406. Zhou, C. Prenatal exposure to an environmentally relevant phthalate mixture disrupts reproduction in F1 female mice / C. Zhou, L. Gao, J.A. Flaws // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* — 2017. — Vol. 318. — P. 49–57.

407. Liu J, Guo M, Hu X, Weng X, Tian Y, Xu K, Heng D, Liu W, Ding Y, Yang Y, Zhang C. Effects of Thyroid Dysfunction on Reproductive Hormones in Female Rats. *Chin J Physiol.* 2018 Jun 30;61(3):152-162. DOI: 10.4077/CJP.2018.BAG551.

408. Karzi V, Tzatzarakis MN, Hatzidaki E, Katsikantami I, Alegakis A, Vakonaki E, Kalogeraki A, Kouvidi E, Xezonaki P, Sifakis S, Rizos AK. Determination of prenatal exposure to parabens and triclosan and estimation of maternal and fetal burden. *Toxicol Rep.* 2021 Apr 2;8:808-815. DOI: 10.1016/j.toxrep.2021.03.030.