

ВЕТЕРИНАРИЯ И ЗООТЕХНИЯ

Научная статья

УДК 57:619:591.2

doi: 10.55170/19973225_2023_8_3_70

**ВОЗДЕЙСТВИЕ ПРЕПАРАТА ЭСТРОГЕННОГО РЯДА
НА ДИНАМИКУ РОСТА ПОТОМСТВА ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ**

**Андрей Николаевич Квочко¹, Римма Тагировна Сулайманова²✉, Элиза Джабраиловна Асхабова³,
Луиза Изатуллаевна Сулайманова⁴**

¹Ставропольский государственный аграрный университет, Ставрополь, Россия

²Университет «РЕАВИЗ», Санкт-Петербург, Россия

³Городская клиническая больница №15 им. О. М. Филатова, Москва, Россия

⁴Городская поликлиника №52, Москва, Россия

¹kvochko@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4445-7638>

²rimma2006@bk.ru✉, <https://orcid.org/0000-0002-1658-9054>

³eliza_askhabova92@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2796-7508>

⁴lsulajmanova@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4445-7638>

Цель исследований – обоснование воздействия препарата эстрогенного ряда фулвестранта на соматометрические показатели потомства лабораторных мышей. Для проведения экспериментальных исследований использовалось потомство лабораторных мышей, матерям которых на одиннадцатый день беременности была произведена инъекция препарата эстрогенного ряда фулвестранта в дозе 100 мкг/кг однократно внутримышечно. Анализировались две группы. Первая (n=15) – интактная – без воздействия. Животным второй опытной группы вводили однократно внутримышечно фулвестрант 0,4 мл 0,0005% в дозе 100 мкг/кг (Ф-100 мкг/кг). Потомство мужского и женского пола в возрасте одного месяца разделяли и подращивали группами до момента половой зрелости. Самцов и самок помещали в отдельные клетки с соответственной маркировкой вводимого препарата. На полученном потомстве проводились соматометрические исследования – измерялась масса тела (г), длина тела (мм), длина головы (мм), длина хвоста (мм), длина ступни задней правой лапки (мм) и аногенитальное расстояние (АГР) (мм). Анализ соматометрических показателей потомства мужского пола лабораторных мышей показал, что масса тела уменьшается на 21,5% ($p \leq 0,05$), длина тела уменьшается на 13,1% ($p \leq 0,05$), длина головы уменьшается на 8,1%. Величина аногенитального расстояния увеличилась на 18,1% ($p \leq 0,05$). Анализ соматометрических показателей потомства женского пола лабораторных мышей показал, что наблюдалось уменьшение массы тела на 21,4% ($p \leq 0,05$), уменьшение величины аногенитального расстояния на 13,4% ($p \leq 0,05$). У полученного потомства мужского и женского пола в возрасте одного месяца постнатального развития в результате инъекции беременным матерям препарата эстрогенного ряда фулвестранта в дозе 100 мкг/кг наблюдались изменения в соматометрических показателях, обусловленные влиянием вводимого препарата. Результаты исследования дают возможность использовать полученные экспериментальные данные для поиска средств коррекции репродуктивной дисфункции в постнатальном развитии. Лимитирование введения препаратов эстрогенного ряда во время беременности предоставит возможность избежать неблагоприятных воздействий в постнатальном онтогенезе у потомства женского и мужского пола.

Ключевые слова: фулвестрант, лабораторные мыши, потомство, пренатальная инъекция, соматометрические показатели.

Для цитирования: Квочко А. Н., Сулайманова Р. Т., Асхабова Э. Д., Сулайманова Л. И. Воздействие препарата эстрогенного ряда на динамику роста потомства лабораторных мышей // Известия Самарской государственной сельскохозяйственной академии. 2023. №3. С. 70–74. doi: 10.55170/19973225_2023_8_3_70

Original article

EFFECTS OF AN ESTROGEN DRUG ON THE GROWTH DYNAMICS OF OFFSPRING OF LABORATORY MICE

Andrey N. Kvochko¹, Rimma T. Sulaimanova^{2✉}, Eliza D. Askhabova³, Luisa I. Sulaimanova⁴

¹Stavropol State Agrarian University, Stavropol, Russia

²Universitet «REAVIZ», St. Petersburg, Russia

³O. M. Filatov City Clinical Hospital №15, Moscow, Russia

⁴City Polyclinic №52, Moscow, Russia

¹kvochko@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4445-7638>

²rimma2006@bk.ru ✉, <https://orcid.org/0000-0002-1658-9054>

³eliza_askhabova92@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2796-7508>

⁴lsulajmanova@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4445-7638>

The purpose of the research is to substantiate the effect of the estrogen-type drug fulvestrant on the somatometric parameters of the offspring of laboratory mice. To conduct experimental studies, the offspring of laboratory mice was used, whose mothers were injected with an estrogen-type drug fulvestrant at a dose of 100 mcg/kg once intramuscularly on the eleventh day of pregnancy. Two groups were analyzed. The first (n=15) is intact – without exposure. Animals of the second experimental group were administered once intramuscularly fulvestrant 0.4 ml 0.0005% at a dose of 100 mcg / kg (F-100 mcg / kg). Male and female offspring at the age of one month were separated and raised in groups until puberty. Males and females were placed in separate cells with the appropriate labeling of the injected drug. Somatometric studies were carried out on the resulting offspring – body weight (g), body length (mm), head length (mm), tail length (mm), right hind foot length (mm) and anogenital distance (AGR) (mm) were measured. Analysis of somatometric parameters of male offspring of laboratory mice showed that body weight decrease by 21.5% ($p < 0.05$), body length decrease by 13.1% ($p < 0.05$), head length decrease by 8.1%. The anogenital distance increased by 18.1% ($p < 0.05$). Analysis of somatometric parameters of female offspring of laboratory mice showed that there was a decrease in body weight by 21.4% ($p < 0.05$), a decrease in the anogenital distance by 13.4% ($p < 0.05$). The resulting male and female offspring at the age of one month of postnatal development as a result of injection to pregnant mothers of the estrogen-type drug fulvestrant at a dose of 100 mcg/ kg had changes in somatometric parameters due to the effect of the administered drug. The results of the study make it possible to use the experimental data obtained to search for means of correcting reproductive dysfunction in postnatal development. Limiting the administration of estrogenic drugs during pregnancy will provide an opportunity to avoid adverse effects in postnatal ontogenesis in female and male offspring.

Keywords: fulvestrant, laboratory mice, offspring, prenatal injection, somatometric parameters.

For citation: Kvochko, A. N., Sulaimanova, R. T., Askhabova, E. D. & Sulaimanova, L. I. (2023). Effects of an estrogen drug on the growth dynamics of offspring of laboratory mice. *Izvestiia Samarskoi gosudarstvennoi selskokhoziaistvennoi akademii (Bulletin Samara State Agricultural Academy)*. 2023. № 3. С. 70–74 (in Russ.). doi: 10.55170/19973225_2023_8_3_70

Широкое применение химических веществ, обладающих гормональной активностью, неразрывно связано не только с сельскохозяйственным производством, но и с нашей повседневной жизнью. Гормонально активные вещества могут содержаться в продуктах питания, в окружающей среде, и контакт с ними в современном мире неизбежен [1-3]. Соединения химической природы, обладающие избыточным воздействием экзогенного эстрогена – значимый фактор риска онкогенеза, канцерогенеза и их метаболитов на молекулярно-генетическом уровне в эстроген-чувствительных тканях, репродуктивных органах обоих полов [4-6]. Для оценки репродуктивного статуса в сфере медицинской и ветеринарной деятельности легко доступными неинвазивными методами исследований являются соматометрические исследования.

Фенотипическими показателями токсического действия гормонально активных веществ являются: масса тела, длина тела, длина хвоста, длина и ширина головы, аногенитальное расстояние.

Цель исследований – обоснование воздействия препарата эстрогенного ряда фулвестранта на соматометрические показатели потомства лабораторных мышей.

Задачи исследований – изучить влияние препарата эстрогенного ряда фулвестранта в дозе 100 мкг/кг на динамику роста потомства лабораторных мышей; провести статистическую обработку полученных результатов в отношении соматометрических показателей у экспериментальных животных.

Материал и методы исследований. Для проведения экспериментальных исследований использовалось потомство лабораторных мышей, матерям которых на одиннадцатый день беременности была произведена инъекция препарата эстрогенного ряда фулвестранта в дозе 100 мкг/кг однократно внутримышечно. Расчет экспериментальной дозы препарата производили по методическими указаниями для перерасчета доз веществ в мкг/кг для лабораторных животных [7-9].

В исследованиях анализировались две группы. Первая (n=15) – интактная – без воздействия. Животным второй (опытной) группы вводили однократно внутримышечно фулвестрант 0,4 мл 0,0005% в дозе 100 мкг/кг (Ф-100 мкг/кг).

Потомство мужского и женского пола в возрасте одного месяца разделяли и подращивали группами до момента половой зрелости [10-12]. Животных помещали в отдельные клетки для самцов и самок с соответственной маркировкой вводимого препарата. У полученного потомства проводились соматометрические исследования: масса тела (г), длина тела (мм), длина головы (мм), длина хвоста (мм), длина ступни задней правой лапки (мм) и аногенитальное расстояние (АГР) (мм). Для точности измерения массы тела использовались электронные весы марки BW-500 (с точностью измерения 0,1 г; автоматическая калибровка; единицы измерений – граммы, унции, караты; габариты – 120×80×25 мм, производство Южная Корея). Измерение параметров тела и АГР проводилось при помощи электронного штангенциркуля Digital Caliper (со встроенным жидко-кристаллическим дисплеем; диапазон – 0-150 мм; точность – 0,01 мм, производство Южная Корея).

Эксперименты в работе выполнены в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета европейского союза по охране животных, используемых в научных целях. На выполнение эксперимента получено разрешение локального экспертного совета по биомедицинской этике Башкирского государственного медицинского университета (протокол № 3 от 17.03.2014 г.).

Для статистической обработки данных вычисляли среднее арифметическое значение параметра и его стандартную ошибку (M±SD). Достоверность различий средних оценивали с помощью t-критерия Стьюдента на уровне значимости $p \leq 0,05$.

Результаты исследований. Сравнительный анализа соматометрических показателей потомства мужского пола белых беспородных лабораторных мышей при однократном воздействии препарата фулвестрант в дозе 100 мкг/кг (табл. 1) с показателями животных интактной группы показал, что масса тела (г) уменьшается на 21,5% ($p \leq 0,05$), длина тела (мм) уменьшается на 13,1% ($p \leq 0,05$), длина головы (мм) уменьшается на 8,1%. В значениях показателя ширины головы (мм) не наблюдаются значимых различий. Длина хвоста (мм) уменьшалась на 7,5%. Длина ступни задней правой лапки (мм) – значимых различий не выявлено. Величина АГР (мм) увеличилась на 18,1% ($p \leq 0,05$), так как фулвестрант в дозе 100 мкг/кг блокирует эстрогенные рецепторы, в результате работают только андрогенные, приводящие к повышению маскулинизирующего эффекта у потомства мужского пола.

Таблица 1

Соматометрические показатели потомства мужского и женского пола лабораторных мышей при однократном воздействии фулвестранта в дозе 100 мкг/кг

Показатель	Интактная группа		Опытная группа (Ф-100 мкг/кг)	
	♂	♀	♂	♀
Масса тела (г)	27,09±3,59	20,50±2,14	21,24±1,69*	16,12±2,49*
Длина тела (мм)	97,20±1,79	88,00±1,41	84,50±2,35*	83,00±5,83
Длина головы (мм)	22,86±0,31	22,20±0,45	21,00±0,71	21,20±1,04
Ширина головы (мм)	12,00±0,01	12,00±0,01	12,00±0,01	11,66±0,47
Длина хвоста (мм)	95,60±2,61	91,60±2,88	88,40±4,02	82,80±7,05
Длина ступни правой задней лапки (мм)	17,50±0,50	17,22±0,41	17,00±0,71	17,00±0,61
АГР (мм)	1,44±0,09	0,67±0,12	1,70±0,08*	0,58±0,08*

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

Анализ соматометрических показателей потомства женского пола лабораторных мышей при воздействии препарата фулвестранта в дозе 100 мкг/кг (табл. 1) по сравнению с животными интактной группы показал уменьшение массы тела (г) на 21,4% ($p \leq 0,05$); уменьшение длины тела (мм) на 5,7%. В показателях длина, ширина головы (мм) и длина ступни правой задней лапки (мм) значимых различий не выявлено. Длина хвоста (мм) уменьшается на 9,6%. У потомства самок при воздействии препарата фулвестранта в дозе 100 мкг/кг по сравнению с животными интактной группы ожидалось увеличение величины АГР в соответствии с исследованиями T.D. Fouquieray и соавт. [13], однако полученные результаты отличались от предполагаемых: величина АГР (мм) уменьшается на 13,4% ($p \leq 0,05$).

Заключение. У полученного потомства мужского и женского пола в возрасте одного месяца постнатального развития в результате инъекции беременным матерям препарата эстрогенного ряда фулвестранта в дозе 100 мкг/кг наблюдались изменения в соматометрических показателях, обусловленные влиянием вводимого препарата. Результаты исследования дают возможность использовать полученные экспериментальные данные для поиска средств коррекции репродуктивной дисфункции в постнатальном развитии. Лимитирование введения препаратов эстрогенного ряда во время беременности предоставит возможность избежать неблагоприятных воздействий в постнатальном онтогенезе у потомства женского и мужского пола.

Список источников

1. El-Shahat A. E., Gabr A., Meki A. R. et al. Altered testicular morphology and oxidative stress induced by cadmium in experimental rats and protective effect of simultaneous green tea extract // *International Journal of Morphology*. 2009. №27(3). P. 757–764. doi.org/10.4067/S0717-95022009000300020.
2. Stewart M. K., Mattiske D. M., Pask A. J. Exogenous Oestrogen Impacts Cell Fate Decision in the Developing Gonads: A Potential Cause of Declining Human Reproductive Health // *Int. J. Mol. Sci.* 2020. №21(21). P. 8377. DOI: 10.3390/ijms21218377.
3. Liu J. Guo M., Hu X. Effects of Thyroid Dysfunction on Reproductive Hormones in Female Rats // *Chin J. Physiol.* 2018. Vol. 61 (3). P. 152–162.
4. Bromer J. G., Zhou Y., Taylor M. B., et al. Bisphenol-A exposure in utero leads to epigenetic alterations in the developmental programming of uterine estrogen response // *FASEB J.* 2010. Vol. 24, №7. P. 2273–2280. DOI: 10.1096/fj.09-140533.
5. Chandhoke G., Shayegan B., Hotte S. J. Exogenous estrogen therapy, testicular cancer, and the male to female transgender population: a case report // *J. Med. Case Rep.* 2018. Vol. 12, №1. P. 373. DOI: 10.1186/s13256-018-1894-6.
6. Soto A. M., Maffini M. V., Sonnenschein C. Neoplasia as development gone awry: the role of endocrine disruptors // *Int. J. Androl.* 2008. №31(2). P. 288–293. DOI: 10.1111/j.1365-2605.2007.00834.
7. Арзамасцев Е. В., Гуськова Т. А., Березовская И. В. и др. Методические указания по изучению общетоксического действия фармакологических веществ. Под ред. Р. У. Хабриева. М. : Медицина, 2005. С. 41–54.
8. Гуськова Т. А. Доклиническое токсикологическое изучение лекарственных средств как гарантия безопасности проведения их клинических исследований // *Токсикологический вестник*. 2010. № 5 (104). С. 2–6.
9. Пат. 2 722 988 РФ. МПК А61М 5/32, А61К 31/565, А61Р 43/00, G09В 23/28. Способ моделирования проканцерогенного действия фулвестранта на яичники потомства женского пола у лабораторных мышей / Сулайманова Р. Т., Мурзабаев Х. Х., Рахматуллина И. Р. Хайруллин Р. М., Сулайманова Л. И., Шарафутдинова К. И., Арсланбекова Р. Р. №2019137152 ; заявл. 19.11.2019 ; опублик. 05.06.2020.
10. Котеров А. Н. и др. Соотношение возрастов основных лабораторных животных (мышей, крыс, хомячков и собак) и человека: актуальность для проблемы возрастной радиочувствительности и анализ опубликованных данных // *Медицинская радиология и радиационная безопасность*. 2018. Т. 63, № 1. С. 5–27. DOI: 10.12737/article_5a82e4a3908213.56647014.
11. Dutta S., Sengupta P. Men and mice: relating their ages // *Life Sci.* 2016. № 152. P. 244–248.
12. Flurkey K., Curren J. M., Harrison D. E. The mouse in aging research // *The Mouse in Biomedical Research*. 2nd Edition. Ed. by J. G. Fox et al. Burlington : American College Laboratory Animal Medicine, 2007. P. 637–672.
13. Fouquieray T. D., Blumstein D. T., Monclús R. et al. Maternal effects on anogenital distance in a wild marmot population // *PLoS One*. 2014. Vol. 9, № 3. P. 92718.

References

1. El-Shahat, A. E., Gabr, A. & Meki, A. R. et al. (2009). Altered testicular morphology and oxidative stress induced by cadmium in experimental rats and protective effect of simultaneous green tea extract. *International Journal of Morphology*, 27(3), 757–764. doi.org/10.4067/S0717-95022009000300020.
2. Stewart, M. K., Mattiske, D. M. & Pask, A. J. (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. DOI: 10.3390/ijms21218377.
3. Liu, J., Guo, M. & Hu, X. (2018). Effects of Thyroid Dysfunction on Reproductive Hormones in Female Rats. *Chin J. Physiol*, 61 (3), 152–162.
4. Bromer, J. G., Zhou, Y. & Taylor, M. B. et al. (2010). Bisphenol-A exposure in utero leads to epigenetic alterations in the developmental programming of uterine estrogen response. *FASEB J.*, 24, 7, 2273–2280. DOI: 10.1096/fj.09-140533.
5. Chandhoke, G., Shayegan, B. & Hotte, S. J. (2018). Exogenous estrogen therapy, testicular cancer, and the male to female transgender population: a case report. *J. Med. Case Rep.*, 12, 1, 373. DOI: 10.1186/s13256-018-1894-6.
6. Soto, A. M., Maffini, M. V. & Sonnenschein, C. (2008). Neoplasia as development gone awry: the role of endocrine disruptors. *Int. J. Androl.*, 31(2), 288–293. DOI: 10.1111/j.1365-2605.2007.00834.
7. Arzamashev, E. V., Guskova, T. A. & Berezovskaya, I. V. et al. (2005). *Methodological guidelines for the study of the general toxic effect of pharmacological substances*. Edited by R. U. Khabrieva. Moscow : Medicine (in Russ.).
8. Guskova, T. A. (2010). Preclinical toxicological study of medicines as a guarantee of the safety of their clinical trials. *Toksikologičeskij vestnik (Toxicological Review)*, 5 (104), 2–6 (in Russ.).
9. Sulaimanova, R. T., Murzabaev, H. H., Rakhmatullina, I. R. Khairullin, R. M., Sulaimanova, L. I., Sharafutdinova, K. I. & Arslanbekova, R. R. (2020). A method for modeling the procarcinogenic effect of fulvestrant on the ovaries of female offspring in laboratory mice. *Patent 2 722 988, Russian Federation, 2019137152* (in Russ.).
10. Koterov, A. N. et al. (2018). The ratio of the ages of the main laboratory animals (mice, rats, hamsters and dogs) and humans: relevance to the problem of age-related radiosensitivity and analysis of published data. *Medicinskaya radiologiya i radiacionnaya bezopasnost' (Medical Radiology and Radiation Safety)*, 63, 1, 5–27. DOI: 10.12737/article_5a82e4a3908213.56647014 (in Russ.).
11. Dutta, S. & Sengupta, P. (2016). Men and mice: relating their ages. *Life Sci.*, 152, 244–248.
12. Flurkey, K., Curren, J. M. & Harrison, D. E. (2007). The mouse in aging research. *The Mouse in Biomedical Research*. 2nd Edition. Ed. by J. G. Fox et al. (pp. 637–672). Burlington : American College Laboratory Animal Medicine.
13. Fouqueray, T. D. Blumstein, D. T. & Monclús, R. et al. (2014). Maternal effects on anogenital distance in a wild marmot population. *PLoS One*, 9, 3, 92718.

Информация об авторах:

А. Н. Квочко – доктор биологических наук, профессор;
Р. Т. Сулайманова – кандидат биологических наук, доцент;
Э. Д. Асхабова – врач-педиатр;
Л. И. Сулайманова – врач-терапевт.

Information about the authors:

A. N. Kvochko – Doctor of Biological Sciences, Professor;
R. T. Sulaimanova – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor;
E. D. Askhabova – Pediatrician;
L. I. Sulaimanova – Therapist.

Вклад авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution of the authors: the authors contributed equally to this article. The authors declare no conflict of interest.

Статья поступила в редакцию 2.04.2023; одобрена после рецензирования 19.06.2023; принята к публикации 1.07.2023.

The article was submitted 2.04.2023; approved after reviewing 19.06.2023; accepted for publication 1.07.2023.